

Chlorpyrifosun *Cyprinus carpio* (L., 1758) Üzerine Akut Toksisitesi

Suna Gül GÜNDÜZ^{1*}, Ferbal Özkan YILMAZ¹, Özden BAŞTÜRK¹

¹Mersin Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Temel Bilimler Bölümü, Mersin.

* Sorumlu yazar: Suna Gül Gündüz Tel: 0324 3413028; Fax: 0324 3413028;

Geliş Tarihi :23.08.2011

Acute Toxic Effect of Chlorpyrifos on *Cyprinus carpio* (L., 1758)

Abstract

Chlorpyrifos is an organophosphorus pesticide widely used in agriculture. This study was aimed to determine the acute toxicity of chlorpyrifos on the common carp (*Cyprinus carpio*). In addition, behavioral changes at each chlorpyrifos concentration were determined for the individuals. Juvenil fish (*C. carpio*) were selected for the bioassay experiments. The concentrations of chlorpyrifos (0.10, 0.50, 1.50, 2.50, 3.50 mg/L) which was determined with preliminary study were applied for 96 hours. Water temperature was regulated at 23 ± 1 °C. Data obtained from the chlorpyrifos acute toxicity tests were evaluated using the Probit Analysis Statistical Method based on Finney's Probit Analysis using a computer program. The 96-h LC50 value for the common carp was estimated as 2.08 mg/L. Observed behavioral changes were typical of neurotoxin: less general activity than control group, loss of equilibrium, erratic swimming and staying motionless at a certain location generally at mid-water level for prolonged periods.

Keywords: Acute toxicity, chlorpyrifos, *Cyprinus carpio*.

Özet

Chlorpyrifos tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan organofosforlu bir pestisitdir. Bu çalışmada, chlorpyrifosun *Cyprinus carpio* üzerine akut toksisitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra, chlorpyrifosderişimleri etkisinde balıkların davranışlarındaki değişiklikler bireysel olarak gözlemlenmiştir. Denemelerde kullanılmak üzere juvenil balıklar (*C. carpio*) seçilmiştir. Ön denemeler sonucu belirlenen chlorpyrifosunderişimleri(0.10, 0.50, 1.50, 2.50, 3.50 mg/L) 96 saat süre ile balıklara uygulanmıştır. Su sıcaklığı ısıtıcılarla 23 ± 1 °C'de düzenlenmiştir. Elde edilen veriler Probit Analiz Yöntemi ile değerlendirilmiş, *C. carpio* için chlorpyrifosun 96 saat LC₅₀ değeri 2.08 mg/L düzeyinde bulunmuştur. Balıklarda gözlenen davranış değişimlerinin, kontrol grubuna göre daha az hareketlilik, denge kaybı, düzensiz yüzme ve belli bir alanda genellikle suyun orta seviyesinde uzun süreli hareketsiz kalma gibi tipik nörotoksin zehirliliği özelliğinde olduğu saptanmıştır.

Giriş

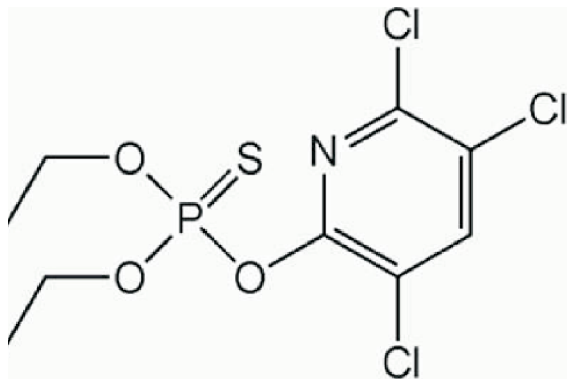
Pestisitler, modern tarımın tamamlayıcı bir bileşeni halindedir ve dünyanın tüm agroekosistemleri üretim sürecinde bir veya daha fazla pestisit uygulamasına gereksinim duymaktadır. Tarımsal mücadelede daha çok ve dahakaliteli ürün almak için kullanılan birçok pestisit bilinçsiz veya doğru kullanılmadığı takdirde yeraltı suları,

akarsular ve denizlere ulaşarak buralarda kirliliğe sebep olmaktadır. Bu kirliliklerden dolayı denizde ve tatlı sulardayaşayan balıklar, memeliler, algler, kabuklu su canlıları ve planktonik su canlılarının yaşam alanları kısıtlamakta ya da sebepten dolayı ölmektedirler (Verpe vd., 2005; Stalin vd., 2008).

Kimyasal maddelerin potansiyel risklerini ortaya koymak için yapılan akut toksisite testleri, maddelerin kullanılabilirlik oranının belirlenmesi için oldukça önemlidir. En yaygın kullanılan akut toksisite testi letalite testidir. Bu testin amacı, bir kimyasal maddeye maruziyet sonucu ortaya çıkabilecek toksiksemptomları, beyin, böbrek, karaciğer gibi belli başlı organların etkileniş derecesi veya öldürücü doz (letalite) değerini saptamaktır. Letal doz değeri, o maddenin ne kadar güvenli kullanılabileceğinin de bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Selvi vd., 2004; Saygı, 2003).

Chlorpyrifos [O,O-diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridinyl)- phosphorothioate], tarım alanlarında böcek ve eklembacaklılarla mücadele amacıyla kullanılan, geniş spektrumlu organofosforlu bir insektisittir (Şekil 1), (Girón-Pérez vd. 2006). Suda çözünürlüğü düşük olan chlorpyrifos, organizmada asetilkolinesteraz aktivitesini engellemek yoluyla doğrudan sinir iletimini etkilemektedir. Diğer organofosforuların aksine chlorpyrifos uzun kalıcı etkiye sahip olmakta ve yağ dokusunda birikmektedir. (Kammerbauer ve Moncada, 1998; Chandrasekara ve Pathiratne, 2007).

Venkateswaravd. (2005) *Gambusia affinis*'te, chlorpyrifosun 96 saatlik LC50 değerini 297 µg/L olarak belirledikleri çalışmada, chlorpyrifos etkisiyle balıklarda renkte koyulaşma, denge kaybı, düzensiz yüzme ve yavaş hareket etme gözlemlenmiştir. Benzer davranış değişiklikleri, organofosforlu pestisit-



Şekil 1. Chlorpyrifos

lere maruz bırakılan diğer balık türlerinde yapılan başka çalışmalarda da belirtilmiştir (Machado ve Fanta, 2003; Venkateswara vd. 2003; Venkateswara, 2004; Venkateswaravd., 2005; Kavitha ve Venkateswara, 2007).

Chlorpyrifosun sucul organizmalarda akut toksisitesi ile ilgili az veri bulunmakla birlikte, dünya üzerinde geniş dağılım gösteren ve ekonomik öneme sahip bir tür olan *C. carpio* üzerine etkileri hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Bu çalışmada chlorpyrifosun *C. carpio* üzerine akut toksisitesini gösteren 96 saatlik LC değerinin belirlenmesi ve bu pestiside karşı balıkların davranış değişimlerinin incelenmesi hedeflenmiştir.

Materyal ve Metot

Çalışmada materyal olarak kullanılan *C. carpio*, Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Tatlı Su İşletmesi'nden alınarak deneylerin yürütüleceği Mersin Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Temel Bilimler Araştırma Laboratuvarı'na getirilmiştir. Balıklar, içerisinde dinlendirilmiş çeşme suyu bulunan stok tank ve akvaryumlarda bir ay süresince laboratuvar koşullarında adaptasyona bırakılmış ve günde iki defa ağırlıklarının %2'si kadar hazır yem (Çamlı Yem, Türkiye) ile beslenmişlerdir. Laboratuvarında, 12 saat aydınlık/karanlık periyodu uygulanmış ve akvaryumlar merkezi havalandırma sistemi ile havalandırılmıştır. Deneyde kullanılan suyun kimyasal özellikleri şu şekildedir; pH: 7.5±0.05; çözünmüş oksijen: 6.70±0.15 mg/L; alkalinite: 154±0.25 mg/L CaCO₃. Deney süresince su sıcaklığı, ısıtıcılar kullanılarak 23±1°C'de sabit tutulmuştur.

Balıklar, içerisinde 50L dinlendirilmiş ve havalandırılmış çeşme suyu bulunan cam akvaryumlara yerleştirilmişlerdir. Her akvaryuma 10 birey konulmuştur. Kullanılan balıkların ortalama ağırlığı 20.66 ± 1.21, ortalama total boyu 10.70±0.15 cm olarak hesaplanmıştır.

Deneylelerden 24 saat öncesinde yemleme kesilmiştir. Deneyle sırasında balıklara hiç yemleme yapılmamıştır (Singh vd., 2009). %99 saflıkta chlorpyrifos (Sigma Aldrich) aseton içinde çözdürülerek stok solusyon hazırlanmıştır. Deneyle başlamadan önce, geniş aralıklı chlorpyrifos derişimleri (0.01; 0.05; 0.10; 0.50; 1.00; 1.50; 2.00; 2.50; 3.00; 3.50 mg/L) ön çalışma yapılarak ana deneylede baz alınabilecek değerler tespit edilmiştir (Anonim 1990). Yapılan ön çalışma ile elde edilen sonuçlar ışığında seçilen 0.10, 0.50, 1.50, 2.50, 3.50 mg/L chlorpyrifos derişimleri deneyle balıklarına uygulanmıştır. Deneyleler 2 tekrarlı olarak yapılmıştır. Balıklarda meydana gelen ölümler ve davranış değişimleri 96 saat süre ile değerlendirilmiştir.

Deneyle verileri, SPSS 10.0 paket programında probit analiz yöntemiyle değerlendirilerek 96 saatlik LC_{50} derişimi belirlenmiştir (Finney, 1971).

Bulgular

Çalışmada *C. carpio*'ya uygulanan chlorpyrifos derişimlerine bağlı ölüm oranları ve davranış değişimleri 96 saat süresince kayıt edilmiştir. Buna göre kontrol, 0.10 ve 0.50 mg/L chlorpyrifos uygulanan gruplarda deneyle süresince hiç ölüm gözlenmemiştir. 1.50 mg/L uygulanan grupta ise deneyle boyunca iki ölüm saptanırken, 2.50 mg/L chlorpyrifos uygulanan grupta toplam 6 ölüm belirlenmiştir. En yüksek derişim olan 3.50 mg/L uygulanan grupta ise toplam 10 ölüm gözlenmiştir.

Bu çalışmada *C. carpio* için chlorpyrifosun 96 saatlik Lc_{50} değeri 2.08 mg/L olarak tespit

edilmiştir. Uygulanan chlorpyrifos derişim değerleri ve güven aralıkları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Deneyle süresince chlorpyrifosun balık davranışları üzerine etkileri, kontrol akvaryumu balıklarıyla karşılaştırılarak ortaya konulmuştur. 0.10 ve 0.50 mg/L chlorpyrifos uygulanan balıkların hareketlerinde durgunluk meydana gelirken ölüm gözlenmemiştir. 1.50 mg/L chlorpyrifos uygulanan grupta ise 24. saatte denge kaybı ve uzun süreli hareketsiz kalma gözlenmiş, aynı grubun 48. saatinde denge kaybına ek olarak hızlı solungaç hareketleri, düzensiz yüzme ve durgunluk saptanmıştır. 2.50 mg/L chlorpyrifos uygulanan grupta 24. saatte 3 ölüm gözlenirken, su yüzeyine inip çıkma, çırpınma, titreme ve gruptan ayrı yüzme davranışları belirlenmiştir. En yüksek derişim (3.50 mg/L) uygulanan balıkların genel hareketlerinde daha fazla azalma ve düzensiz yüzme şeklinde davranışlar gözlenmiştir.

Tartışma ve Sonuç

Pestisitlerin neden olduğu balık ölümleri genellikle derişime, balığın maruz kalma süresine ve deneysel faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermekte olup, balığın türüne, büyüklüğüne, o maddeye hassasiyeti ve cinsiyete göre de farklılık göstermektedir (Singh vd., 2009). Bu çalışmada *C. carpio* için chlorpyrifosun 96 saatlik LC_{50} değeri 2.08 mg/L olarak belirlenmiştir. Çalışma bulgularımıza benzer olarak Dalvi ve Davis (1998), 20 g'lık *Ictalurus punctatus*'ta yaptıkları akut toksisite çalışmasında chlorpyrifos için 96 saatlik LC_{50} değerini

Tablo 1. Chlorpyrifosun *C. Carpio* üzerinde 96 saat'lik akut toksisite test sonuçları

Noktalar	Derişimler (mg/L)	%95 Güven Sınırları	Eğim ± SH	İntersept ± SH
0.01	0.97625	0.30755 - 1.35887	7.08 ± 2.10	-2.25 ± 0.76
0.05	1.21810	0.51561 - 1.58160		
0.10	1.37065	0.67649 - 1.72162		
0.15	1.48423	0.81024 - 1.82814		
0.50	2.07820	1.61414 - 2.53648		
0.85	3.15099	2.57233 - 5.59524		
0.90	3.15099	2.57233 - 5.59524		
0.95	3.54560	2.81288 - 7.30753		
0.99	4.42398	3.28741 - 12.20117		

2.077 mg/L bildirmişlerdir. Diğer balık türlerinde yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. 80g ağırlığındaki *Oreochromis niloticus*'ta yapılan akut toksisite çalışmasında ise chlorpyrifos'un 96 saatlik LC₅₀ değeri 1.023 mg/L, *G. affinis*'te 0.30 mg/L, *Channa punctatus*'ta 0.811mg/L olarak belirlenmiştir (Girón-Pérez vd., 2006; Venkateswara vd., 2005; Daoud vd., 2008).

Bir maddenin akut toksisite değeri balık türlerine göre değiştiği gibi, aynı türün farklı büyüklükteki bireylerinde de değişiklik göstermektedir. De Mel ve Pathiratne, (2005), 110-340 mg ağırlığındaki *C. carpio* yavrularında yaptıkları bir çalışmada, %40 saflıktaki ticari chlorpyrifosun 96 saatlik LC50 değerini 0.008 mg/L olarak belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada %20 etkin madde içeren chlorpyrifosun, 6 g ağırlığındaki *C. carpio*'da 24 saatlik LC50 değeri 5.28 mg/L olarak bildirilmiştir (Ramesh ve Saravanan, 2008). Bu çalışmada ise %99 saflıktaki chlorpyrifosun juvenil *C. carpio*'da 96 saatlik LC₅₀ değeri 2.08 mg/L olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, chlorpyrifosun toksik etkisinin saflık derecesine, balık büyüklüğü ve ortam şartlarına göre değiştiğini göstermektedir.

Davranış değişiklikleri, potansiyel toksik etkilerin en duyarlı belirteçleridir. Chlorpyrifosun balık davranışlarına etkileri, kontrol akvaryumu balıklarıyla karşılaştırılarak ortaya konulmuştur. Kontrol grubu test süresince normal davranışlar göstermiştir. Davranış değişimleri uygulamadan bir saat sonra başlamıştır. En düşük derişim olan 0.10 mg/L'de kontrol grubundakine benzer davranışlar gözlenmiştir. Gözlenen davranış değişimlerinin, kontrol grubuna göre daha az hareketlilik, denge kaybı, düzensiz yüzme ve uzun süreli hareketsiz kalma şeklinde olduğu saptanmıştır. 0.50 mg/L'ye maruz kalan balıklar ara sıra denge kaybı göstermişlerdir. Denge kaybı 1.50 mg/L'lik derişimde sıklaşmaya başlamış, 2.50

mg/l'lik derişimde hareketsiz kalma, titreme, yüze inip çıkma hareketleri gözlenmiştir. En yüksek derişim(3.50 mg/L) uygulanan balıklar genel hareketlerde daha fazla azalma, denge kaybı, su içerisinde dikey olarak asılı durma, hızlı solungaç hareketleri, spiral şeklinde ani yüzme hareketi, uzun süreli hareketsiz kalma ve aniden harekete geçme şeklinde davranış göstermişlerdir. Bu sonuçlar organofosforlu pestisitlerle yapılan diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Machado ve Fanta, 2003; Venkateswara vd. 2003; Venkateswara, 2004; Venkateswaravd., 2005; Kavitha ve Venkateswara, 2007). *G.affinis* 'techlorpyrifosun subletal derişimlerinin yüzme hızına etkilerinin incelendiği bir çalışmada, yüzme hızında günden güne azalmalar görüldüğü belirtilmiştir. Bu bulguların chlorpyrifosun nörotoksik etkisiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Venkateswara vd., 2005).

Tarım ilaçları tüm abiyotik ortamı özellikle de su ve toprağı kirletmektedirler. Yeraltı sularının ve diğer su kaynaklarının bu yolla kirlenmesi, sucul organizmalar ve balıklar için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır (Selvi vd., 2004). Tarımsal faaliyetlerde oldukça yoğun olarak kullanılan insektisitlerden chlorpyrifosun, balıklar ve hedef olmayan diğer türler üzerindeki subkronik ve kronik etkileri hakkında ayrıntılı veri bulunmamaktadır. Bu durumda çeşitli insektisitlerin akut ve kronik toksisite üzerine çalışmaların arttırılması, sucul ekosisteme etkilerinin anlaşılması için gerekli olmaktadır.

Bu çalışmadan elde edilen veriler, günümüzde tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan chlorpyrifos'un *C. carpio* üzerine akut toksisitesinin oldukça yüksek olduğunu, bu gibi insektisitlerin kullanımının kontrol altına alınması gerektiğini göstermektedir.

Ayrıca, potansiyel toksik etkilerin en duyarlı belirteçleri olarak davranış değişikliklerinin toksisite çalışmalarında kullanılmasının faydalı olacağı düşünülmektedir.

Kaynaklar

- Anonim, 1990. Endüstriyel sıvı atıklar ve atıklar-akut zehirlilik deneyleri-canlılık deney Metodları. TS 8264.
- Chandrasekara, L.W.H.U., Pathiratne, A. 2007. Body size-related differences in the inhibition of brain acetylcholinesterase activity in juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by chlorpyrifos and carbosulfan. *Ecotoxicol. Environ.*, Saf 67: 109-119.
- De Mel, G.W.J.L.M.V.T.M., Pathiratne, A. 2005. Toxicity assessment of insecticides commonly used in rice pest management to the fry of common carp, *Cyprinus carpio*, a food fish culturable in rice fields. *J. Appl. Ichthyol.*, 21: 146-150.
- Dalvi, R.R. And Davis, S.W. 1998. Role of β -Naphthoflavone in the acute toxicity of chlorpyrifos in channel catfish. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 60: 335-339.
- Daoud, A., Nagpure, N.S., Kumar, S., Kumar, R., Kushwaha, B. 2008. Genotoxicity assessment of acute exposure of chlorpyrifos to fresh water fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. *Chemosphere*, 71: 1823-1831.
- Girón-Pérez, M.I., Barcelós-García, R., Vidal-Chavez, Z. G., Romero-Bañuelos, C. A., Robledo-Marengo, M.L. 2006. Effect of chlorpyrifos on the hematology and phagocytic activity of Nile tilapia cells (*Oreochromis niloticus*). *Toxicol. Mech. Meth.*, 16: 9495-499.
- Finney, P.J. 1971. Probit analysis. Cambridge University Press, Cambridge, 3rd edition, 333 pp.
- Kammerbauer, J., Moncada, J. 1998. Pesticide residue assessment in three selected agricultural production systems in the Choluteca River Basin of Honduras. *Environ. Pollut.*, 103: 171-181.
- Kavitha, P., Venkateswara Rao, J. 2007. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 87: 182-188.
- Machado, M.R., Fanta, E. 2003. Effects of the organophosphorous methyl parathion on the branchial epithelium of a freshwater fish *Metynnis roosevelti*. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 46: 361372.
- Saygi, Ş. 2003. Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi. *Gülhane Tıp Dergisi* 45 (3): 291-298.
- Selvi, M., Sarıkaya, R. ve Erkoç, F. 2004. Acute behavioral changes in the guppy (*Poecilia reticulata*) exposed to temephos. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi* 17(4): 15-19.
- Singh, R. N., Pandey, R. K., Singh, N. N., Das, V. K. 2009. Acute toxicity and behavioral responses of common carp *Cyprinus carpio* (Linn.) to an organophosphate (Dimethoate). *World J. Zool.*, 4 (2): 70-75.
- Stalin, S.I., Kiruba, S., Das, S.S.M. 2008. A Comparative study on the toxicity of a synthetic pyrethroid, deltamethrin and a neem based pesticide, azadirachtin to *Poecilia reticulata* Peters 1859 (*Cyprinodontiformes: Poeciliidae*). *Turk. J. Fish. Aquat Sci* 8: 01-05.
- Venkateswara, R., J., Shilpanjali, D., Kavitha, P., Madhavendra, S.S. 2003. Toxic effects of profenofos on tissue acetylcholinesterase and gill morphology in a euryhaline fish *Oreochromis mossambicus*. *Arch. Toxicol.* 77: 227-232.
- Venkateswara, R., J. 2004. Effects of monocrotophos and its analogs in acetylcholinesterase activity inhibition and its pattern of recovery on euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59: 217-222.
- Venkateswara, R., J., Ghousia, B., Pallela, R., Umsan, P.K. And Nageswara Rao, R. 2005. Changes in behaviour and brain acetylcholinesterase activity in mosquito fish, *Gambusia affinis* response to the sublethal exposure to chlorpyrifos. *Int. J. Environ. Res. Pub. Health.*, 2: 478483.
- Verep, B., Kaplan, F., Yörük, Y., Turan, D. 2005. Karbaril'in tatlısu kefalı (*Leuciscus cephalus*) üzerine akut toksik etkisi. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 3: 341-345, Trabzon.