

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ PESTİSİTLERİN *Gammarus kischineffensis*'İN
ANTİOKSİDAN ENZİM SİSTEMİ VE BAZI BİYOBELİRTEÇLER
ÜZERİNE ETKİSİ

Özlem DEMİRCİ

Doktora Tezi

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

Şubat-2013

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
DİYARBAKIR

Özlem DEMİRCİ tarafından yapılan “Çeşitli Pestisitlerin *Gammarus kischineffensis*'in Antioksidan Enzim Sistemi ve Bazı Biyobelirteçler Üzerine Etkisi” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ

Üye : Prof. Dr. Murat ÖZMEN

Üye : Prof. Dr. Kemal GÜVEN (Danışman)

Üye : Doç. Dr. Elif İpek SATAR

Üye : Doç. Dr. Veysel TOLAN

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 28/02/2013

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2013

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmamda değerli bilgilerini, yardımlarını esirgemeyen, cesaretlendiren ve yol gösteren danışman hocam Sayın Prof. Dr. Kemal GÜVEN'e;

Çalışmamın her aşamasında özverili yardımlarını esirgemeyen ve İnönü Üniversitesi'ndeki tüm imkanlarını kullanmamı sağlayan ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Dilek HAMAMCI ASMA'ya;

Dicle Üniversitesi Fen Fakültesi Hidrobiyoloji Laboratuvarı'nın tüm imkanlarını bana açmakla kalmayıp çalışmamın her aşamasında beni desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Erhan ÜNLÜ'ye;

Tezimin deney aşamasında değerli bilgileriyle katkıda bulunan Sayın Doç. Dr. Elif İpek SATAR'a;

Çalışmamın her aşamasında soruları ve eleştirileriyle yol gösteren Sayın Doç. Dr. Veysel TOLAN'a;

Doktora çalışmamda İnönü Üniversitesi Çevre Toksikolojisi laboratuvarının imkanlarını kullanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. Murat ÖZMEN'e;

Çalışmalarımın her aşamasında bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Abbas GÜNGÖRDÜ'ye ve özellikle İnönü Üniversitesi'nde gerçekleştirdiğim deneysel çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Miraç UÇKUN'a;

Doktora tez çalışmamın her aşamasında yardımlarıyla beni destekleyen Arş. Gör. Pelin UĞURLU'ya;

Doktora çalışmamda fikirleri ve yardımlarıyla beni destekleyen değerli arkadaşlarım Dr. Nesrin HAŞİMİ, Dr. Fatma MATPAN BEKLER ve Ömer ACER'e;

İstatistiksel analizlerin yapılmasında katkıda bulunan Yrd. Doç. Dr. Ersin UYSAL'a;

Çalışmam süresince beni sabırla ve koşulsuz destekleyen aileme ve eşim Yrd. Doç. Dr. Çaşteğin TURGUNBAYER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak çalışmamıza vermiş olduğu maddi destekten dolayı Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne (DÜBAP/12-FF-87) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK/111T661) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
ÖZET	VI
ABSTRACT	VII
ÇİZELGE LİSTESİ	VIII
ŞEKİL LİSTESİ	IX
KISALTMA VE SİMGELER	XIII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Su Kirliliği	3
2.2. Crustacea Türlerinin Biyoindikatör Olarak Kullanımı	3
2.3. <i>Gammarus kischineffensis</i> Schellenberg, 1937	4
2.4. Pestisitler	5
2.4.1. Pestisit Kullanımının Tarihçesi	5
2.4.2. Pestisitlerin Sınıflandırması	8
2.4.3. Çalışmada Kullanılan Pestisitler	9
2.4.3.1. Atrazin	9
2.4.3.2. Endosulfan	11
2.4.4. Indoxacarb	12
2.4.5. Thiamethoxam	14
2.5. Akut Toksikite Testleri	16
2.6. Biyobelirteçler	17
2.7. Reaktif Oksijen Türleri	18
2.7.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	21
2.7.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) ve Hidroksil Radikali (OH)	22
2.7.3. Singlet (Tekil) Oksijen (1O_2)	23
2.8. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri	23
2.9. Antioksidanlar	25
2.10. Antioksidan Enzimler	26
2.10.1. Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6)	27
2.10.2. Süperoksit Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1)	27
2.10.3. Glutasyon S-Transferaz (GST, EC 2.5.1.18)	28

2.10.4. Glutasyon Redüktaz (GR, EC 1.6.4.2)	29
2.11. Glutasyon (GSH).....	30
2.12. Asetilkolin Esteraz (AChE, EC 3.1.1.7)	31
2.13. Konu Kapsamı	31
3. MATERYAL VE METOT	37
3.1. Çalışmada Kullanılan Organizma	37
3.2. Çalışmada Kullanılan Pestisitler	37
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	38
3.4. Canlıların Elde Edilmesi	38
3.5. Canlıların Laboratuar Koşullarına Adaptasyonu ve Deney Düzeneklerinin Hazırlanması	39
3.6. Akut Toksikite Deneyi	40
3.7. Subakut Toksikite Deneyleri	40
3.8. Kombine etki.....	41
3.9. Canlıların Uygulama Sonrası Alınması ve Homojenizasyonu.....	41
3.10. Enzimatik Çalışmalar	41
3.10.1. Katalaz Aktivite Tayini.....	41
3.10.2. Glutasyon S-Transferaz Aktivite Tayini	42
3.10.3. Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini	42
3.10.4. Asetilkolin Esteraz Enzim Aktive Tayini	42
3.10.5. Süperoksit Dismutaz Aktive Tayini.....	43
3.11. Glutasyon Miktar Tayini	43
3.12. Total Protein Miktarı.....	43
3.13. Pestisit Kalıntı Analizleri	43
3.13.1. Örneklerin Hazırlanması.....	43
3.13.2. Analiz.....	44
3.13.3. Kullanılan Cihaz ve Kromatografik Şartlar	44
3.14. Kombine Etki için Hesaplamalar	45
3.15. İstatistiksel Analiz.....	45
4. Araştırma bulguları	47
4.1. Akut Toksikite Testi Sonuçları.....	47
4.1.1. Atrazinin 24, 48, 72 ve 96. Saat LC ₅₀ Değeri	47
4.1.2. Endosulfanın 24, 48, 72 ve 96. Saat LC ₅₀ Değeri.....	47
4.1.3. Indoxacarbın 24, 48, 72 ve 96. Saat LC ₅₀ Değeri	48
4.1.4. Thiamethoxamın 24, 48, 72 ve 96. Saat LC ₅₀ Değeri	48
4.1.5. Subletal Pestisit Uygulamaları Sonucunda Belirlenen Enzim Aktiviteleri	49

4.1.1. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Atrazine Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	49
4.1.1.1. GST Aktivitesi	49
4.1.1.2. CAT Aktivitesi.....	50
4.1.1.3. SOD Aktivitesi.....	51
4.1.1.4. GR Aktivitesi	52
4.1.1.5. AChE Aktivitesi.....	53
4.1.1.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Atrazine Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	54
4.1.2. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Endosulfan Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	55
4.1.2.1. GST Aktivitesi	55
4.1.2.2. CAT Aktivitesi.....	56
4.1.2.3. SOD Aktivitesi.....	57
4.1.2.4. GR Aktivitesi	58
4.1.2.5. AChE Aktivitesi.....	59
4.1.2.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Endosulfan Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	60
4.1.3. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Indoxacarb Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	61
4.1.3.1. GST Aktivitesi	61
4.1.3.2. CAT Aktivitesi.....	62
4.1.3.3. SOD Aktivitesi.....	63
4.1.3.4. GR Aktivitesi	64
4.1.3.5. AChE Aktivitesi.....	65
4.1.3.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Indoxacarb Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	66
4.1.4. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Thiamethoxam Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	67
4.1.4.1. GST Aktivitesi	67
4.1.4.2. CAT Aktivitesi.....	68
4.1.4.3. SOD Aktivitesi.....	69
4.1.4.4. GR Aktivitesi	70
4.1.4.5. AChE Aktivitesi.....	71
4.1.5. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 Thiamethoxam Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri	72
4.2. Subletal Kombine Etki Sonuçları.....	73

4.2.1. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 Atrazin ve Endosulfan Kombinasyonuna Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Kontrol Göre % Değişimler.....	73
4.2.1.1. GST Aktivitesi	73
4.2.1.2. CAT Aktivitesi.....	74
4.2.1.3. SOD Aktivitesi.....	75
4.2.1.4. GR Aktivitesi	76
4.2.1.5. AChE Aktivitesi.....	77
4.2.1.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 Atrazin ve Edosulfan Kombinasyonuna Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler.....	78
4.2.2. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 Atrazin ve Indoxacarb Kombinasyonuna Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler.....	79
4.2.2.1. GST Aktivitesi	79
4.2.2.2. CAT Aktivitesi.....	80
4.2.2.3. SOD Aktivitesi.....	81
4.2.2.4. GR Aktivitesi	82
4.2.2.5. AChE Aktivitesi.....	83
4.2.2.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 Atrazin ve Indoxacarb Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler	84
4.2.3. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 Atrazin ve Thiamethoxama Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler	85
4.2.3.1. GST Aktivitesi	85
4.2.3.2. CAT Aktivitesi.....	86
4.2.3.3. SOD Aktivitesi.....	87
4.2.3.4. GR Aktivitesi	88
4.2.3.5. AChE Aktivitesi.....	89
4.2.3.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 Atrazin ve Thiamethoxama Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler ...	90
4.3. Pestisit Kalıntı Analiz Sonuçları	91
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	97
6. KAYNAKLAR	119
ÖZGEÇMİŞ.....	135

ÖZET

ÇEŞİTLİ PESTİSİTLERİN *Gammarus kischineffensis*'İN ANTIOKSİDAN ENZİM SİSTEMİ VE BAZI BİYOBELİRTEÇLER ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Özlem DEMİRCİ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2013

Dünyada en fazla kullanılan tarımsal mücadele yöntemleri, kimyasal yöntemlerdir. Kimyasal mücadelenin temelinde pestisit denilen sentetik zirai maddeler vardır. Pestisitler tarımda kullanılan, ürün kaybına yol açan böcek, hayvan ve bitkilerin gelişimini önlemek, bu zararlı canlıları yok etmek, geri püskürtmek veya bu canlıların sayısını azaltmak için üretilmiş kimyasal maddeler ya da biyolojik ajanlardır (virüs, bakteri). Bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda insan, hava, su, toprak ve yabani hayat olumsuz etkilenmekte, hedef alınan canlılarda direnç oluşmakta, doğal hayatın ve yararlı canlıların öldürülmesiyle doğal denge bozulmakta ve bitkilerde fitotoksisite görülmektedir.

Yüzey suları ve içerdikleri doğal komünite, pek çok antropojenik toksik kimyasalla kontamine olmuştur. Sucul ekosistemlerin korunabilmesi için bu kimyasalların etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu antropojenik kimyasallardan en ciddi problem yaratanlar pestisitlerdir. Çünkü pestisitler canlıları (hem hedef hem de hedef olmayan organizmaları) öldürmek için özel olarak tasarlanmış ve çoğunlukla kasıtlı olarak doğaya bırakılan kimyasallardır. Yoğun tarım, hava ve yüzey sularının kirlenmesine, su sistemlerinin ötrifikasyonuna, sera gazları emisyonlarına ve asit yağmurlarına neden olmaktadır. Uzun zamandır tarımsal alanlarda zararlılarla mücadele etmek, dolayısı ile verimi artırmak için kullanılan pestisitler insan sağlığını ve çevreyi ciddi anlamda tehdit etmektedir.

Çalışmamızda kullandığımız *Gammarus kischineffensis*, Crustacea sınıfına ait bir türdür. Crustacea sınıfına ait türler genelde su sistemlerindeki kirliliği belirlerken biyoindikatör olarak kullanılmaktadır. Ayrıca *Gammarus kischineffensis* balıklar için besin kaynağıdır bu nedenle besin piramidinin temel basamaklarından birini oluşturmaktadır ve biyolojik birikimdeki yeri nedeniyle önem arz etmektedir. Bu araştırma kapsamında, endosulfan, indoxacarb, thiomethoxam ve atrazinin ve bu pestisitlerin kombine kullanımlarının, *Gammarus kischineffensis*'in antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerine etkilerinin incelenmesi ve bu organizmalarda bıraktığı kalıntı düzeyleri araştırılmıştır.

Sonuç olarak, pestisitlerin tek ve kombine kullanımlarının *Gammarus kischineffensis*'in antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerinde etkili olduğu gözlenmiştir. Endosulfan dışındaki tüm pestisitler için kalıntı tespit edilmiştir ve sonuçların enzim cevapları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Gammarus kischineffensis*, antioksidan enzimler, asetilkolinesteraz, pestisit kalıntısı.

ABSTRACT

THE EFFECT OF VARIOUS PESTICIDES ON THE ANTIOXIDANT ENZYMES SYSTEM OF *Gammarus kischineffensis* AND SOME BIOMARKERS

PhD THESIS

Özlem DEMİRCİ

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF DICLE

2013

Chemical methods are the most used agricultural combat methods in the World. Pesticides used in agriculture are chemical materials or biological agents (virus, bacteria), which are produced to prevent growth of harmful insects, animals and plant or to destroy, to repulse these pests or to reduce the number of these pests. As a result of senseless usage of pesticides; human, air, water, soil and wild life is adversely effected, resistance occurs in target organisms, natural balance disturbs because of killing natural life and phytotoxicity has been detected in plants.

Surface waters and their natural communities are contaminated with several anthropogenic toxic chemicals. In order to protect aquatic ecosystems, the effects of these chemicals should be evaluated. Among the anthropogenic chemicals, pesticides may cause the most serious problems because they are designed specifically to kill organisms (both the noxious target organisms and other non-target ones) and they are released into the natural environment intentionally. Intensive agriculture causes pollution of air and surface water, eutrophication of water systems, emissions of greenhouse gases and acid rains. While pesticides used in every field of life increase the quality of life, they cause adverse effects on environment and living organisms. Pesticides used in order to fight with pests, thereby to increase yield for many years, seriously threaten human health and environment.

Gammarus kischineffensis used in the study is a species which belongs Crustacea Subylum. Generally, the species belonging to Crustacea Subylum are used as an indicator in order to determine pollution in water systems. Also *Gammarus kischineffensis* is among the daily dietary of some freshwater fish species, consists basic step of food pyramid and so, is important because of place in bioaccumulation (biomagnification) process. In this research, it is aimed to examine the effects of some pesticides such as endosulfan, indoxacarb, thiomethoxam and, atrazine and combined effects of these pesticides on antioxidant and detoxification enzymes of *Gammarus kischineffensis* and to investigate residue levels of these pesticides in this organism.

Finally, it was observed that use of pesticides single or combined have effects on antioxidant and detoxification enzymes of *Gammarus kischineffensis*. The residues of all pesticides except endosulfan were determined and the results are in agreement with enzymes response.

Keywords: *Gammarus kischineffensis*, antioxidant enzymes, acetylcholinesterase, pesticide residue.

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Pestisit gelişiminin kronolojisi	7
Çizelge 2.2. Sucul organizmalar için toksisite katagorileri	17
Çizelge 3.1. Laboratuvar şartlarında kullanılan kavanozlardaki suyun kimyasal özellikleri	40
Çizelge 3.2. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'de kalıntı analizi için GC çalışma şartları	44
Çizelge 4.1. Atrazin 24, 48, 72, 96. Saat LC ₅₀ Değerleri	47
Çizelge 4.2. Endosulfan 24, 48, 72, 96. Saat LC ₅₀ Değerler	47
Çizelge 4.3. Indoxacarb 24, 48, 72, 96. Saat LC ₅₀ Değerleri	48
Çizelge 4.4. Thiamethoxam 24, 48, 72, 96. Saat LC ₅₀ Değerleri	48
Çizelge 4.5. Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 konsantrasyonlarda atrazine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in enzim aktivite değişimleri	54
Çizelge 4.6. Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 konsantrasyonlarda atrazine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in enzim aktivite değişimleri	60
Çizelge 4.7 Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 konsantrasyonlarda indoxacarb maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in enzim aktivite değişimleri	66
Çizelge 4.8 Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 konsantrasyonlarda thiamethoxama maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in enzim aktivite değişimleri	72
Çizelge 4.9. Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarda atrazin ve endosulfanın kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % enzim aktivite değişimleri	78
Çizelge 4.10. Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarda atrazin ve endosulfanın kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % enzim aktivite değişimleri	84
Çizelge 4.11. Her bir zaman diliminde LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarda atrazin ve thiamethoxamın kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % enzim aktivite değişimleri	90
Çizelge 4.12. Kalıntı analizi sonuçları	94

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Atrazinin moleküler yapısı	10
Şekil 2.2. Endosulfanın moleküler yapısı	12
Şekil 2.3. Indoxacarbın moleküler yapısı	12
Şekil 2.4. Thiamethoxamın moleküler yapısı	16
Şekil 2.5. Reaktif oksijen türlerinin endojen ve eksojen kaynakları	19
Şekil 2.6. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyon yolları	20
Şekil 2.7. Oksijen radikallerinin oluşumu	21
Şekil 2.8. Önemli antioksidan enzimler	26
Şekil 2.9. GST-ksenobiyotik konjugasyonu	29
Şekil 2.10. Glutatyon biyosentezi ve etkileşim süreçleri	30
Şekil 3.1. <i>Gammarus kischineffensis</i> Schellenberg, 1937	37
Şekil 3.2. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in toplandığı alan	39
Şekil 4.1. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 atrazine maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler	49
Şekil 4.2. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 atrazine maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler	50
Şekil 4.3. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 atrazine maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler	51
Şekil 4.4. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 atrazine maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki değişimler	52
Şekil 4.5. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 atrazine maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler	53
Şekil 4.6. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 endosulfana maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler	55
Şekil 4.7. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 endosulfana maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler	56
Şekil 4.8. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 endosulfana maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler	57

Şekil 4.9. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 endosulfana maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki değişimler	58
Şekil 4.10. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 endosulfan maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler	59
Şekil 4.11. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler	61
Şekil 4.12. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler	62
Şekil 4.13. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler	63
Şekil 4.14. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki değişimler	64
Şekil 4.15. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler	65
Şekil 4.16. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler	67
Şekil 4.17. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler	68
Şekil 4.18. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler	69
Şekil 4.19. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki Değişimler	70
Şekil 4.20. <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in LC ₅₀ /100 ve LC ₅₀ /10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler	71
Şekil 4.21. Atrazin ve endosulfanın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % GST enzim aktivitesi değişimleri	73
Şekil 4.22. Atrazin ve endosulfanın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % CAT enzim aktivitesi değişimleri	74
Şekil 4.23. Atrazin ve endosulfanın LC ₅₀ / konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % SOD enzim aktivitesi değişimleri	75
Şekil 4.24. Atrazin ve endosulfanın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % GR enzim aktivitesi değişimleri	76

Şekil 4.25. Atrazin ve endosulfanın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % AChE enzim aktivitesi değişimleri	77
Şekil 4.26. Atrazin ve indoxacarbın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % GST enzim aktivitesi değişimleri	79
Şekil 4.27. Atrazin ve indoxacarbın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % CAT enzim aktivitesi değişimleri	80
Şekil 4.28. Atrazin ve indoxacarbın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % SOD enzim aktivitesi değişimleri	81
Şekil 4.29. Atrazin ve indoxacarbın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % GR enzim aktivitesi değişimleri	82
Şekil 4.30. Atrazin ve indoxacarbın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % AChE enzim aktivitesi değişimleri	83
Şekil 4.31. Atrazin ve thiamethoxamın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % GST enzim aktivitesi değişimleri	85
Şekil 4.32. Atrazin ve thiamethoxamın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % CAT enzim aktivitesi değişimleri	86
Şekil 4.33. Atrazin ve thiamethoxamın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % SOD enzim aktivitesi değişimleri	87
Şekil 4.34. Atrazin ve thiamethoxamın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % GR enzim aktivitesi değişimleri	88
Şekil 4.35. Atrazin ve thiamethoxamın LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in kontrole göre % AChE enzim aktivitesi değişimleri	89
Şekil 4.36. Standart karışıma ait kromatogram	91
Şekil 4.37. Atrazin LC ₅₀ /100'lük konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'e ait kromatogram.	91
Şekil 4.38. Atrazin LC ₅₀ /10'lük konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan <i>Gammarus kischineffensis</i> 'e ait kromatogram	92

- Şekil 4.39.** Atrazinin LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 92
- Şekil 4.40.** Atrazinin LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 92
- Şekil 4.41.** Indoxacarbın LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 93
- Şekil 4.42.** Indoxacarbın LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 93
- Şekil 4.43.** Indoxacarbın LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 93
- Şekil 4.44.** Thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 93
- Şekil 4.45.** Thiamethoxamın LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram 94
- Şekil 4.46.** Thiamethoxamın LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram. 94

KISALTMA VE SİMGELER

AChE:	:Asetilkolin esteraz
ACTI	:Asetiltiokolinioid
BSA	:Bovine Serum Albumin
CAT	:Katalaz
CDNB	:1-kloro, 2-4 dinitrobenzen
DDT	:Diklorodifeniltrikloroetan
DTNB	:5-5' - dithiobis (2-nitrobenzoik asit)
EDTA	:Etilendiamin tetraasetikasit
GPx	:Glutatyon peroksidaz
GR	:Glutatyon redüktaz
GSH	:Redükte Glutatyon
GSSG	:Okside Glutatyon
GST	:Glutatyon S-transferaz
H ₂ O ₂	:Hidrojen peroksit
KH ₂ PO ₄ :	:Potasyum dihidrojen fosfat
LO ⁻	:Alkoksil Radikali
LOO ⁻	:Peroksil Radikali
LOOH	:Lipid Hidroperoksit
M	:Molar
µL	:Mirolitre
mL	:Mililitre
N	:Normal
NAD ⁺	:Nikotinamid adenin dinükleotid (okside)
NADPH	:Nikotinamid adenin dinükleotid (redükte)

NaH_2PO_4	:Sodium dihidrojen fosfat
NaHCO_3	:Sodyum bikarbonat
nm	:Nanometre
O_2^-	:Süperoksit anyonu
$^1\text{O}_2$:Singlet (Tekil) Oksijen
$\cdot\text{OH}$:Hidroksil radikalini
ppm	:Milyonda bir birim
ROT	:Reaktif oksijen türlerinin
SOD	:Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

İnsanlar yüzyıllarca çevreyi denetim altına alma çabası içerisinde olmuşlardır. Günümüzde ürün alma, yaşama standardı, yerleşme vb. açılardan akıl almaz olanaklara kavuşurken, çevre üzerindeki etkisi sürekli olarak artmış ve kendi varlığını tehlikeye düşürür duruma gelmiştir. Çeşitli amaçlarla her yıl yüzlerce yeni kimyasal madde üretilerek satışa sunulmakta ve neticede çevreye verilmektedir. Bu yeni ve eski kimyasal bileşiklerin çoğu biyosfer için toksik etkiye sahiptir. Özellikle pestisitler gibi çevreye büyük miktarda ve bilinçli olarak bırakılan kimyasallar kaygı vericidir. Pestisitler işlevleri gereği en azından biyosferin bir kısmı için toksik olmak zorundadır. Ancak bir bileşiğin çevresel toksisitesi çok daha geniş boyutlardadır ve bu devamlılık genel olarak ciddi bir kaygıya neden olmaktadır (Fernández-Alba ve ark. 2002). Çevreye herhangi bir materyalin girişi, biyolojik sistemler üzerinde bir etkiye sahiptir. Günümüzde çevreye verilen kimyasalların yarattığı etkilerin belirlenmesi ve olası çözüm yollarının bulunması amacıyla çeşitli çevresel izleme çalışmaları yapılmaktadır.

Genelde içme sularında, nehirlerde, göllerde ve diğer sucul ortamlarda, pestisitler tek başına veya bir karışım olarak karşımıza çıkmaktadır. (Fernández-Alba ve ark. 2002) Bu nedenle pestisitlerin olumsuz etkilerine maruz kalan önemli canlı gruplarının başında sucul ortamlarda yaşanan organizmalar gelmektedir. Tatlı sularda yaşayan ve sıklıkla biyoindikatör olarak kullanılan *Gammarus* (Crustacea) türleri de bu organizmalar arasındadır (Kuhn ve Streit 1994, Güven ve ark. 1999, Sornom ve ark. 2010).

Çalışmamızda kullandığımız endosulfan insektisiti Türkiye’de ve pek çok gelişmiş ülkelerde kullanımı yasaklanmıştır. Fakat ülkemizin bulunduğu konum nedeniyle hava, su vb. yollarla diğer kullanılan bölgelerden kolaylıkla taşınmaktadır. Aynı zamanda organoklorlu bir pestisit olduğu için doğadaki ve canlılardaki yarı ömrü fazladır ve yağda çözünebilme özelliğinden dolayı organizmalarda depolanmaktadır. Tüm bu özellikleri nedeniyle çalışmamızda kullanılmıştır. Kullandığımız diğer insektisitler yeni nesil olarak adlandırılan ve "daha az toksik" olarak sınıflandırılan pestisitlerdir. Fakat DDT’nin II. Dünya Savaşı’nda "zararsız" olduğu düşünülerek insanlar üzerinde doğrudan kullanıldığı göz önünde bulundurulacak olursa, günümüzde de güvenli olarak sınıflandırılan bu pestisitlerin mutlaka toksikolojik açıdan test

edilmesi gerekmektedir (Güler ve Çobanoğlu 1997). Ayrıca kullandığımız pestisitler bölgemizde yaygın olarak üretilen tarımsal ürünlerin (pamuk vb.) korunmasında kullanılan çevresel kirleticilerdir. Bu çalışmada yaygın olarak kullanılan bir herbisit olan atrazinin diğer insektisitlerle (indoxacarb, thiamethoxam, endosulfan) olan kombine etkisi incelenmiştir.

Çalışmamızda öncelikle tüm pestisitler için 96 saatlik LC_{50} değerleri belirlenmiştir. LC_{50} her zaman için bir kimyasal maddenin tüm toksisite veya zararlılık spektrumunu yansıtmayabilir. Toksisitesi düşük olan bazı kimyasal maddeler, akut toksisite göstermedikleri dozda karsinojenik veya teratojenik olabilir. Bu nedenle çalışmamızda oksidatif stresin varlığını ve derecesini ortaya koymak için biyobelirteç olarak kullanılan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler ve glutatyon (GSH) miktarı; detoksifikasyondan sorumlu olan glutatyon S-transferaz (GST) enzimi ve çevresel kirleticilerin nörotoksik etkilerini ortaya koymak için sıklıkla biyobelirteç olarak kullanılan asetilkolinesteraz (AChE) enziminin farklı konsantrasyonlardaki ($LC_{50}/100$ ve $LC_{50}/10$) pestisitler (endosulfan, indoxacarb, thiamethoxam, atrazin) ile zamana bağlı olarak değişimleri incelenmiştir. Ayrıca pestisit kalıntı analizleri gerçekleştirilmiştir. Çevre kirliliğinin değerlendirilmesinde, kimyasal analiz ile elde edilen verilerin ve biyobelirteç olarak adlandırılan biyolojik cevapların birlikte kullanılması, kirleticilerin organizmalar üzerindeki zararlarının araştırılmasında oldukça önemlidir.

Yaptığımız çalışmada endosulfan gibi organoklorlu bir insektisit ile yeni nesil insektisitler olan indoxacarb ile thiamethoxam ve triazin bir herbisit olan atrazinin, tatlı sularda yaşayan, biyoindikatör bir tür olan *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937 üzerindeki toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ekotoksikoloji alanında yapılan kombine etki çalışmalarında çoğunlukla insektisitler kullanılmaktadır. Fakat bugün canlılar "kimyasal maddelerin oluşturduğu bir okyanus" içinde yaşamaktadır. Bu nedenle doğal alanlarda sıklıkla birlikte kullanılan insektisitler ve herbisitlerin birlikte etkileri önem arz etmektedir. Yaptığımız çalışmada bu konudaki eksikliklerin ortadan kaldırılması hedeflenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Su Kirliliği

Su insanoglu için en önemli doğal kaynaklardan biridir. Doğru su yönetimi evsel ve endüstriyel ihtiyaçları karşılama, sulama, ticari balıkçılık, enerji üretimi ve taşkınlardan korunmak için gereklidir. Fakat su yönetiminin en önemli amacı sucul yaşamı oluşturan öğelerin, yani doğal flora ve faunanın korunmasıdır. Bu amaç doğrultusunda suyun derinliği, akıntı rejimi, sıcaklık, bulanıklık, substrat özellikleri gibi pek çok faktör belirli sınırlar içinde tutulmalıdır. Bilinçli ya da bilinçsiz deşarjlar (boşaltım) sonucunda bu faktörlerde oluşan değişiklikler sucul canlılar tarafından tolere edilemeyebilir ve suyun biyolojik özelliklerinin de değişmesine yol açabilir (Abel 1996).

Sucul ortamlarda su kalitesi anahtar parametredir. Ancak bazı kirleticilerin tür ve kominite düzeyindeki etkileri ile ilgili bilgilerimiz oldukça kısıtlıdır. Özellikle toksik kirleticilerin (pestisitler, ağır metaller, boyalar, petrol ve türevleri v.b) karışımlarının etkileri daha da belirsizdir. Geleneksel su kalitesi izleme çalışmaları daha çok tek bir kimyasalın olması gereken eşik değerini belirlenmesi seviyesinde kalmaktadır. kimyasalların karışımının subletal kombine etkileri ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalar gerçekçi biyolojik etki araçlarının kullanılabilmesi ve çevresel koruma için stratejiler geliştirilebilmesinde oldukça önemlidir (Langston ve ark. 2007, Donner ve ark. 2010).

2.2. Crustacea Türlerinin Biyoindikatör Olarak Kullanımı

Crustacea'lar pek çok sucul sistemde biyoindikatör ve biyomonitör olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Crustacea'ların kullanılmasının başlıca nedeni karalar, denizler ve tatlı sular gibi çok çeşitli habitatlarda yayılış göstermesidir. Bu nedenle karşılaştırmalı toksisite çalışmaları için oldukça ilgi çekici canlılardır. Crustacea'ların üreme stratejileri gibi bazı özellikleri, bu organizmaların biyoindikatör olarak kullanıldığı çalışmalardan elde edilen bilgilerin yorumlanmasında ve çevre toksikolojisinde gelinen noktanın geliştirilmesinde oldukça önemlidir. Crustacea'lar kısa hayat döngüsüne sahiptir. Ayrıca bu canlılar, çevresel bozulmalara son derece duyarlıdır ve deneysel çalışmalarda ksenobiyotiklere kolaylıkla yanıt oluştururlar.

İşte tüm bu nedenlerden dolayı Crustacea'lar ekotoksikolojik çalışmalar için ideal canlılardır (Winston ve Di Giulio 1991, Costa 2000). Biyoindikatör ve biyomonitör terimleri her zaman açık bir şekilde ayırt edilemeyebilir.

Biyoidikatör terimini, varlıklarının ya da yokluklarının bize ortamın çevresel durumu, canlıların yaşam hikayesi veya popülasyon dinamikleri hakkında bilgi veren canlı toplulukları için kullanırız.

Biyomonitor terimi ise kirleticilerin varlığı ile meydana gelen geçici ve coğrafik değişimleri, canlının bütün vücudunda yada belli bir dokusunda biriken kimyasal konsantrasyonlarını ölçerek ortaya koymak için kullanılabilen organizmaları tanımlar (Rainbow 1995, Gestel ve Brummelen 1996, Rinderhagen ve ark. 2000).

Yani biyoindikatörler çevre ile ilgili nitel bilgiler sağlarken, biyomonitörler hem nitelik hem de nicelikle ilgili bilgiler sunabilmektedir (Markert ve ark. 2003).

2.3. *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937

Gammaridae familyası Avrupa'nın temiz su kaynaklarında bulunan en önemli omurgasız gruplarından biridir (Cold ve Forbes 2004). Bu familya, tatlı su ekosistemlerinin besin zincirinde büyük bir rol oynar ve birçok balık türü için önemli bir besin kaynağıdır (Maltby 1994). Bu çalışmada kullanılan *Gammarus kischineffensis* Schellenberg 1937'in taksonomisi aşağıdaki gibidir:

- **Phylum:** Arthropoda
 - **Subphylum:** Crustacea
 - **Classis:** Malacostraca
 - **Subclassis:** Eumalacostraca
 - **Superordo:** Peracarida
 - **Ordo:** Amphipoda
 - **Subordo:** Gammaridea
 - **Superfamilia:** Gammaroidea
 - **Familia:** Gammaridae
 - **Genus:** *Gammarus*
 - *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937

Toksisite testlerinde *Gammarus kischineffensis* gibi indikatör bir türün kullanılması, akuatik sistemlerin korunması için önemlidir. *Gammarus* genusuna ait amfipodlar tatlı sular için risk değerlendirmesi yapılırken yaygın olarak kullanılmaktadır (Rinderhagen ve ark. 2000). Dolayısıyla *Gammarus kischineffensis* gibi türler olası bir çevresel kirleticiden en çok etkilenecek canlılar arasında yer alır.

2.4. Pestisitler

Dünya nüfusunun hızla artması açlık tehlikesini gündeme getirmektedir. Dünya nüfusunun süratle artmasına paralel olarak, gıda maddesi talebi de artmaktadır. Bu talebin karşılanabilmesi için, birim alandan daha fazla verim elde etmede kullanılan maddelerden birisi de pestisitlerdir (Atasoy 2007). Amerika Çevre Koruma Dairesi (U.S. Environmental Protection Agency, EPA)'ne göre; tarımsal üretimi olumsuz yönde etkileyen haşereler, kemiriciler, mantarlar ve yabancı otlar gibi zararlılara karşı kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik ajanlara pestisit denir (Klaassen 2001).

Pestisitler çevremize amaçsız, sınırsız, nerede ise kontrolsüz olarak atılan bir kaç toksik kimyasal grubundan birisidir. Bunlar toksik ve biyosidal maddelerdir. Her türlü pestisit bu özelliğinin göz önüne alınması, doğal yaşamla ilgili değerlendirmelerde bunun anımsanması gerekir. Pestisitler hemen hemen her türlü çevresel ögede bulunmaktadır. Havada, suda, toprakta, yağmurda, karda, buzda, yüzeysel sularda ve siste bulunabilmektedir. Dünyadaki bütün canlılar pestisitlerden etkilenir. ABD'deki bir yasada pestisitlerden "ekonomik zehirler" olarak bahsedilmektedir (Güler ve Çobanoğlu 1997). Pestisitler kullandıkları alanlardan ve üretildikleri tesislerden çeşitli yollarla doğal ortamlara ulaşarak, çok uzak mesafelerde bile ekolojik problemlere yol açmaktadır. Bu nedenle doğal ortamlara bulaşan kirleticilerin, bu ortamlarda yaşayan organizmalar üzerinde ne tür etkiler yapabileceğini bilmemiz önem kazanmaktadır.

Türkiye'de yıllık pestisit tüketimi, yıllık iniş ve çıkışlara rağmen, 1979-2007 yılları arasında %270 oranında artmıştır (Durmuşoğlu ve ark. 2013).

2.4.1. Pestisit Kullanımının Tarihçesi

Kullanılan en eski pestisitler arasında derris ağacının köklerinden elde edilen rotenon ve tütün bitkisinden elde edilen nikotin gibi doğal insektisitler bulunmaktadır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

1980'lerden beri bakır sülfat ve kalsiyum hidroksit karışımı gibi bakır fungusitler kullanılmaktadır.

1930'lu yıllarda pestisit üretiminde önemli gelişmeler olmuştur. Bir Alman firması tarafından organik fosforlu bileşiklerin böcek öldürücü etkisi ilgili bir çalışma yürütülürken sentetik insektisitler geliştirilmiştir. Bu çalışmalarda organofosfatlı (OPs) insektisitlerin insanlar gibi hedef olmayan organizmalardan çok böcekler üzerine toksik etkisi ortaya konulmuştur. Hegzoklorosiklohegzan gibi organoklorlu insektisitler ile organofosfatlıların üretimi hemen hemen aynı zamanda gerçekleştirilmiştir. DDT (Diklorodifeniltrikloroetan) ise ilk olarak 1874 yılında sentezlenmiş olmasına rağmen 1939 yılına kadar insektisit özelliği keşfedilmemiştir. (Brooks 1974).

1942 yılında İtalya'da askeri birliklerdeki bir tifüs salgınında DDT kullanımı, salgını kısa sürede ortadan kaldırmıştır. Pestisitlerle ilgili ilk ciddi eleştiri biyolog Rachel Carson'un 1962 yılında yayımladığı "silent spring" kitabıyla ortaya çıktı. DDT ve klorlu hidrokarbonların çevredeki dayanıklılığını, insan ve hayvanların yağ dokularında birikimini, hedef olmayan veya olmaması gereken türler üzerindeki toksik etkisiyle, ekolojik ve insan sağlığıyla ilgili yıkıcı etkilerini dile getirdi.

WHO'nun başlattığı sıtma eradikasyon programı ise 1965 tarihinden başlayarak 15 milyon yaşamı kurtarmıştır. 1960'lı yıllarda başlayan diğer bilimsel araştırmalarda DDT'nin farelerde karsinojenik olduğu belirlenmiş, 1971 yılında ABD'de yasaklanmıştır. 1974-1984 yılları arasında İngiltere'de gönüllü olarak terk edilmesi yoluna gidilmiş, günümüzde tümüyle yasaklanmıştır. Bütün bunlar pestisitlerle ilgili ikilemleri çok net bir şekilde ortaya koymaktadır. Bir yandan pestisitlerin sağladığı yararları diğer yandan zararları savunanlar kuşkusuz haklı birçok gerekçeye sahiptiler. DDT'ye karşı olan gruplar sıtma eradikasyon programının uygulandığı bölgelerde DDT'nin etkili olmadığını, buna karşı hızla direnç geliştiğini belirlediler. Üstelik DDT'nin sivrisineklerle beslenen birçok hayvan türünün de ölümüne neden olduğu gösterildi. 1930'lu yıllara kadar daha çok bitkisel kaynaklı (*Nicotiana tabacum*, *Strychnos nux vomica* gibi) veya anorganik (bakır sülfat, kurşun arsenit, bakır arsenit gibi) maddeler, pestisit aktif maddesi olarak kullanılmıştır. 1930'lu yıllardan itibaren modern sentez kimyasındaki devrim ile birlikte alkil tiyosiyanat insektisitleri, ditiyokarbamat fungusitleri, etilen bromür, karbon sülfür fumiganları gibi çeşitli etken

maddeler geliştirilmiştir. II. Dünya Savaşı başlarında ise çeşitli kimyasal maddeler (DDT, klorofenoksiasetik asit grubu maddeler gibi) deneysel olarak araştırılmaya başlanmıştır ve savaş sırasında bu aktiviteler sır olarak kalmıştır. II. Dünya Savaşı'ndan sonra tarımsal ilaçlarda çok hızlı bir gelişme olmuştur. Bütün bu araştırma ve gelişmelerde en önemli hedef, pestisitlerin yok edilmesi istenen zararlıya karşı selektif (seçici) ve spesifik toksisite göstermesi ve diğer canlılar için minimum toksik etkiye sahip olmasıdır. Böylece ilk sentez edilen pestisit aktif maddelerinin *ikinci ve üçüncü jenerasyonları* olarak isimlendirilen daha güvenilir maddelerin sentezi yapılmıştır. Ancak her pestisit bir dereceye kadar toksisitesi vardır ve sağlık açısından "tam güvenceli" bir pestisit yoktur. Bununla beraber, belirli koşullarda kullanıldıklarında riskleri azaltılabilir (Vural 1995, Güler ve Çobanoğlu 1997). Pestisit gelişiminin kronolojisi Çizelge 2.1.'de özetlenmiştir (Ongley 1996).

Çizelge 2.1. Pestisit gelişiminin kronolojisi

Dönem	Örnek	Kaynak	Özellik
1800-1920	İlkin organikler, nitrofenol, klorofenol, kreozot, naftalin, petrol yağları	Organik kimya, kömür gazı üretimi yan ürünleri, vs	Genellikle özgüllüğü düşüktür ve kullanıcı ya da hedef dışı organizmalar için toksiktir
1945-1955	Klorlu organik, DDT, HCCH, klorlu siklodien	Organik sentez	Kalıcı, iyi seçicilik, iyi tarım özellikleri, iyi bir halk sağlığı performans, dayanıklılık, zararlı ekolojik etkileri
1945-1970	Kolinesteraz inhibitörleri, organik fosfor bileşikler, karbamatlar	Organik sentez, iyi yapı-etki ilişkileri	Düşük kalıcılık, bazı kullanıcı toksisitesi, bazı çevre sorunları
1970-1985	Sentetik piretroitlerden avermektinler, juvenil hormon taklitçileri, biyolojik pestisitler	Rafine edilmiş yapı etki ilişkileri, yeni hedef sistemler	Eksik seçicilik, direnç, yüksek maliyet ve değişken kalıcılık
1985-	Genetiği değiştirilmiş organizmalar	Faydalı bitki ve hayvanlara ve diğer organizmalara biyolojik pestisit üretimi için gen transferi. Pestisitlerin hedef dışı etkilerine dirençlilik için genetik çeşitliliğe sahip bitkiler	Mutasyonlarla ilgili olası problemler mikrobiyal ekolojideki bozulmalar ürünlerdeki monopoli

2.4.2. Pestisitlerin Sınıflandırması

Pestisitler temel olarak hedef organizmaya göre, kimyasal yapılarına göre ve etki şekillerine göre sınıflandırılmaktadır.

Hedef organizmaya göre başlıca pestisitler:

PESTİSİTLER	HEDEF ORGANİZMA
İnsektisitler	Böcekler
Fungusitler	Mantarlar
Herbisitler	Bitkiler
Mollusitler	Yumuşakcalar
Rodentisitler	Kemirgenler
Akarasitler	Akarlar
Nemotisitler	Nematodlar

Kimyasal yapılarına göre pestisitler:

1. Organofosfatlar
2. Karbomatlar
3. Organoklorinler
4. Piretrum; sentetik pretiroitler
5. Fenoller
6. Morfolinler
7. Kloroalkiltiyoller
8. Organometalikler
9. Azoller
10. Bipiridilyum Bileşikler
11. Üreazlar=tiyoüreaz
12. Anilinler
13. Kloronitril

Etki şekillerine göre pestisitlerin sınıflandırılması:

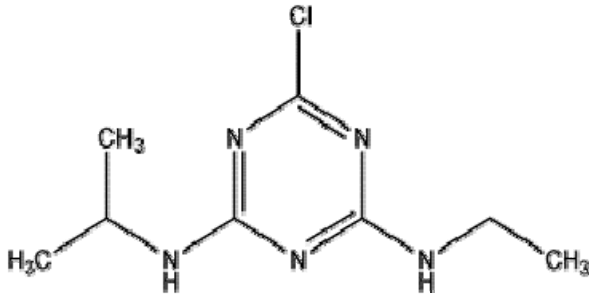
1. Asetilkolinesteraz (kolinesteraz) inhibitörleri
2. Kitin sentezi inhibitörleri
3. Ekdizon agonisti
4. GABA bloklayıcı (-amino bütirik asit inhibitörü)
5. Jüvenil hormon analogu (böcek büyüme regülatörleri)
6. Antikoagülant
7. Glutamin sentetaz inhibitörü
8. Steroit demetilasyon (ergosterol biyosentezi) inhibitörü
9. Protoporfirinojen oksidaz inhibitörü
10. RNA-polimeraz inhibitörü
11. Tiyol reaktantı
12. Protein sentezi inhibitörü
13. Fotosentetik elektron taşıma inhibitörü
14. Mitokondriyal solunum inhibitörü

2.4.3. Çalışmada Kullanılan Pestisitler

2.4.3.1. Atrazin

Atrazin 1950'li yıllardan itibaren üretilen tarımda ve ormancılıkta yaygın olarak kullanılan bir pestisittir. Örneğin; çim alanlarda, geniş yapraklı yabancı otların kontrolünde, bağlarda, meyve bahçelerinde, narenciye bahçelerinde, şeker kamışı bulunan alanlarda ve çayırılık alanlarda kullanılmaktadır. Dünya genelinde yıllık 70.000-90.000 tonluk kullanımıyla en çok kullanılan pestisittir (Graymore ve ark. 2001).

Atrazin (6-chloro-*N*-ethyl-*N'*-(1-methylethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine) bir triazin herbisittir. Bu kimyasal tersinir olarak fotosentezi inhibe ederek istenmeyen bitkilerin gelişimini durdurur (Solomon ve ark. 1996). Atrazin canlılar için endokrin bozucu olarak etkisini gösterir (Colborn ve ark. 1993) Bu herbisit oda sıcaklığında kristal yapıda sert ve beyaz bir kimyasaldır. Sudaki çözünürlüğü litrede 28 mg, erime sıcaklığı 176°C ve buhar basıncı 0.04 mPa'dır (Kidd ve James 1991). Atrazinin moleküler yapısı Şekil 2.1.'de verilmiştir (Wiegand ve ark. 2000).



Şekil 2.1. Atrazinın moleküler yapısı

Son yıllarda sucul alanlara ve yeraltı sularına sürekli atrazin girişiyle ilgili endişeler artmaktadır. Atrazin, soğuk ve kuru ortamlarda, geniş bir pH aralığında oldukça kalıcıdır. Bundan dolayı bu herbisit soğuk iklime sahip bir çok ülkede yasaklanmıştır (Graymore ve ark. 2001). Atrazinın etkisi nemli toprakta arttığı için daha çok kış yağmurlarından sonra uygulanmaktadır. Bu nedenle pestisitın topraktan süzülerek yeraltı sularına veya direk yüzey sularına ulaşması da kolaylaşmaktadır. ABD’deki yeraltı sularında diğer herbisitlere oranla 20 kat fazla atrazin tespit edilmiştir (Graymore ve ark. 2001). Atrazin dünyada yoğun bir şekilde kullanılmasına rağmen bu herbisidin sucul komüniteler ve ekosistemelere etkisine dair çok az çalışma yapılmıştır. Yapılan az sayıdaki çalışmalardan birinde, Christopher ve Bird (1992), Chesapeake körfezindeki balıkların sayısında meydana gelen azalmanın su altı bitkilerinin azalmasından ötürü meydana geldiğini bildirmişlerdir. Su bitkilerinde meydana gelen bu azalmanın ise sedimentte yüksek miktarda tespit ettikleri atrazin seviyesinden kaynaklandığını rapor etmişlerdir.

Atrazin kısmen hidrofiliktir ve yüksek derecede sıvı çözünürlüğüne sahiptir. Bu durum atrazinın toprağa yüksek oranda bağlanma kabiliyetini göstermektedir (Graymore ve ark. 1999). Daha önceki çalışmalarda yüzey sularında ve akıntılarında önemli miktarda atrazin ve metabolitlerinin varlığı bildirilmiştir (Frank ve Sirons 1979, Glotfelty ve ark. 1984, Gish ve ark. 1991).

Atrazin kalıcılığı ve toksisitesi çeşitli olan birçok metabolite parçalanabilir. Atrazinın en kalıcı metabolitleri hidroksi atrazin (HA), deetilatrazin (DEA), deizopropilatrazin (DIA), didealkilatrazin (DDA) ve dietilhidroksi atrazin (DEHA)’dır. Toprakta atrazinın degradasyonunu hidroliz, adsorbsiyon, buharlaşma, fotodegradasyon ve mikrobiyal degradasyon süreçleri belirler (Graymore ve ark. 2001).

Atrazin ürünlere uygulandıktan sonra topraktaki yüksek hareketliliğinden dolayı su kaynaklarına karışabilir (Waring ve Moore 2004). Hussein ve arkadaşları (1996), atrazinin sucul ekosistemlere ulaşmasının su kaynaklarının tarım arazilerine olan yakınlığı ya da tarım çevrelerinde dikkatsiz uygulamalar nedeniyle olduğunu bildirmişlerdir. WHO raporuna göre (1996) atrazin yüzey suyunda fotoliz ve mikroorganizmalar tarafından degrade edilebilir.

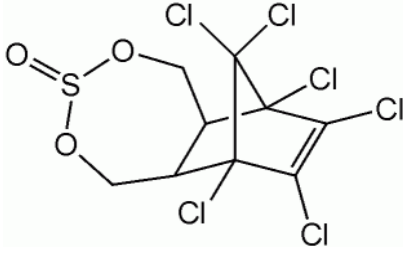
2.4.3.2. Endosulfan

Organoklorlu pestisitler, yapılarında klor bulunan aromatik veya alifatik bileşiklerdir. Kimyasal yapılarına göre 3 sınıfta toplanırlar; diklorodifeniletan yapısında (DDT, DDD, dicofol, metoksiklor, metloklor gibi), klorlu siklodien yapısında (aldrin, dieldrin, endosulfan, heptoklor gibi) ve klorlu benzen ve sikloheksan (BHC, HCB, lindan gibi) yapısında olanlar (Klaassen 2001).

Endosulfan (6,7,8,9,10,10- hexa chloro- 1,5,5a,6,9,9a- hexahydro – 6,9- methano- 2,4,3- benzodioxathiepine-3-oxide) geniş spektrumlu siklodien bir organoklorlu pestisittir ve WHO (1984) tarafından kısmi tehlikeli kimyasallar içinde sınıflandırılmıştır (Shao ve ark. 2012). İlk kez 1950 yılında üretilmiştir. Tarımda akarisit ve insektisit olarak kullanılır. Teknik endosulfan genellikle kahverenkli, şeffaf, ince tabakalar halinde satılır ve 70:30 oranındaki iki stereoizomer olan alfa ve beta endosulfanın karışımından oluşmaktadır (Kwon ve ark. 2002).

Endosulfan endokrin bozucu ve nörotoksin olarak etkisini gösterir. Canlılardaki GABA reseptör kompleksini inhibe eder (Pennington ve ark 2004, Sohn ve ark. 2004).

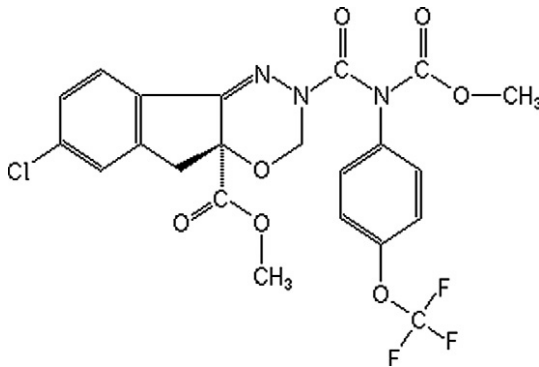
Erime noktası 70-100°C, buhar basıncı 25°C 'de 1×10^{-5} mm Hg'dır ve sudaki çözünürlüğü düşüktür (Cengiz 1997). Bu nedenle toprakta alfa izomeri 60 gün beta izomeri 800 gün kalıcı iken suda 3 ila 15 gün kalıcıdır (Ballesteros ve ark. 2009). Endosulfanın moleküler yapısı Şekil 2.2.'de verilmiştir (Bisson ve Hontela 2002).



Şekil 2.2. Endosulfanın moleküler yapısı

2.4.4. Indoxacarb

Indoxacarb ((S)-methyl 7-chloro-2, 5-dihydro-2- [[(methoxycarbonyl) [4 - (trifluoromethoxy) phenyl] amino] carbonyl] indeno[1,2-e][1,3,4] oxadiazine-4a(3H)-carboxylate), 2001 yılında tanıtılan, oksadiazin sınıfına ait sodyum kanalı bloke edici ilk ticari insektisittir (Zhao ve ark. 2005). Indoxacarbın dekarbometoksilat metaboliti (DCJW) böceklerde sodyum kanallarını inhibe ederek böceğin ölümüne neden olur (Wing ve ark. 1998). Teknik indoxacarb beyaz tozlu solid bir yapıdadır. Kokusu yumuşaktır ve zararsızdır. Oda sıcaklığında bir yıl boyunca stabil kalabilir. Hafif asidik solüsyonlarda stabil kalırken, bazik ve nötral solüsyonlarda hızlıca hidrolize olur. Indoxacarb S-izomerli bir kimyasal yapıya sahiptir. Bu yapı üretici firması olan Dupont tarafından DPX-KN128 olarak adlandırılmaktadır ve indoxacarbın R-izomeri olan DPX-KN127 insektisit aktivitesi göstermemektedir. DPX-MP062 bu iki izomerin 75:25 oranında karıştırılmasından elde edilmiştir. DPX-JW062 ise aynı iki izomerin 50:50 oranında karıştırılmasından oluşmuştur. DPX-JW062, DPX-MP062'ye göre daha az insektisit aktivitesi göstermektedir fakat birçok fizikokimyasal çalışmadan ve alan çalışmalarından elde edilen bilgiler DPX-JW062 kullanılarak sağlanmıştır (Brugger 1997). Indoxacarbın moleküler yapısı Şekil 2.3.'de verilmiştir (Gamil ve ark. 2011).



Şekil 2.3. Indoxacarbın moleküler yapısı

Indoxacarb, meyve (elma, armut ve domates), sebze (brokoli, bürüksel lahanası, lahana, karnabahar, mısır, patlıcan, alabaş, patates, biber ve marul) ve pamuk gibi çok sayıda tarımsal ürünlerin zararlılara karşı korunmasında kullanılmaktadır. Indoxacarb pancar kökü tırtılı, lahana tırtılı, mısır tırtılı, elmas sırtlı güve, domates kıl kurdu ve domates meyve tırtılı gibi zararlıların kontrolünde kullanılmaktadır. Böcekler indoxacarb'a direkt ya da sindirim yoluyla maruz kalırlar. Indoxacarb böcek tarafından absorbe edildiğinde ya da sindirildiğinde böcekte beslenme, 2 ya da 8 saat içinde durur. Bu kimyasal, sinir hücrelerindeki iyon kanallarına bağlanır ve bu kanalları inhibe ederek sodyumun kanallardan geçmesine engel olur. Böylece sinir iletimi zayıflar, böcek felce uğrar ve ölür (Brugger 1997).

Indoxacarb oldukça iyi toksikolojik ve ekotoksikolojik profile sahiptir. Organofosfat ve karbamatlarla karşılaştırıldığında oldukça düşük memeli ve kuş toksisitesine sahiptir. Indoxacarb sistemik değildir ve EPA tarafından düşük riskli pestisitler sınıfına alınmıştır (EPA 2000).

Indoxacarb 25°C de 1.0×10^{-7} mm Hg'dan daha düşük basınç altında uçucu değildir. Düşük buharlaşma basıncı, buharlaşmanın indoxacarb için çevreye yayılmada önemli bir mekanizma olmadığını göstermektedir (Cobranchi ve Schmuckler 1997). Kubiak (1996) tarafından DPX-JW062 kullanılarak yapılan bir çalışmada bitkilerden ve topraktan hektar başına sıkılan 600 gr aktif maddenin 7 gün sonunda %3'ünden azının buharlaştığı gösterilmiştir.

Indoxacarb; alkalik katalizli bozunmaya, suda fotodegradasyona (ışıkla parçalanma) ve mikrobiyal degradasyona maruz kalmaktadır. Nötral aerobik sucul sistemlerde indoxacarbın yarı ömrü 18 ile 34 gün arasında değişmektedir. Anaerobik ortamlarda indoxacarb stabildir (Hetrick ve ark. 2005). Indoxacarbın hidroliz oranı pH ile doğru orantılı olarak artmaktadır. DPX-JW062'nin yarılanma ömrü pH 5, 7 ve 9 da sırasıyla 500, 38 ve 1 gün olarak hesaplanmıştır (Ferraro ve McEuen 1996). Hidroliz, indoxacarb için çevrede önemli bir dağılma mekanizmasıdır.

Akuatik fotoliz çalışmalarında radyoaktif olarak işaretlenmiş DPX-JW062 ve DPX-MP062 yapay güneş ışığı altında merkezi çekirdeklerini kaybederek hızlıca bozunurlar. Sudaki yarı ömrünün az olması indoxacarbın akuatik sistemlerde kısa bir süre varlığını sürdürmesine neden olmaktadır. Bu durum indoxacarb için akuatik

sisitemlerde kronik maruziyetin çok önemli olmadığını göstermektedir (Ferraro ve McEuen 1996, Lentz 2002).

Berg'in yaptığı toprak fotolizi çalışmasında (1997) Tama'dan alınan alüvyon sediment örneklerinde indoxacarbın bozunmasının yapay güneş ışığı altında oldukça yavaş olduğu gözlenmiştir. Bu durum toprak fotolizinin çevrede önemsiz bir rol oynadığını göstermektedir.

DPX-MP062 suda bozunur ve sedimente geçer. Burada tekrar bozularak diğer metabolitlere dönüşür, sedimentin organik yapılarıyla birleşir ve karbondioksit mineralize olur. DPX-MP062'nin hem suda hem de sedimentte dağılımı oldukça hızlıdır. Suda dağılma yarı ömrü (DT50) 1-2 gün iken, sedimentte dağılma yarı ömrü 3-12 gün arasındadır. Akvatik ortamlarda indoxacarbın düşük bozunma oranı sucul canlılar için düşük maruziyetin var olduğunu göstermektedir (Russell 1997).

Indoxacarbın potansiyel olarak sığ yeraltı sularına erişimi önemsenmeyecek kadar düşüktür. U.S. EPA tarafından son yıllarda yapılan hesaplamalarda indoxacarb ve sınırlı sayıda metabolitlerinin çevresel konsantrasyonun sığ yer altı sularında 0.02 ug/l'yi aşmadığı gösterilmiştir (U.S. EPA 2004, Hetrick ve ark. 2005).

Indoxacarbın 25°C'de anaerobik toprakta bozunma oranı aerobik toprakta bozunma oranından daha yavaştır. Indoxacarb toprakta kısmen kalıcıdır. Aerobik toprakta yarılanma ömrü 1 günle 693 gün ve anaerobik toprakta yarılanma ömrü 147 ile 233 gün arasında değişmektedir (U.S. EPA 2000, Singles 2004). Campell ve arkadaşlarının (2005) yaptığı bir çalışmada indoxacarb 90 gün içinde farklı beş toprağa hızlıca ve sıkıca bağlanmıştır. Bu çalışmada toprağın düzelme oranının topraktaki düşük su çözünürlüğü ve indoxacarbın topraktaki karbon kalıntılarıyla güçlü etkileşimi yüzünden 30 ila 60 gün arasında düşük olduğu gözlenmiştir. Fakat 60 ila 90 gün arasında toprakta sürekli bir düzelme gerçekleşmiştir. Indoxacarbın toprakta bozunması ile toprak pH'ı arasında her hangi bir ilişki gözlenmemiştir.

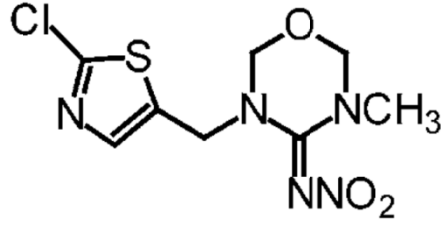
2.4.5. Thiamethoxam

Neonikotinoidler yüksek seçici toksisiteleri olan oldukça yeni insektisitlerdir (Beketov ve Liess 2008). Neonikotinoidler yüksek seçicilikle böceklerin asetilkolin reseptörlerine bağlanırlar (Costa ve ark. 2009). Aynı zamanda suda yüksek çözünürlüğe sahip uçucu olmayan bileşiklerdir. Bu durum doğada hareketli olmalarına neden olsa da

kalıcılıklarını kısıtlar ve hedef olmayan canlılarda uzun süreli etkilerini azaltır (Barbee ve Stout 2009). Bu grup insektisitlerin sıcakkanlı hayvanlara toksisiteyi düşürür. Sıcakkanlı canlılar için zararsız olarak düşünülmesine rağmen, neonikotinoidler yüzey sularında potansiyel olarak birikebilme eğilimine sahiptirler (EPA 2003). Neonikotinoidler doğada büyük miktarda kullanıldıkça bu kimyasalların yüzey sularına karışma ve birikme olasılığı da artmaktadır. Böylece bu pestisitlerin hedef olmayan akuatik böceklerde, kabuklularda ve balıklarda toksik etki gösterme olasılığı da artmaktadır (Tişler ve ark. 2009).

Thiamethoxam, (3-(2-chloro-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-[1,3,5]oxadiazinan-4-ylidene-N-nitroamine) ilk ticari ikinci jenerasyon neonikotinoid insektisittir. Bu insektisit nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanarak bu reseptörü inhibe ederek birçok zararlı böceğin kontrolünde kullanılmaktadır (Maienfisch ve ark. 2001). Thiamethoxam 1998'den itibaren ticari olarak toprak ve tohum uygulamaları için kullanılmaktadır. Türkiye'de de tohum uygulamalarında ve özellikle patates için zararlı olan böceklerin kontrolünde kullanılır.

Thiamethoxam suda sıcaklığa bağlı olarak nötralden alkaline kadar birçok pH aralığında hidrolize olur. Bu kimyasal, ışığa duyarlıdır ve sedimente bağlanır ayrıca indirgenmemiş olmasına rağmen canlılar için substrat olarak kullanılabilir. Thiamethoxam suda oldukça çözüdür. Bu kimyasalın suda degradasyonu temel olarak biyolojik ve fotolitik süreçler sonucu meydana gelmektedir. Thiamethoxam sedimente bağlanıp ya indirgenmediği ya da ekstrakte edilemeyen kalıntılar oluşturduğu için bu kimyasalın suda ve sediment sistemleri içinde dağılabildiği düşünülmektedir. Anaerobik ortamlarda degradasyon meydana gelir ve thiamethoxam genellikle metabolitlerine dönüşür. Sedimente potansiyel olarak bağlanma yeteneği olan ana ürün NOA 407475 (ilk kimyasalın % 63'ünün degradasyonu sonucu oluşan de-nitro türevi) thiamethoxamın redüksiyonu sonucu oluşur. Thiamethoxamın ekotoksikolojik olarak en tehlikeli metaboliti olan CGA 322704 su ve sediment çalışmalarında degradasyon ürünü olarak ortaya çıkmamıştır. Fakat bu metabolit suda her pH ve sıcaklık aralığında stabildir. Su ve sediment sistemlerinde bu metabolit sedimente bağlanabilir ve denitrifikasyonla bozunabilir. Thiamethoxamın moleküler yapısı Şekil 2.4.'de verilmiştir (Maienfisch ve ark. 2001).



Şekil 2.4. Thiamethoxamın moleküler yapısı

2.5. Akut Toksikite Testleri

Bir kimyasal maddenin toksisite potansiyelini öğrenmek için akut toksisite testlerini yapmak zorunluluğu vardır. En yaygın kullanılan akut toksisite testi letalite testidir. Letal doz değeri, o maddenin ne kadar güvenli kullanılabileceğinin de bir göstergesi olarak kabul edilir. Kimyasal maddelerin hava veya sudaki öldürücü doz değerleri ise, letal konsantrasyon (LC_{50}) ile ifade edilir ve belli zaman periyodunda maruz bırakıldığında deney hayvanlarının %50'sini öldüren dozu ifade eder (Parlak ve ark. 2009). Akut letal testler nispeten kısa sürelidir. Bu testler bir hafta veya daha kısa süreli olup, etkileri genellikle dört günde ortaya çıkmaktadır. Ölüm, deneyi sonlandıran etkidir (Parlak ve ark. 2009). Trevan (1927) ilk defa LC_{50} veya açık tanımıyla letal konsantrasyon-50 kavramını “toksik maddeye maruz bırakılmış organizmaların % 50'sini öldüren doz” olarak tanımlamıştır. Toksik etkiyi istatistiksel olarak güvenilir bir tayin şekli olarak teklif etmiştir. Bu durumda, doz yerine çeşitli konsantrasyonlarda madde içeren ortamlara maruz bırakılan canlılar için LC_{50} değeri hesaplanmaktadır. LC_{50} , herhangi bir kimyasalın güvenilir miktarını ifade etmez. Daha çok çevresel kirliliğin söz konusu olduğu durumlarda en iyi ölçüm şeklidir (Parlak ve ark. 2009). Letal doz (LD) ise çok geniş bir sınır içine yayılmış ve kimyasal maddelerin, canlı organizmalarda zararlı etkilerini göstererek ölüme neden olan miktar olarak ifade edilmektedir (Vural 1995). US EPA (U.S. Environmental Protection Agency) tarafından sucül organizmalar için tespit edilen LC_{50} değerlerine göre yapılan toksisite sınıflandırılması Çizelge 2.2.'de verilmiştir (US EPA 2013).

Çizelge 2.2. Sucul organizmalar için toksisite katagorileri

LC ₅₀ (ppm)	Toksisite Kategorileri
< 0.1	Çok yüksek toksik
> 0.1 - 1	Yüksek toksik
> 1 - 10	Kısmen toksik
> 10 - 100	Çok az toksik
> 100	Pratik olarak toksik değil

2.6. Biyobelirteçler

Biyobelirteçler saha veya yarı saha çalışmaları için değerli bilgiler sağlayan ve kimyasalların biyokimyasal hücresel ve doku düzeyindeki fizyolojik etkilerini ölçmek için kullanılan araçlardır. 1980'lerin sonundan beri yaygın olarak kullanılan biyobelirteçler kirleticilerin ve çevresel stresin biyolojik etkilerini izleme çalışmalarında kullanılmaktadırlar (Beliaeff ve Burgeot 2002). Biyobelirteçler hem deniz hem de tatlı sulardaki biyolojik izleme için umut verici araçlardır (Den Besten 1998).

Çalışmamızda da yararlandığımız biyokimyasal belirteçler önemli kirleticilerin toksikolojik mekanizmalarında meydana gelen erken moleküler olaylar arasından seçilmektedir (Banni ve ark. 2005). Biyobelirteçler biyolojik organizasyonların farklı mekanizmaları kullanılarak geliştirilmiştir. Biyokimyasal seviyedeki çalışmalar ağırlıklı olarak, çeşitli kontaminantlar tarafından indüklenen toksisitenin genel metabolik yolu olarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretilmesini inceler (Correia 2003). Bu ROT süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oldukça reaktif hidroksil radikalini ($\cdot OH$) v.b. içermektedir (Winston ve Di Giulio 1991).

İdeal bir biyobelirteçin özellikleri aşağıda sıralanmıştır (Grandjean ve ark. 1994);

1. Örnek toplama ve analiz basit ve güvenilir olmalıdır.
2. Biyobelirteç, maruziyetin belli tiplerine özgü olmalıdır.
3. Biyobelirteç, geri dönüşebilen değişiklikleri yansıtabilmelidir.
4. Duruma müdahale edilebilmek veya önleyici önlemler almak için kullanılabilmelidir.
5. Kullanılan biyobelirteçin etik olarak uygun olması gerekmektedir

Biyobelirteç Türleri (Langston ve ark. 2007);

1. Biyokimyasal biyobelirteçler:

GSH, GST, AChE, SOD, GR, EROD (Etoksiresorufin-O-deetilaz), total oksiradikal süpürücü kapasitesi (TOSC), ısı şok proteinleri.

2. Moleküler ve hücrel biyobelirteçler:

İmmün sistem fonksiyonları, peroksizomal poliferasyon.

3. Genotoksisite, DNA hasarı ve kromozomal sapmalar:

Komet, mikronükleus yapısı.

4. Üreme ile ilgili belirteçler ve endokrin bozucular:

Üreme hormonları, vitelojenin (VTG), zona radiata proteini (ZRp) indüklenmesi.

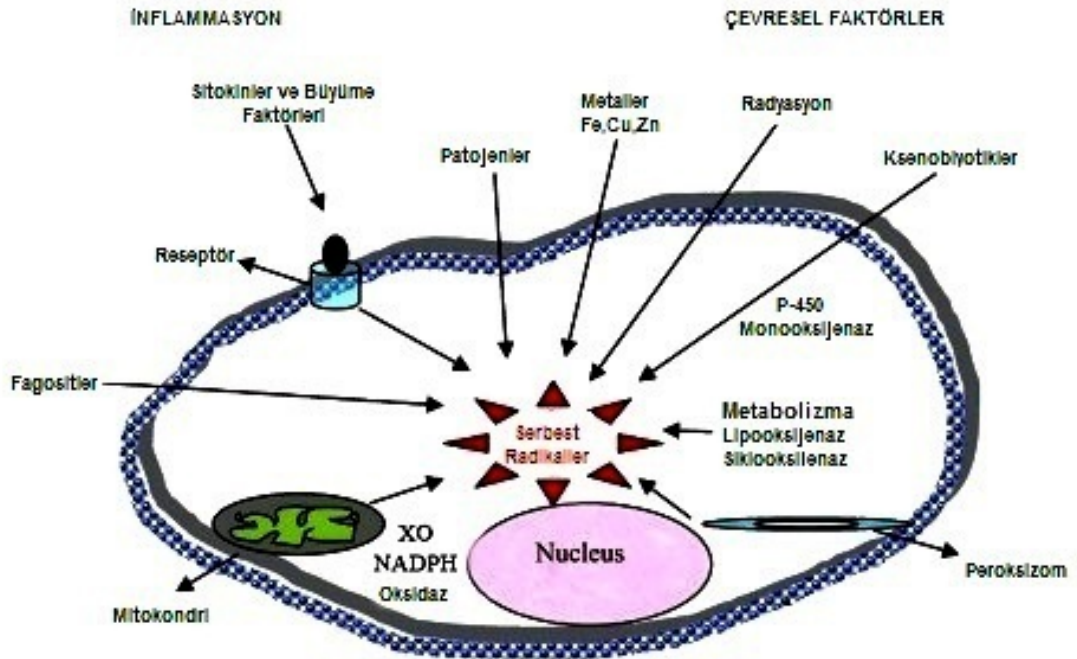
5. Fizyolojik indikatörler:

Histopatolojik değişiklikler, tümör formasyonu,

6. Davranışsal biyobelirteçler

2.7. Reaktif Oksijen Türleri

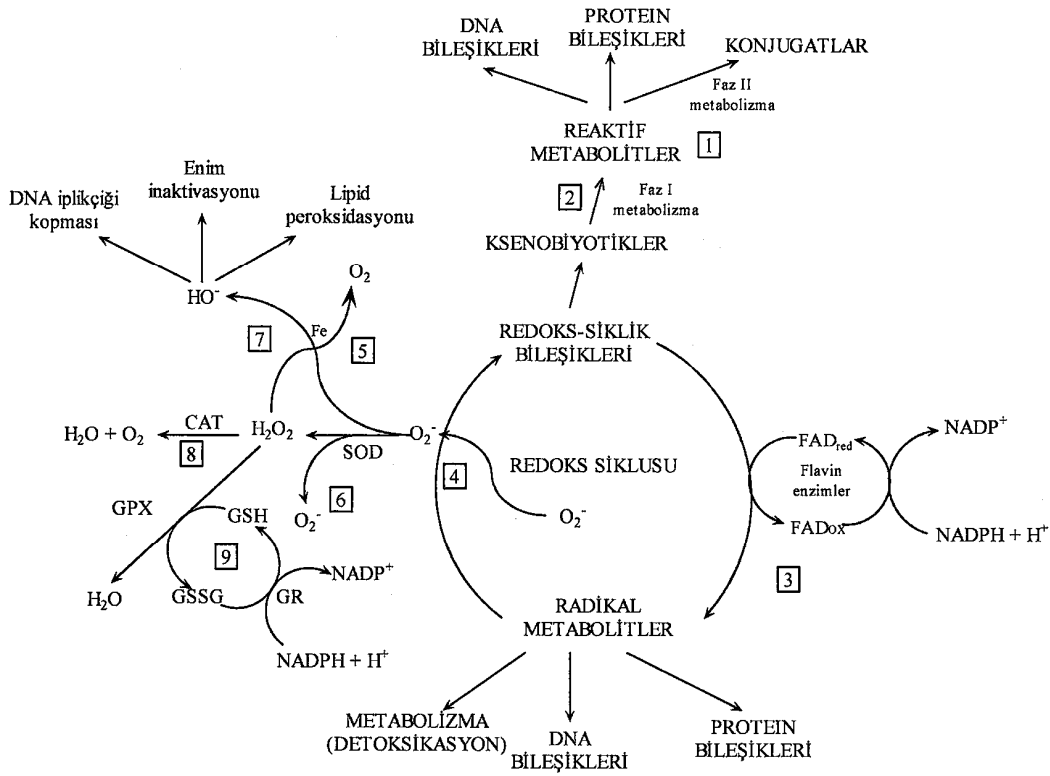
Moleküler oksijen, aerobik canlılarda bol miktarda bulunduğu ve kolaylıkla elektron alabildiği için bu organizmalarda serbest oksijen radikalinin oluşması oldukça sık gerçekleşen bir durumdur. Reaktif oksijen türleri (ROT) mitokondriyal solunum, intraselüler sinyal transdüksiyonu, fagositoz ve ksenobiyotiklerin metabolize edilmesi esnasında üretilmektedir (Badouard ve ark. 2005). Birçok radikal türü olmasına karşın, biyolojik sistemlerde en çok görülen tür oksijenden oluşan ve ortak olarak reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan radikallerdir. Reaktif oksijen türlerinin üretimi endojen ve eksojen kaynaklı olabilmektedir (Şekil 2.5.) (Afonso ve ark. 2007).



Şekil 2.5. Reaktif oksijen türlerinin endojen ve eksojen kaynakları

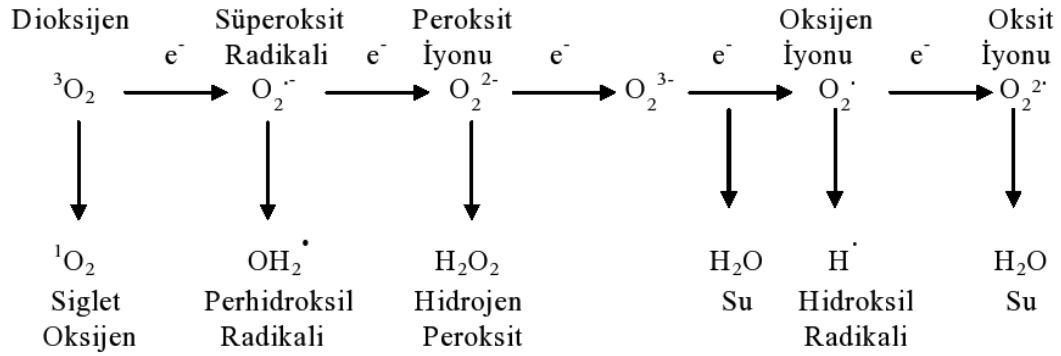
Potansiyel endojen kaynaklar; mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar, nötrofiller ve makrofajlardır. Eksojen kaynaklar; hava kirleticileri, pestisidler, metaller, klorlanmış bileşikler, nanopartiküller ve UVB radyasyon (290-320 nm) olarak sıralanabilir (Bekdeşer 2012).

Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu sonucu serbest oksijen türleri oluşum mekanizması Şekil 2.6.'da özetlenmiştir (Borazan 2004).



Şekil 2.6. Ksenobiyotiklerin detoksifikasyon yolları 1. Faz I metabolizma: Reaktif metabolitler ya faz II enzimlerince detoksifiye edilir ya da hücre bileşenleri ile reaksiyona girer. 2. Faz I metabolizması redoks siklusu bileşenleri. 3. Redoks siklusu ürünleri flavoproteinlerce redüklenir ve radikal metabolitler oluşur. 4. Siklus tamamlanır ve radikal metabolitler otooksidasyona uğrayarak süperoksit anyonu oluşturur ve rejenerasyon gerçekleşir. 5. Demir varlığında süperoksit anyonu hidroksil radikaline dönüşür. 6. Süperoksit anyonu SOD tarafından hidrojen peroksit dönüşür. 7. Demir varlığında hidrojen peroksit Fenton reaksiyonu sonucu moleküler oksijen ve hidroksil radikaline çevrilir. 8. Hidrojen peroksit, ya CAT yada GPx tarafından suya dönüştürülür. 9. Okside glutatyon GR tarafından redükte forma dönüştürülür.

Oksidatif hasara neden olan serbest oksijen türleri (ROT), serbest oksijen radikalleri ve radikal olmayan ROT olarak iki sınıfta incelenebilir. Serbest oksijen radikalleri, bir yada daha fazla ortaklanmamış elektrona sahip bağımsız kimyasal türler olarak tanımlanabilir. Serbest radikaller, radikal olmayan ROT ile reaksiyona girdiğinde yeni radikaller oluşabilir (Halliwell ve Gutteridge 1984). Dioksijenden enerji transferi ile diğer oksijen radikallerinin oluşumu Şekil 2.7.'de gösterilmiştir (Apel ve Hirt 2004)



Şekil 2.7. Oksijen radikallerinin oluşumu

Yaygın olarak görülen serbest radikaller hidroksil radikali ($\cdot OH$), nitrik oksit ($\cdot NO$) ve süperoksit anyonudur ($O_2^{\cdot-}$), singlet oksijen radikal olmayan ROT ise hidrojen peroksittir (H_2O_2) (Shackelford ve Kaufmann 2000). Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri aşağıda sıralanmıştır (Çavdar ve ark. 1997).

1 - Radikaller:

Süperoksit radikal ($O_2^{\cdot-}$)

Hidroksil radikal ($\cdot OH$)

Alkoksil radikal ($LO\cdot$)

Peroksil radikal ($LOO\cdot$)

2 - Radikal olmayanlar:

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Lipid hidroperoksit ($LOOH$)

Hipoklorik asit ($HOC1$)

3 - Singlet oksijen (1O_2)

2.7.1. Süperoksit Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

ROT hücreler ve dokular için oldukça toksiktir. Hüresel metabolizma sürecinde en fazla üretilen ROT süperoksit anyonudur ($O_2^{\cdot-}$). Bu oksijen radikalleri bazı enzimatik reaksiyonların (oksidaz, oksijenaz) yan ürünü olmasına rağmen mitokondrideki elektron transport zincirinin de başlıca ürünüdür. Ayrıca $O_2^{\cdot-}$ bazı

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

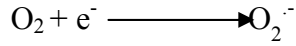
moleküllerin hepatik metabolizması ve oksihemoglobinlerin parçalanması sonucunda da üretilmektedir. Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit, başlıca şu mekanizmalarla üretilmektedir:

1. İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokinonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi yüzlerce biyolojik molekül aerobik ortamda oksitlenirken süperoksit yapımına neden olurlar.

2. Başta çeşitli dehidrogenazlar ve oksidazlar olmak üzere, yüzlerce enzimin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.

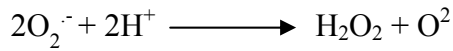
3. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır.

4. Aktive edilen fagositik lökositler bol miktarda süperoksit üreterek fagozom içine ve buldukları ortama verirler (Kılıç ve Kılıç 2002).

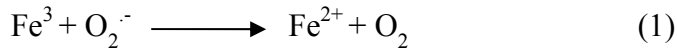


2.7.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ve Hidroksil Radikali (OH[·])

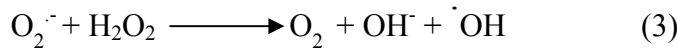
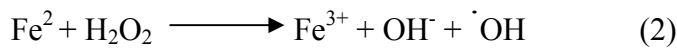
Süperoksit anyonunun (O₂^{·-}) dismutasyonu sonucunda hidrojen peroksit (H₂O₂) oluşmaktadır (Halliwell 1994).



Bu molekül aslında bir serbest radikal değildir. Fakat fenton reaksiyonu sonucunda hidroksil radikaline (OH[·]) dönüşmektedir (Kehrer 2000).

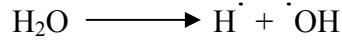


Fenton Reaksiyonu



Net Reaksiyon

Aynı zamanda canlılar iyonize radyasyona maruz kaldığında sudaki O-H bağlarının kırılması ile hidroksil radikali (OH^\cdot) ortaya çıkmaktadır (Kehrer 2000).



Serbest radikaller kimyasal olarak farklı düzeyde reaktiftir. En reaktif olan radikal hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$)'dir ve bu nedenle hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$) büyük ölçüde en çok hasar oluşturan radikal olarak bilinmektedir.

2.7.3. Singlet (Tekil) Oksijen ($^1\text{O}_2$)

Enerji vermek suretiyle meydana gelebilen oksijenin oldukça reaktif şekli singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) olarak bilinmektedir. Yapısında eşleşmemiş elektronu bulunmaması nedeniyle serbest radikal olmadığı halde ROT arasında yer alan ($^1\text{O}_2$) serbest radikal reaksiyonlarının başlamasına neden olması açısından önem taşımaktadır (Sies 1997).

Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiğinde ya içerdiği enerjiyi transfer eder, ya da kovalent tepkimelere girer. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu moleküllerin başında tokoferoller, fenoller, bilirubin, DNA, karotenler, kolesterol, NADPH, triptofan, methionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelir. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini (ROO^\cdot) oluşturur ve HO^\cdot kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Kılınç ve Kılınç 2002).

2.8. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Genel olarak serbest oksijen radikalleri ve özellikle OH^\cdot hücrelerdeki tüm temel moleküllerle (lipidler, amino asitler, karbonhidratlar, nükleotidler) reaksiyona girerek yüksek oranda zarar vermektedirler. Artmış reaktif oksijen türlerinin zararları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Halliwell 1991).

- Hücre organelleri ve membrandaki lipid ve protein yapısını bozarlar,
- Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirirler,
- DNA'yı tahrip ederler,

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

- Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar,
- Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamindioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive ederler,
- Hücrenin potasyum kaybını arttırmaları,
- Trombosit agregasyonunu arttırmaları,
- Dokulara fagosit toplanmasını kolaylaştırırlar,
- Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar,

Bu hasar sonucunda kanser, nöron dejenerasyonu ve immün sistem bozuklukları gibi fizyopatolojik durumlara neden olmaktadır. Serbest radikallerin neden olduğu bu hasarlardan hücrelerin korunabilmesi için hücreden ROT'nin hızlı ve etkili bir şekilde uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu nedenle organizmalar bazı savunma mekanizmalarına (Antioksidan sistem) sahip olacak şekilde evrimleşmişlerdir. Serbest oksijen radikalleri (oksidanlar) ve antioksidan sistem arasındaki denge oksidanlar lehine değiştiğinde ‘‘Oksidatif Stres’’ olarak adlandırılan durum ortaya çıkmaktadır (Halliwell 1991, Halliwell 1994, Rodriguez ve ark. 2004).

Normal metabolizma (Stres koşulları dışında) içerisinde ROT ve diğer pro-oksidanların detoksifikasyonu ve antioksidan savunma sistemi arasında bir denge bulunmaktadır (Halliwell 1991). Antioksidanlar serbest radikalleri ve raktif oksijen türlerini ortadan kaldıran ve lipid, karbonhidrat, protein ve nükleik asitler (DNA) gibi biyolojik moleküllerle reaksiyona girerek, hasar vermesini önleyen doğal moleküllerdir. Normal metabolizma dışında, çok sayıda çevresel kirlenici suçlu hayvanlarda oksidatif stresi indüklenme kapasitesine sahiptir. Organizmalarda, ROT'nin oluşumu ile hücrenel bileşenlerin oksidatif hasarı sonucu gerçekleşen oksidatif strese engel olmak için, antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki (GPx, GST, GR, CAT vb.) değişimle paralel olarak antioksidan savunma sistemi de cevap oluşturmaktadır (Güngördü 2007).

2.9. Antioksidanlar

Antioksidanlar, ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanserojenlerin, toksik maddelerin ve radikallerin olumsuz etkilerine karşı doğrudan ya da dolaylı olarak hücreyi korumaktadır (Eaton ve Hale 1993). Antioksidanlar etkilerini iki şekilde gösterirler (Özbey 2009):

1. Serbest radikal oluşumunun önlenmesi;

- Başlatıcı reaktif türevlerini uzaklaştırıcı etki
- Oksijeni uzaklaştırıcı veya konsantrasyonunu azaltıcı etki
- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırıcı etki

2. Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi;

- Toplayıcı (scavenging) etki: Reaktif oksijen türlerini (ROT) etkileyerek onları tutması veya çok daha az reaktif başka bir moleküle dönüştürülmesi (örneğin: Enzimler),
- Bastırıcı (quencher) etki: Reaktif oksijen türleri (ROT) ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite göstermesi (örneğin: Vitaminler)
- Onarıcı (repair) etki: Hedef moleküllerin hasar sonrası tamir edilmesi (örneğin: Glutasyon),
- Zincir kırıcı (chain breaking) etki: Reaktif oksijen türlerini ve zincirleme reaksiyonları başlatacak diğer maddeleri kendilerine bağlayıp zincirlerini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (örneğin: Fe şelatörleri).

Antioksidan savunma sistemi, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan moleküllerden oluşmaktadır. Enzimatik antioksidanlar:

- Süperoksit dismutaz (SOD)
- Katalaz (CAT)
- Glutasyon Peroksidaz (GPx)
- Glutasyon-S-Transferazlar (GST)
- Glutasyon Redüktaz (GR)

Enzimatik olmayan antioksidanlar ise,

- Glutasyon (GSH)
- Vitaminler (A, C, E)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

➤ Melatonin

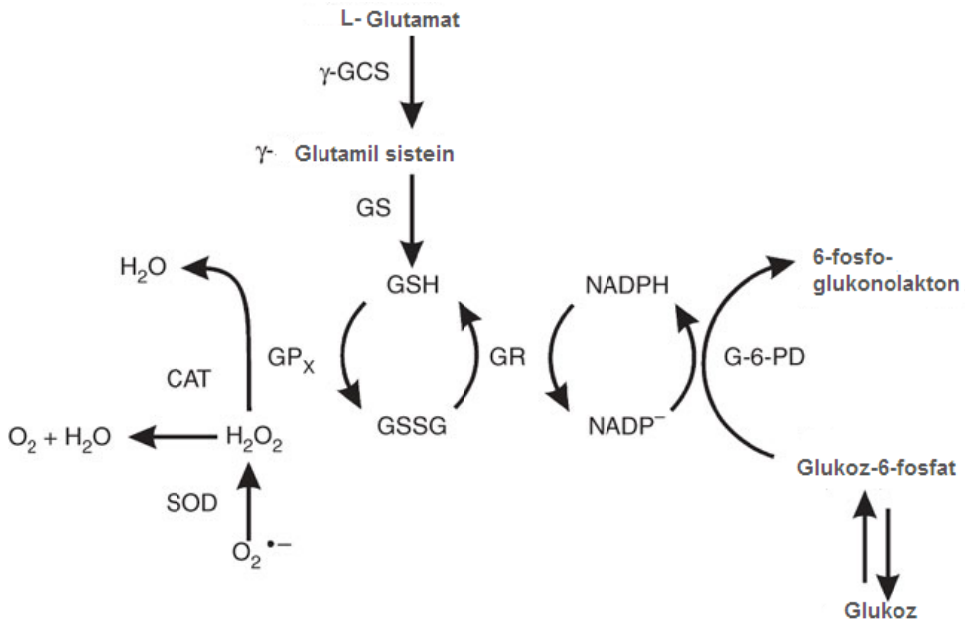
gibi bazı eser elementleri kapsayan antioksidanlardan moleküllerden oluşmaktadır.

Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin:

- Steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin, eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi
- Ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu
- Çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimlerinin etkileri için
- Fagositoz olayının gerçekleşmesi sırasında (solunum patlaması)
- Sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikallerin sentezi olmazsa olmaz bir koşuldur.

2.10. Antioksidan Enzimler

Antioksidan savunmada görev alan önemli enzimler ve sistemin işleyişi Şekil 2.8.'de özetlenmiştir (Weydert ve Cullen 2010).



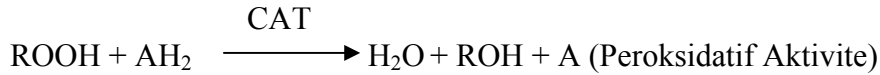
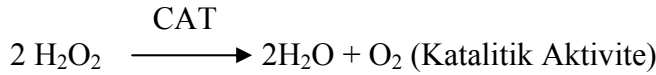
2.10.1. Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6)

Katalaz (CAT), yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Bu enzim, esas olarak peroksizomlarda daha az olarak da sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunmaktadır. H_2O_2 'i suya ve oksijene parçalayarak lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu rol oynamaktadır. CAT, hidrojen peroksit (H_2O_2) varlığında bir takım küçük substrat moleküllerine karşı peroksidatik aktivite göstermektedir (Paller ve Patent. 1991).

Enzim iki tip tepkime kullanarak etkisini gösterir:

1- H_2O_2 'nin dismutasyonu (katalitik tepkime)

2-Alifatik alkollerin peroksidasyonu (peroksidatik tepkime) (Marvelli ve Rotilio 1984).



Katalaz üç enzim ailesine ayrılmaktadır: monofonksiyonel hem katalazlar, katalaz-peroksidazlar ve Mn içeren katalazlar (Chelikani ve ark. 2004).

2.10.2. Süperoksit Dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1)

Süperoksit dismutaz (SOD) ilk olarak 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Süperoksit dismutaz, oksijene geçici ya da uzun süreli periyotlarda maruz kalan organizmalarda bulunan bir metalloenzimdir (Akkuş 1995) SOD, süperoksit radikalının ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir (Moody ve Hassan 1984). SOD bir radikal üzerine direkt olarak etki eden tek enzimdir ve pek çok farklı türü bulunmaktadır.

Manganez içeren SOD (Mn-SOD) mitokondride, bakır ve çinko içeren SOD (CuZn-SOD) sitoplazma ve nükleusda, ekstraselüler SOD (EC-SOD) ise bazı dokularda ekstraselüler olarak ifade edilir. CuZn-SOD ökaryotik hücrelerde toplam SOD aktivitesinin % 90'nını oluşturmaktadır (Liu ve ark. 2004). CuZn-SOD'un en çok

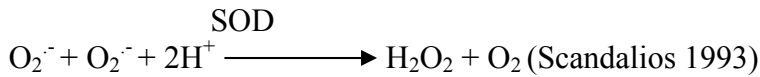
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

bulduğu yer sitoplazma olmasına rağmen bu enzimin az bir kısmı lizozom peroksizom ve nükleusda yer alır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bazı bulgular CuZn-SOD'un yaklaşık %2'lik kısmının mitokondride intermembran alanda olduğunu göstermiştir (Okado-Matsumoto ve Fridovich 2001, Sturtz ve ark. 2001). Bu alandaki CuZn-SOD'un mitokondriden kaynaklanan süperoksit radikal sızıntılarının önlenmesi ve ROT'a karşı daha etkili bir savunmanın gerçekleştirilmesinde rol oynadığı düşünülmektedir.

EC-SOD heparine bağlanabilen alanlara sahip olduğu için hücreye bağlanabilmektedir. EC-SOD, CuZn-SOD gibi bakır ve çinkoyu katalitik kofaktör olarak kullanmasına rağmen, SOD'un ekstraselüler alanlarında ifade edilen tek izoformudur (Sandstrom ve ark. 1992).

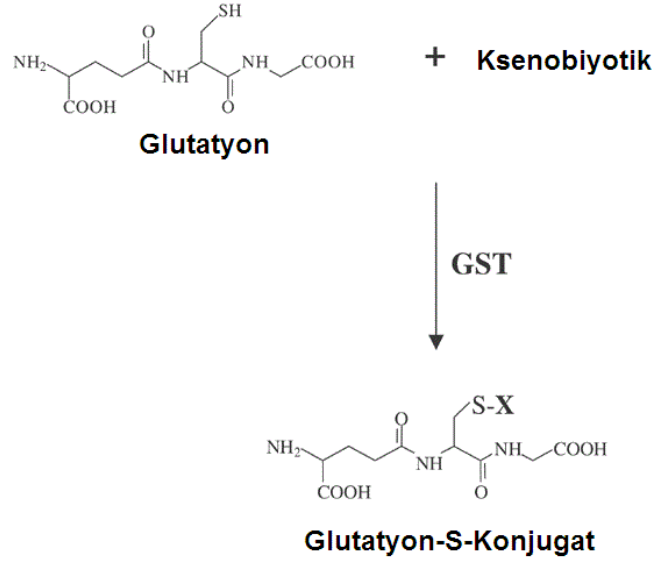
Mn-SOD mitokondriyal matrikste bulunur ve ökaryotlar paraquat, radyasyon ve hiperoksiye maruz kaldığında indüklenebilir (Weydert ve ark. 2010).

SOD aktivitesindeki her hangi bir artış, SOD ürünü olan H₂O₂'nin üretimini de arttırdığı için beraberinde CAT ve GPx aktivitesinde de değişimlere neden olmaktadır. Eğer SOD aktivitesi H₂O₂ süpürücülerinin aktivitesini aşarsa H₂O₂ birikiminden dolayı, radikal toksisitesinde artışlara yol açmaktadır. Hücrede oluşan hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil radikali ([•]OH) oluşumunu önlemek için CAT ve GPx tarafından ortadan kaldırmaktadır (Özbey 2009).



2.10.3. Glutasyon S-Transferaz (GST, EC 2.5.1.18)

Glutasyon S-transferaz elektrofilik karbon, nitrojen ya da sülfür atomlarını içeren polar olmayan bileşiklerin redükte glutasyonla (GSH) konjugasyonunu katalizleyen bir enzim grubudur (Hayes ve ark. 2005). GST bu yolla ilaçların, pestisitlerin ve diğer ksenobiyotiklerin metabolize edilmesini sağlamaktadır. Bu enzim, glutasyonun –SH grupları ile bazı bileşiklerin (ksenobiyotikler) reaksiyonunu katalizleyerek onların elektrofilik alanlarını nötralize eder ve suda iyi çözünen bileşikleri oluştururlar (Habig ve ark. 1974). GST ve ksenobiyotik ilişkisi Şekil 2.9.'da gösterilmiştir (Townsend ve Tew 2003).

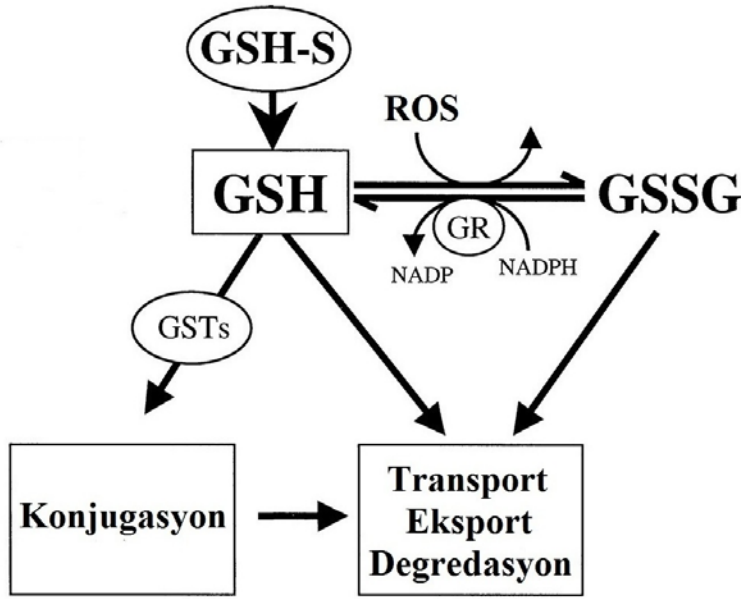


Şekil 2.9. GST-ksenobiyotik konjugasyonu

2.10.4. Glutatyon Redüktaz (GR, EC 1.6.4.2)

Glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidazın (GPx) ve glutatyon S-transferaz'ın (GST) katalizlediği reaksiyonlar esnasında oluşan okside glutatyonu (GSSG) redükte glutatyona (GSH) dönüştürmek suretiyle, dolaylı olarak antioksidan etki gösteren bir enzimdir (Şekil 2.10.). Bu katalizi gerçekleştirirken koenzim olarak NADPH'ı kullanmaktadır. Hücrelerdeki fizyolojik GSH-GSSG oranı çok önemlidir. GSSG olmadığı durumlarda NADPH'ın hücre içi seviyesinin düşmesi glutatyon redüktazı inaktive etmektedir. Oksidatif bir stres sonucu GSSG'nin hücre içi seviyesi artınca glutatyon redüktaz yeniden aktive olmaktadır (Winston ve Di Giulio 1991, Candas ve ark. 1997, Noctor 2001, van der Oost ve ark. 2003).

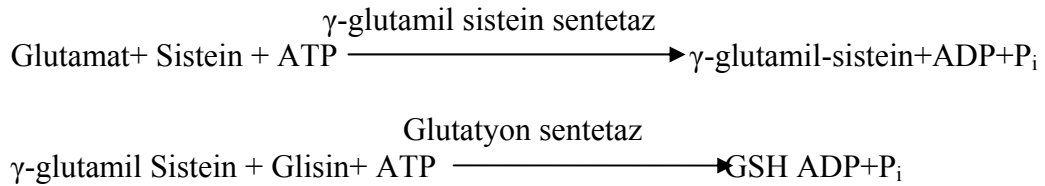
Bu nedenle glutatyon (GSH) ve glutatyon redüktaz (GR), birçok protein ve polipeptid hormonların disülfid bağları üzerinde ve ksenobiyotik metabolizmasında önemli bir yer tutmaktadırlar (Rodwell 1993).



Şekil 2.10. Glutasyon biyosentezi ve etkileşim süreçleri

2.11. Glutasyon (GSH)

Glutasyon (GSH, γ -glutamil-sistein-glisin) ökaryot hücrelerde bol miktarda bulunan non-protein tiol bileşimidir. GSH iki basamaklı bir reaksiyonla sentezlenmektedir (Meister 1991):



GSH pek çok fizyolojik süreçte rol oynamaktadır. Fakat en önemli görevleri aşağıda sıralanmıştır (Terradez ve ark. 1993, Um ve ark. 2004, Li ve ark. 2004);

1. Elektron verme kapasitesi ve hücredeki yüksek konsantrasyonu nedeniyle önemli bir indirgeyicidir. Bu özelliği ile hücreyi serbest radikallere karşı korumada önemli bir görev üstlenmektedir. GSH'a antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Oksidatif stres sonucunda artan reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonu, redükte glutasyonun (GSH) oksitlenmiş dimer formuna (GSSG) dönüşümü ile sağlanmaktadır. Glutasyon peroksidazın (GPx) katalizlediği bu reaksiyonda, GSH'ın GPx aktivitesi için önemi büyüktür.
2. Anti viral ajan potansiyeli ile immün savunmada önemli bir rol oynamaktadır.

3. Eksojen elektrofillerle (ksenobiyotikler) konjügasyon yapabilme potansiyeli olması nedeniyle GST tarafından detoksifikasyon mekanizmasında kullanılmaktadır.

2.12. Asetilkolin Esteraz (AChE, EC 3.1.1.7)

Çalışmamızda antioksidan enzimler gibi çevresel kirleticilerin etkilerini tespit etmekte yaygın bir şekilde kullanılan Asetilkolin esteraz (AChE) enzimi de biyobelirteç olarak kullanılmıştır. Asetilkolin esteraz (AChE), bir nörotransmitter olan asetilkolini, asetik asit ve koline hidrolizleyen özgül bir esterazdır (Aydın 2004). Asetilkolin (ACh) omurgalılarda ve balıklarda sinir sisteminde, özellikle nöromusküler sinapslarda, otonomik sinir sisteminde ve beyinde birincil nörotransmitterdir. Sinir impluslarının iletimi sırasında ACh, nikotinik reseptörler veya muskarinik reseptörler gibi bir ya da iki genel reseptöre bağlanır. Nöromusküler sinapslarda ACh'nin nikotinik reseptöre bağlanması uyarma ve kas kasılması ile sonuçlanır. AChE postsinaptik membrana bağlanarak ACh'nin bağlantısını keser ve böylece kolinerjik nöral transmisyon sona erer (Güngördü 2007).

AChE inhibisyonu merkezi ve çevresel sinir sisteminin aşırı uyarılmasına bu da organizmalar üzerinde zararlı nörotoksik etkilere ve ölüme yol açmaktadır (Xuereb ve ark. 2009).

AChE norotoksisite için oldukça yaygın olarak kullanılan bir biyobelirteçtir. Özellikle organofosfat ve karbomat pestisitler için hassas bir belirteç olmasına rağmen metaller, deterjanlar ve alg toksinleri için de biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. AChE enziminin inhibisyonun ölçülmesi invertebrat türleri için adapte edilerek kullanılan basit ve ucuz bir spektrofotometrik yöntemdir (Galloway ve ark. 2002).

2.13. Konu Kapsamı

Palma ve arkadaşları (2008), *Daphnia magna* üzerinde atrazinin 48 saatlik EC50 değerini 35.5 mg/L belirlemişlerdir. Lukancic ve arkadaşları (2010), atrazinin *Gammarus fossarum* üzerindeki akut toksik etkisini incelemiş ve 48 saatlik LC₅₀ değerini 7.5 mg/L olarak rapor etmişlerdir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Leigth ve Van Dolah (1999), endosulfanın teknik formulasyonunun *Gammarus palustris* üzerine akut toksisitesini araştırmışlar ve bu canlı için endosulfanın 96 saatlik LC₅₀ değerini 0.43 µg/L olarak tespit etmişlerdir.

Cengiz ve Ünlü (1999) endosulfan içerikli Thiodan® adlı ticari insektisit bir balık türü olan *Gambusia affinis* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 6.116 µg/L olarak bildirmişlerdir.

Barata ve arkadaşları (2005) endosulfanın Crustacea sınıfına ait *Daphnia magna* için 48 saatlik LC₅₀ değerini 950 µg/L bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar indoxacarbın su canlıları için toksik olduğunu göstermiştir. Hetrick ve arkadaşları (2005) indoxacarbın teknik formülasyonunun gök kuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) için LC₅₀ değerini 0.65 mg/L olarak bildirilmiştir.

Hetrick ve arkadaşları (2005) *Ictalurus punctatus* için LC₅₀ değerinin 0.29 ve *Cyprinus carpio* için 1.02 mg/L olarak bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar *Daphnia magna* için indoxacarbın LC₅₀ değerini 0.0640 mg/L olarak bildirmişlerdir. *Rattus norvegicus* türüne ait erkek bireyleri için LD₅₀ değerini 843 mg/kg olarak bildirilmişlerdir.

Yapılan bir diğer çalışmada ise Beketov ve Liess (2008) indoxacarbın teknik formülasyonunun *Gammarus pulex* için 96 saatlik LC₅₀ değerinin 2.5 mg/L olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmalar göstermiştir ki indoxacarb su canlıları için oldukça toksiktir.

Devi (2007), bir tatlı su balığı olan *Channa punctatus* için indoxacarbın 96 saatlik LC₅₀ değerini 0.0531 olarak bulmuştur.

Song ve arkadaşları (1997) *Daphnia magna* üzerinde thiamethoxam gibi neonikotinoid bir insektisit olan imidaclopridin 48 saatlik LC₅₀ değerini 10 mg/L olarak rapor etmişlerdir.

Antunes-Kenyon ve Kennedy (2001) tarafından yapılan bir araştırmada thiamethoxamın su piresi (*Daphnia magna*) için EC₅₀ değerinin 106 mg/L'den yüksek olduğu gösterilmiştir. Yine aynı araştırmacılar gökkuşağı alabalığı (*Salmo gairdneri*) için thiamethoxamın 96 saatlik LC₅₀ değerinin 100 mg/L'den ve *Lepomis macrochirus* için 114 mg/L'den büyük olduğunu rapor etmişlerdir.

Cox (2001) tuzlu su karidesi (*Mysidopsis bahia*) üzerinde bir neonikotinoid olan imidacloprid'in 96 saatlik LC₅₀ değerini 37 µg/L olarak bulmuştur.

Atrazin tatlısu ekosistemlerinde çok sık gözlenen bir pestisit olmasına rağmen, Crustacea'lar üzerindeki etkisi ile ilgili çok az çalışma yapılmıştır (Jin-Clark ve ark. 2010, Graymore ve ark. 2001). Davies ve arkadaşları (1994) yaptıkları çalışmalarda AChE aktivitesi, hepatik GST, aktivitesi ve hepatik GSH miktarı gibi parametreleri kullanarak atrazinin Crustacea'ların üzerindeki toksik etkisini belirlemişler ve atrazinin subletal konsantrasyonunun bu parametreler için önemli düzeyde bir etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir.

Salaberria ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada 6 gün atrazinin 2 ve 200 µg/kg'lık dozlarına maruz kalan gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) karaciğerindeki GST ve CAT enzim aktivitesini incelemiştir. GST aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli fark gözlenmezken CAT aktivitesinin 200 µg/kg'lık uygulama grubunda kontrole göre indüklendiği tespit edilmiştir.

Jin-Clark ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, 14 gün boyunca atrazin uyguladıkları dişi zebra balıklarının (*Danio rerio*) karaciğer ve yumurtalıklarındaki SOD ve CAT enzim aktivitesini incelemişlerdir. Ovaryumdan elde edilen CAT aktivitesinin yaptığımız çalışmaya paralel olarak 14. gündeki enzim aktivitesinin yüksek konsantrasyonda inhibe olduğu gözlenmiştir.

Ballesteros ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada bir balık türü olan *Jenynsia multidentata*'nın endosulfanın dört farklı subletal konsantrasyonuna (0.014, 0.072, 0.288 ve 1.4 mg/L) 24 saat maruz kalması sonucunda beyin, solungaç, bağırsak, karaciğer ve kaslardaki GST, GR, GPx ve CAT aktivitelerindeki değişikliği incelemişlerdir. Genel olarak beyin dışındaki tüm dokularda 24. saatte enzim aktivitesi kontrole göre inhibe olduğu rapor edilmiştir.

Dortsa ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada bir karides türü olan *Penaeus monodon*'nu dört gün boyunca 0.1 ve 1 µg/L endosulfana maruz bıraktıkları da 0. güne göre hepatopankreastaki GST aktivitesinin zaman bağlı olarak düştüğü gözlenmiştir.

Dutta ve Arends (2003) bir balık türü olan *Lepomis macrochirus* ile yaptıkları çalışmada canlıyı 24, 48, 72, 96 saat boyunca 1.0 µg/L (LC₅₀: 1.2 µg/L iken) endosulfana maruz bıraktıktan sonra beyindeki AChE aktivitesindeki değişikliği

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

incelemiş AChE aktivitesinin farklı zaman aralıklarında kontrole göre inhibe olduğu tespit etmişlerdir. Cater 1971'de yaptığı çalışmada farklı balık türlerindeki AChE aktivitelerinin bile farklılıklar gösterdiğini tespit etmiştir (Dutta ve Arends 2003).

Mudaraddi ve arkadaşları (2012), 30 gün boyunca indoxacarb (6, 12, 18 ve 24 mg/kg) maruz bıraktıkları dişi albino farelerdeki GST, SOD ve CAT enzim aktivitelerindeki değişiklikleri incelemişlerdir. Bu çalışmada GST, SOD ve CAT enzimlerinde dozdaki artışa paralel bir artış rapor edilmiştir.

Korkutan ve ark. (2008) *Rana ridibunda*'nın kas dokusunu 10 mM'lık indoxacarb çözeltisine bir saat maruz bıraktıklarında CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde indüklendiğini tespit etmişlerdir.

Neonikotinoidlerin sucul canlıların enzimlerinde meydana getirdiği değişimler ile ilgili literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır, fakat diğer neonikotinoid pestisitlere oranla thiamethoxamın etkileriyle ilgili daha az sayıda literatüre rastlanmıştır. Bunlar arasında, Kumar ve arkadaşları (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, bir tatlı su balığı olan *Channa punctatus*'un karaciğer, beyin, solungaç, kas ve böbrek enzimleri üzerine thiamethoxamın 24, 48, 72 ve 96 saatlik subletal dozlarının etkisini incelemişlerdir.

Jemec ve arkadaşları (2007) neonikotinoit bir insektisit olan imidaclopridin ticari formülasyonu olan Confidor SL 200 ve diazinonun *D. magna*'nın biyokimyasal, üreme ve yaşama parametreleri üzerine kronik etkilerini incelemişler ve bu pestisitlerin bu canlılarda bazı enzimlerin aktivitelerini düşürdüğünü rapor etmişlerdir. Bu çalışma sonucunda, farklı dokularda artan nötral ve alkalın proteaz aktivitesinin enerji kaynaklarında meydana gelen bozulmanın oluşturduğu bir hasar olduğunu ve alkalın proteaz aktivitesinin yüksek protein bozulmasını gösterdiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar aspartat amino transferaz (AAT), alanin amino transferaz ve glutamat dehidrojenaz aktivitelerinin balığın thiamethoxama maruziyeti sırasında arttığını rapor etmişlerdir.

Beneteau ve arkadaşlarının (2012) thiamethoxamın bal arılarının enzim yanıtlarını incelediği çalışmada 48 saat boyunca farklı subletal uygulama konsantrasyonlarındaki (2.6, 5.1, 51.2 ng/arı) CAT, GST ve AChE değerlerindeki değişimleri 60 gün boyunca ekstraksiyon yaparak incelenmişlerdir. Bu çalışmanın

sonucunda CAT, GST ve AChE enzimlerinin thiamethoxam toksisitesi için uygun biyobelirteçler olduğu sonucuna varmışlardır (Beneteau ve ark 2012).

Malev ve arkadaşları yaptıkları çalışmada neonikotinoidlerin dolaylı inhibitör etkisini test etmişlerdir fakat tüm konsantrasyonlar için AChE inhibisyonu tespit edememişlerdir (Malev ve ark. 2012).

Adam ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada iğne yapraklı ağaçları böceklerden ve mantarlardan korumak için propiconazol, tebukonazol (Fungusit), IPBC (3-İodo-2-propinil bütül carbomat) ve sipermetrinin *Gammarus pulex* için hem ayrı hem de kombine etkisini araştırmışlardır. Bu kimyasalların *Gammarus pulex* için 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırasıyla 4703, 1643, 604 ve 0.09 µg/L olarak tespit edilmiştir. Propiconazol, tebukonazol (Fungusit), IPBC (3-İodo-2-propinil bütül carbomat) ılımlı toksik sipermetrin ise aşırı toksik etki göstermektedir. Kombine etki çalışmasında ise ticari solüsyonda kullanılan şekliyle (%18.2 sipermetrin, %45.8 propikanazol, %17.2 tebukonazol, %18.8 IPBC) *Gammarus pulex*'e uygulanmıştır. Fakat yapılan çalışmada bu karışımın etkisinin sipermetrinin ortaya koyduğu etkiyle aynı olduğunu ortaya koymuştur.

Oruç ve arkadaşları (2004) 2,4-D ve azinfosmetilin ayrı ve kombine haline maruz kalan balık türlerinin (*Oreochromis niloticus* ve *Cyprinus carpio*) karaciğer, beyin ve solungaç dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerindeki değişimi incelemişlerdir. Oruç ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karaciğer dokusunda 2,4-D ve azinfosmetilin kombine etkisinin kontrole oranla GST aktivitesini önemli düzeyde indüklediğini tespit edilmişlerdir.

Lenoir ve arkadaşları *Gammarus* türlerinde aralarında bulunduğu sucul organizmalar üzerinde pestisitlerin etkileri konusunda bir çalışma yapmışlardır. Araştırma sonunda yaptıkları pestisit kalıntı analizlerinde birkaç örnekte dedeksiyon limitinin üzerinde pestisit kalıntısı belirlemişlerdir. Bu çalışmada da GC cihazı kullanılmıştır (Lenoir ve ark. 1999).

Literatürde atrazinin Crustacea'larda ki kalıntı analizinin antioksidan enzim sonuçları ile karşılaştırıldığı ile ilgili daha önce yapılmış çalışmalara rastlanmamıştır. Yapılan çalışmaların çoğu su kalitesinin Crustacea'lar üzerine etkisinin incelenmesi ile sınırlı kalmıştır (Taylor ve ark. 1991).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışmada Kullanılan Organizma

Bu çalışmada kullanılmış olan *Gammarus kischineffensis* Schellenberg 1937 Doç. Dr. Murat ÖZBEK tarafından teşhis edilmiştir.



Şekil 3.1. *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937

3.2. Çalışmada Kullanılan Pestisitler

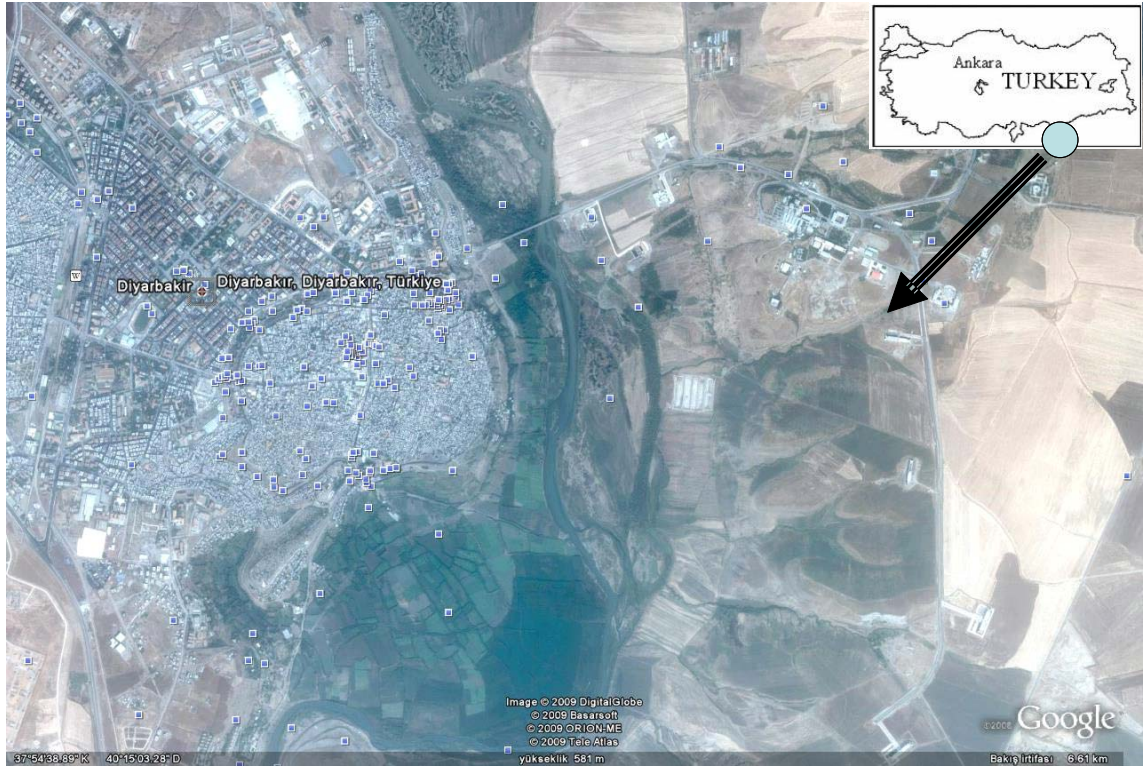
Çalışmada triazin bir herbisit olan atrazin (6-chloro-*N*-ethyl-*N'*-(1-methylethyl)-1,3,5-triazine-2,4-diamine), organoklorlu bir insektisit olan endosulfan (6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3- benzodioxathiepine-3-oxide), oksadiazin sınıfına ait bir insektisit olan indoxacarb ((*S*)-methyl 7-chloro-2, 5-dihydro-2- [[(methoxycarbonyl) [4 -(trifluoromethoxy) phenyl] amino] carbonyl] indeno[1,2-e][1,3,4] oxadiazine-4a(3H)-carboxylate) ve neonicotinoid bir insektisit olan thiamethoxamın (3-(2-chloro-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-[1,3,5]oxadiazinan-4-ylidene-*N*-nitroamine) teknik formülasyonları kullanılmıştır. Kullanılan pestisit standartlarının tümü Sigma-Aldrich firmasından sağlanmıştır.

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmamız esnasında kullanılan okside glutatyon (GSSG), 5-5'dithiobis (2-nitro-benzoik asit) (DTNB), redükte glutatyon (GSH), Bovine Serum Albumin (BSA), 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB), Bradfoard Reaktifi, nikodinamid adenin dinükleotid fosfat (redükte) (NADPH), Sodyum bikarbonat (NaHCO_3), Asetiltiokoliniyodid (ACTI) ve Trizma tamponu (pH 8.0; 0.1M) Sigma firmasından; potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4), sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4), etilen diamintetraasetik asit (EDTA), hidrojen peroksit (H_2O_2) Merck firmasından temin edilmiştir. Numune hazırlıkta kullanılan kloroform (Kromatografik saflıkta) ve toluen (Kromatografik saflıkta), Merck'ten (Almanya) sağlanmıştır. Kalibrasyon çözeltileri toluen içinde hazırlanmıştır.

3.4. Canlıların Elde Edilmesi

Gammarus kischineffensis örnekleri Dicle Üniversitesi kampüsü içinde, İlahiyat Fakültesi ve Mimarlık-Mühendislik Fakültesi arasında bulunan ve Dicle nehrine dökülen küçük bir su kaynağında, kaynağın daha yavaş akan ve nispeten daha derin bölümlerinden yaprak ve taşların altından toplanmıştır (Şekil 3.2.). *Gammarus* cinsine ait türlerdeki ömür uzunluğu 1-2 yıldır. Kullanılan canlıların yaşları tespit edilemediği için ancak yetişkin canlılarda gözlenebilen prekopulasyon davranışı temel alınarak bu davranışı gösteren bireyler seçilerek kullanılmıştır.



Şekil 3.2. *Gammarus kischineffensis*'in toplandığı alan

3.5. Canlıların Laboratuvar Koşullarına Adaptasyonu ve Deney Düzeneklerinin Hazırlanması

Laboratuvara getirilen *Gammarus kischineffensis* örnekleri 40 x 35 x 40 cm ebatlarında iki tane cam akvaryuma alınmıştır. Akvaryumlara yaklaşık olarak 5 cm yüksekliğinde dinlenmiş (deklorize) ve doğal ortamlarından alınmış su konularak ve canlıların yaşadığı ortamdan getirilen sediment akvaryumlara ilave edilmiştir. Canlılar laboratuvarında bulunan özel bir kabine alınarak adaptasyon için 15 gün boyunca bekletilmiş ve bu sürede herhangi bir işlem gerçekleştirilmemiştir. Kabin ışıkları 13 saat aydınlık 11 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Kabin sıcaklığı 18 ± 1 °C de sabit tutulmuştur. Canlıların doğal ortamlarından alınan kurumuş söğüt ağacı (*Salix sp.*, Salicaceae) yaprakları cam bir kapta, yine doğal ortamdan alınmış kaynak suyunun içinde en az iki hafta çürütülmeye bırakılmış (Cold ve Forbes 2004) ve canlılar adaptasyon periyodu boyunca bu çürütülmüş yapraklarla beslenmiştir.

Çizelge 3.1. Laboratuvar şartlarında kullanılan kavanozlardaki suyun kimyasal özellikleri
Kimyasal Parametreler

PH	7.94±0.505
Çözünmüş Oksijen (O ₂)	7.5±0.38mg/l
Total klor	42.6 mg/l
Toplam Sertlik	287±2.35mg/l CaCO ₃
Mg	36 mg/l
Elektriksel İletkenlik	7.94 Mmho/cm
NO ₃ -N	2.1 mg/l
NO ₂ -N	0.002 mg/l
Sıcaklık	17±1 °C

3.6. Akut Toksikite Deneyi

Deneylerde 2 litrelik cam kavanozlar kullanılmıştır. Bu cam kavanozlara 1 litre su konulmuştur. Kavanozlar hava motorlarına bağlı, ucunda cam pipetler bulunan plastik borularla havalandırılmıştır. Böylece plastiğin kimyasallarla etkileşimi engellenmiştir. Deneyler süresince plastik malzemeler kullanılmamıştır.

Deneyler için üreme olgunluğuna erişmiş, sağlıklı bireyler seçilmiş ve kontrol grubu da dahil her konsantrasyon başına 20 canlı kullanılmıştır. Deneyler üç tekrarlı olarak 96 saat boyunca gerçekleştirilmiştir. Akut toksisite testinde 24, 48, 72, 96 saatlik LC₅₀ değerlerini tayin etmek için her 24 saatte bir kavanozlardaki canlılar sayılarak ölü ve canlı sayıları not edilmiştir. Toksikite testlerinde hareketsizlik ve vücut sertliği ölüm kriteri olarak kabul edilmiştir. Aralık belirleme deneylerinden sonra atrazin için pestisit konsantrasyonları, 0.0, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, 40.0, 45.0 ve 50.0 mg/L; endosulfan için, 0.0, 1.0, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75, 3.00, 3.25, 3.75 ve 4.00 µg/L; indoxacarb için, 0.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, 40.0, 45.0, 50.0, 55.0, 60.0 ve 65.0 mg/L; thiamethoxam için, 0.0, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5, 20.0, 22.5, 25.0, 27.5 ve 30.0 mg/L olarak belirlenmiştir Akut toksisiteyi belirlemek için yenilenen statik (renewal) test uygulanmıştır (APHA 1998).

3.7. Subakut Toksikite Deneyleri

96 saatlik LC₅₀ değerleri belirlenen dört pestisit (indoxacarb, thiamethoxam, endosulfan, atrazin) için subletal konsantrasyonlar belirlenmiştir. Deney süresi 14 gün olarak belirlenmiştir. ondört gün boyunca canlılar *Salix sp.* yaprakları ile beslenmiş ve

bütün deneyler kontrol grubu da dahil olmak üzere 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Pestisitler için belirlenen 96 saatlik LC_{50} değerinin 1/10 ve 1/100'lik konsantrasyonları kullanılmıştır.

3.8. Kombine etki

96 saatlik LC_{50} değerleri belirlenen dört pestisit (indoxacarb, thiamethoxam, endosulfan, atrazin) için kombine etki tespit edilirken herbisit olan atrazin ile insektisitler indoxacarb, thiamethoxam, endosulfan birlikte kullanılmıştır. Deney süresi 14 gün olarak belirlenmiştir. Kombine etkinin bulunmasında her bir pestisit için belirlenen LC_{50} değerinin 1/100'lik konsantrasyonları kullanılmıştır.

3.9. Canlıların Uygulama Sonrası Alınması ve Homojenizasyonu

Uygulama yapılan canlılar distile sudan geçirilerek, sodyum fosfat tamponunun (0.1 M pH 6.5) içinde homojenize edildikten sonra 25000 g'de + 4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifügasyon işleminden sonra ependorflara alınan süpernatant enzim aktiviteleri saptanmak üzere - 20°C'de muhafaza edilmiştir (Timofeyev 2008). Enzim aktiviteleri okunmak üzere - 20°C'de muhafaza edilen süpernatantlar soğuk zincir koşullarına uygun olarak İnönü Üniversitesi Araştırma Merkezinin Biyolojik Bilimler Laboratuvarları'na getirilerek ve - 80°C'de saklanmıştır.

3.10. Enzimatik Çalışmalar

Bütün enzimlerin aktiviteleri her pestisit için üç tekrarlı olarak ölçülmüştür.

3.10.1. Katalaz Aktivite Tayini

Katalaz enzim aktivitesinin tayini Luck (1963) yöntemine göre yapılmıştır. Aktivite tayini için pH 7'de 1/15 M'lık Sodyum-Potasyum ($K_2HPO_4-NaH_2PO_4$) tamponu hazırlanmış ve tamponun 100 mL'sine 160 µl H_2O_2 eklenmiştir. Enzim aktivite tayininde kör olarak hazırlanan tampon + H_2O_2 karışımı kullanılmıştır. Enzim aktivitesinin ölçümü için ise tampon + H_2O_2 karışımının üzerine 15 veya 20 µL süpernatant eklenmiş ve 240 nm'de 1 dakika boyunca absorbans değişimi tespit edilmiştir. Absorbans tespit edildikten sonra mililitredeki enzim ünite sayısı hesaplanmış ve elde edilen sonuçlar süpernatanın mililitresindeki miligram proteine bölünerek spesifik aktivite hesaplanmıştır.

3.10.2. Glutasyon S-Transferaz Aktivite Tayini

Glutasyon S-transferaz aktivitesinin ölçülmesi amacı ile 1-kloro, 2-4 dinitrobenzen (CDNB) substrat olarak kullanıldı (Habig 1973). Substrat %96'lık etanol içinde hazırlandı (0.15 M). Tampon olarak potasyum fosfat tamponu (0.1 M; pH: 6.5) ve kofaktör olarak redükte glutasyon (0.002 M) kullanıldı. Mikroplaka çukurlarına sırayla 10 µL süpernatant, 100 µL fosfat tamponu+100 µL GSH karışımı pipetlendi ve karışım mikroplaka sistemi içinde 15 saniye karıştırıldı. Absorbans değişimi 340 nm dalga boyunda, 25 °C' de 2 dakika süre ile okundu. Her örnek için en az üç tekrarlı okuma yapıldı. Enzim aktivitesine bağlı hesaplanan absorbans değişim değerleri kaydedildi. Aynı örnek için elde edilen absorbans değişim değerleri arasında %10' dan daha yüksek korelasyon farkı bulunanlar için okuma işlemi tekrar edildi. Okunan mOD cinsinden absorbans değerleri OD değerine çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3.10.3. Glutasyon Redüktaz Aktivite Tayini

GR aktivitesi Cribb ve ark. (1989) tarafından kullanılan mikroplaka sistemi ile ölçüm yöntemine göre hepatosit sitozolünde ölçüldü. Reaksiyon solüsyonu 0.1 mM, 150 µL 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB), 12 mM, 20 µL NADPH ve 10 µL örnek içermektedir. 20 Lİ, 3.25 mM GSSG'nin ilavesi ile reaksiyon başlatıldı. Bütün çözeltiler, 1mM EDTA içeren, 0.1 M potasyum fosfat tamponunda (pH 7.5) hazırlandı. Reaksiyon esnasında GSSG'den GSH oluşumu nedeniyle DTNB miktarı azalmıştır. DTNB azalışı oda sıcaklığında 405 nm'de izlendi ve elde edilen absorbans değerlerinde GR aktivitesi hesaplandı (DTNB için $\epsilon=14.151 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

3.10.4. Asetilkolin Esteraz Enzim Aktive Tayini

Asetilkolin esteraz enzim aktivitesi ölçülürken kullanılan yöntem 1961'de Ellman ve arkadaşları tarafından önerilen yöntemin Özmen (Ellman 1961, Özmen ve ark. 1999) tarafından modifiye edilmiş şeklidir. Çalışmalarda substrat olarak Asetiltiokoliniodid (ACTI) kullanıldı. Enzim aktivitesini ölçmek için mikroplaka çukurlarına 10 µL süpernatant, 100 µL Trizma tamponu (pH 8.0; 0.1 M) ve 3.73 µL DTNB (son konsatrasyonda 9.39×10^{-5} M olmak üzere) (Aldrich, USA) konuldu ve mikroplaka okuyucu sistem içinde 10 saniye karıştırıldıktan sonra 25 °C'de 412 nm dalga boyunda 1 dakika okuma yapıldı. Enzim aktivitesine bağlı hesaplanan absorbans değişim değerleri kaydedildi. Aynı örnek için elde edilen absorbans değişim değerleri

arasında %10'dan daha yüksek korelasyon farkı bulunanlar için okuma işlemi tekrar edildi. mOD cinsinden alınan absorban değerleri OD'ye çevrilerek hesaplamalar yapıldı.

3.10.5. Süperoksit Dismutaz Aktive Tayini

Ksantin-Ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom c' yi indirgememesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanan Sigma SOD Assay Kit 19160 (SİGMA) kullanılarak enzim aktivite tayini gerçekleştirilmiştir.

3.11. Glutasyon Miktar Tayini

Glutasyon miktar tayini GSH Assay Kit CS0260 (SİGMA) kullanılarak yapılmıştır.

3.12. Total Protein Miktarı

Total protein miktarı Bradford (1976) metodu kullanılarak belirlendi. Bu amaçla mikropilaka okuyucu sistem kullanıldı. 5 µL 1/10 oranında dilüe edilmiş örnek ve 250 µL Bradford belirteci (Sigma, USA) mikropilaka çukurlarına pipetlendi. 15 dakikalık inkübasyondan sonra 750 nm'de endpoint absorban değerleri okundu. Elde edilen değerler, oluşturulan BSA (bovine serum albumin) standart eğrisi değerleri ile karşılaştırılarak, örnekteki total protein değerleri, Slide programı kullanılarak hesaplandı. Sulandırma faktörüne bağlı olarak, daha sonra örneklerdeki total protein değeri hesaplandı. Hesaplanan total protein değerine bağlı olarak ACP enzim aktivitesi haricinde tüm enzim değerleri spesifik aktivite değeri olarak ifade edildi.

3.13. Pestisit Kalıntı Analizleri

Örnekler kromatografi laboratuvarında pestisit kalıntı analizi için hazırlanmıştır.

3.13.1. Örneklerin Hazırlanması

Alınan örneklerin 10 g'ı Heidolph-Diax 900 marka homojenizatör ile 24000 rpm'de öğütülerek homojen hale getirilmiştir. Ekstraksiyon için alınacak örnek miktarları homojenize edilmiş bu örneklerden tartılarak alınmıştır. Eppendorf tüp içinde hassas terazide tartımı yapılan homojenize edilmiş 5 g numune üzerine 1 mL acetonitril eklenmiş homjenize edildikten sonra üzerine bir spatül ucu susuz MgSO₄ ilave edilmiş üst faz berraklaşmaya kadar santrifüjlenip üst fazın tamamı alınıp sisteme enjekte

edilmiştir. Partikül olmamasına dikkat edilmiştir. Gerektiğinde süzülmüştür. Kalibrasyon grafiği için standartlar 1000 ppm ana stok olacak şekilde asetonda çözülerek hazırlanmıştır. Kalibrasyon grafikleri Microcal Origin Matematiksel programla çizilmiştir. Numune alanları seyrelme faktörleri dikkate alınarak hesaplanmıştır.

3.13.2. Analiz

Pestisit kalıntı analizlerinin hepsi Süleyman Demirel Üniversitesi, Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi, Kromatografi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

3.13.3. Kullanılan Cihaz ve Kromatografik Şartlar

Çalışmada, Shimadzu 17 A GC cihazı ve azot-fosfor (NPD) dedektörü ile elektron yakalama dedektörü (ECD) kullanılmıştır. Kolon olarak, 30 m uzunluğa, 0.32 mm iç çapa ve %5 fenil metilsiloksan dolgu maddesinden oluşan 0.10 µm film kalınlığına sahip TRB-5 (Teknokroma) kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µl'dir. Belirlenen sıcaklık programı şu şekildedir; başlangıç sıcaklığı 80°C 'de 1 dakika bekletilmiştir. Ardından sıcaklık programı dakikada 20°C'lik artışlarla 275°C 'ye yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta hiç bekletilme yapılmadan dakikada 4 °C'lik artışlarla 295°C'ye çıkılarak bu sıcaklıkta analiz sonlandırılmıştır. Enjektör sıcaklığı ve dedektör sıcaklığı 300°C, kullanılan gaz He, akış hızı 10 psi olarak ayarlanmıştır (Çizelge 3.2.)

Çizelge 3.2. *Gammarus kischineffensis*'de kalıntı analizi için GC çalışma şartları

Enjeksiyon Bloğu	300 °C
Dedektör (NPD)	300 °C
Akış Hızı (psi)	10
Kullanılan Gaz	Helyum
Kullanılan Kolon	TRB-5. 30m * 0.32mm * 0.25µm
Sıcaklık Programı	80°C de 1 dakika bekledikten sonra 160°C'e dakikada 10°C'lik artışla ulaşmıştır. 160°C'de 5 dakika bekletilmiştir. Sonra dakikada 3°C'lik artışla 240°C'ye yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta beklemeden 25°C'lik artışla 300°C'ye yükseltilmiştir. Bu sıcaklıkta 20 dakika bekletilmiştir.

3.14. Kombine Etki için Hesaplamalar

Pestisitlerin kombine etkisine maruz kalan canlılardaki enzim aktiviteleri, pestisitlerin tek kullanımına maruz kalan canlılardaki enzim aktiviteleri ile karşılaştırılırken;

Her bir enzim için LC₅₀/100'lük uygulama gruplarından elde edilen spesifik aktivitenin kontrole göre yüzdelik değerleri hesaplanmış ve sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

$$\text{KOMBİNE ETKİ \%} = \frac{\frac{\text{LC}_{50}}{100} \times 100}{\text{Kontrol}}$$

3.15. İstatistiksel Analiz

Akut toksisite (LC₅₀) değerlerinin hesaplanmasında SPSS programında Probit Analizi kullanılmıştır (Finney 1952). Enzim aktivite tayinlerinden elde edilen bulguların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel paket program (MedCalc for Windows") kullanılmıştır. Uygulanan dozlar arasında her bir zaman diliminde enzim aktiviteleri arasındaki farklılığın incelenmesi ve her bir dozda zamana bağlı değişimin test edilmesi amacıyla Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis testi sonrası ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi kullanılarak istatistiksel değerlendirmeler yapılmıştır. Testlerde anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Akut Toksikite Testi Sonuçları

4.1.1. Atrazinin 24, 48, 72 ve 96. Saat LC₅₀ Değeri

Aralık belirleme deneylerinden sonra atrazinin bir litre için belirlenen pestisit konsantrasyonları 0.0, 1.0, 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, 40.0, 45.0 ve 50.0 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1.). Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca testlerde pestisiti çözerken kullanılan alkol kontrolü için 180 µL/L alkol kullanılmıştır. Yapılan akut toksisite deneylerinde atrazinin 96 saatlik LC₅₀ değeri 18.96 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Atrazin 24, 48, 72, 96. Saat LC₅₀ Değerleri

ATRAZİNE	LC ₅₀ DEĞERLERİ
24. saat	35.57 mg/L
48. saat	26.82 mg/L
72. saat	23.42 mg/L
96. saat	18.96 mg/L

4.1.2. Endosulfanın 24, 48, 72 ve 96. Saat LC₅₀ Değeri

Aralık belirleme deneylerinden sonra endosulfan için belirlenen pestisit konsantrasyonları 0.0, 1.0, 1.25, 1.50, 1.75, 2.00, 2.25, 2.50, 2.75, 3.00, 3.25, 3.75 ve 4.00 µg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.2.). Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca testlerde alkol kontrolü için 18.4 µL/L alkol kullanılmıştır. Yapılan akut toksisite deneylerinde endosulfanın 96 saatlik LC₅₀ değeri 1.56 µg/L olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.2. Endosulfan 24, 48, 72, 96. Saat LC₅₀ Değerler

ENDOSULFAN	LC ₅₀ DEĞERLERİ
24. saat	3.91 µg/L
48. saat	2.49 µg/L
72. saat	1.89 µg/L
96. saat	1.56 µg/L

4.1.3. Indoxacarbın 24, 48, 72 ve 96. Saat LC₅₀ Değeri

Aralık belirleme deneylerinden sonra indoxacarb için belirlenen pestisit konsantrasyonları 0.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0, 35.0, 40.0, 45.0, 50.0, 55.0, 60.0 ve 65.0 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3.). Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca testlerde alkol kontrolü için 180 µL/L alkol kullanılmıştır. Yapılan akut toksisite deneylerinde indoxacarbın 96 saatlik LC₅₀ değeri 39.04 mg/L olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 4.3. Indoxacarb 24, 48, 72, 96. Saat LC₅₀ Değerleri

INDOXACARB	LC₅₀ DEĞERLERİ
24. saat	54.49 mg/L
48. saat	45.25 mg/L
72. saat	44.90 mg/L
96. saat	39.04 mg/L

4.1.4. Thiamethoxamın 24, 48, 72 ve 96. Saat LC₅₀ Değeri

Aralık belirleme deneylerinden sonra thiamethoxam için belirlenen pestisit konsantrasyonları 0.0, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0, 17.5, 20.0, 22.5, 25.0, 27.5 ve 30.0 mg/L olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4.). Testler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca testlerde alkol kontrolü için 200 µL/L alkol kullanılmıştır. Yapılan akut toksisite deneylerinde thiamethoxamın 96 saatlik LC₅₀ değeri 8.985 mg/L olarak tespit edilmiştir.

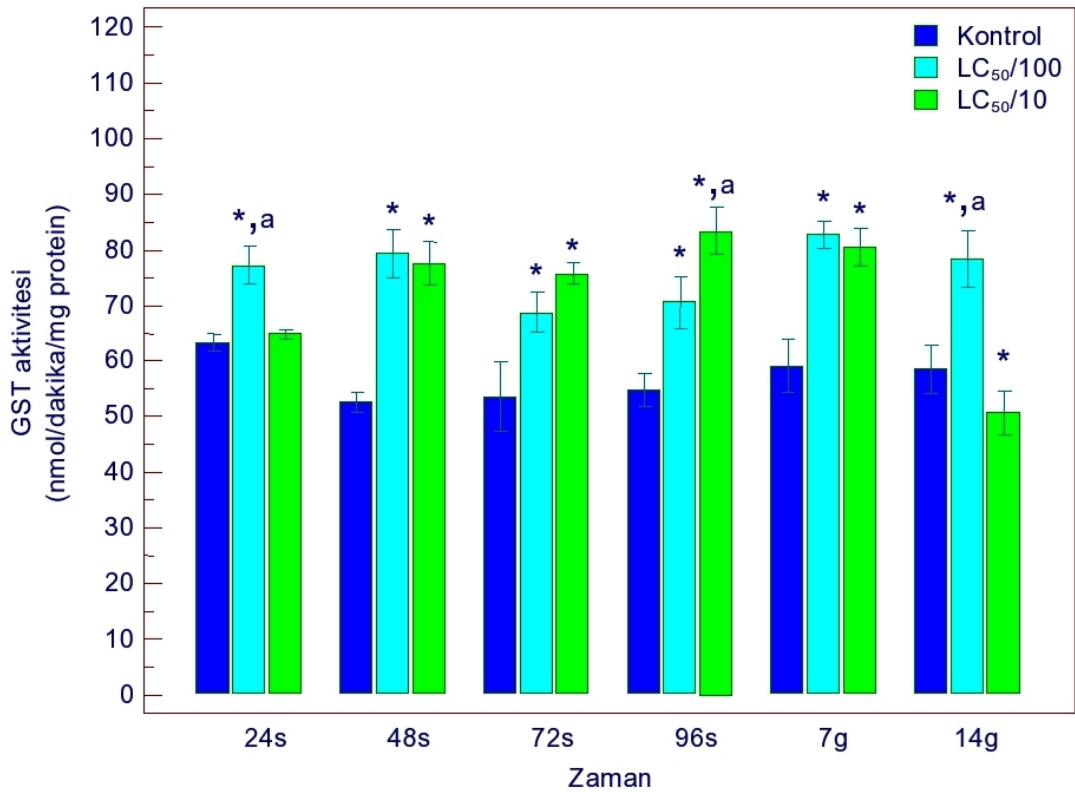
Çizelge 4.4. Thiamethoxam 24, 48, 72, 96. Saat LC₅₀ Değerleri

THIAMETHOXAM	LC₅₀ DEĞERLERİ
24. saat	25.51 mg/L
48. saat	19.46 mg/L
72. saat	15.14 mg/L
96. saat	8.985 mg/L

4.1.5. Subletal Pestisit Uygulamaları Sonucunda Belirlenen Enzim Aktiviteleri

4.1.1. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Atrazine Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

4.1.1.1. GST Aktivitesi



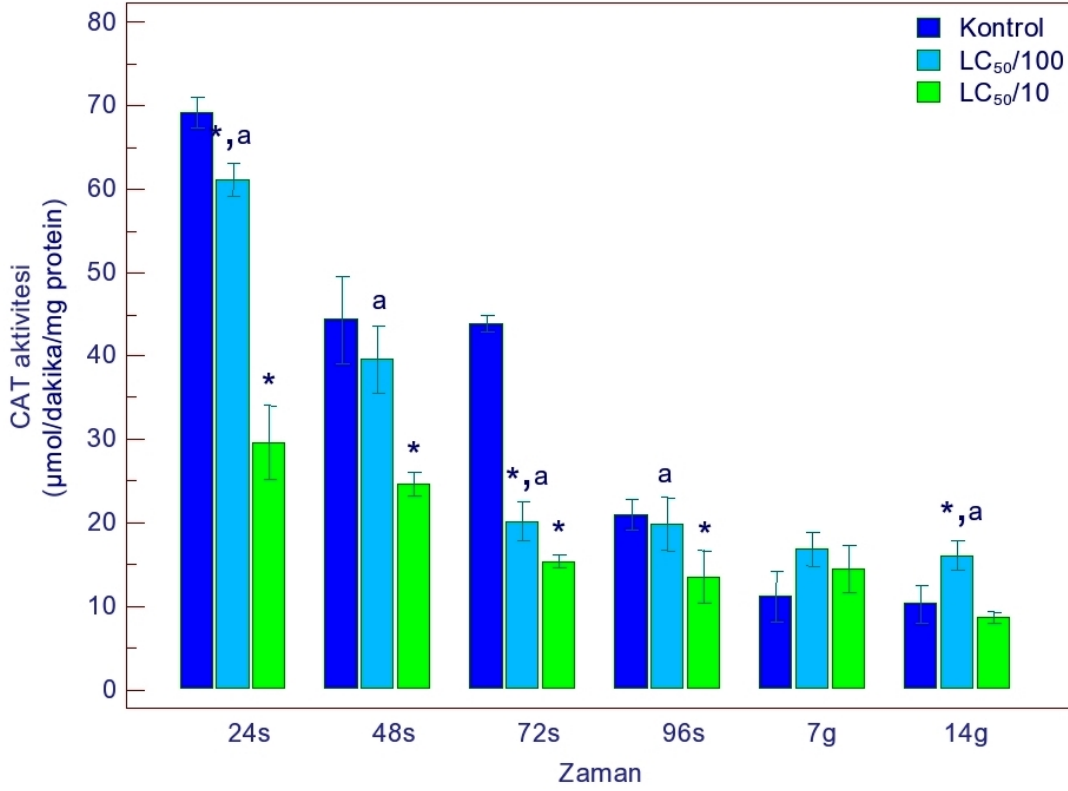
Şekil 4.1. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 atrazine maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki atrazine farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.1.); akut uygulamanın ilk günlerinde düşük konsantrasyona (LC₅₀/100) maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST aktivitesi, yüksek konsantrasyona (LC₅₀/10) maruz kalan canlılara göre daha yüksek iken 72. ve 96 saatlerde yüksek konsantrasyonda oluşan enzim cevaplarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Subakut uygulama süresince düşük konsantrasyona (LC₅₀/100) maruz

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

kalan canlılardaki enzim aktivitesi yüksek konsantrasyona (LC₅₀/10) göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05).

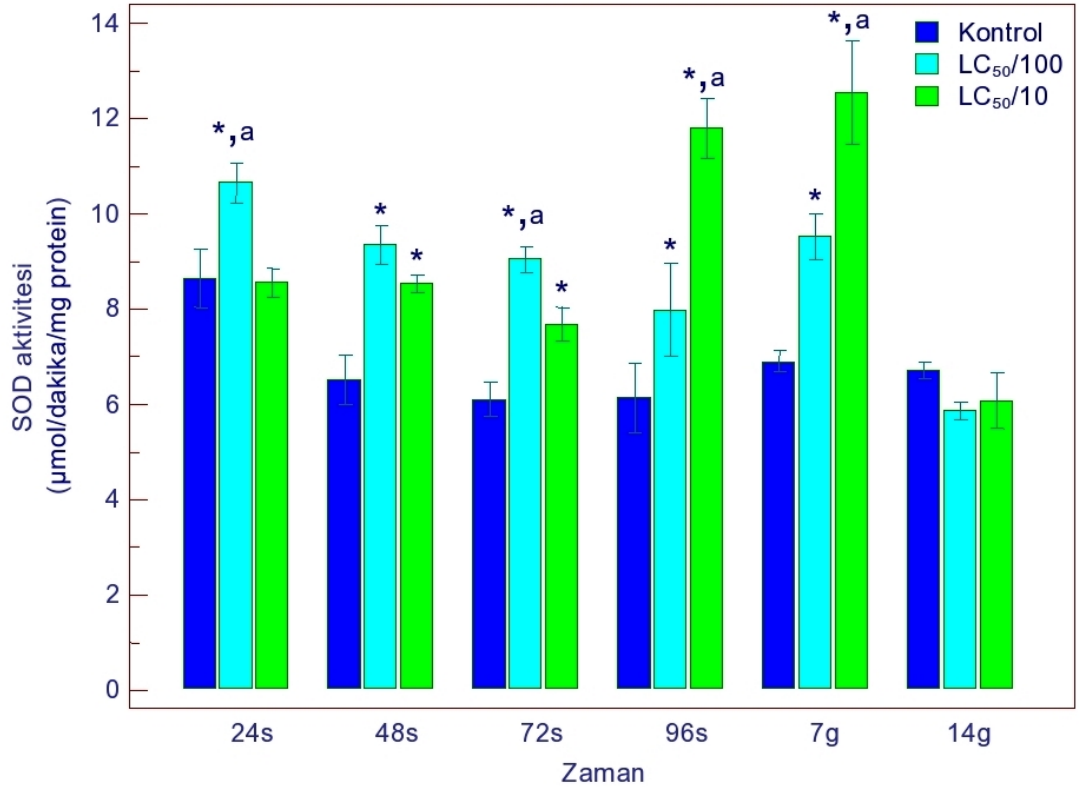
4.1.1.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.2. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 atrazine maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki atrazine farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.2.); hem kontrol hem de iki farklı dozdaki enzim aktivitesinin zamana bağlı olarak inhibe olduğu gözlenmiştir. Tüm zaman aralıklarında yüksek konsantrasyona (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin düşük konsantrasyona (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki CAT aktivitesine göre inhibe olduğu tespit edilmiştir (p<0.05).

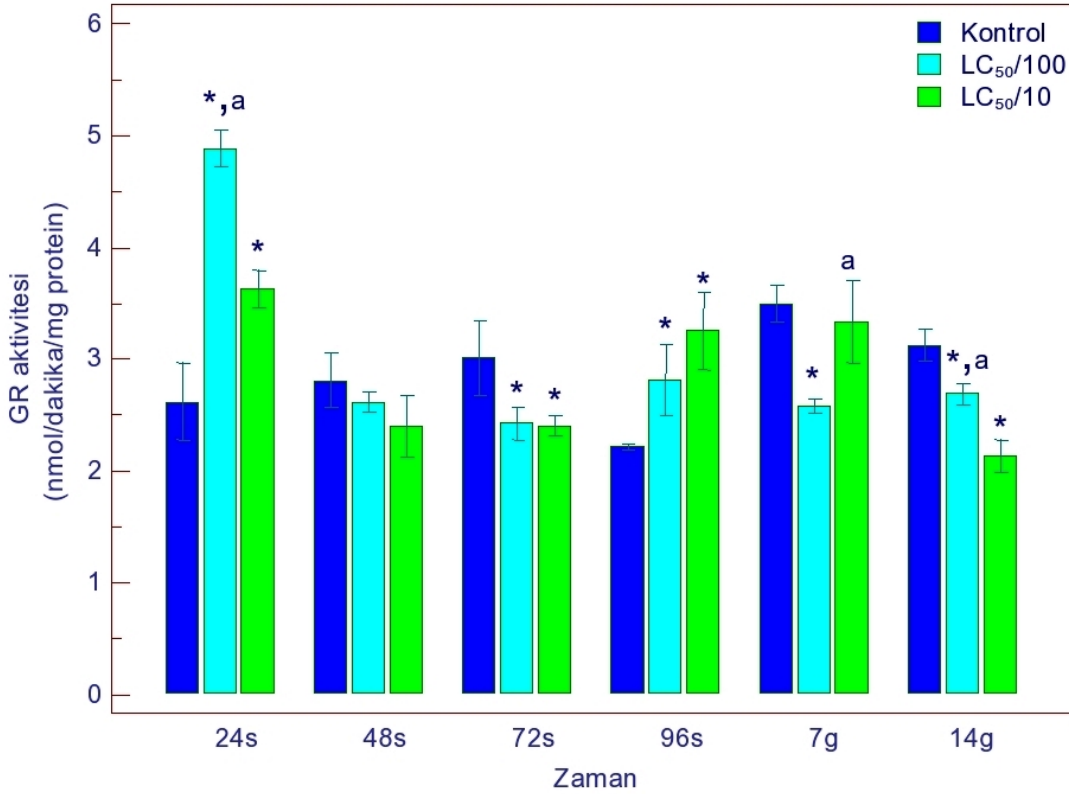
4.1.1.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.3. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 atrazine maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki atrazine farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.3.); uygulamanın 24., 48. ve 72. gününde düşük konsantrasyonun (LC₅₀/100) oluşturduğu enzim aktivitesinin yüksek konsantrasyonun (LC₅₀/10) neden olduğu aktiviteye göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0.05). 96. saat . ve 7. günde ise yüksek konsantrasyona (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki SOD enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Genel olarak en yüksek aktivasyon 96. saat ve 7. günde gözlenmiştir (p<0.05).

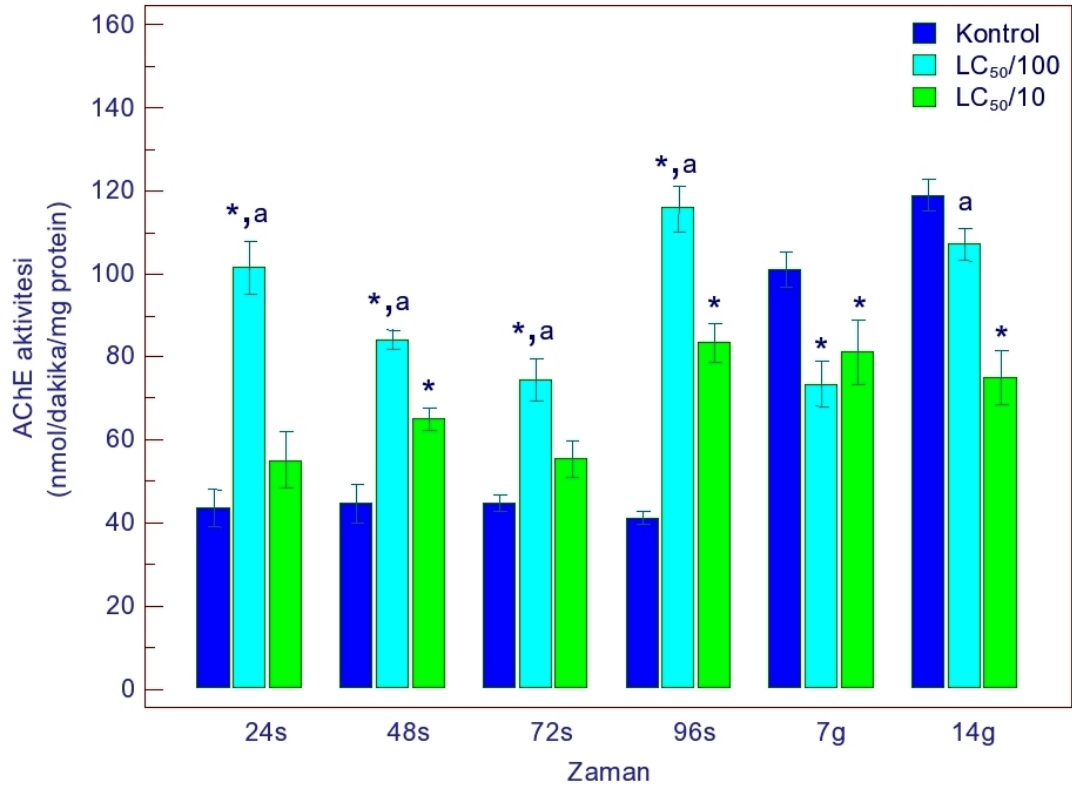
4.1.1.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.4. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 atrazine maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki atrazine farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.4.); uygulamanın ilk 24. saatinde düşük konsantrasyondaki enzim aktivitesinin yüksek doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre daha fazla indüklendiği gözlenmiştir (p<0.05). 24. saatte LC₅₀/10'luk konsantrasyona maruz kalan canlılardaki GR aktivitesinin diğer zamanlara göre kısmen yüksek olduğu tespit edilmiştir. GR aktivitesindeki değişim zamana bağlı değildir. Akut uygulama sürecinde 72. saatte inhibisyon gözlenirken 96. saatte indüklendiği tespit edilmiştir. Subakut uygulamalarda hem kontrol hem de konsantrasyonlar arasında fark gözlenmiştir (p<0.05).

4.1.1.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.5. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 atrazine maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki atrazine farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların AChE ezimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.5.); genel olarak akut uygulamalarda yüksek konsantrasyona (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesinin düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalanlara göre daha fazla inhibe olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Ayrıca akut uygulama süresince 24. ve 72. saat dışındaki tüm zaman dilimlerinde enzim aktivitesi kontrole göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Subakut uygulama döneminde ise yüksek doza maruz kalan canlılardaki AChE enziminin kontrole göre inhibe olduğu tespit edilmiştir (p<0.05).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.1.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Atrazine Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

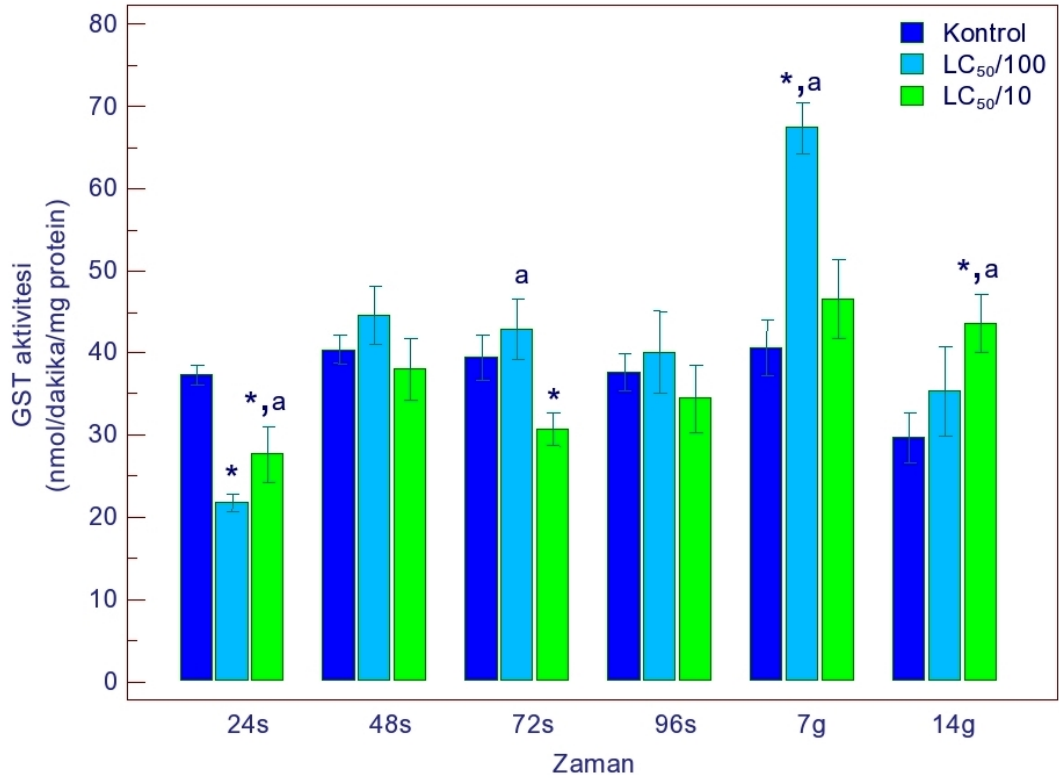
Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda atrazine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzimlerindeki spesifik aktivite değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.5. ile özetlenmiştir.

Çizelge 4.5. Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda atrazine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in enzim aktivite değişimleri *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05) Enzim spesifik aktivitesinin birimleri: GST, GR ve AChE için nmol/dakika/mg protein; CAT ve SOD için µmol/dakika/mg protein

	Zaman	n	Kontrol	LC ₅₀ /100	LC ₅₀ /10
GST	24. s	3	63.3798± 1.3889	77.2655±3.4553* ^a	64.7624±0.9549
	48. s	3	52.6481± 1.6670	79.3471±4.3563*	77.4662±3.8662*
	72. s	3	53.6545± 6.2506	68.7503±3.6612*	75.7478±1.8948*
	96. s	3	54.8482± 2.9566	70.5914±4.6454*	83.4391±4.3149* ^a
	7. g	3	59.1210± 4.7433	82.6225±2.5385*	80.5404±3.4506*
	14. g	3	58.5038± 4.3785	78.3079±5.1398* ^a	50.7376±3.8547*
CAT	24. s	3	69.1569± 1.8796	61.1758±2.0373* ^a	29.6256±4.4555*
	48. s	3	44.3474± 5.2459	39.5765±4.0303 ^a	24.6967±1.4176*
	72. s	3	43.9482± 0.9472	20.2513±2.3324* ^a	15.3863±0.7373*
	96. s	3	21.0788± 1.8195	19.8593±3.2020 ^a	13.5261±3.1953*
	7. g	3	11.2122±2.9673	16.8449±2.0435	14.5636±2.8328
	14. g	3	10.3063±2.2098	16.1153±1.7273* ^a	8.7042±0.6230
SOD	24. s	3	8.6454±0.6137	10.6551±0.4266* ^a	8.5499±0.3142
	48. s	3	6.5095±0.5262	9.3383±0.409* ²	8.5328±0.1742*
	72. s	3	6.1105±0.3482	9.0490±0.2735* ^a	7.6880±0.3436*
	96. s	3	6.1367±0.7179	7.9918±0.9804*	11.7958±0.629* ^a 8
	7. g	3	6.9112±0.2103	9.5213±0.4873*	12.5493±1.0967* ^a
	14. g	3	6.7135±0.1788	5.8732±0.1907	6.0913±0.5844
GR	24. s	3	2.6226±0.3413	4.8871±0.1651* ^a	3.6305±0.1700*
	48. s	3	2.8077±0.2456	2.6183±0.08188	2.4034±0.2793
	72. s	3	3.0169±0.3335	2.4262±0.1412*	2.4057±0.09074*
	96. s	3	2.2177±0.0301	2.8124±0.3249*	3.2547±0.3451*
	7. g	3	3.4949±0.1618	2.5821±0.06437* ^a	3.3363±0.3700
	14. g	3	3.1251±0.1435	2.6882±0.09071* ^a	2.1382±0.1467*
AChE	24. s	3	43.6610±4.4630	101.6178±6.2874* ^a	55.2129±6.8176
	48. s	3	44.6856±4.7499	84.1776±2.4259* ^a	65.0334±2.6625*
	72. s	3	44.8452±2.0508	74.4858±5.1115* ^a	55.4285±4.3322
	96. s	3	41.2029±1.5999	115.7427±5.4867* ^a	83.5352±4.7620*
	7. g	3	101.0827±4.0645	73.6065±5.4331*	81.2790±7.7293*
	14. g	3	119.0689±3.8682	107.0961±3.8189	75.0066±6.5965* ^a

4.1.2. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Endosulfan Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

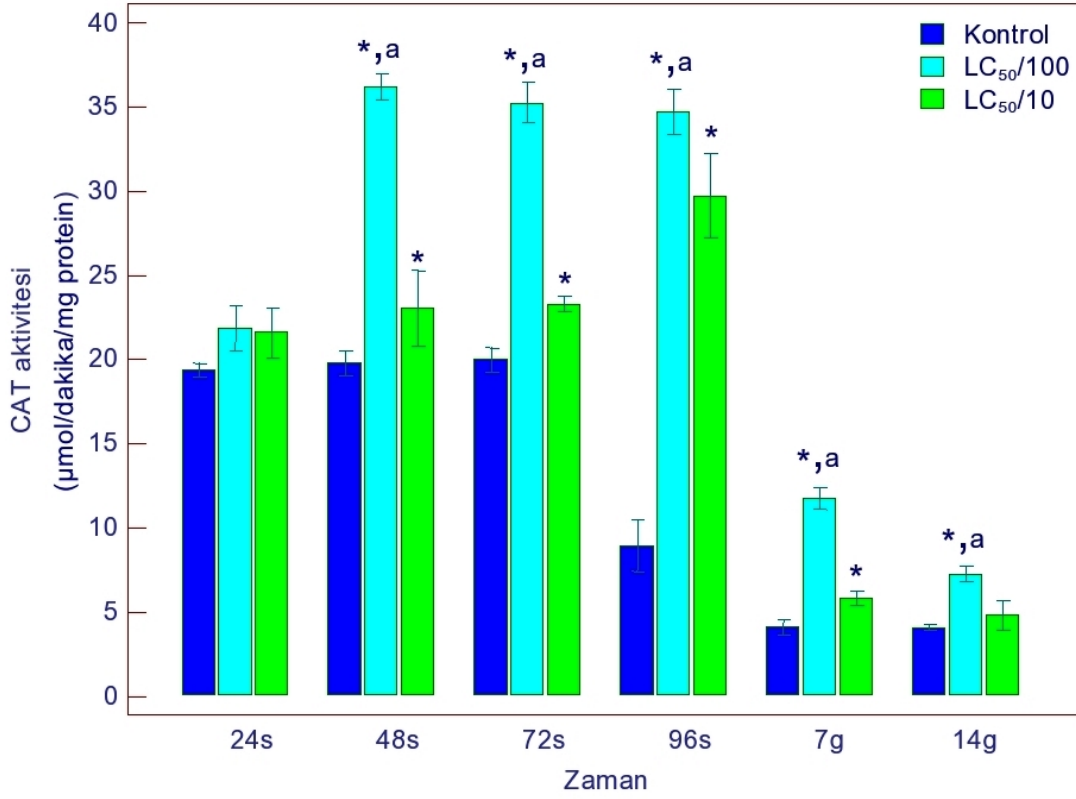
4.1.2.1. GST Aktivitesi



Şekil 4.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 endosulfana maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki endosulfana farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.6.); 24. saatte her iki doza maruz kalan canlıların enzim aktivitesinin kontrole göre inhibe olduğu gözlenmiştir. 72. saatte ise yüksek doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hem LC₅₀/100'lük uygulama grubuna hem de kontrole göre inhibe olmuştur. Uygulamanın 7. gününde düşük doz (LC₅₀/100) uygulanan canlılarda enzim aktivitesi oldukça yüksek bulunmuştur. Uygulamanın 14. gününde ise yüksek doz uygulanan canlılarda (LC₅₀/10) enzim aktivitesi hem kontrolden hem de LC₅₀/100'lük uygulamadan önemli düzeyde yüksektir (p<0.05).

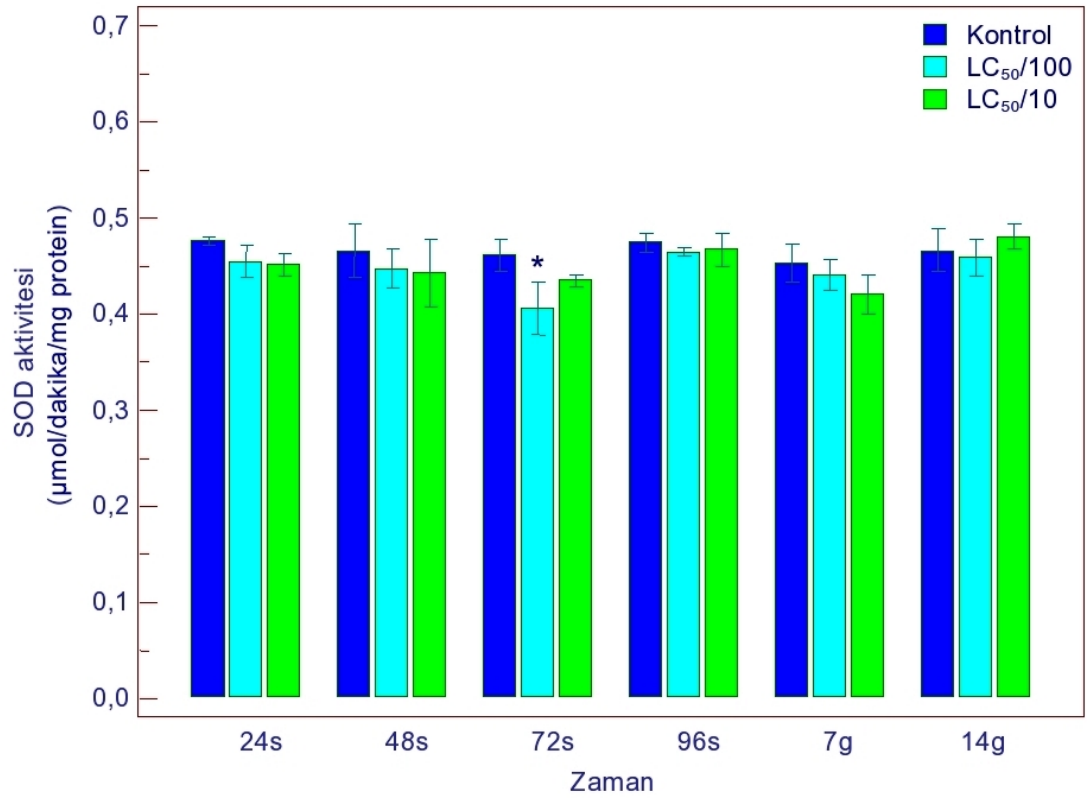
4.1.2.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.7. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 endosulfana maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki endosulfana farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.7.); 24. saat dışındaki tüm uygulamalarda düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki enzim düzeyinin yüksek doza (LC₅₀/10) maruz kalanlara ve kontrole göre önemli düzeyde arttığı saptanmıştır. Uygulamanın erken dönemlerinde (24., 48., 72., 96. saatler) hem LC₅₀/100'lük hem de LC₅₀/10'luk dozlara maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinin kontrole göre anlamlı şekilde indüklendiği tespit edilmiştir (p<0.05).

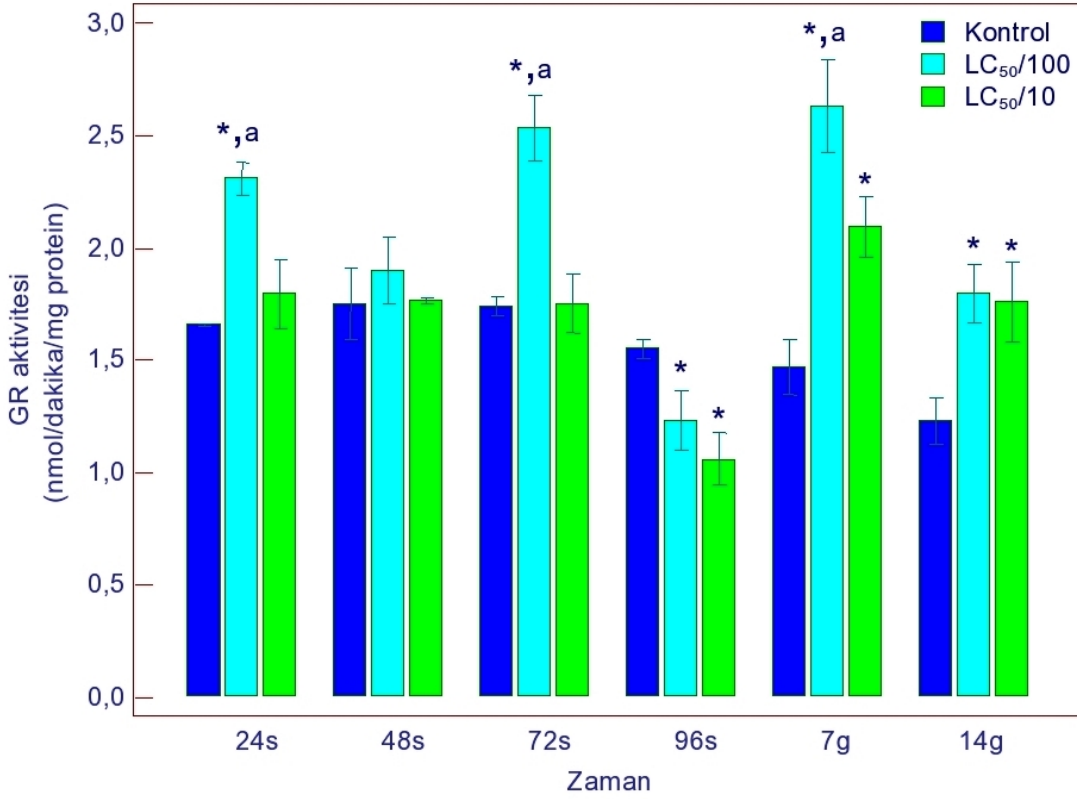
4.1.2.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.8. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 endosulfana maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki endosulfana farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.8.); sadece 72. saatte düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlılarda kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (p<0.05).

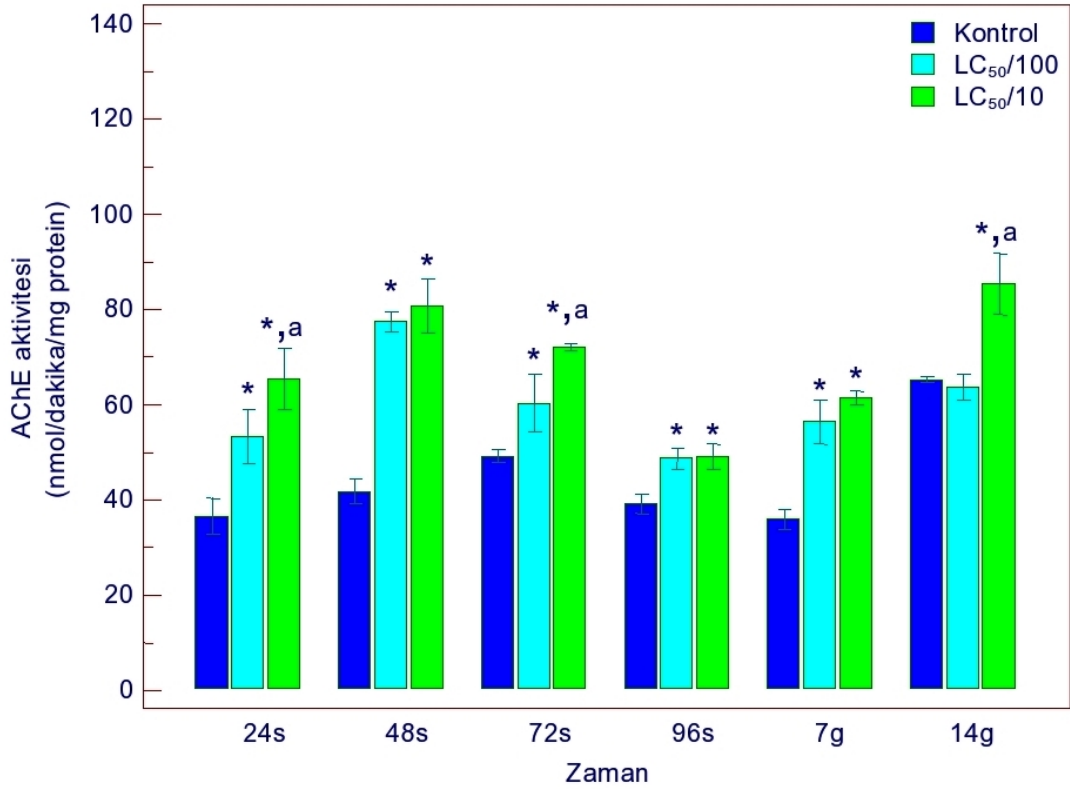
4.1.2.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.9. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 endosulfana maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki endosulfana farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.9.); genel olarak düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlıların enzim aktivitesinin yüksek doza (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki aktiviteden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Düşük dozda (LC₅₀/100) pestisite maruz kalan canlılarda 24. ve 72. saate enzim seviyesi oldukça yüksek bulunmuştur. Subakut uygulama sürecinde ise 7. gündeki enzim seviyesi her iki dozdaki uygulamada da 14. güne göre daha yüksek bulunmuştur.

4.1.2.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.10. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 endosulfan maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki endosulfana farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların AChE enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.10.); 14 günde LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hariç tüm saat ve günlerde LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitelerinin kontrolden anlamlı düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın 24. ve 72. saatlede LC₅₀/10'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi LC₅₀/100'lük uygulamanın aktivitesinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.2.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Endosulfan Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

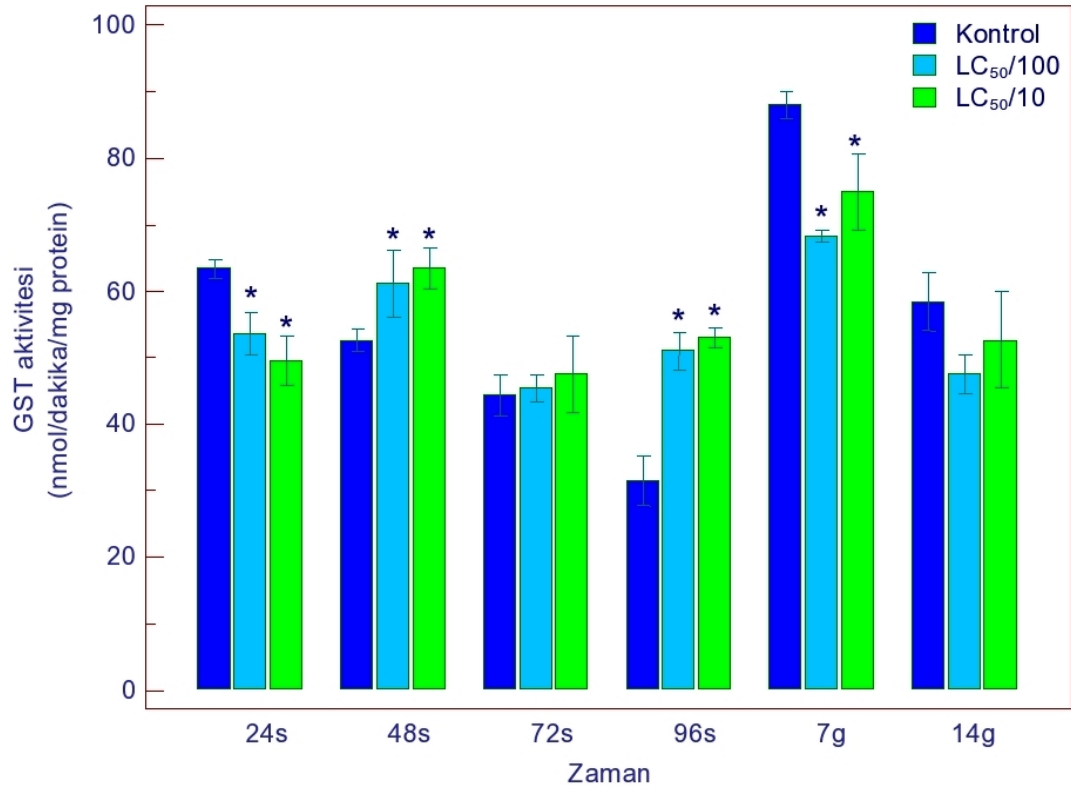
Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda endosulfana maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzimlerindeki spesifik aktivite değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.6 ile özetlenmiştir.

Çizelge 4.6. Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda atrazine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in enzim aktivite değişimleri *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^aLC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05) Enzim spesifik aktivitelerinin birimleri: GST, GR ve AChE için nmol/dakika/mg protein; CAT ve SOD için µmol/dakika/mg protein

	Zaman	n	Kontrol	LC ₅₀ /100	LC ₅₀ /10
GST	24. s	3	37.3942±1.2614	21.8384 ±1.0909*	27.6720±3.3790* ^a
	48. s	3	40.4595±1.7202	44.5987±3.4881	38.0335±3.7326
	72. s	3	39.5327±2.7945	42.9301 ±3.7034 ^a	30.7338±2.0735
	96. s	3	37.6733±2.3200	40.0205±5.0043	34.5013±4.1559
	7. g	3	40.5958±3.4343	67.4141±3.1194* ^a	46.5712±4.8048
	14. g	3	29.7132±3.0397	35.3405±5.4848	43.5503±3.5146* ^a
CAT	24. s	3	19.3837±0.4370	21.9097±1.3420	21.5995±1.4510
	48. s	3	19.8194±0.7440	36.2276±0.7788* ^a	23.0685±2.2366*
	72. s	3	20.0115±0.7028	35.2693±1.2188* ^a	23.3124±0.4597*
	96. s	3	8.9696±1.5672	34.7175±1.3440* ^a	29.7468±2.5127*
	7. g	3	4.1651±0.4552	11.7384±0.6653* ^a	5.8082±0.4216*
	14. g	3	4.1104±0.1592	7.3014±0.4726* ^a	4.8125±0.8897
SOD	24. s	3	0.4765±0.004996	0.4547±0.01671	0.4521±0.01176
	48. s	3	0.4661±0.02731	0.4472±0.02085	0.4429±0.03523
	72. s	3	0.4611±0.01627	0.4065±0.02779*	0.4350±0.006136
	96. s	3	0.4745±0.009841	0.4650±0.004583	0.4671±0.01725
	7. g	3	0.4535±0.01992	0.4412±0.01585	0.4211±0.02061
	14. g	3	0.4664±0.02253	0.4594±0.01878	0.4813±0.01297
GR	24. s	3	1.6586±0.003365	2.3086±0.07168* ^a	1.7960±0.1537
	48. s	3	1.7511±0.1592	1.8991±0.1471	1.7677±0.01124
	72. s	3	1.7439±0.04399	2.5339±0.1482* ^a	1.7537±0.1331
	96. s	3	1.5504±0.04051	1.2331±0.1330*	1.0605±0.1172*
	7. g	3	1.4697±0.1220	2.6298±0.2082* ^a	2.0956±0.1351*
	14. g	3	1.2327±0.1030	1.7973±0.1332*	1.7611±0.1744*
AChE	24. s	3	36.5218 ±3.7071	53.3373±5.7095*	65.4532±6.3204* ^a
	48. s	3	41.7363±2.5922	77.4554±1.9414*	80.8052±5.6125*
	72. s	3	49.2157±1.3079	60.2479±5.9968*	72.0932±0.7441* ^a
	96. s	3	39.1677±2.0443	48.7572±2.1865*	49.0485±2.5663*
	7. g	3	35.9418±2.0600	56.3974±4.6707*	61.3627±1.5440*
	14. g	3	65.2776±0.7326	63.7391±2.6842	85.4053±6.3521* ^a

4.1.3. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Indoxacarb Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

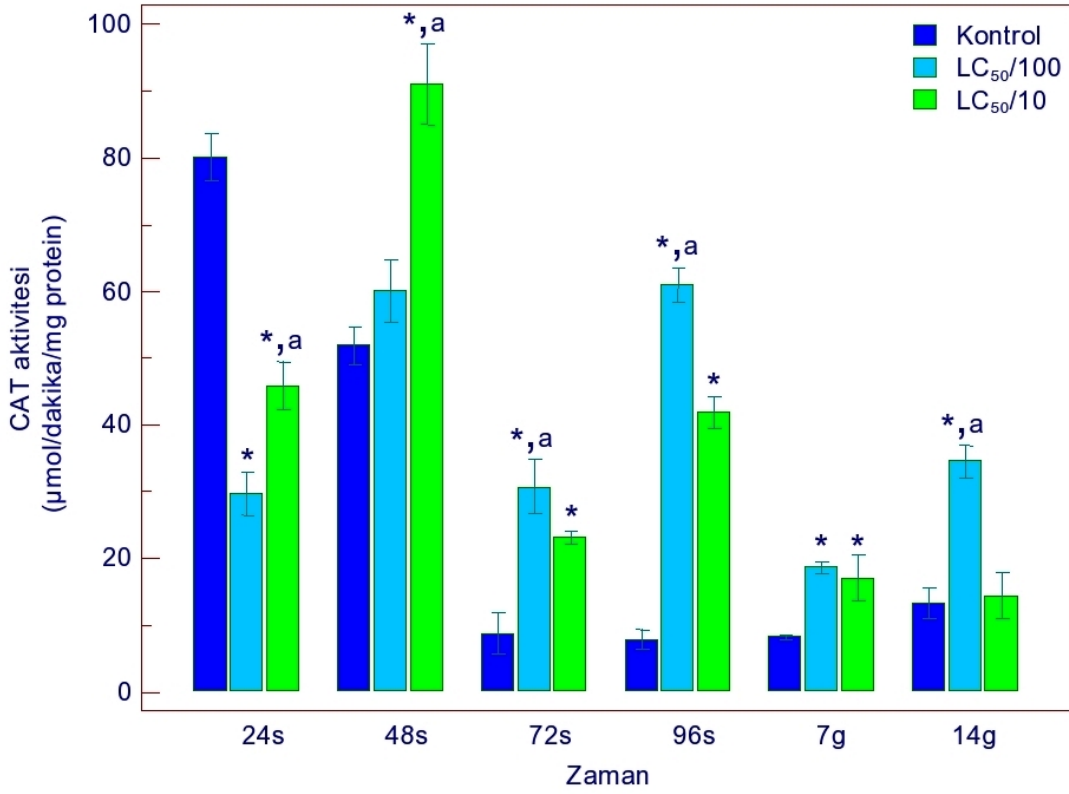
4.1.3.1. GST Aktivitesi



Şekil 4.11. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 indoxacarb maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki indoxacarb farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.11.); akut uygulamada enzim aktivitesinin kontrolde zamana bağlı olarak azaldığı, buna rağmen 48. ve 96. saatlerde enzim aktivitesinin her iki dozda da kontrole göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. Subakut uygulama döneminde ise 7. günde hem kontrolde hem de uygulama gruplarında enzim aktivitelerinin inhibe olduğu gözlenmiştir.

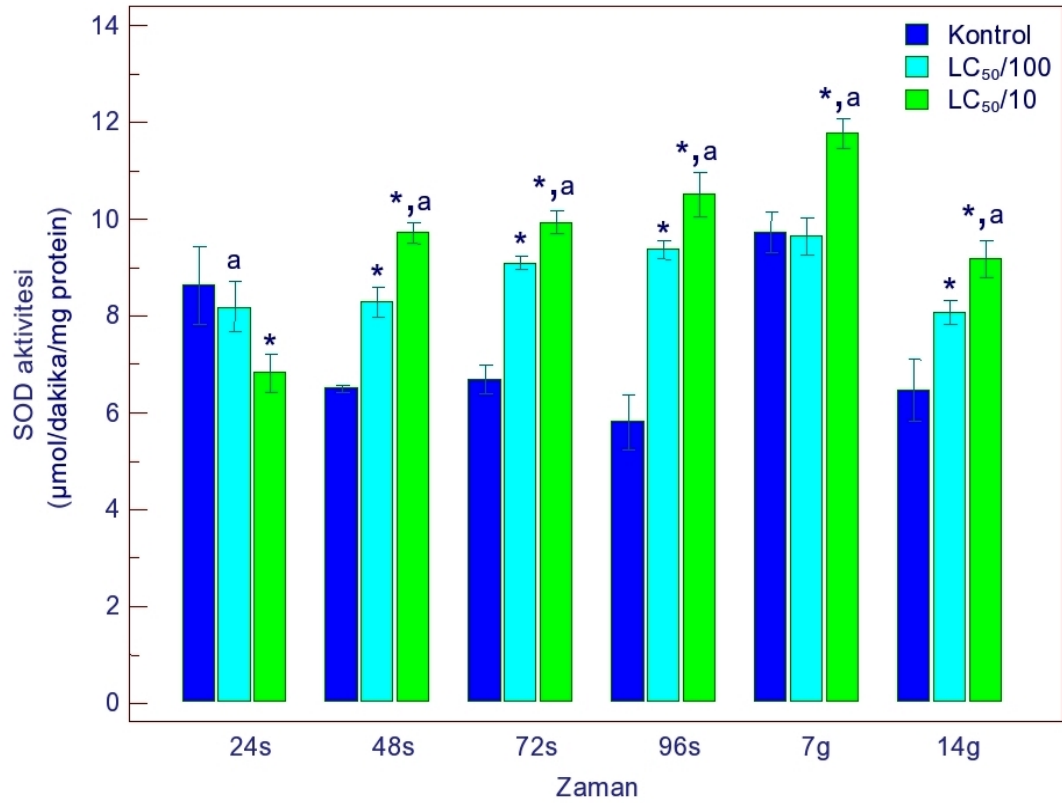
4.1.3.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.12. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki indoxacarba farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.12.); 48. saatte LC₅₀/10'lük doza maruz kalan canlılardaki CAT aktivitesinin hem kontrolden hem de LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardakinden anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0.05). 48. saat dışındaki zamanlarda genel olarak LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi kontrole ve LC₅₀/10'lük uygulamaya göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05).

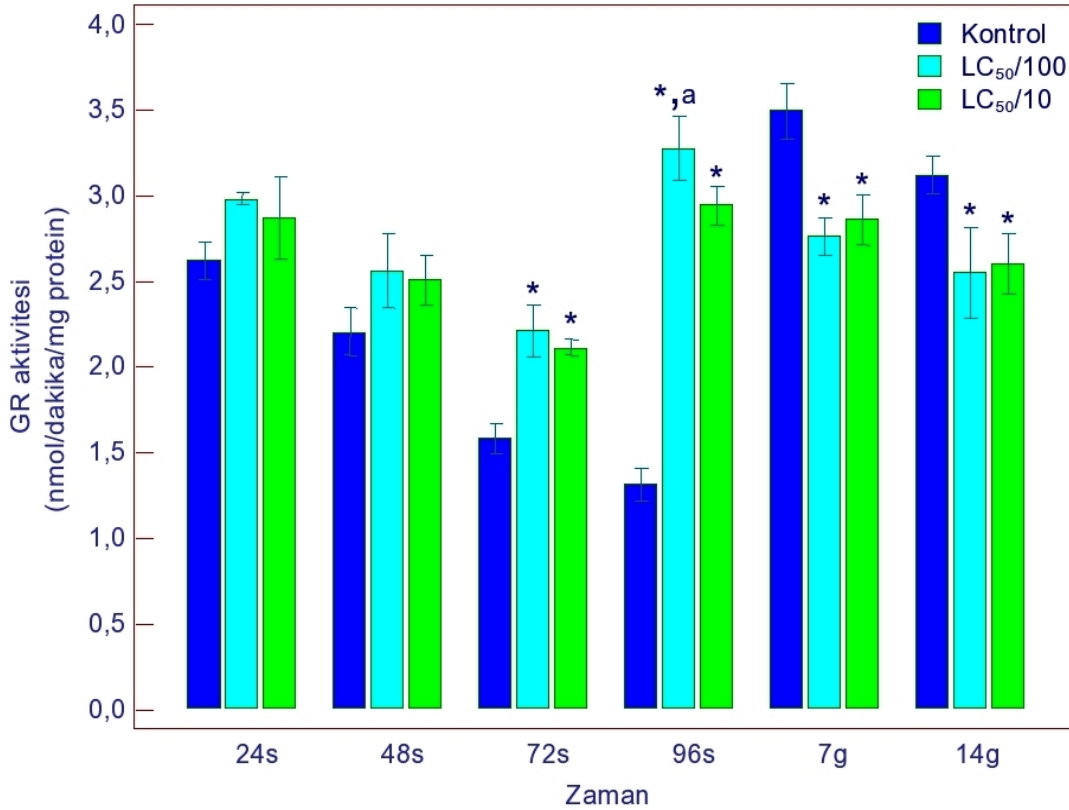
4.1.3.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.13. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki indoxacarba farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.13.); akut uygulama süresince indoxacarba maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin zamana bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. 7 günde LC₅₀/10'luk dozda, 14. günde ise her iki dozdaki uygulamalarda kontrole göre yüksek aktivite tespit edilmiştir. Uygulamanın ilk günü dışındaki her zaman aralığında yüksek doza (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki aktiviteye göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

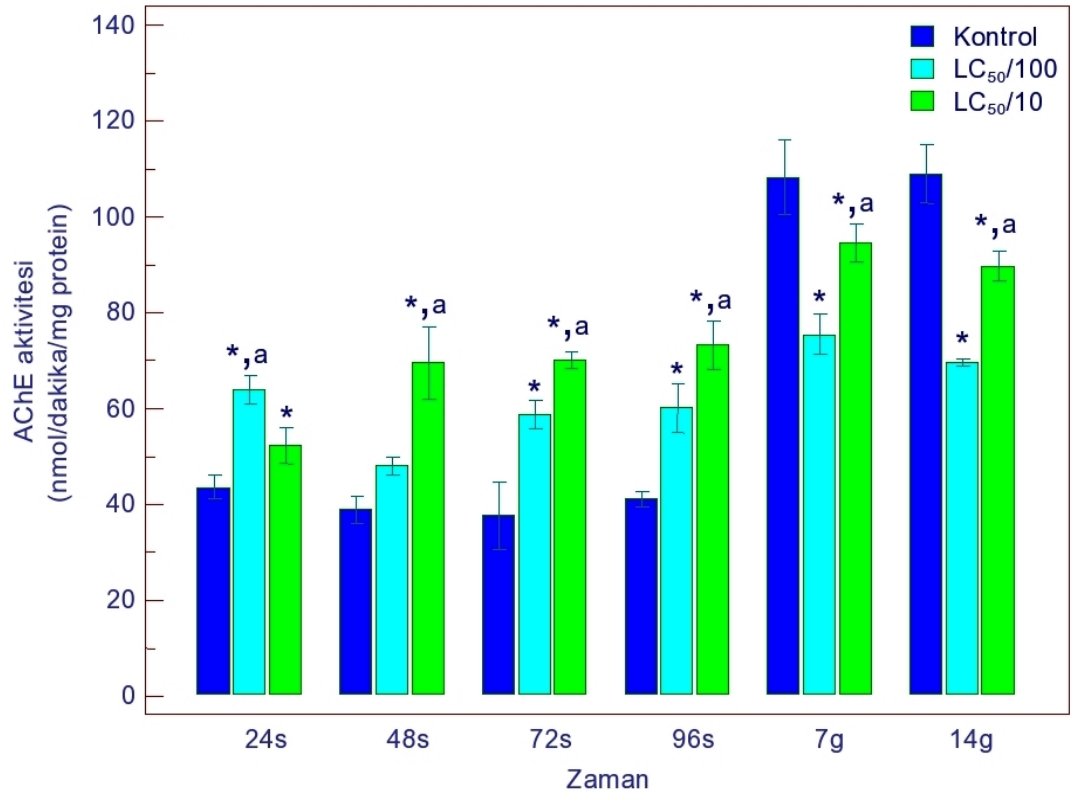
4.1.3.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.14. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 indoxacarbaya maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki indoxacarbaya farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.14.); akut uygulamada 72. ve 96. saatlerde her iki doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyelerinin kontrole göre önemli düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın 7. ve 14. günlerinde her iki doza maruz kalan canlılardaki GR enziminin kontrole göre önemli düzeyde inhibe olduğu bulunmuştur (p<0.05).

4.1.3.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.15. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 indoxacarba maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki indoxacarba farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların AChE enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.15.); ilk 96 saatlik zaman diliminde kontrol grubundaki AChE düzeyinin sabit kaldığı, 7. ve 14. günlerde ise arttığı gözlenmiştir. Uygulamanın ilk gününde düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hem LC₅₀/10'luk pestisite maruz kalan canlılardaki hem de kontrol grubundaki enzim aktivitesine göre daha yüksektir (p<0.05). 48. 72. ve 96. saatlerde ise yüksek doza (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin diğer iki gruba göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Uygulamanın 7. ve 14. günlerinde ise LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'lük dozlara maruz kalan canlılardaki enzim düzeyinin kontrole göre önemli düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir (p<0.05).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.3.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Indoxacarba Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

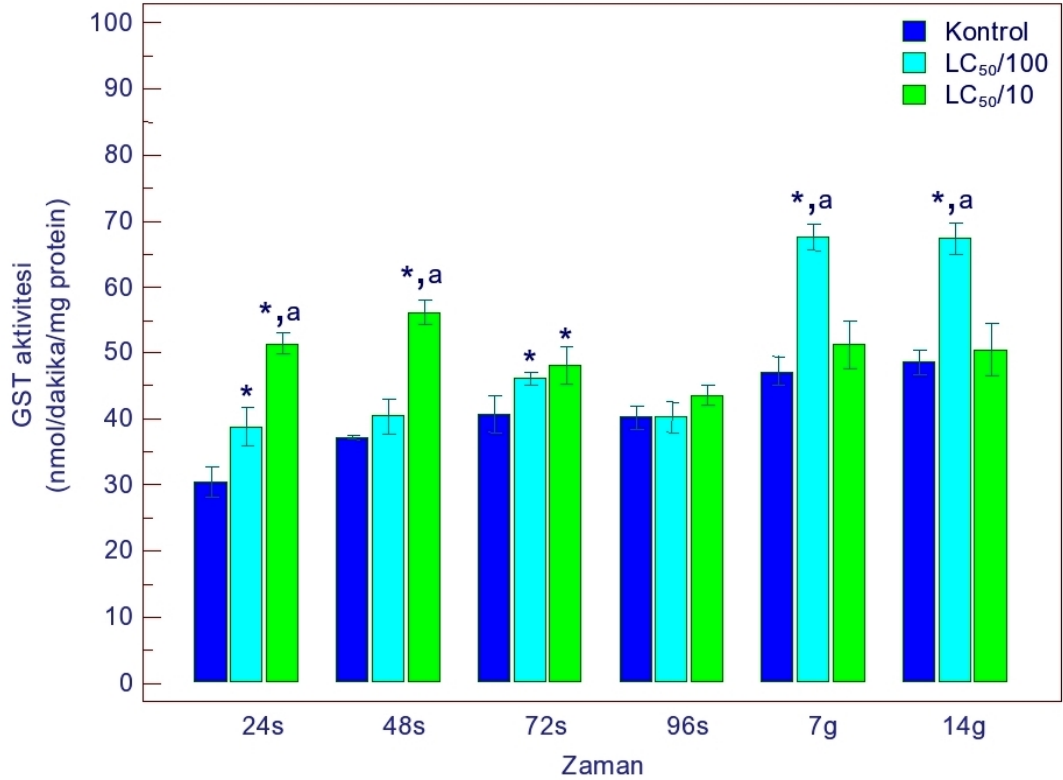
Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda indoxacarba maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzimlerindeki spesifik aktivite değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.7. ile özetlenmiştir.

Çizelge 4.7 Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda indoxacarba maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in enzim aktivite değişimleri *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^aLC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05) Enzim spesifik aktivitelerinin birimleri: GST, GR ve AChE için nmol/dakika/mg protein; CAT ve SOD için µmol/dakika/mg protein

	Zaman	n	Kontrol	LC ₅₀ /100	LC ₅₀ /10
GST	24. s	3	63.3798±1.3889	53.6883±3.0787*	49.5400±3.6585*
	48. s	3	52.6481±1.6670	61.1188±5.0146*	63.4846±3.0873*
	72. s	3	44.4082±3.0532	45.4330±1.9723	47.5335±5.7035
	96. s	3	31.5149±3.7506	51.0480±2.8639*	53.0386±1.4396*
	7. g	3	88.0002±2.0232	68.1929±0.8101*	74.9027±5.7234*
	14. g	3	58.5038±4.3785	47.6009±2.8525	52.6732±7.2597
CAT	24. s	3	80.1385±3.5041	29.8222±3.2420*	45.8742±3.5607 ^{*.a}
	48. s	3	51.9459±2.7811	60.0214±4.6381	91.0779±6.0896 ^{*.a}
	72. s	3	8.8726±2.9312	30.7825±3.9942 ^{*.a}	23.1830±1.0593*
	96. s	3	7.9177±1.3895	61.0101±2.5514 ^{*.a}	41.8600±2.3104*
	7. g	3	8.2717±0.2930	18.6899±0.8807*	17.2052±3.5261*
	14. g	3	13.3012±2.2717	34.5881±2.3784 ^{*.a}	14.4740±6.4858
SOD	24. s	3	8.6454±0.7994	8.1975±0.5012 ^a	6.8260±0.3945*
	48. s	3	6.5095±0.07625	8.2920±0.3154*	9.7228±0.2186 ^{*.a}
	72. s	3	6.6868±0.2872	9.0921±0.1324*	9.9306±0.2367 ^{*.a}
	96. s	3	5.8034±0.5614	9.3712±0.1862*	10.5112±0.4455 ^{*.a}
	7. g	3	9.7382±0.4074	9.6435±0.3860	11.7764±0.3053 ^{*.a}
	14. g	3	6.4640±0.6477	8.0796±0.2438*	9.1752±0.3916 ^{*.a}
GR	24. s	3	2.6226±0.1121	2.9839±0.03941	2.8727±0.2390
	48. s	3	2.2077±0.1400	2.5668±0.2167	2.5105±0.1447
	72. s	3	1.5834±0.08575	2.2153±0.1515*	2.1146±0.04473*
	96. s	3	1.3177±0.09567	3.2770±0.1898 ^{*.a}	2.9450±0.1128*
	7. g	3	3.4949±0.1618	2.7661±0.1070*	2.8624±0.1447*
	14. g	3	3.1251±0.1093	2.5525±0.2655*	2.6028±0.1754*
AChE	24. s	3	43.6610±2.5583	63.9569±2.9266 ^{*.a}	52.3700±3.763*1
	48. s	3	38.8426±2.9407	48.0921±1.7900	69.4467±7.5905 ^{*.a}
	72. s	3	37.6716±7.0216	58.7436±2.9261*	70.2113±1.8272 ^{*.a}
	96. s	3	41.2029±1.5999	60.0870±5.2120*	73.2332±5.0371 ^{*.a}
	7. g	3	108.2314±7.7153	75.5035±4.2829*	94.6316±3.8887 ^{*.a}
	14. g	3	109.0689±6.1685	69.7022±0.8544*	89.8675±2.9920 ^{*.a}

4.1.4. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Thiamethoxam Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

4.1.4.1. GST Aktivitesi



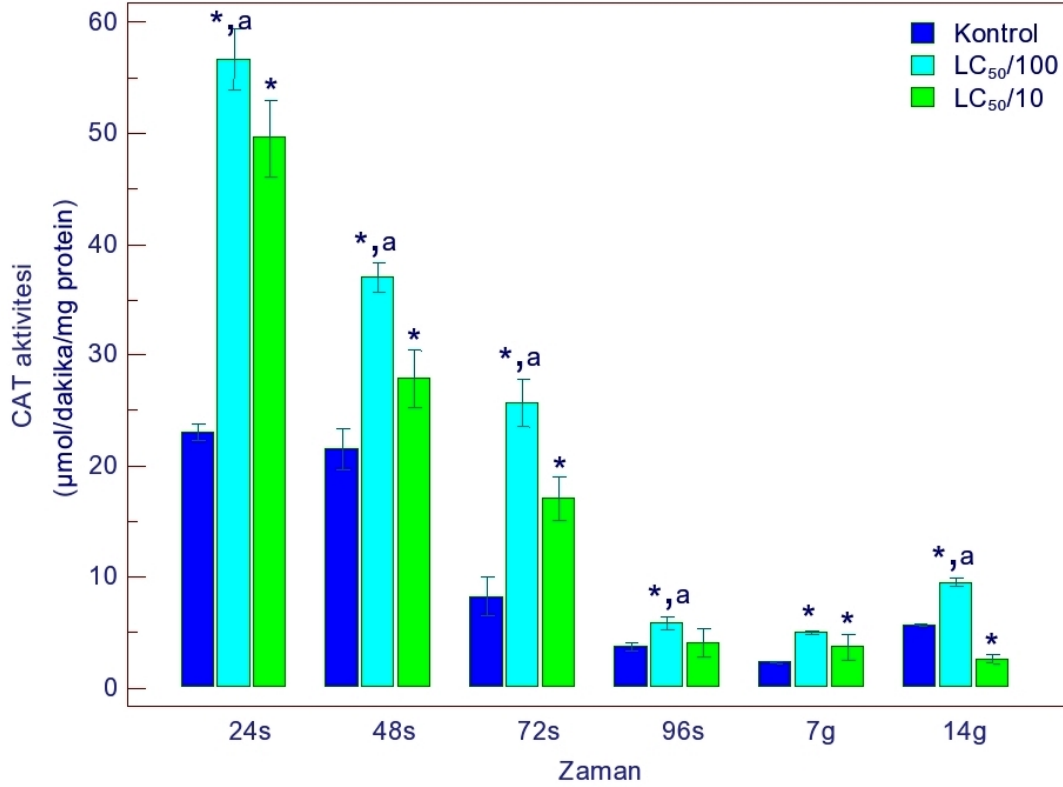
Şekil 4.16. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu GST aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki thiamethoxama farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.16.); uygulamanın ilk üç gününde LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin kontrole göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Akut uygulama süresince 24. ve 48. saatlerde LC₅₀/10'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinin LC₅₀/100'lük pestisit dozuna maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Uygulamanın subakut döneminde ise kontrol ve LC₅₀/10'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesi farklı değilken, LC₅₀/100'lük doza maruz kalan

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

canlılardaki enzim aktivitesi hem kontrol hem de LC₅₀/10'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

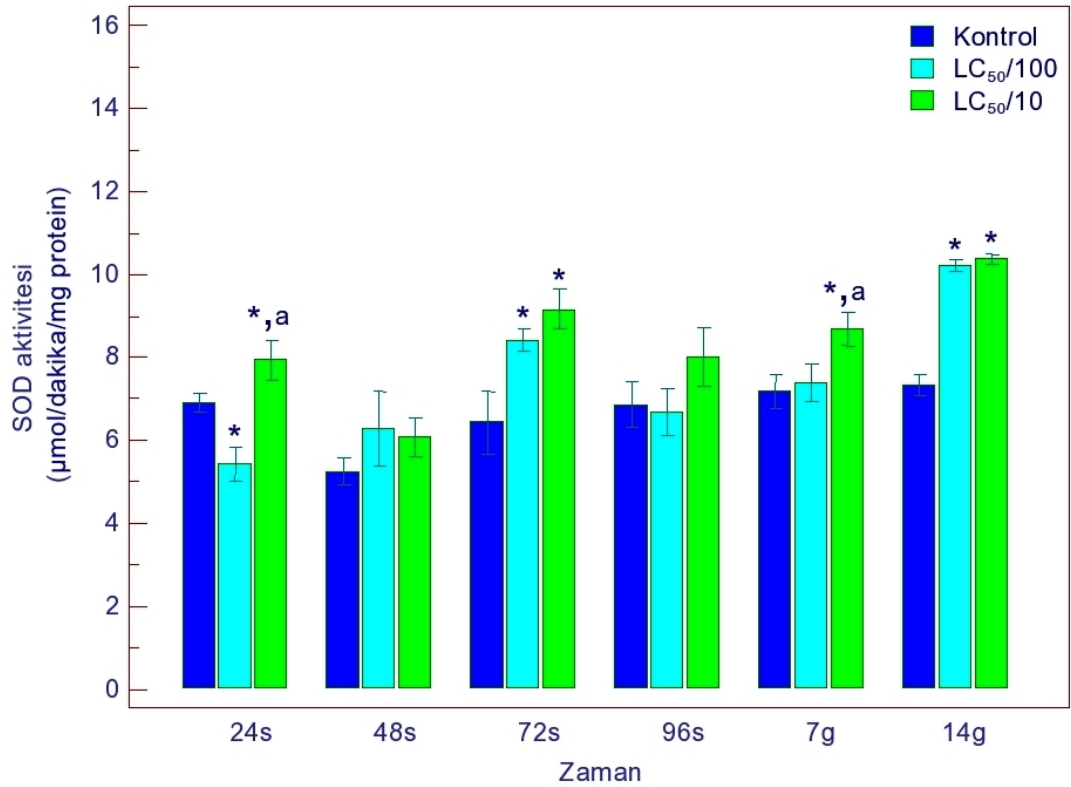
4.1.4.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.17. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu CAT aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki thiamethoxama farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.17.); organizmanın uygulamanın ilk günlerinde pestisite hızlı bir cevap oluşturduğu fakat daha sonra enzim aktivitelerinin tüm gruplarda zamana bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. 24., 48., 72., 96. saatlerde ve 14. günde LC₅₀/100'lük doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinin hem kontrol hem de LC₅₀/10'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinden önemli düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0.05).

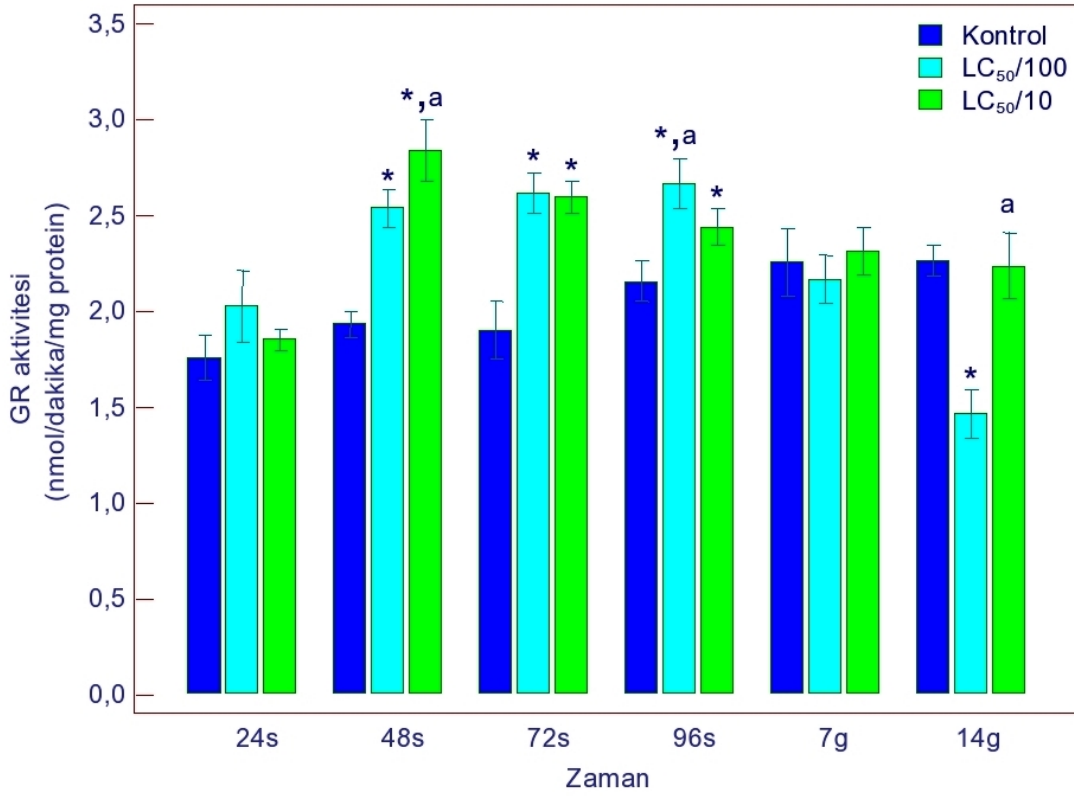
4.1.4.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.18. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu SOD aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki thiamethoxama farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.18.); LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlıların LC₅₀/100'lük doza maruz kalanlara göre genel olarak daha önemli düzeyde cevap oluşturduğu gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın akut döneminde enzim aktivitelerinin 72. saate kadar arttığı 96. saatte ise kısmen düştüğü gözlenmiştir. 7. günde enzim aktivitesinin LC₅₀/10 grubunda, kontrole ve LC₅₀/100'e göre önemli düzeyde indüklendiği saptanmıştır (p<0.05). 14. günde ise her iki dozda kontrole göre önemli düzeyde artış tespit edilmiştir (p<0.05).

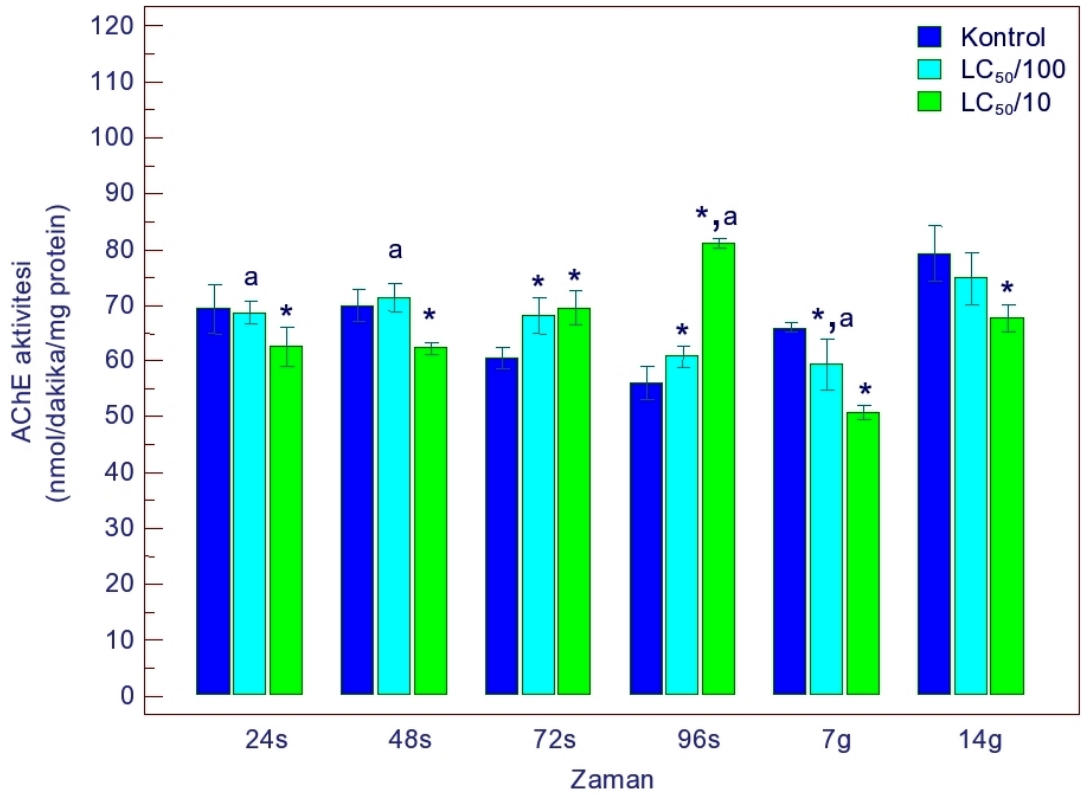
4.1.4.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.19. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu GR aktivitesindeki Değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki thiamethoxama farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.19.); akut uygulama sürecinde 96. saate kadar, LC₅₀/10'luk ve LC₅₀/100'lük pestisit konsantrasyonuna maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinin kontrolle karşılaştırıldığında indüklendiği gözlenmiştir. 48. saate LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinde, hem kontrol hem de LC₅₀/100'lük pestisit dozuna maruz kalan canlılardaki enzim seviyesine göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir (p<0.05). 96. saate geldiğinde ise LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyesi LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılara ve kontrole göre yüksek olduğu bulunmuştur (p<0.05).

4.1.4.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.20. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 thiamethoxama maruz bırakılması sonucu AChE aktivitesindeki değişimler *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^a LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05)

Farklı konsantrasyonlardaki thiamethoxama farklı sürelerde maruz kalmanın canlıların AChE enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.20.); uygulamanın ilk 48. saatinde LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılarda enzim seviyesi kontrole ve LC₅₀/100'lük uygulama grubundaki canlıların AChE enzim seviyesine göre önemli düzeyde inhibe olmuşken, 96. saatte LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinde kontrole ve LC₅₀/100'lük konsantrasyona maruz kalan canlılardaki enzim seviyesine göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Subakut uygulama sürecinde ise hem LC₅₀/100'lük hem de LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılarda enzim seviyesi kontrole göre önemli düzeyde inhibe olmuştur (p<0.05).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.5. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 Thiamethoxama Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Değişimleri

Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda thiamethoxama maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzimlerindeki spesifik aktivite değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.8 ile özetlenmiştir.

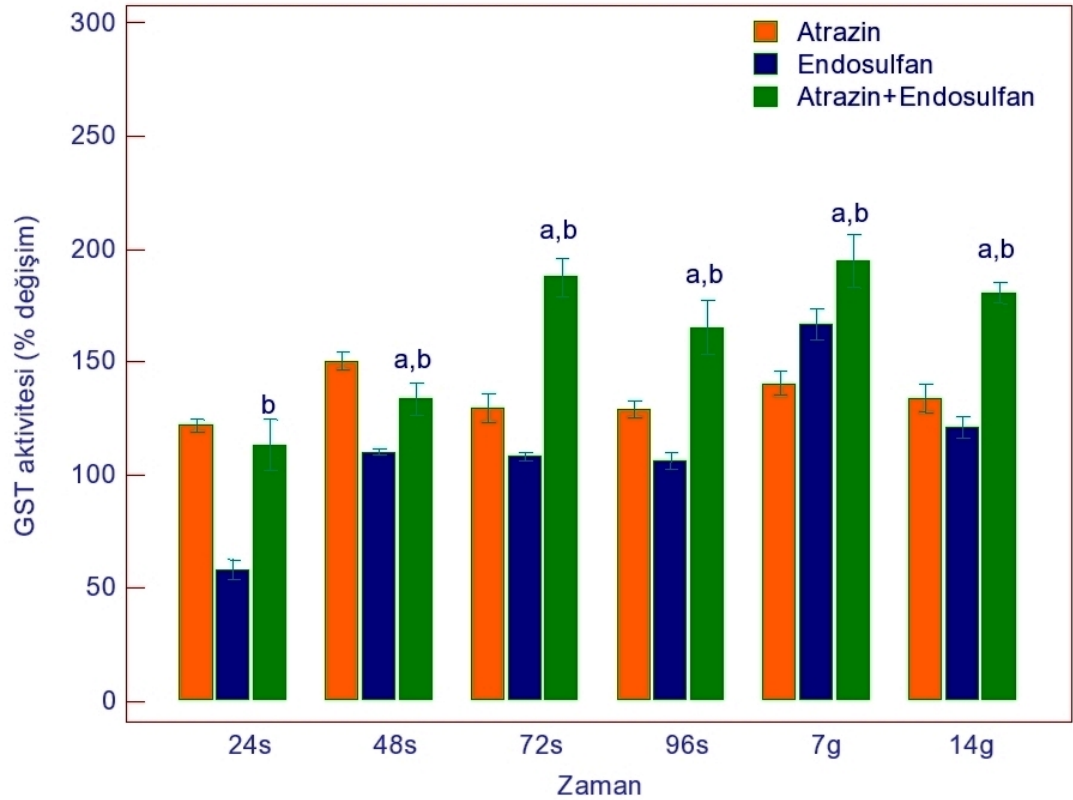
Çizelge 4.8 Her bir zaman diliminde LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 konsantrasyonlarda thiamethoxama maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in enzim aktivite değişimleri *Kontrolün LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 uygulama gruplarından farkı (p<0.05); ^aLC₅₀/100 ve LC₅₀/10 grupları arasındaki fark (p<0.05) Enzim spesifik aktivitelerinin birimleri: GST, GR ve AChE için nmol/dakika/mg protein; CAT ve SOD için µmol/dakika/mg protein

	Zaman	n	Kontrol	LC ₅₀ /100	LC ₅₀ /10
GST	24. s	3	30.4720±2.2372	38.7612±2.9356*	51.3840±1.5743* ^a
	48. s	3	37.2211±0.3207	40.4211±2.5804	56.1496±1.8240* ^a
	72. s	3	40.7821±2.8575	46.1614±1.0116*	48.1483±2.8916*
	96. s	3	40.2398±1.7438	40.1999±2.2893	43.5867±1.5123
	7. g	3	47.2579±2.1683	67.5628±1.9789* ^a	51.3423±3.6429
	14. g	3	48.5909±1.8494	67.3615±2.4633* ^a	50.5797±3.9963
CAT	24. s	3	23.0708±0.7180	56.5980±2.7360* ^a	49.5639±3.4205*
	48. s	3	21.5509±1.8904	37.0208±1.3388* ^a	27.8715±2.5604*
	72. s	3	8.2118±1.7512	25.6527±2.1191* ^a	17.1011±1.8874*
	96. s	3	3.7544±0.3286	5.8450±0.5926* ^a	4.1566±1.2711
	7. g	3	2.3280±0.03708	5.0015±0.1584*	3.7138±1.1582*
	14. g	3	5.6907±0.1127	9.4955±0.3808* ^a	2.6364±0.3216*
SOD	24. s	3	6.9128±0.2272	5.4346±0.4150	7.9346±0.4828
	48. s	3	5.2552±0.3202	6.2758±0.9085	6.0786±0.4689
	72. s	3	6.4313±0.7537	8.4150±0.2745*	9.1626±0.4934*
	96. s	3	6.8640±0.5394	6.6915±0.5662	8.0163±0.7050
	7. g	3	7.1836±0.4016	7.3979±0.4376	8.6835±0.4117* ^a
	14. g	3	7.3336±0.2374	10.2275±0.1244*	10.3726±0.1230*
GR	24. s	3	1.7617±0.1168	2.0277±0.1891	1.8528±0.05412
	48. s	3	1.9334±0.06791	2.5399±0.09728*	2.8448±0.1619* ^a
	72. s	3	1.9032±0.1503	2.6184±0.1039*	2.5980±0.0870*
	96. s	3	2.1578±0.1041	2.6675±0.1292* ^a	2.4390±0.09617*
	7. g	3	2.2581±0.1777	2.1716±0.1229	2.3163±0.1213
	14. g	3	2.2663±0.08264	1.4651±0.1302*	2.2390±0.1740 ^a
AChE	24. s	3	69.2790±4.4205	68.6685±2.0508 ^a	62.6869±3.5643*
	48. s	3	70.0112±2.7960	71.3924±2.5105	62.3137±1.0878* ^a
	72. s	3	60.6052±1.8673	68.0725±3.2144*	69.4802±3.0799*
	96. s	3	56.1209±3.0077	60.7593±1.9913*	81.0444±0.9897* ^a
	7. g	3	66.0058±0.9834	59.3781±4.5311* ^a	50.8089±1.2103*
	14. g	3	79.2676±4.8390	74.7869±4.6956	67.5844±2.5559*

4.2. Subletal Kombine Etki Sonuçları

4.2.1. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 Atrazin ve Endosulfan Kombinasyonuna Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki Kontrole Göre % Değişimler

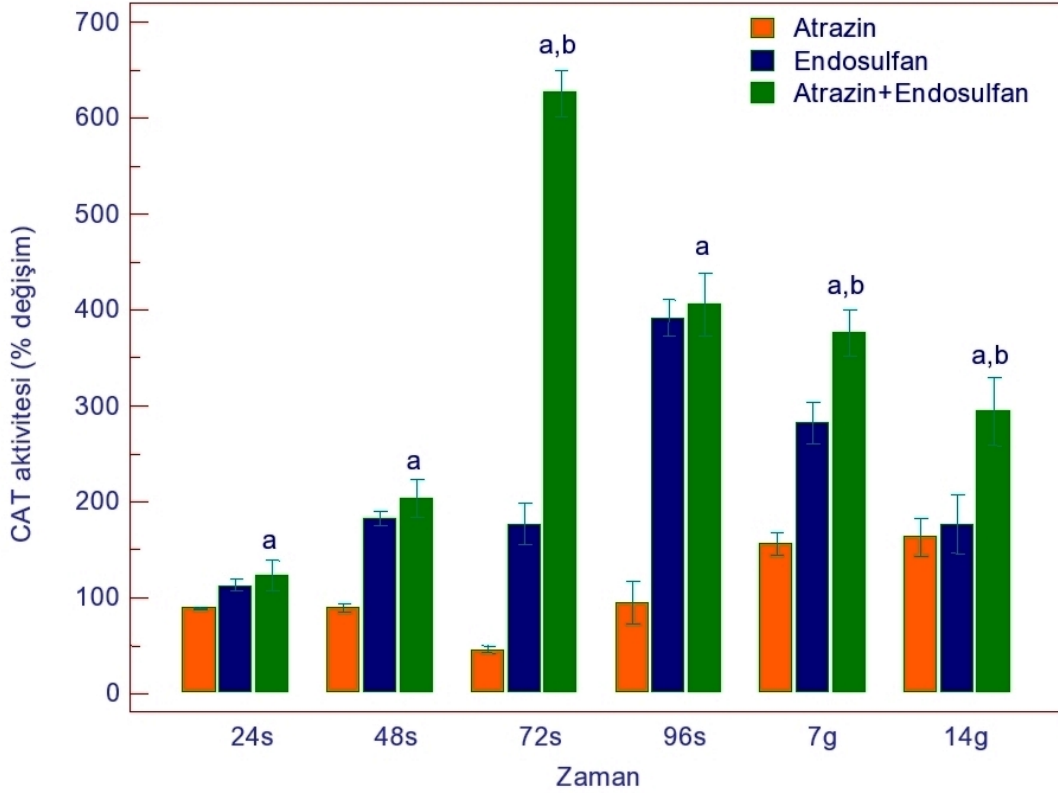
4.2.1.1. GST Aktivitesi



Şekil 4.21. Atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % GST enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı (p<0.05);
^bAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Endosulfanın tek kullanımından farkı (p<0.05)

Atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.21.); ilk 48. saatte kombinasyon etkisi gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın 72. ve 96. saat; 7. ve 14. günlerinde ise atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük dozuna maruz kalan canlılara göre kombine etkiye maruz kalan canlılarda önemli düzeyde sinerjistik bir etki gözlenmiştir (p<0.05).

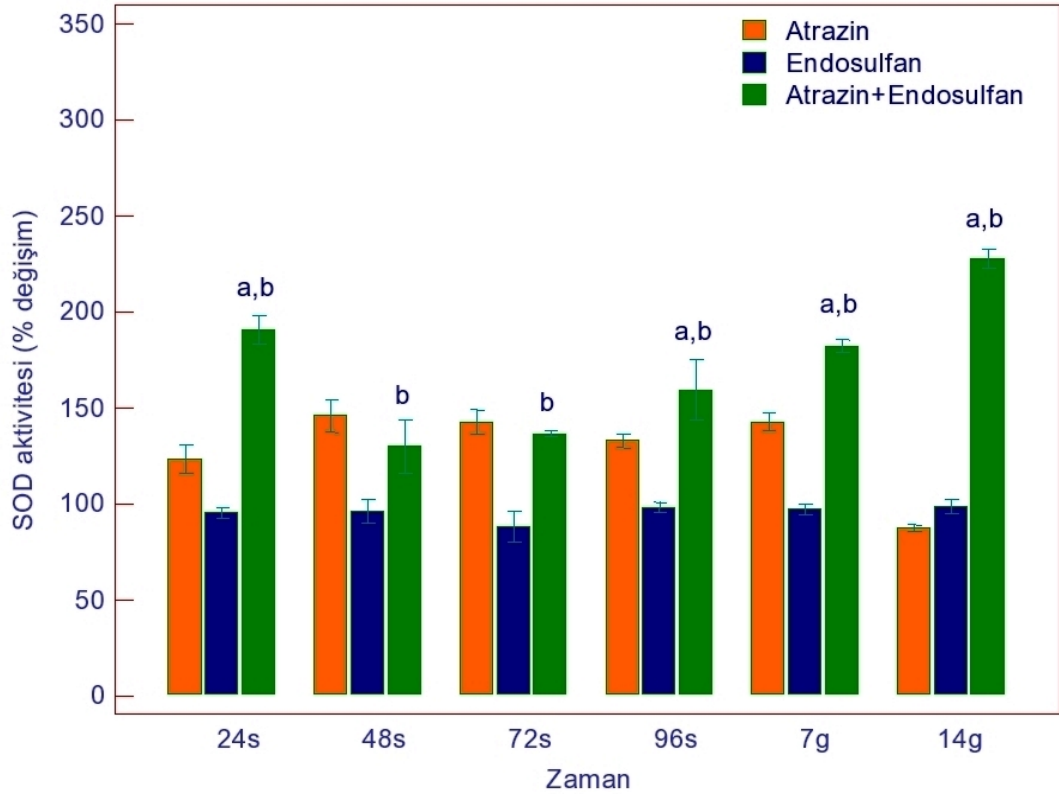
4.2.1.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.22. Atrazin ve endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % CAT enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Atrazinin tek kullanımından farkı ($p<0.05$); ^bAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Endosulfanın tek kullanımından farkı ($p<0.05$)

Atrazin ve endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.22.); her zaman diliminde kombine etkinin, sadece atrazinin $LC_{50}/100$ 'lük dozuna maruz kalan canlılardaki CAT enzim aktivitesi karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Pesticitlerin birlikte kullanıldıklarında sinerjistik etki gösterdiği gözlenmiştir ($p<0.05$). Özellikle 72. saatte kombine etki oldukça yüksek bir cevap oluşturmuştur ($p<0.05$).

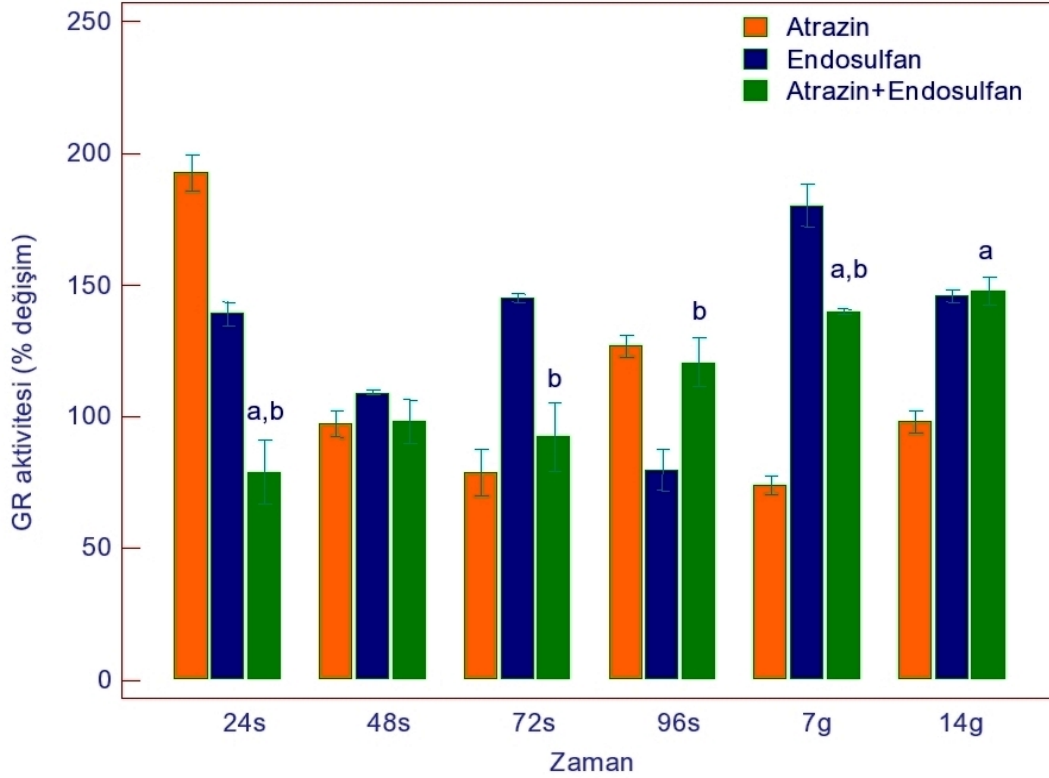
4.2.1.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.23. Atrazin ve endosulfanın LC_{50} / konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % SOD enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Atrazinin tek kullanımından farkı ($p<0.05$); ^bAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Endosulfanın tek kullanımından farkı ($p<0.05$)

Atrazin ve endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.23.); 24. saatte pestisitlerin kombine kullanımının hem atrazinin hem de endosulfanın tek kullanımına göre enzim aktivitesinde oldukça fazla artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Uygulamanın 96. saati, 7. ve 14. günlerinde pestisit karışımının diğer iki pestisit uygulamasına oranla SOD enzim düzeyini önemli derecede indüklediği tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu deneyde genel olarak pestisitlerin birlikte kullanımı daha toksik bir etkiye neden olduğu görülebilir ($p<0.05$).

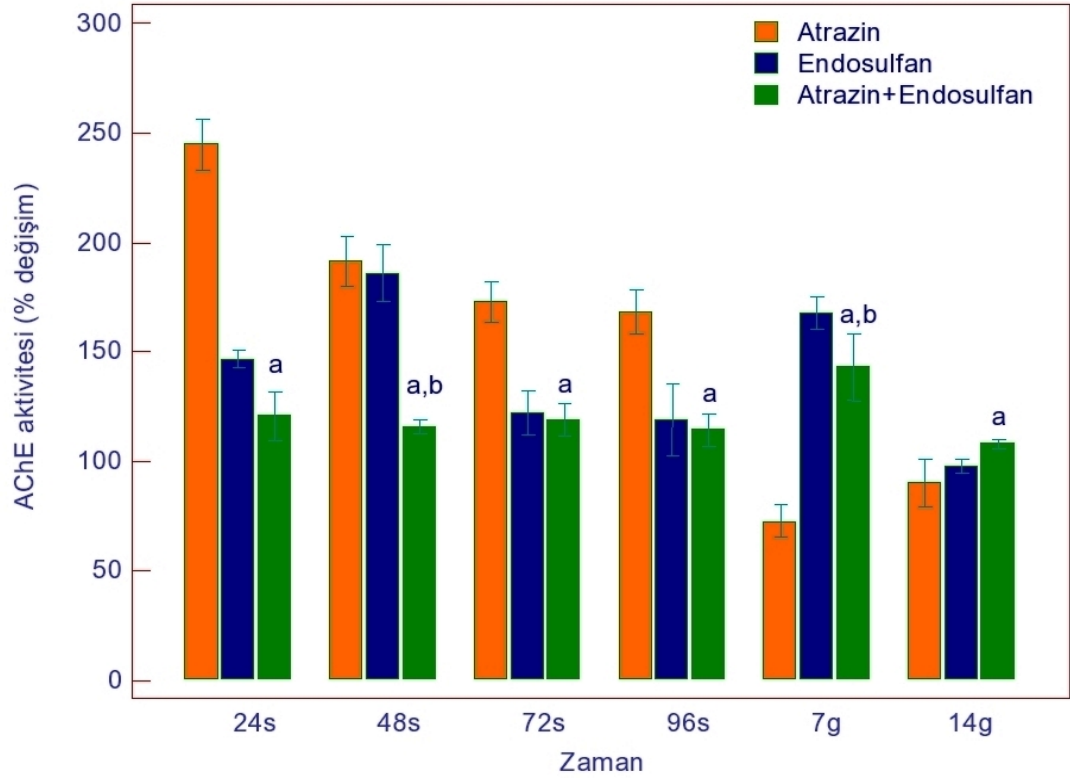
4.2.1.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.24. Atrazin ve endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % GR enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı ($p < 0.05$);
^bAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Endosulfan tek kullanımından farkı ($p < 0.05$)

Atrazin ve endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.24.); pestisitlerin kombine etkisine maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinin tüm gruplarda tek kullanımlara oranla azalma eğiliminde olduğu görülmekle beraber, zamana bağlı olarak artış gözlenmiştir ($p < 0.05$).

4.2.1.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.25. Atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % AChE enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Atrazinin tek kullanımından farkı (p<0.05);
^bAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Endosulfanın tek kullanımından farkı (p<0.05)

Atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in AChE enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.25.); 14. gün hariç tüm zaman dilimlerinde kombine etkiye maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesinin pestisitlerin tek kullanımına göre inhibe olduğu gözlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.2.1.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 Atrazin ve Edosulfan Kombinasyonuna Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler

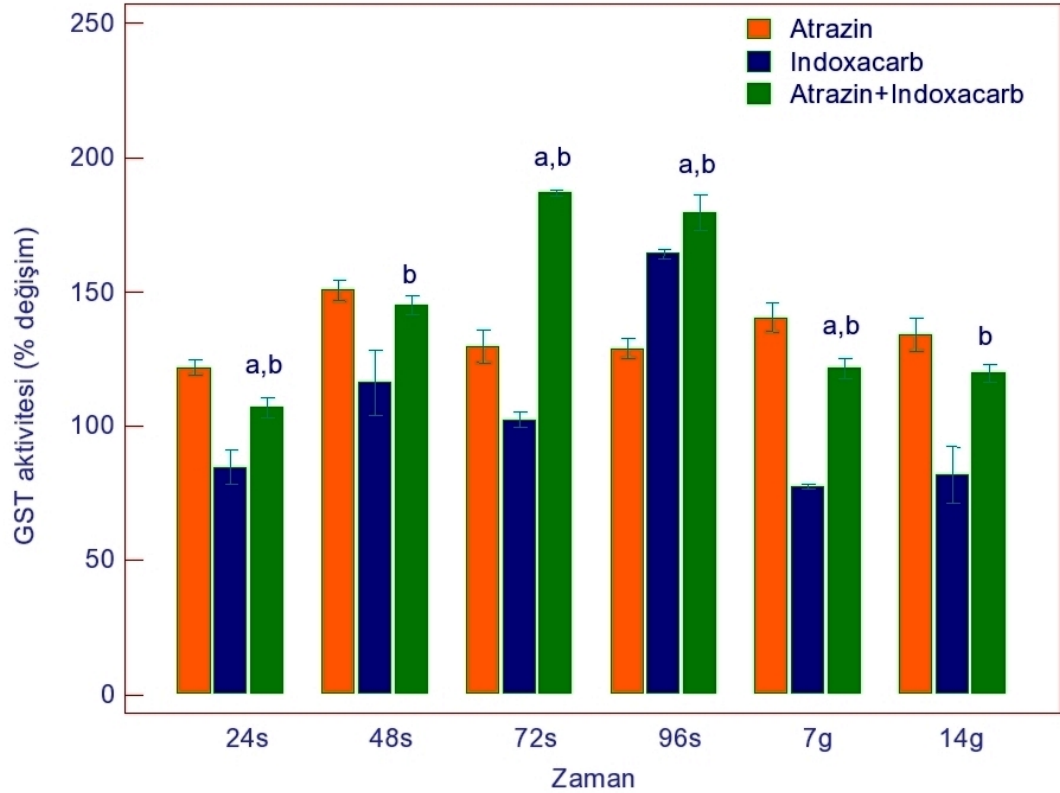
Her bir zaman diliminde atrazin ve edosulfanın ayrı ve karışım halindeki LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzim aktivitelerinin kontrole göre % değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.9. ile özetlenmiştir.

Çizelge 4.9. Her bir zaman diliminde LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarda atrazin ve endosulfanın kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % enzim aktivite değişimleri ^aAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı (p<0.05); ^bAtrazin ve Endosulfan kombinasyonunun Endosulfan tek kullanımından farkı (p<0.05)

	Zaman	n	Atrazin	Endosulfan	Atrazin+Endosulfan
GST	24. s	3	121.8681±2.8163	58.4843±4.3638	113.4420±11.4803 ^b
	48. s	3	150.6252±4.0832	110.1174±1.1221	133.7203±7.3681 ^{a,b}
	72. s	3	129.6527±6.0277	108.5135±1.7611	187.6111±8.5191 ^{a,b}
	96. s	3	128.8363±3.7532	106.3526±3.8408	165.3324±12.1014 ^{a,b}
	7. g	3	140.5572±5.4063	166.8327±6.8952	194.9171±11.9813 ^{a,b}
	14. g	3	133.9993±6.2784	121.0594±4.5929	180.6464±4.9238 ^{a,b}
CAT	24. s	3	88.4501±0.6826	113.0479±6.8167	122.4832±15.9419 ^a
	48. s	3	89.4207±4.6304	182.6228±6.9141	203.7494±19.6165 ^a
	72. s	3	46.0201±4.3043	176.6572±21.7663	626.2225±23.9766 ^{a,b}
	96. s	3	95.2993±21.6711	391.5153±19.3025	405.6846±33.1386 ^a
	7. g	3	156.7775±11.7029	282.0179±21.9251	376.9456±24.1099 ^{a,b}
	14. g	3	162.9452±20.2355	177.0582±30.2209	294.4956±35.3392 ^{a,b}
SOD	24. s	3	123.6870±7.3193	95.4177±2.8587	190.7539±7.3144 ^{a,b}
	48. s	3	145.8438±8.3716	96.1187±6.3539	130.0934±13.6216 ^b
	72. s	3	142.5442±6.2478	88.3246±8.1445	136.7917±1.3971 ^b
	96. s	3	133.0431±3.8923	98.0361±2.5429	159.5068±15.9056 ^{a,b}
	7. g	3	142.5353±4.7587	97.3395±3.0380	182.1224±3.4254 ^{a,b}
	14. g	3	87.4875±1.8031	98.5511±3.9200	227.9448±5.3390 ^{a,b}
GR	24. s	3	192.5312±6.8248	139.1920±4.4109	78.9683±12.2276 ^a
	48. s	3	97.3703±5.0143	109.3072±0.8953	98.0476±8.5121 ^a
	72. s	3	78.7450±8.9025	145.2384±1.6299	92.6196±13.0641
	96. s	3	126.7635±3.9970	79.7470±7.8200	120.7066±9.1458 ^b
	7. g	3	73.9798±3.6684	180.184± 8.0064	139.8702±1.1989 ^a
	14. g	3	98.2058±4.0467	145.8869±2.4110	147.9145±5.2476 ^a
AChE	24. s	3	244.6870±11.5023	146.8591±4.0255	120.5654±10.8425 ^{a,b}
	48. s	3	191.4143±11.3954	186.1027±13.3056	115.8015±3.3574 ^b
	72. s	3	172.9404±9.4101	122.3768±9.9776	118.9696±7.2319 ^b
	96. s	3	168.3723±10.1406	118.9052±16.4910	114.3636±7.2254 ^b
	7. g	3	72.9425±6.9762	167.7912±7.7272	143.1978±15.2849 ^{a,b}
	14. g	3	90.0656±10.4619	97.6249±3.2421	108.1239±2.1268 ^b

4.2.2. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 Atrazin ve Indoxacarb Kombinasyonuna Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler

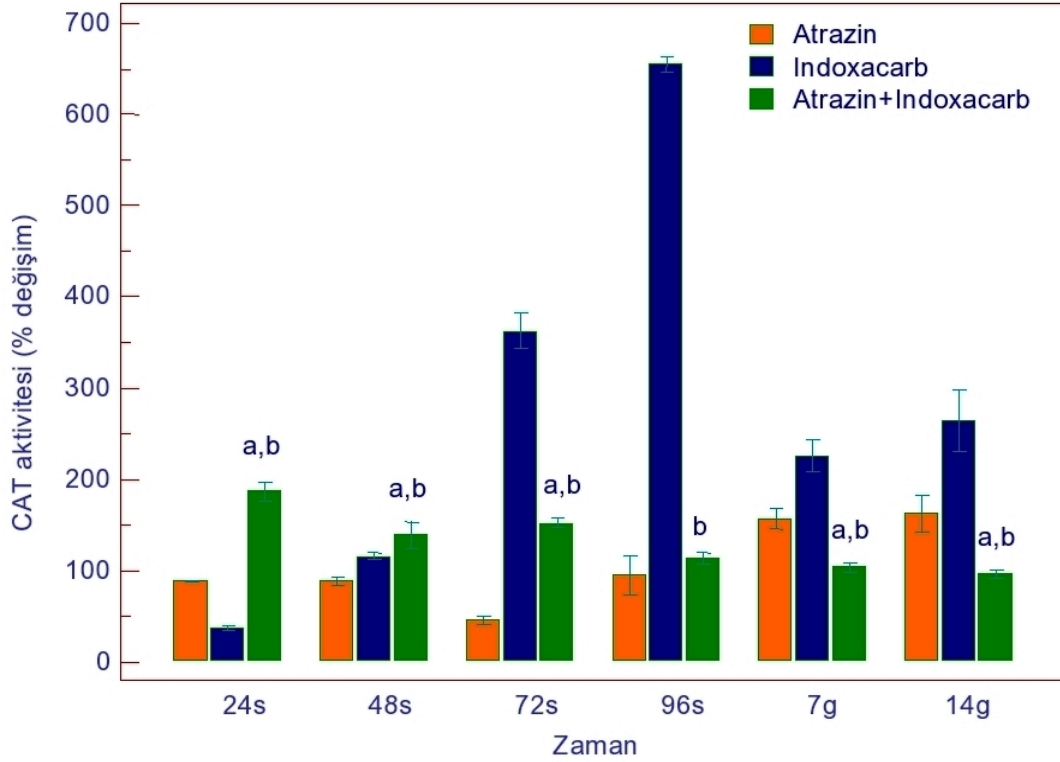
4.2.2.1. GST Aktivitesi



Şekil 4.26. Atrazin ve indoxacarbın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % GST enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı (p<0.05);
^bAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Indoxacarb tek kullanımından farkı (p<0.05)

Atrazin ve indoxacarbın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.26.); uygulamanın sadece 72. ve 96. saatlerinde kombine etkiden kaynaklanan GST aktivitesinde, pestisitlerin tek kullanımından kaynaklanan aktiviteye göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir (p<0.05).

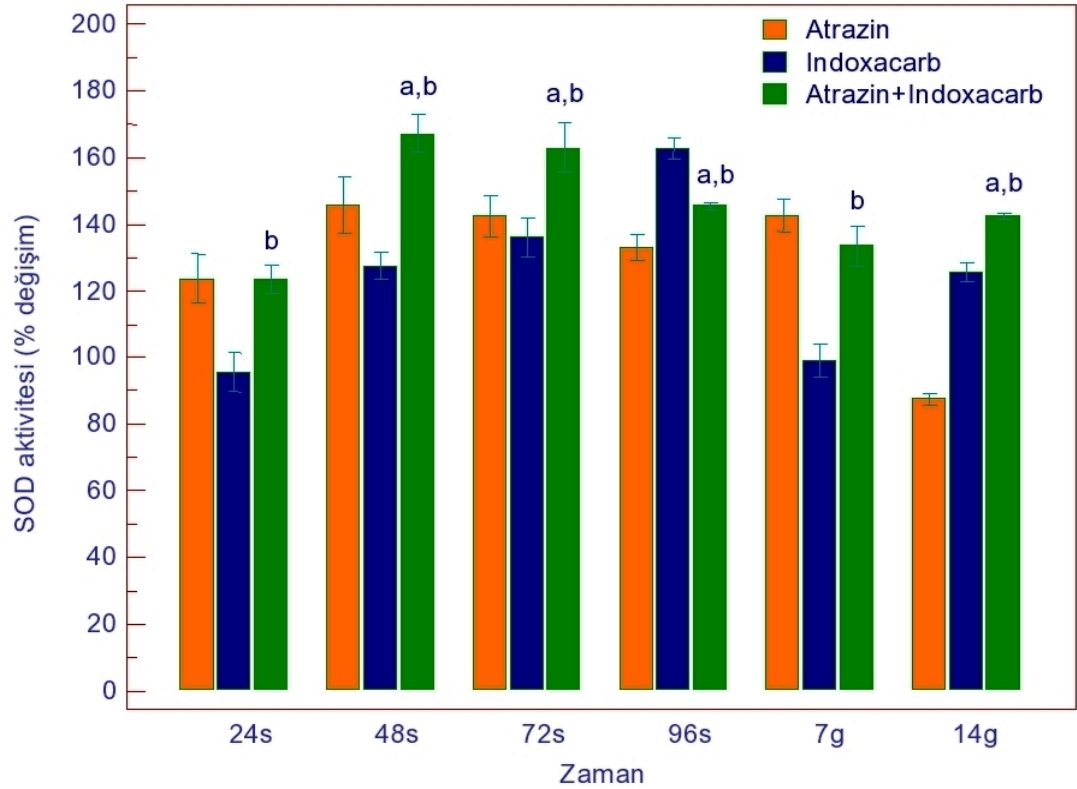
4.2.2.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.27. Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % CAT enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Atrazin'in tek kullanımından farkı ($p<0.05$);
^bAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Indoxacarb'ın tek kullanımından farkı ($p<0.05$)

Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.27.); 24. ve 48. saatlerde kombine etkinin CAT enzim aktivitesinde pestisitlerin ayrı uygulandığı canlılardaki enzim aktivitesine göre önemli düzeyde indüklenmeye neden olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Uygulamanın sonraki günlerinde ise kombine uygulamanın CAT enzim aktivitesi endosulfanın ve atrazinin $LC_{50}/100$ 'lük dozuna maruz kalan canlılardaki aktiviteye göre daha düşüktür ($p<0.05$).

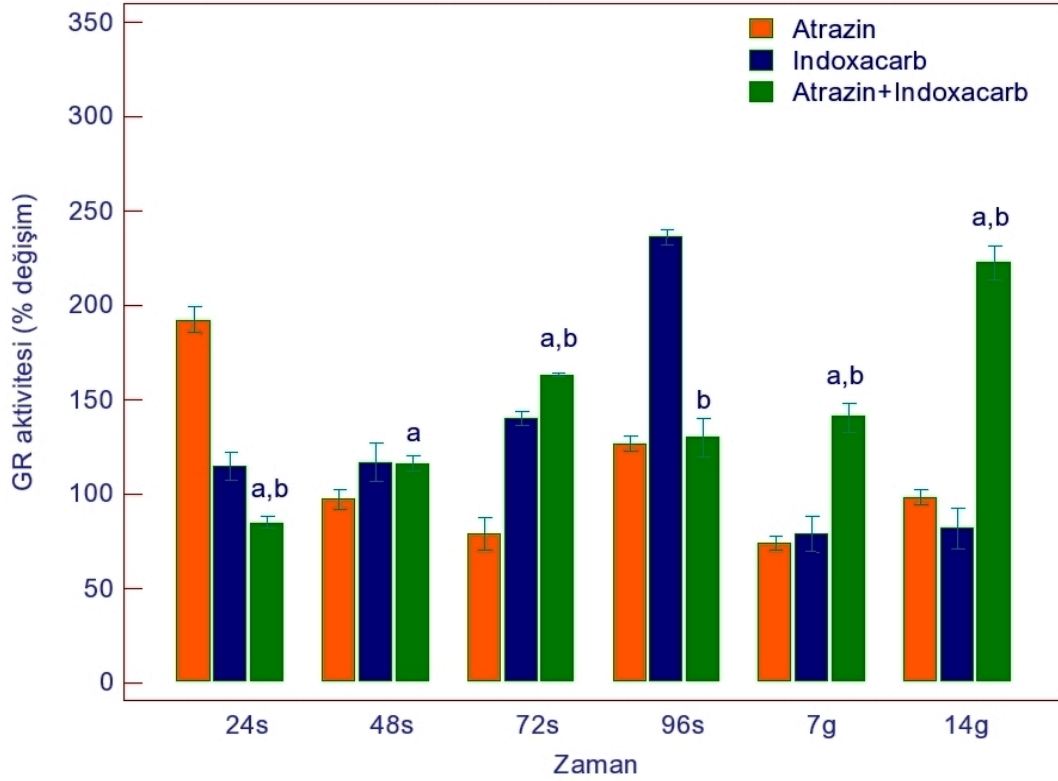
4.2.2.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.28. Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % SOD enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı ($p < 0.05$);
^bAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Indoxacarb tek kullanımından farkı ($p < 0.05$)

Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.28.); kombine etkiye maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin 48., 72. saatlerde ve 14. günde her iki pestisit tek kullanımlarına göre önemli düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$).

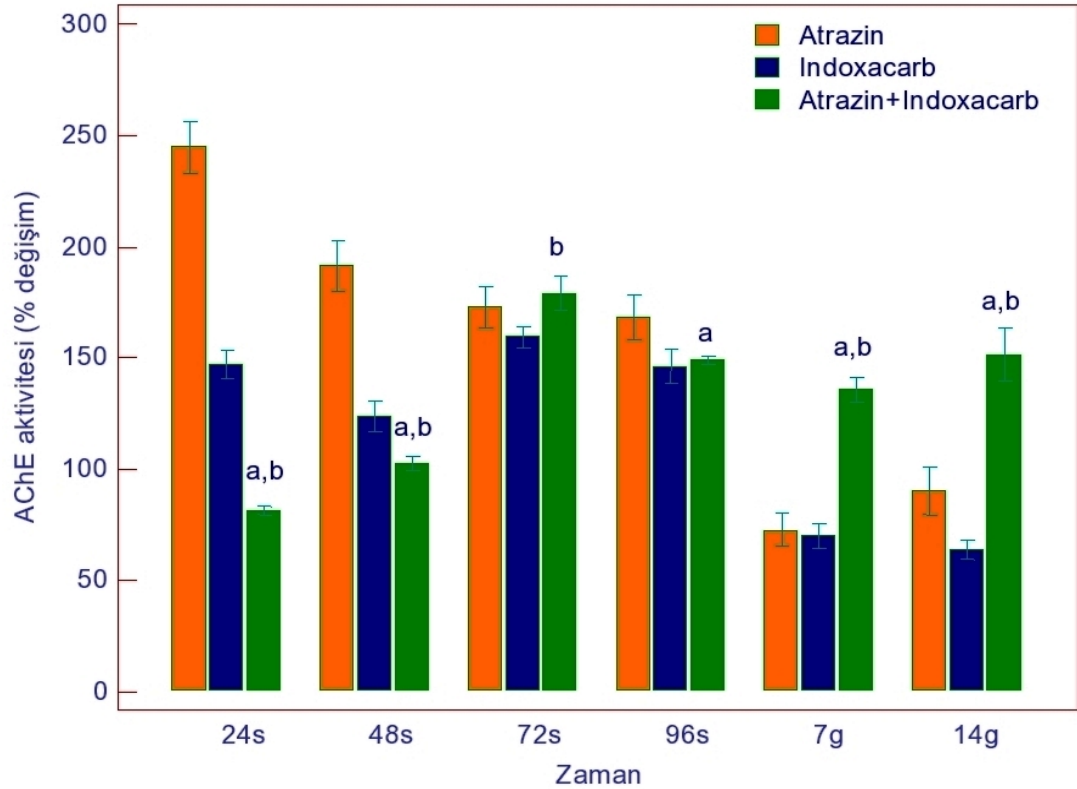
4.2.2.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.29. Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % GR enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Atrazin'in tek kullanımından farkı ($p < 0.05$);
^bAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Indoxacarb'ın tek kullanımından farkı ($p < 0.05$)

Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.29.); uygulamanın akut döneminde 72. saatte pestisit karışımına maruz kalan canlılardaki GR aktivitesinin artış eğiliminde olduğu saptanmıştır. Subakut uygulamada kombine etkiye maruz kalan canlılarda enzim aktivitesinin pestisitlerin ayrı ayrı $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonuna maruz kalan canlılardakine göre oldukça fazla indüklendiği gözlenmiştir ($p < 0.05$).

4.2.2.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.30. Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % AChE enzim aktivitesi değişimleri
^aAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Atrazin'in tek kullanımından farkı ($p<0.05$);
^bAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Indoxacarb'ın tek kullanımından farkı ($p<0.05$)

Atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in AChE enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.30.); 24. ve 48. saatlerde pestisitlerin kombine etkisine maruz kalan canlıların enzim aktivitesinin tek bir pestisite maruz kalan canlılarınkine göre önemli düzeyde inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Akut uygulamada 72. saatte pestisitlerin kombine etkisine maruz kalan canlıların AChE aktivitesi yüksek seviyesine ulaşmıştır. Subakut uygulamada ise kombine etkiye maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi diğer gruplardaki AChE aktivitesine göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.2.2.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 Atrazin ve Indoxacarb Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler

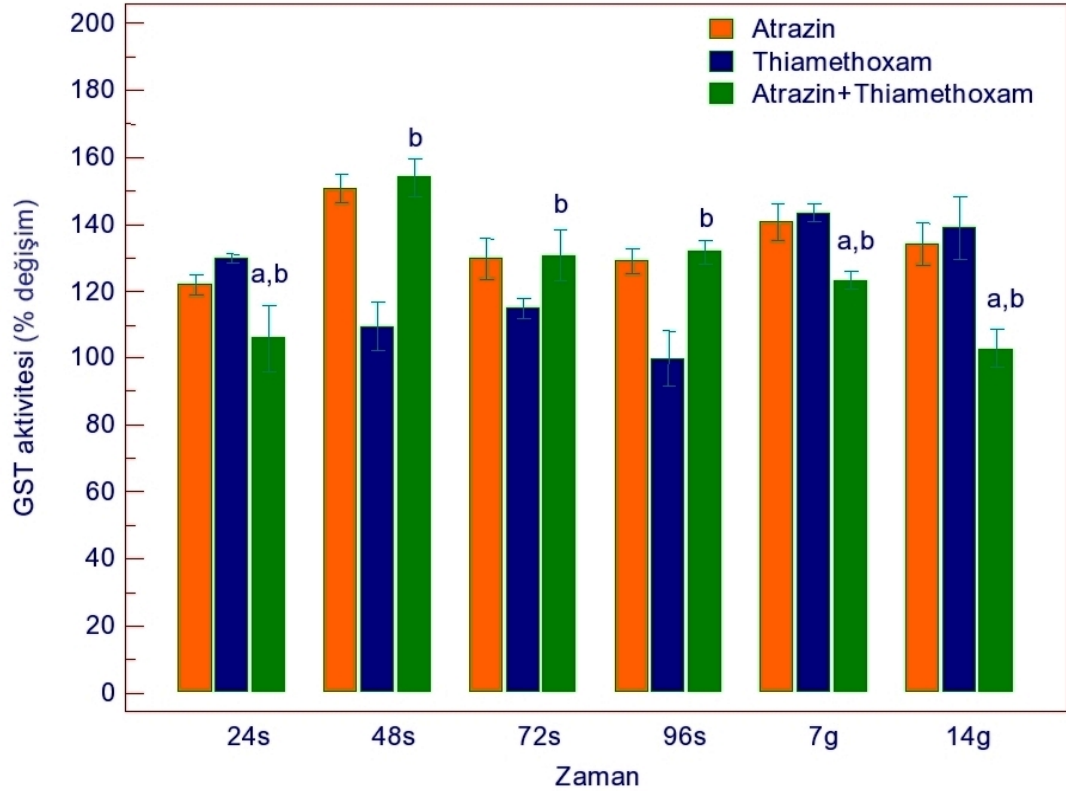
Her bir zaman diliminde atrazin ve indoxacarbın ayrı ve karışım halindeki LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzim aktivitelerinin kontrole göre % değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.10. ile özetlenmiştir.

Çizelge 4.10. Her bir zaman diliminde LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarda atrazin ve endosulfanın kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % enzim aktivite değişimleri ^aAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı (p<0.05); ^bAtrazin ve Indoxacarb kombinasyonunun Indoxacarbın tek kullanımından farkı (p<0.05)

	Zaman	n	Atrazin	Indoxacarb	Atrazin+Indoxacarb
GST	24. s	3	121.8681±2.8163	84.7850±6.3459	107.1749±3.7113 ^{a,b}
	48. s	3	150.6252±4.0832	116.2887±12.2027	145.0346±3.7741 ^b
	72. s	3	129.6527±6.0277	102.4322±2.7964	186.7241±0.9149 ^{a,b}
	96. s	3	128.8363±3.7532	164.2537±1.8636	179.3915±6.6822 ^{a,b}
	7. g	3	140.5572±5.4063	77.5062±1.0291	121.6668±3.5602 ^{a,b}
	14. g	3	133.9993±6.2784	81.8602±10.3417	119.7901±3.3366 ^b
CAT	24. s	3	88.4501±0.6826	37.1454±2.3872	186.8766±10.0687 ^{a,b}
	48. s	3	89.4207±4.6304	115.4682±4.0917	139.0639±14.0361 ^{a,b}
	72. s	3	46.0201±4.3043	362.8775±19.3484	152.6158±5.0298 ^{a,b}
	96. s	3	95.2993±21.6711	655.3091±8.3379	113.2345±6.3490 ^b
	7. g	3	156.7775±11.7029	226.3372±17.8829	104.2401±5.2411 ^{a,b}
	14. g	3	162.9452±20.2355	263.7242±33.4666	96.0481±4.5285 ^{a,b}
SOD	24. s	3	123.6870±7.3193	95.7450±5.8925	123.5759±4.0511 ^b
	48. s	3	145.8438±8.3716	127.3667±3.9583	167.1132±5.6092 ^{a,b}
	72. s	3	142.5442±6.2478	136.1301±5.8642	163.0435±7.4142 ^{a,b}
	96. s	3	133.0431±3.8923	162.6632±2.9662	145.5297±1.1638 ^{a,b}
	7. g	3	142.5353±4.7587	99.1067±4.7145	133.4131±6.2396 ^b
	14. g	3	87.4875±1.8031	125.7845±2.9955	142.3903±0.8036 ^{a,b}
GR	24. s	3	192.5312±6.8248	114.8742±7.2255	85.0639±3.2142 ^{a,b}
	48. s	3	97.3703±5.0143	117.0250±10.0248	116.2578±4.0704 ^a
	72. s	3	78.7450±8.9025	140.2994±3.6904	163.2196±1.2653 ^{a,b}
	96. s	3	126.7635±3.9970	236.5286±4.1761	129.9451±10.3406 ^b
	7. g	3	73.9798±3.6684	78.9330±9.2665	140.7296±7.9592 ^{a,b}
	14. g	3	98.2058±4.0467	81.9370±11.1808	222.7049±9.1456 ^{a,b}
AChE	24. s	3	244.6870±11.5023	147.0822±6.3147	81.6634±1.8984 ^{a,b}
	48. s	3	191.4143±11.3954	124.1249±6.8197	102.9288±3.0837 ^{a,b}
	72. s	3	172.9404±9.4101	159.5147±4.6622	179.1517±7.4059 ^b
	96. s	3	168.3723±10.1406	146.2231±7.5962	149.2345±1.8418 ^a
	7. g	3	72.9425±6.9762	69.9488±5.5551	135.9185±45.7978 ^{a,b}
	14. g	3	90.0656±10.4619	64.0685±4.3062	151.7298±11.8139 ^{a,b}

4.2.3. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 Atrazin ve Thiamethoxama Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler

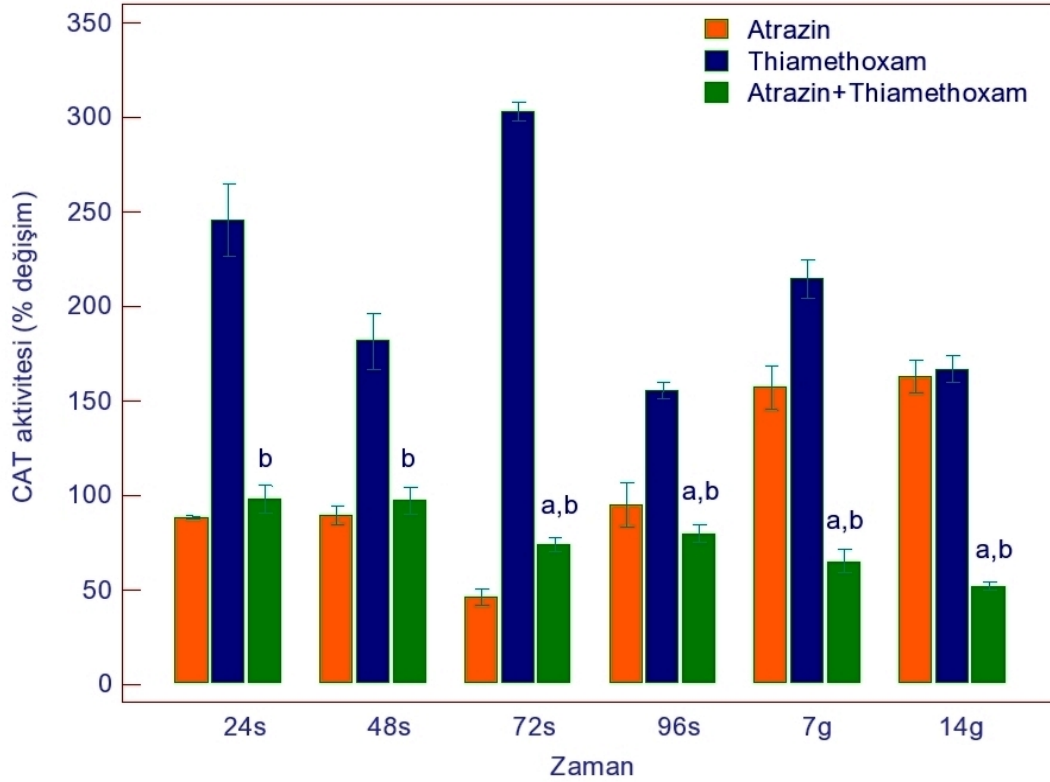
4.2.3.1. GST Aktivitesi



Şekil 4.31. Atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % GST enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Atrazinin tek kullanımından farkı (p<0.05); ^bAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Thiamethoxamın tek kullanımından farkı (p<0.05)

Atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.31.); 24. saatte, 7. ve 14. günlerde kombine etkiye maruz kalan canlılardaki GST enzim aktivitesinin pestisitlerin LC₅₀/100'lük tek uygulamalarındaki aktiviteye göre önemli düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir (p<0.05).

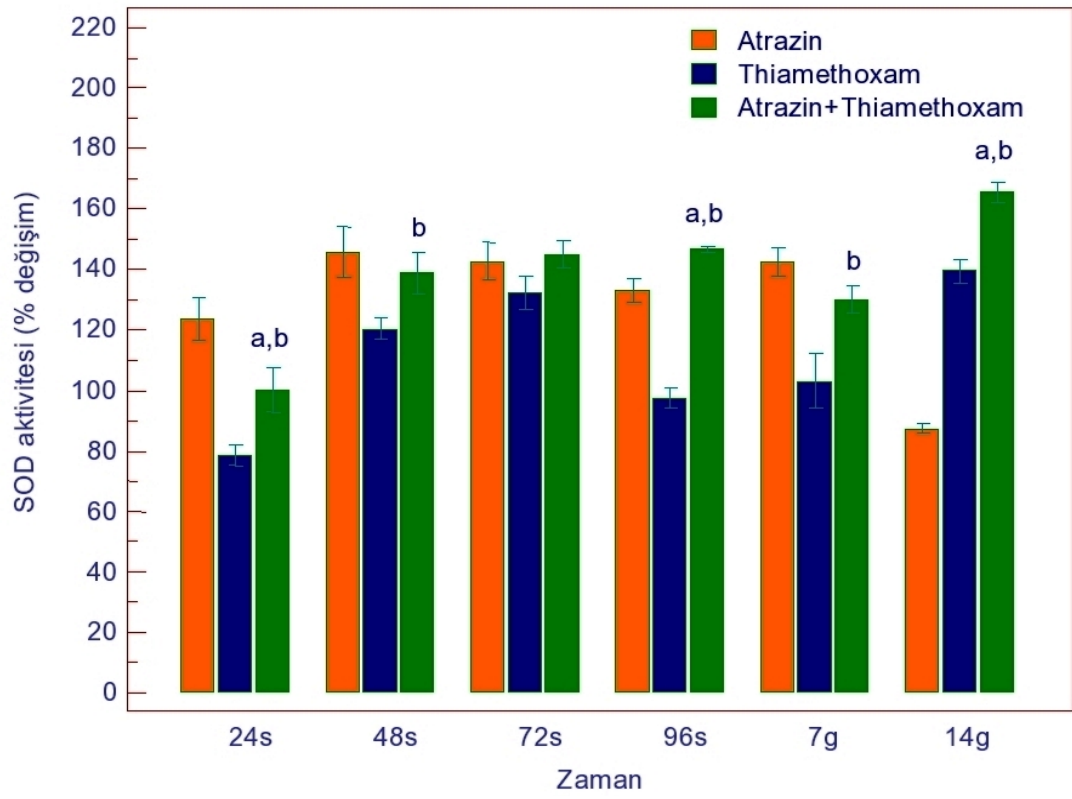
4.2.3.2. CAT Aktivitesi



Şekil 4.32. Atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % CAT enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Atrazin'in tek kullanımından farkı (p<0.05); ^bAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Thiamethoxamın tek kullanımından farkı (p<0.05)

Atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in CAT enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.32.); uygulamadaki tüm zamanlarda pestisit kombinasyonuna maruz kalan canlılardaki CAT aktivitesinin, LC₅₀/100'lük thiamethoxama maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre anlamlı şekilde inhibe olduğu gözlenmiştir (p<0.05).

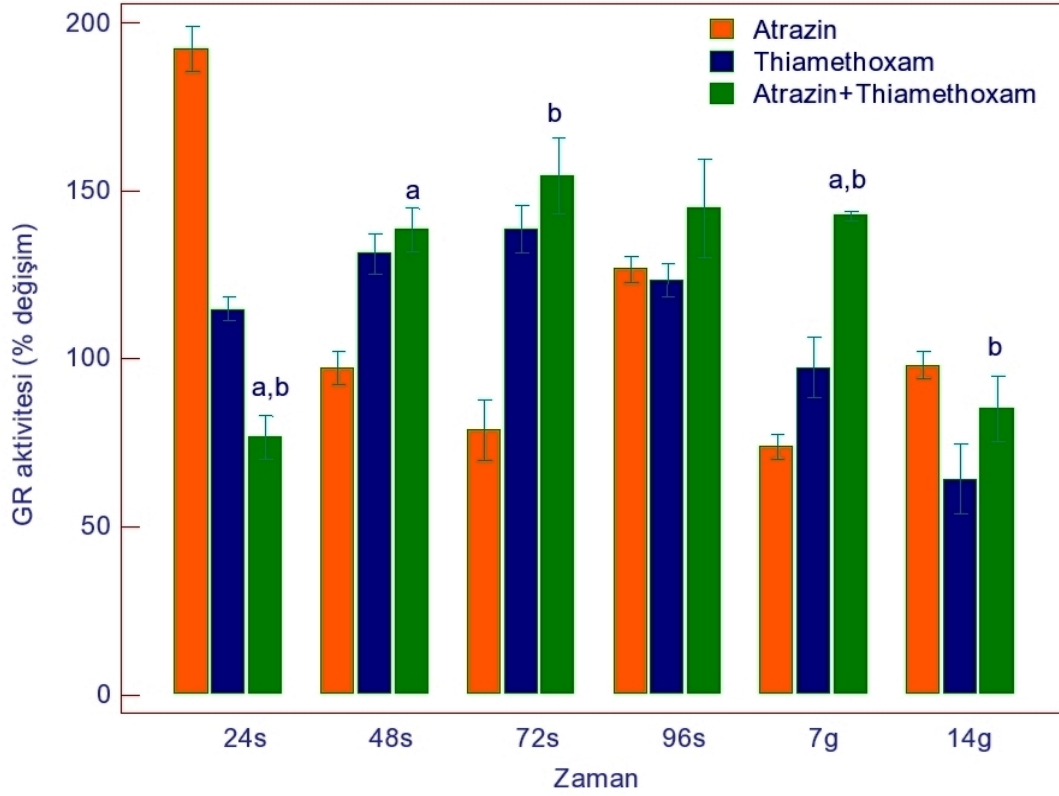
4.2.3.3. SOD Aktivitesi



Şekil 4.33. Atrazin ve thiamethoxamın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % SOD enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı ($p<0.05$) ^bAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Thiamethoxamın tek kullanımından farkı ($p<0.05$)

Atrazin ve thiamethoxamın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in SOD enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.33.); kombine etkiye maruz kalan canlılarda sadece 96. saat ve 14. günde enzim seviyesi pestisitlerin tek kullanıldığı uygulamalardaki enzim aktivitesine oranla yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

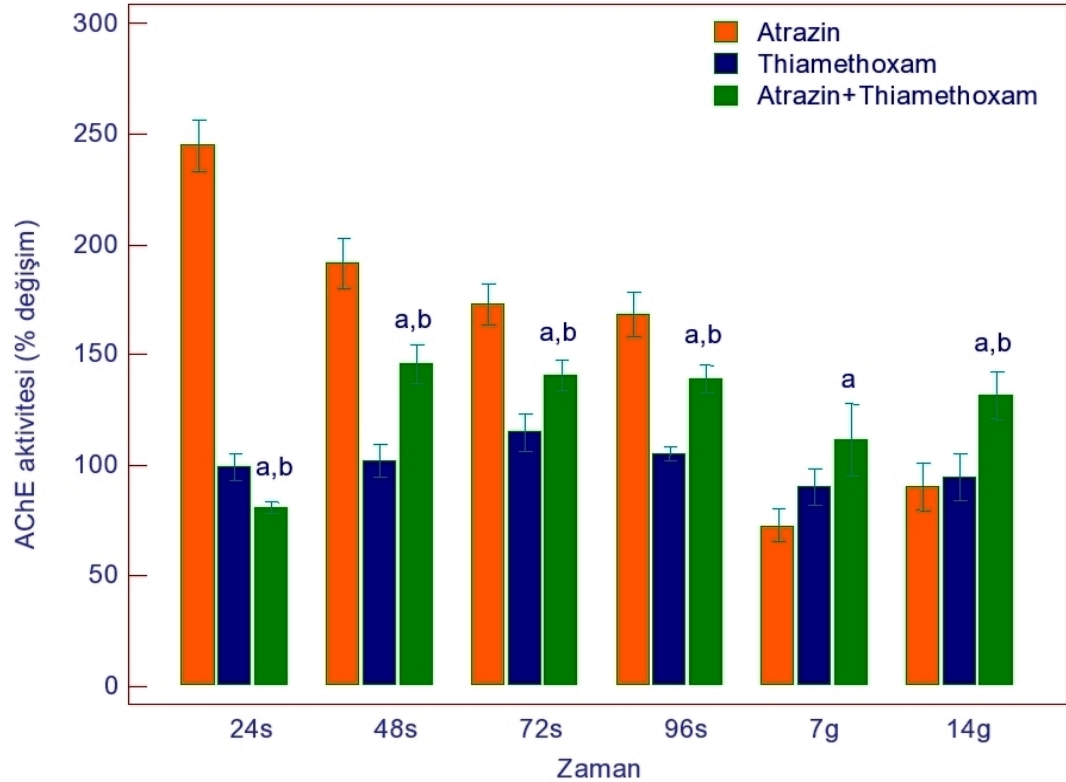
4.2.3.4. GR Aktivitesi



Şekil 4.34. Atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % GR enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Atrazin tek kullanımından farkı (p<0.05); ^bAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Thiamethoxamın tek kullanımından farkı (p<0.05)

Atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GR enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.34.); atrazine maruz kalan canlılarda enzim aktivitesindeki değişim zaman bağımlı değilken thiamethoxama maruz kalan canlılarda 24. saat dışındaki günlerde GR aktivitesindeki değişim zaman bağımlıdır. 24. saatte kombine etkiye maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi pestisitlerin ayrı ayrı kullanıldığı gruplardaki enzim aktivitesine göre düşük olmasına rağmen diğer uygulama zamanlarında daha yüksek aktivite gözlenmiştir.

4.2.3.5. AChE Aktivitesi



Şekil 4.35. Atrazin ve thiamethoxamın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % AChE enzim aktivitesi değişimleri ^aAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Atrazinin tek kullanımından farkı ($p<0.05$); ^bAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Thiamethoxamın tek kullanımından farkı ($p<0.05$)

Atrazin ve thiamethoxamın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlarının kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in AChE enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde (Şekil 4.35.); akut uygulama döneminde kombine etkiye maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesinin $LC_{50}/100$ 'lük atrazine ve thiamethoxama maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesine göre inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Uygulamanın subakut döneminde kombine etkiye maruz kalan canlılardaki AChE enzim aktivitesi tek kullanılan pestisitlere maruz kalan canlılardaki aktiviteye göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.2.3.6. *Gammarus kischineffensis*'in LC₅₀/100 Atrazin ve Thiamethoxama Maruz Bırakılması Sonucu Antioksidan Enzimler ve AChE Aktivitesindeki % Değişimler

Her bir zaman diliminde atrazin ve thiamethoxamın ayrı ve karışım halindeki LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzim aktivitelerinin kontrole göre % değişimleri aşağıdaki Çizelge 4.11. ile özetlenmiştir.

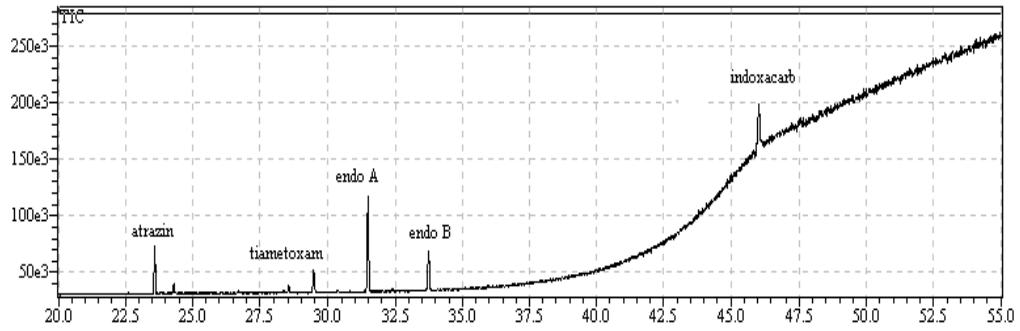
Çizelge 4.11. Her bir zaman diliminde LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarda atrazin ve thiamethoxamın kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in kontrole göre % enzim aktivite değişimleri ^aAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Atrazinin tek kullanımından farkı (p<0.05); ^bAtrazin ve Thiamethoxam kombinasyonunun Thiamethoxamın tek kullanımından farkı (p<0.05)

GST	Zaman	n	Atrazin	Thiamethoxam	Atrazin+Thiamethoxam
GST	24. s	3	121.8681±2.8163	129.7951±1.2366	105.9611±9.8263 ^a
	48. s	3	150.6252±4.0832	109.5162±7.4233	153.9518±5.5937 ^b
	72. s	3	129.6527±6.0277	114.7588±2.9991	130.7584±7.6501 ^b
	96. s	3	128.8363±3.7532	99.9201±8.2127	131.8511±3.6224 ^b
	7. g	3	140.5572±5.4063	143.2642±2.7572	123.3042±2.6256 ^b
	14. g	3	133.9993±6.2784	138.8470±9.4770	102.8502±5.6408 ^b
CAT	24. s	3	88.4501±0.6826	245.7198±19.5550	98.1081±7.3052 ^b
	48. s	3	89.4207±4.6304	181.7102±14.9132	97.1901±7.5046 ^b
	72. s	3	46.0201±4.3043	303.0691±4.9492	73.8555±3.4489 ^{a,b}
	96. s	3	95.2993±21.6711	155.5984±4.2492	80.0067±4.5968 ^{a,b}
	7. g	3	156.7775±11.7029	214.9457±10.2351	65.2100±6.3732 ^{a,b}
	14. g	3	162.9452±20.2355	166.8810±6.7288	51.8919±2.4305 ^{a,b}
SOD	24. s	3	123.6870±7.3193	78.5443±3.4249	100.2431±7.4668 ^{a,b}
	48. s	3	145.8438±8.3716	120.3186±3.5287	138.8424±6.9430 ^b
	72. s	3	142.5442±6.2478	132.3666±5.6686	145.0339±4.5286
	96. s	3	133.0431±3.8923	97.4929±3.1184	146.8266±0.9225 ^{a,b}
	7. g	3	142.5353±4.7587	103.2312±9.1383	130.1600±4.5654 ^b
	14. g	3	87.4875±1.8031	139.5386±3.8800	165.5473±3.5002 ^{a,b}
GR	24. s	3	192.5312±6.8248	114.9723±3.6863	76.6932±6.5972 ^{a,b}
	48. s	3	97.3703±5.0143	131.4506±6.0661	138.4638±6.4321 ^a
	72. s	3	78.7450±8.9025	138.4262±7.1025	154.4866±11.0764 ^a
	96. s	3	126.7635±3.9970	123.6860±4.9531	145.0360±14.6202
	7. g	3	73.9798±3.6684	97.4741±8.8128	142.6191±1.4414 ^{a,b}
	14. g	3	98.2058±4.0467	64.2887±10.3179	85.1199±9.5567 ^b
AChE	24. s	3	244.6870±11.5023	99.3471±5.9497	80.9663±2.5441 ^{a,b}
	48. s	3	191.4143±11.3954	102.1750±7.5922	145.6902±8.8378 ^{a,b}
	72. s	3	172.9404±9.4101	114.9512±8.7187	140.8257±6.7502 ^{a,b}
	96. s	3	168.3723±10.1406	105.2050±3.2525	139.0905±6.3845 ^{a,b}
	7. g	3	72.9425±6.9762	90.0372±8.2050	111.4729±16.3668 ^a
	14. g	3	90.0656±10.4619	94.7524±10.6513	131.5080±10.4131 ^{a,b}

4.3. Pestisit Kalıntı Analiz Sonuçları

Araştırma kapsamında 22 adet *Gammarus kischineffensis* örneği pestisit kalıntılarının belirlenmesi amacı ile incelenmiştir. Pestisit kalıntı analizleri gaz kromatografi kütle spektrofotometre (GC-MS) cihazında gerçekleştirilmiştir.

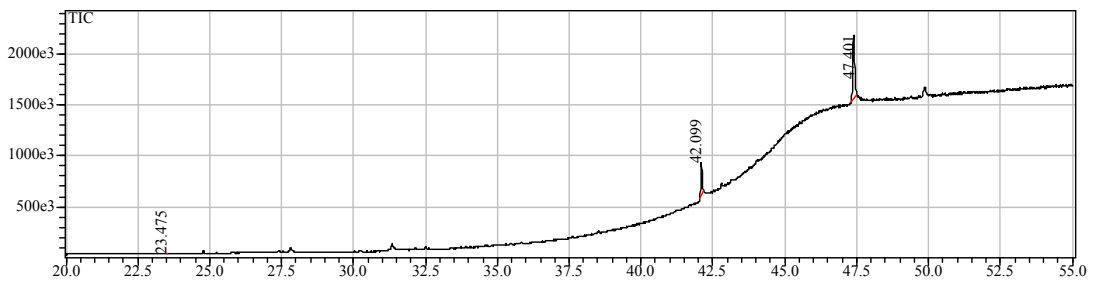
Araştırmada standart karışıma ait kromatogram Şekil 4.36’da verilmiştir.



Şekil 4.36. Standart karışıma ait kromatogram

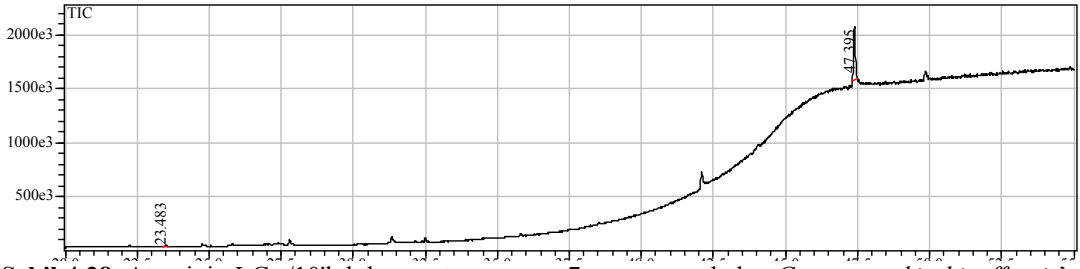
Kontrol numuneleri üzerinde yapılan kromatografik analizlerde beklendiği üzere hiçbir pestisit kalıntısı belirlenmemiştir. Aynı şekilde yine hiçbir örnekte organoklorlu bir pestisit olan endosülfan kalıntısı da belirlenmemiştir. Bu pestisit kimyasal içeriği diğer pestisitlerden farklıdır ve yapısında klor içermektedir. Bu yüzden ileride bu pestisite özgü elektron yakalama dedektörü (ECD) kullanılarak yapılacak analizler konuyu daha fazla aydınlatacaktır.

Şekil 4.37., Şekil 4.38., Şekil 4.39. ve Şekil 4.40.’de atrazin belirlenen örneğe ait kromatogramlar verilmiştir.

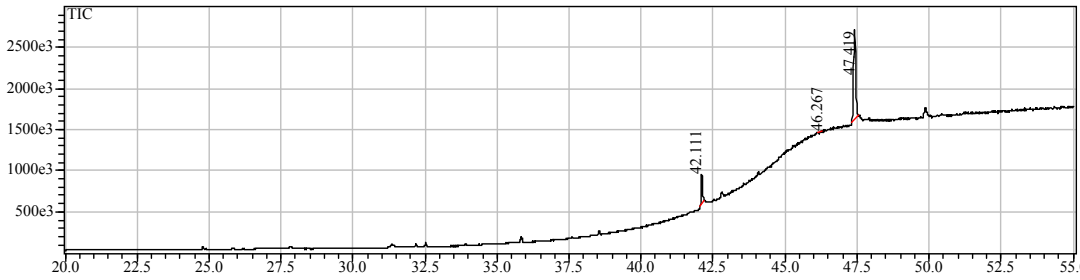


Şekil 4.37. Atrazin LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram.

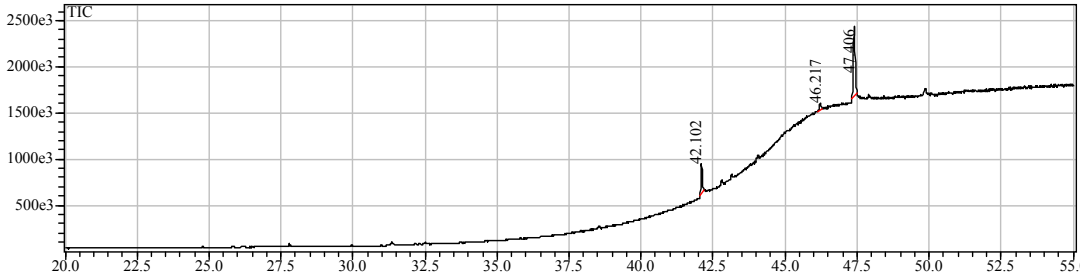
4. ARAŞTIRMA BULGULARI



Şekil 4.38. Atrazinin LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram

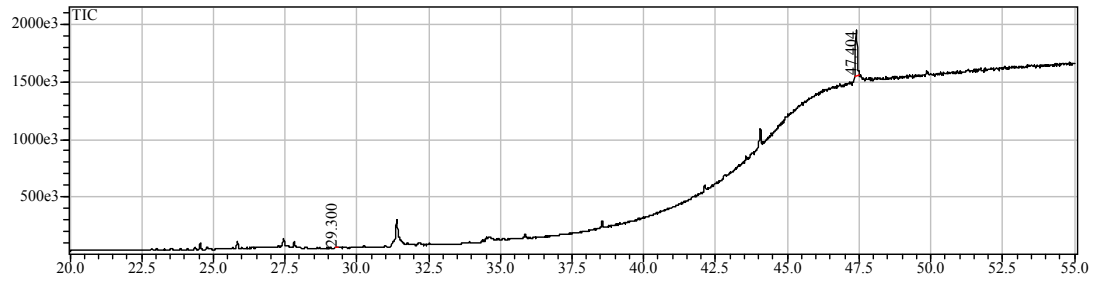


Şekil 4.39. Atrazinin LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram

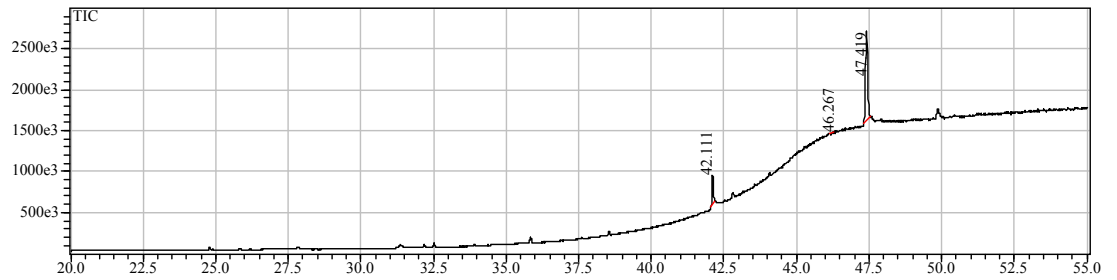


Şekil 4.40. Atrazinin LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram

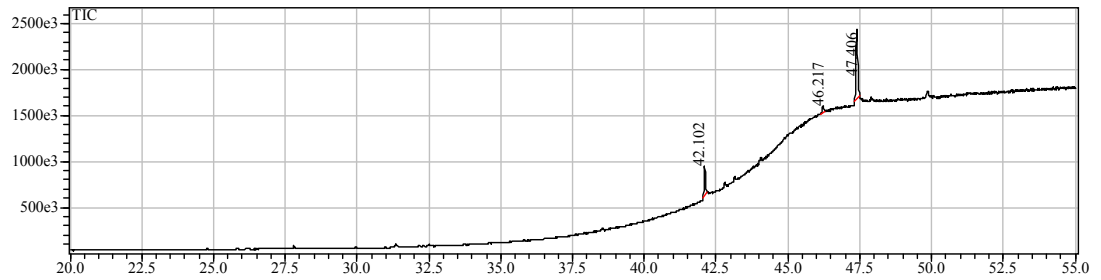
Bu çalışma kapsamında Thiamethoxamda olduğu gibi farklı konsantrasyonlar uygulanan tüm örneklerde indoxacarb kalıntısı belirlenmiştir. Indoxacarb su ve sucul organizmalarda kalıntı bırakabilen bir insektisittir. Şekil 4.42., Şekil 4.43. ve Şekil 4.44.'de indoxacarb kalıntısı belirlenen örneğe ait kromatogramlar verilmiştir.



Şekil 4.41. Indoxacarbın LC₅₀/10'lük konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram

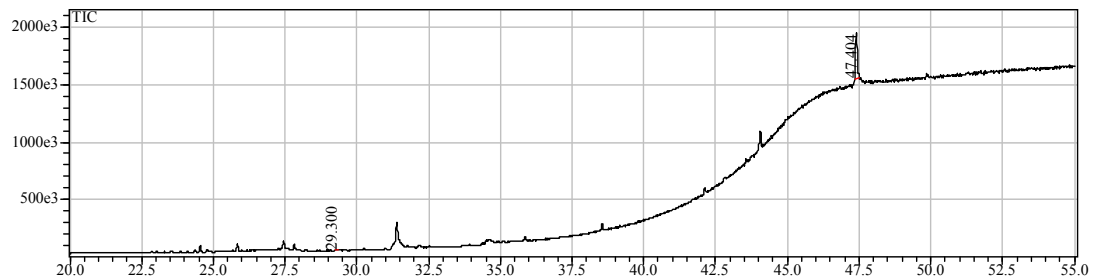


Şekil 4.42. Indoxacarbın LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram



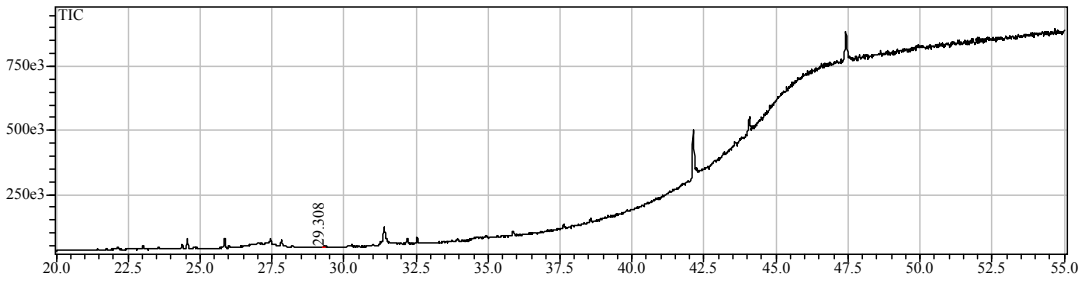
Şekil 4.43. Indoxacarbın LC₅₀/10'lük konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram

Thiamethoxam belirlenen örneğe ait kromatogramlar Şekil 4.45., Şekil 4.46. ve Şekil 4.47.'de verilmiştir.

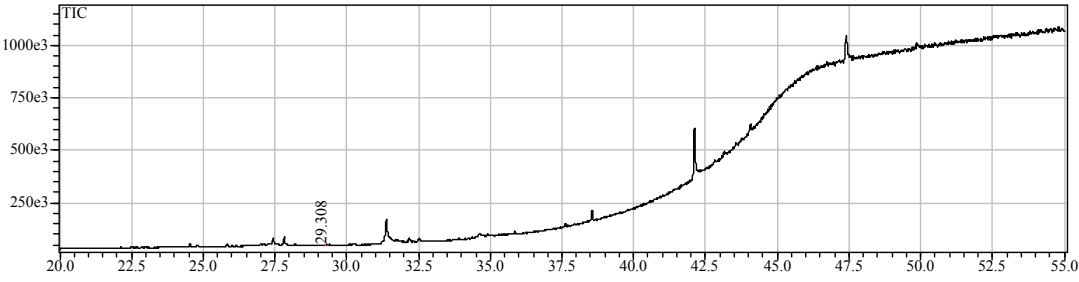


Şekil 4.44. Thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram

4. ARAŞTIRMA BULGULARI



Şekil 4.45. Thiamethoxamın LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram



Şekil 4.46. Thiamethoxamın LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 14 gün maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'e ait kromatogram.

Çizelge 4.12. Kalıntı analizi sonuçları

Numune Adı	Uygulanan Doz	Uygulama Süresi	
		7gün (ppm)	14gün (ppm)
KONTROL	-	-	-
ATRAZİN	LC ₅₀ /100 (0.1896 mg/L)	1.476	-
ATRAZİN	LC ₅₀ /10 (1.896 mg/L)	7.9285	5.5975
ENDOSULFAN	LC ₅₀ /100 (0.0156 µg/L)	-	-
ENDOSULFAN	LC ₅₀ /10 (0.156 µg/L)	-	-
INDOXACARB	LC ₅₀ /100 (0.3904 mg/L)	-	2.8175
INDOXACARB	LC ₅₀ /10 (3.904 mg/L)	6.7225	19.417
THIAMETHOXAM	LC ₅₀ /100 (0.08985 mg/L)	1.0005	-
THIAMETHOXAM	LC ₅₀ /10 (0.8985mg/L)	2.09	2.396

Yaptığımız çalışmada atrazinin LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda zaman bağlı olarak

kalıntı miktarının azaldığı gözlenmiştir. Atrazinin LC₅₀/100'lük konsantrasyonuna maruz kalan canlılarda 14. gün kalıntıya rastlanmamıştır. Konsantrasyon artışına bağlı olarak kalıntı miktarında artış gözlenmiştir.

Endosulfanın LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda kalıntıya rastlanmamıştır.

Çalışmada indoxacarbın LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda zaman bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. LC₅₀/100'lük konsantrasyona maruz kalan canlılarda uygulamanın 7. gününde pestisit kalıntısına rastlanmamıştır. Indoxacarb uygulamalarında kalıntı miktarının konsantrasyon artışına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir.

Thiamethoxama LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda yüksek doza maruz kalan canlılarda pestisit kalıntı miktarının zamana bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Fakat düşük konsantrasyonda 7. günde kalıntı tespit edilirken 14. günde pestisit kalıntısına rastlanmamıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünya genelinde, çeşitli kirleticiler tarafından toprak ve su gibi ekosistemlerin kontaminasyonları hem insan sağlığı hem de diğer tüm canlılar için önemli bir problemdir. Çünkü gerek zirai mücadelede kullanılan pestisitler gerekse de çeşitli sanayi faaliyetlerinden kaynaklanan ve kimyasal kirlenmeye neden olan bir çok faktör, ekosistemlerde besin zincirinin en alt halkasındaki canlılardan besin zincirinin en üst halkasındaki canlılara biyolojik birikim yolu ile taşınabilmektedir.

Başlıca yumuşakçalar olmak üzere omurgasız hayvan türlerinde ROT'nin üretimine bağlı olarak oluşan antioksidan cevap ve oksidatif hasarla ilgili pek çok çalışma yapılmıştır (Correia ve ark. 2003). Fakat Crustacea'ların bu mekanizmaları hakkında daha az bilgi mevcuttur. Ayrıca son yıllarda AChE aktivitesi, pestisit kirliliğinin sucul organizmalar üzerinde oluşturduğu nörotoksik stres için biyobelirteç olarak kullanılmaktadır. AChE ile ilgili çalışmalar balıklar üzerinde uzun zamandır devam etmektedir fakat sucul omurgasızlarla yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır (Kunz ve ark., 2010).

Uzun yıllardır insektisitlerin ve herbisitlerin toksisitesi üzerine pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen pestisitlerin kombine etkileri ile ilgili çok az bilgi mevcuttur. Bunun nedeni pestisitlerin etkileri değerlendirilirken öncelikle ayrı etkilerine odaklanılmış olmasıdır. Ancak doğada pestisitler kimyasal bir karışım olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle oluşan bu karışımların etkisinin araştırılması gerçek etkilerin ortaya konmasında oldukça önemlidir.

Pestisitlerin kombine etkilerinin tahmin edilebilmesi için çeşitli matematiksel modeller geliştirilmiştir. Fakat bu konuyla ilgili çok az deneysel çalışma rapor edilmiştir. Bu çalışmaların çoğunda da sadece insektisit karışımları kullanılmıştır. Ayrıca insektisit karışımlarının balıklar üzerine etkilerini saptamak için yapılan çalışmalara oranla, diğer sucul organizmalar üzerine yapılan çalışmalar oldukça az sayıdadır (Kyle ve ark. 1993).

Çalışmamızda öncelikle atrazin, thiamethoxam, endosulfan ve indoxacarbın *Gammarus kischineffensis* için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri saptanmıştır.

Yaptığımız çalışmada atrazinin *Gammarus kischineffensis* için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırası ile 35.57, 26.82, 23.42 ve 18.96 mg/L olarak bulunmuştur. EPA tarafından yapılan sınıflandırmaya göre atrazinin 96 saatlik LC₅₀ değerleri *Gammarus kischineffensis* için pratik olarak toksik değildir. Benzer şekilde Taylor ve arkadaşları (1991) yaptıkları çalışmada 4 kimyasalın (lindan, bakır, DCA ve atrazin) *Gammarus pulex* üzerinde toksisitesini incelemişler ve bu kimyasallar arasında bu canlı üzerinde en az toksisiteye sahip olanın atrazin olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada endosulfanın *Gammarus kischineffensis* için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırası ile 3.91, 2.49, 1.89 ve µg/L olarak bulunmuştur. EPA tarafından yapılan sınıflandırmaya göre endosulfanın 96 saatlik LC₅₀ değerleri *Gammarus kischineffensis* için kısmen toksikdir. Cengiz ve Ünlü (1999), yaptığımız çalışmaya benzer olarak endosulfan içerikli Thiodan® adlı ticari insektisit *Gammarus pulex* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 3.248 µg/L olarak (kısmen toksik) rapor etmişlerdir. Jonsson ve Toledo (1993), endosulfanın 96 saatlik LC₅₀ değerini zebra balığı ve sarı tetra için sırasıyla 2.6 ve 1.6 µg/L olarak bildirmişlerdir. Salvo ve arkadaşları (2008), yaptıkları bir çalışmada endosulfanın *Cyprinus carpio* için LC₅₀ değerini 0.002 mg/L olarak belirlemişlerdir. Bu durum endosulfanın balıklar için de oldukça toksik olduğunu göstermektedir.

Yaptığımız çalışmada indoxacarbın *Gammarus kischineffensis* için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırası ile 54.49, 45.25, 44.90 ve 39.04 mg/L olarak bulunmuştur. EPA tarafından yapılan sınıflandırmaya göre indoxacarbın 96 saatlik LC₅₀ değerleri *Gammarus kischineffensis* için pratik olarak toksik değildir. Indoxacarb ve ilgili metabolitleri tatlı su balıkları ve omurgasızları için kısmen toksik veya yüksek derecede toksik olabilirler. Indoxacarb ve metabolitlerinin LC₅₀ değerleri 0.024 mg/L ve 2.94 mg/L arasında değişmektedir. Aynı zamanda indoxacarb ve metabolitlerinin tuzlu su balıkları ve omurgasızları için kısmen toksik olduğu gösterilmiş ve EC₅₀ değerinin 0.0542 ile 0.37 mg/L aralığında değiştiği belirtilmiştir (U.S. EPA 2000, Hetrick ve ark. 2005). Ayrıca indoxacarb ve metabolitlerinin, yüzey sularına akut ya da kronik bir etki oluşturabilecek kadar yüksek konsantrasyonlarda ulaşabileceği unutulmamalıdır.

Çalışmamızda thiamethoxamın *Gammarus kischineffensis* için 24, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri sırası ile 25.51, 19.46, 15.14 ve 8.985 mg/L olarak bulunmuştur.

EPA tarafından yapılan sınıflandırmaya göre thiamethoxamın 96 saatlik LC₅₀ değerleri *Gammarus kischineffensis* için pratik olarak toksik değildir. Yapılan çalışmalar neonikotinoidlerin sucül kabuklular için toksik olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde Stark ve Banks (2001) thiamethoxam içerikli ticari insektisit Actara'nın bir tatlı su Amphipod'u olan *Daphnia pulex* için 48 saatlik LC₅₀ değerinin 41 mg/L olduğunu bildirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada atrazin, thiamethoxam, endosulfan ve indoxacarbın LC₅₀/100 ve LC₅₀/10 gibi subletal konsantrasyonlarına ve kombine kullanımlarına maruz bırakılan *Gammarus kischineffensis*'in GST, GR, SOD, CAT, AChE enzimlerindeki ve GSH miktarlarındaki değişiklikler saptanmıştır. Canlılar doğal ortamlarında da genellikle laboratuvarlarda belirlenen LC₅₀ değerlerinin oldukça altındaki ksenobiyotik konsantrasyonlarına maruz kalmaktadır (Roast ve ark. 2000).

Bu çalışmada tüm örneklerde GSH miktarı tespit edilememiştir. Hoguet ve Key'in (2008) yaptığı çalışmada denizde yaşayan bir crustacea türü olan *Leptocheirus plumulosus*'un larvaları, juvenil ve yetişkin bireylerinin GSH miktarları karşılaştırılmış ve sırası ile 150.18 nmol/g ıslak ağırlık 138.12 nmol/g ıslak ağırlık 92.32 nmol/g ıslak ağırlık olarak tespit edilmiştir. Larva ve juvenil bireylerin GSH seviyeleri yetişkin bireylere göre önemli düzeyde (p<0.001) yüksek olduğu rapor edilmiştir (Hoguet ve Key 2008). Yaptığımız çalışmada *Gammarus kischineffensis*'in yetişkin bireylerinin kullanıldığı göz önünde bulundurularak GSH seviyesinin tespit edilebilir seviyede olmadığı ve GSH'in *Gammarus kischineffensis*'in pestisitlere maruziyeti için iyi bir biyobelirteç olmadığı sonucuna ulaşılabilir.

Üretimine 1950'li yıllarda başlanan atrazin, en çok kullanılan herbisitlerden biridir. Avrupada 2004 yılında yasaklanmasının ardından benzer bir kimyasal olan tetrabütilazin yerini almıştır. Diğer ülkelerde ise atrazin kullanımı ile ilgili çok az bir kısıtlama mevcuttur (Salaberria 2009).

Yaptığımız çalışmada atrazinin subletal konsantrasyonlarına (LC₅₀/100:0.1896 mg/L ve LC₅₀/10:1.896 mg/L) maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST aktivitesi incelendiğinde; akut uygulamanın ilk günlerinde düşük konsantrasyona (LC₅₀/100) maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST aktivitesi yüksek konsantrasyona (LC₅₀/10) maruz kalan canlılara göre daha yüksek iken 72. ve 96 saatlerde yüksek

konsantrasyonda oluşan enzim cevaplarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Subakut uygulama süresince düşük konsantrasyona ($LC_{50}/100$) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi yüksek konsantrasyona ($LC_{50}/10$) göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Salaberria ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada 6 gün atrazinin 2 ve 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'lık dozlarına maruz kalan gökkuşuğu alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) karaciğerindeki GST ve CAT enzim aktivitesini incelemiştir. GST aktivitesinde kontrol grubuna göre önemli fark gözlenmezken CAT aktivitesinin 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 'lık uygulama grubunda kontrole göre indüklendiği tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise atrazinin subletal konsantrasyonlarına ($LC_{50}/100$ ve $LC_{50}/10$) maruz kalan *G. kichneffensis*'in yüksek doza maruz kalan canlıların CAT enzimi aktivitesi incelendiğinde; hem kontrol hem de iki farklı dozdaki enzim aktivitesinin zamana bağlı olarak inhibe olduğu gözlenmiştir. Tüm zaman aralıklarında yüksek konsantrasyona ($LC_{50}/10$) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin düşük konsantrasyona ($LC_{50}/100$) maruz kalan canlılardaki CAT aktivitesine göre inhibe olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). 96 saatlik LC_{50} değerine (18.96 mg/L) bakıldığında atrazinin Crustacea'lar için şiddetli toksik etki göstermemesine rağmen subakut uygulamada enzimin baskılanması toksik etkinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Çalışmamızda atrazinin her iki doza maruz kalan canlılardaki SOD aktivitesi incelendiğinde; uygulamanın 24., 48. ve 72. gününde düşük konsantrasyonun ($LC_{50}/100$) oluşturduğu enzim aktivitesinin yüksek konsantrasyonun ($LC_{50}/10$) neden olduğu aktiviteye göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 96. saat . ve 7. günde ise yüksek konsantrasyona ($LC_{50}/10$) maruz kalan canlılardaki SOD enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Genel olarak en yüksek aktivasyon 96. saat ve 7. günde gözlenmiştir ($p<0.05$). Çalışmamızda atrazine maruz kalan *Gammarus kichneffensis*'in GR aktivitesinde uygulamanın ilk 24. saatinde düşük konsantrasyondaki enzim aktivitesinin yüksek doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre çok daha fazla indüklendiği gözlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca 24. saatte $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyona maruz kalan canlılardaki GR aktivitesinin diğer zamanlara göre kısmen yüksek olduğu tespit edilmiştir. GR aktivitesindeki değişim zamana bağlı değildir. Akut uygulama sürecinde 72. saatte inhibisyon gözlenirken 96. saatte indüklendiği tespit edilmiştir. Subakut uygulamalarda hem kontrol hem de

konsantrasyonlar arasında fark gözlenmiştir ($p<0.05$). Yaptığımız çalışmada genel olarak atrazinin akut uygulamalarında yüksek atrazin konsantrasyonuna ($LC_{50}/10$) maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesinin düşük doza ($LC_{50}/100$) maruz kalanlara göre daha fazla inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca akut uygulama süresince 24. ve 72. saat dışındaki tüm zaman dilimlerinde enzim aktivitesi kontrole göre daha yüksek olmuştur ($p<0.05$).

Santos ve Martinez (2012), neotropikal bir balık türü olan *Prochilodus lineatus*'un atrazinin 2 ve 10 $\mu\text{g/L}$ 'lik konsantrasyonlarına 24 ve 48 saat maruz kaldığında karaciğer hücrelerinde SOD, CAT, GR ve GPx beyinde ve kaslarda ise AChE enzimlerinde oluşan değişiklikleri incelenmişlerdir. Bu çalışmada, yaptığımız çalışmadan farklı olarak 24 ve 48 saat sonunda atrazine maruz kalan canlılardaki enzim aktivitelerinde konsantrasyona bağlı bir farklılık gözlenmemiştir. Fakat CAT enzim aktivitesi atrazine maruz kalan *Prochilodus lineatus*'da da kontrole göre önemli düzeyde inhibe olmuştur. Süperoksit radikalindeki artış ($O_2^{\cdot-}$) CAT aktivitesinde inhibisyona neden olabilmektedir (Santos ve Martinez 2012). Aynı zamanda SOD enzim aktivitesindeki artışın nedeni de süperoksit radikalindeki ($O_2^{\cdot-}$) artıştan kaynaklandığı düşünülebilir. Ayrıca SOD ve CAT enziminin invertebrat türlerinde antioksidan olarak önemli bir rol üstlendiği düşünülmektedir (Barata ve ark. 2005). Santos ve Martinez'in yaptıkları çalışmada (2012), 24. ve 48. saatlerde atrazine maruz kalan *Prochilodus lineatus*'daki GR enziminin aktivitesinde zaman bağlı bir düşüş olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmada yaptığımız çalışmadan elde edilen sonuçlara benzer şekilde 24. saatte GR enzim aktivitesinin kontrole göre önemli düzeyde indüklendiğini bildirmişlerdir ($p<0.05$). Atrazine maruz kalan *Prochilodus lineatus*'un hem beyin hem de kasında ki AChE aktivitesi yaptığımız çalışmadan farklı olarak kontrolden anlamlı düzeyde farklı değildir. Fakat her iki çalışmada da 24. ve 48. saatlerdeki enzim düzeyinin zaman bağlı olarak düştüğü gözlenmiştir. Jin-Clark ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, 14 gün boyunca atrazin uyguladıkları dişi zebra balıklarının (*Danio rerio*) karaciğer ve yumurtalıklarındaki SOD ve CAT enzim aktivitesini incelemişlerdir. Ovaryumdan elde edilen CAT aktivitesinin yaptığımız çalışmaya paralel olarak 14. gündeki enzim aktivitesinin yüksek konsantrasyonda inhibe olduğu gözlenmiştir. Ayrıca yaptığımız çalışmada farklı dozlarda ($LC_{50}/100$ ve $LC_{50}/10$) atrazine maruz kalan canlı gruplarındaki SOD aktivitesinde önemli düzeyde bir

değişiklik gözlenirken Jin-Clark ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2010) düşük ve yüksek konsantrasyonlarda kontrole göre önemli bir fark gözlenmemiştir.

Geliştirildiği 1954 yılından itibaren endosulfan dünyada en yaygın olarak kullanılan insektisitlerinden biridir. Endosulfan kullanımını 30'dan fazla gelişmiş ve gelişmekte olan ülkede yasaklanmış olmasına rağmen Hindistan, Endonezya, Avusturalya, ABD, Çin, Avrupa Birliği, Tayland gibi bir çok ülkede kullanılmaktadır (Weber ve ark. 2010). Bu nedenle endosulfan kalıntıları çevre için hala problem olarak kabul edilmektedir (Shao ve ark. 2012).

Endosulfanın akuatik canlıların antioksidan enzimleri üzerine etkilerine dair çalışmalar literatürde mevcuttur. Yaptığımız çalışmada endosulfanın LC₅₀/100 (0.0156 µg/L)'lük ve LC₅₀/10 (0.156 µg/L)'lük konsantrasyonuna maruz kalan canlıların GST enzim aktivitesinde zamana bağlı anlamlı bir değişiklik oluşmadığı gözlenmiştir. Ancak gruplar arasındaki değişimler incelendiğinde 24. saatte her iki doza maruz kalan canlıların enzim aktivitesinin kontrole göre inhibe olduğu gözlenmiştir. 72. saatte ise yüksek doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hem LC₅₀/100'lük uygulama grubuna hem de kontrole göre inhibe olduğu gözlenmiştir. Uygulamanın 7. gününde düşük dozdaki (LC₅₀/100) enzim aktivitesi oldukça yüksek bulunmuştur. Uygulamanın 14. gününde ise yüksek doz uygulanan canlılarda (LC₅₀/10) enzim aktivitesi hem kontrolden hem de LC₅₀/100'lük uygulamadan önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

Ballesteros ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada bir balık türü olan *Jenynsia multidentata*'nın endosulfanın dört farklı subletal konsantrasyonuna (0.014, 0.072, 0.288 ve 1.4 mg/L) 24 saat maruz kalması sonucunda beyin, solungaç, bağırsak, karaciğer ve kaslardaki GST, GR, GPx ve CAT aktivitelerindeki değişikliği incelemişlerdir. Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde genel olarak beyin dışındaki tüm dokularda 24. saatte enzim aktivitesi kontrole göre inhibe olduğu rapor edilmiştir. Barata ve arkadaşları (2005), Crustacea sınıfına ait *Daphnia magna* ile yaptıkları çalışmada endosulfanın antioksidan enzimler üzerine etkisini inceledikleri çalışmada endosulfanın farklı dozlarına (200, 400, 600, 800 µg/L) 48 saat maruz kalan canlılarda GST aktivitesinin dozdaki artışa bağlı olarak önemli düzeyde arttığını tespit etmişlerdir (p<0.05).

Yaptığımız çalışmada ise *Gammarus kischineffensis*'de 48. saatte GST aktivitesinde kontrol ve gruplar arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Fakat CAT aktivitesi için benzer bir sonuç elde edilmiştir. Her iki çalışmada da 48. saatte doz artışına bağlı olarak enzimin düşük dozda kontrole göre oldukça yüksek aktivite yüksek dozda ise kontrole yakın oranda düşük aktivite verdiği gözlenmiştir. Ayrıca yaptığımız çalışmada uygulamanın erken dönemlerinde (24., 48., 72., 96. saatler) hem LC₅₀/100'lük hem de LC₅₀/10'luk dozlara maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinin kontrole göre anlamlı şekilde indüklendiği tespit edilmiştir (p<0.05).

Yaptığımız çalışmada sadece 72. saatte endosulfanın düşük dozuna (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki SOD aktivitesinde kontrole karşılaştırıldığında inhibisyon şeklinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (p<0.05). Benzer olarak Barata ve arkadaşlarının *Daphnia magna* ile yaptığı çalışmada da SOD enziminde doza bağlı bir değişim gözlenmemiştir. Shao ve arkadaşları (2012) endosulfanın farklı konsantrasyonlarına (0.01, 0.1, 1, ve 10 µg/L) 7, 14, 21 ve 28 gün maruz kalan zebra balığı'nın (*Danio rerio*) CAT ve SOD aktiviteleri üzerine etkisini incelemiştir. Hem dişi hem de erkek bireylerdeki CAT aktivitesinin yaptığımız çalışma ile uyumlu olarak 7. ve 14. günde dozdaki artışla inhibe olduğu tespit edilmiştir. Fakat SOD aktivitesinde endosulfana maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in verdiği cevaptan farklı olarak, kontrol ve endosulfanın farklı konsantrasyonlarına maruz kalan zebra balığının karaciğerinde SOD aktivitesi açısından önemli düzeyde fark tespit edilmiştir (p<0.05). Vertebratların ve invertebratların endosulfana karşı oluşturdukları SOD enzim cevapları oldukça farklıdır.

Çalışmamızda endosulfana maruz kalan canlıların GR enzim aktivitesi incelendiğinde; genel olarak düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlıların enzim aktivitesinin yüksek doza (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki aktiviteden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Düşük dozda (LC₅₀/100) pestisite maruz kalan canlılarda 24. ve 72. saate enzim seviyesi oldukça yüksek bulunmuştur. Subakut uygulama sürecinde ise 7. gündeki enzim seviyesi her iki dozdaki uygulamada da 14. güne göre daha yüksek bulunmuştur.

Ballesteros ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada tespit ettikleri *Jenynsia multidentata*'nın beyin, solungaç, bağırsak, karaciğer ve kaslarındaki GR aktivitesinin,

yaptığımız çalışmanın sonuçlarına uyumlu olduğu görülmektedir. Her iki çalışmada da yüksek konsantrasyonda GR enziminin inhibe olduğu tespit edilmiştir. Zhang ve ark. (2004) ve Moreno ve ark. (2005)'na göre GR aktivitesindeki inhibisyon hücelerdeki NADPH seviyesindeki farklılığa bağlıdır. Yaptığımız çalışmada endosulfanın LC₅₀/100 (0.0156 µg/L)'lük ve LC₅₀/10 (0.156 µg/L)'luk konsantrasyonuna maruz kalan canlıların AChE aktivitesi farklı zamanlarda incelenmiştir. Elde edilen sonuçlarda 14 günde LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hariç tüm saat ve günlerde LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitelerinin kontrolden anlamlı düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın 24. ve 72. saatlede LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi LC₅₀/100'lük uygulamanın aktivitesinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0.05).

AChE inhibisyonu, sucul ve karasal ekosistemlerde organo fosforlu (OP) insektisitlere maruz kalmanın bir biyobelirteci olarak ve maruz kalan hayvan üzerindeki fizyolojik etkilerin belirlenmesi için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Fulton ve Key 2001). Fakat çalışmamızda kullandığımız endosulfan OP sınıfına ait değildir ve genel olarak AChE aktivitesinde önemli bir inhibisyon gözlenmemiştir. Xuereb ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada 24, 48 ve 96 saat boyunca OP bir pestisit olan chlorpyrifos'a maruz kalan *Gammarus fossarum*'un AChE aktivitesinde kontrole göre önemli düzeyde bir inhibisyon tespit etmişler fakat AChE enzim aktivitesinde zamana bağlı bir değişim olmadığını rapor etmişlerdir.

Çalışmamızda kullandığımız bir diğer insektisit olan indoxacarb sinir hücrelerindeki sodyum kanallarını inhibe ederek hedef organizmanın felç olmasına ve ölmesine neden olan yeni oksadiazin sınıfına ait bir insektisittir (Ahmad ve ark. 2003). Indoxacarbın amid azotundaki karbometoksilasyon tarafından bileşik böcekler için daha seçici hale gelmiştir (Zhao ve ark. 2003). Indoxacarbın sucul organizmalar üzerindeki etkisini araştırmak için yapılmış antioksidan enzimler ve detoksifikasyon enzimleri ile ilgili literatüre rastlanılmamıştır. Yaptığımız çalışmada indoxacarbın subletal konsantrasyonlarına (LC₅₀/10: 3.904 mg/L ve LC₅₀/100: 0.3904 mg/L) maruz kalan *G. kichneffensis*'in GST enzim aktivitesinin 24. saatte her iki doz içinde kontrole göre düşük olduğu gözlenmiştir. Fakat 48. ve 96. saatlerde GST aktivitesinin her iki dozda da kontrole göre yüksek olduğu tespit edilmiştir. 48. saatte indoxacarbın LC₅₀/10'luk doza

maruz kalan canlılardaki CAT aktivitesinin hem kontrolden hem de LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardakinden anlamlı bir şekilde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0.05). 72., 96. saatlerde ve 14. günde LC₅₀/100'lük doza maruz kalan canlılardaki CAT enzim aktivitesi kontrole ve LC₅₀/10'luk uygulamaya göre daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Korkutan ve ark. (2008) *Rana ridibunda*'nın kas dokusunu 10 mM'lık indoxacarb çözeltisine bir saat maruz bıraktıklarında CAT aktivitesinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde indüklendiğini tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmada ilk gün dışındaki tüm zaman aralıklarında indoxacarbın LC₅₀/10'luk yüksek dozuna maruz kalan canlılardaki SOD aktivitesinin hem kontrole hem de düşük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Ayrıca 7 günde LC₅₀/10'luk dozda, 14. günde ise her iki dozdaki uygulamalarda kontrole göre yüksek aktivite tespit edilmiştir. Hem CAT hem de SOD aktivitesinin adaptasyon sürecinden sonra kontrole göre indüklenmesi oksidatif strese karşı antioksidan savunma mekanizmasının harekete geçtiği anlamına gelebilir.

Yaptığımız çalışmada indoxacarb maruz kalan canlılarda GR aktivitesinin akut uygulamada 72. saat ve 96. saatte her iki doza maruz kalan canlılarda kontrole göre önemli düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın 7. ve 14. günlerinde her iki doza maruz kalan canlılardaki GR enzim düzeyi kontrole göre önemli düzeyde inhibe olduğu bulunmuştur (p<0.05). Tüm bu veriler değerlendirildiğinde GST'nin detoksifikasyon enzimi olarak indoxacarb maruziyetinde çok etkin çalışmadığı sonucuna varılabilir. Uygulamanın ilk günlerinde GST ve GR enzim cevaplarındaki benzer olduğu gözlenmiştir ve bu durumun GR'nin yeterli düzeyde GSSG'yi GSH'a dönüştürememesinden kaynaklandığı düşünülebilir.

Bu çalışmamızda indoxacarb maruz kalan canlılarda ilk 96 saatlik zaman diliminde kontrol grubundaki AChE düzeyi sabit kaldığı, 7. ve 14. günlerde ise arttığı gözlenmiştir. Uygulamanın ilk gününde düşük doza (LC₅₀/100) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hem LC₅₀/10'luk pestisite maruz kalan canlılardaki hem de kontrol grubundaki enzim aktivitesine göre daha yüksektir (p<0.05). 48. 72. ve 96. saatlerde ise yüksek doza (LC₅₀/10) maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesinin diğer iki gruba göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir (p<0.05). Uygulamanın 7. ve 14. günlerinde ise LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk dozlara maruz kalan canlılardaki enzim düzeyinin kontrole önemli düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Gamil

ve ark. (2011) yaptıkları çalışmada 24 saat indoxacarb maruz bırakılan *Spodoptera littoralis* larvalarının 2. ve 4. larva dönemlerindeki AChE aktivitesinde önemli düzeyde bir inhibisyon tespit etmişlerdir. Buradan yola çıkarak bu dönemlerde indoxacarbın toksik etki gösterdiği için sinir sisteminin bloke olduğu sonucuna varmışlardır. Yaptığımız çalışmada ise canlılar endosulfan dışında ki tüm pestisitlere ancak 7 ve 14 gün maruz kaldıktan sonra AChE enziminde kontrole göre önemli düzeyde inhibisyon tespit edilmiştir ($p<0.05$). Indoxacarb bir pro-insektisittir. Toksik olabilmesi için öncelikle metabolize olması gerekmektedir. Böceğin pestisidi sindirmesinden sonra pestisit aktif maddesi olan DPX-KN128 böceğin barsağında hızlıca azalarak IN-JT333 (DCJW-dekarbometoksilatlanmış DPX-JW062)'e dönüşür. IN-JT333'ün sodyum kanallarını inhibe edici etkisi indoxacarb'a göre daha etkilidir (Tsurubuchi ve Kono 2003). 24 saat indoxacarb maruz kalan canlılarda GST, CAT, SOD enzimlerinin aktivitesinin kontrole göre düşük olmasının nedeni indoxacarbın pro-insektisit özelliğinden kaynaklandığı söylenebilir.

Çalışmada kullandığımız thiamethoxam neonikotinoid bir insektisit olarak nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR) için agonistik etkiye sahiptir (Oliveira ve ark. 2010). Sentetik organik pestisitlerin yeni bir sınıfı olan neonikotinoitler geniş spektrumlu insektisitlerdir. Neonikotinoitlerle yapılan çalışmalarda böceklerdeki nAChR için memelilere göre daha seçici oldukları tespit edilmiştir (Schulz-Jander ve ark. 2002). Fakat Ford ve Casida (2006), farelerde yaptıkları çalışmada 20 mg/kg thiamethoxamın sistemik uygulaması sonucunda insektisitinin %44'ünün metabolize edildiğini ve beyinde temel metabolitlerin tespit edildiğini rapor etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada thiamethoxam subletal konsantrasyonlarına ($LC_{50}/10$: 0.8985 mg/L ve $LC_{50}/100$: 0.08985 mg/L) maruz kalan *Gammarus kichneffensis*'in GST enzim aktivitesinin uygulamanın ilk üç gününde kontrole göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Akut uygulama süresince 24. ve 48. saatlerde $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinin $LC_{50}/100$ 'lük pestisit dozuna maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Uygulamanın subakut döneminde ise kontrol ve $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesi farklı değilken, $LC_{50}/100$ 'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi hem kontrol hem de $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinden önemli düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Thiamethoxamın farklı konsantrasyonlarına maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in CAT aktivitesi incelendiğinde ise organizmanın uygulamanın ilk günlerinde pestisite hızlı bir cevap oluşturduğu fakat daha sonra enzim aktivitelerinin tüm gruplarda zamana bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. 24., 48., 72., 96. saatlerde ve 14. günde LC₅₀/100'lük doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinin hem kontrol hem de LC₅₀/10'luk doza maruz kalan gruplardaki enzim aktivitesinden önemli düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Yaptığımız çalışmada thiamethoxama maruz kalan canlılardaki SOD enzim aktivitesinin LC₅₀/10'luk doza maruz kalan canlılarda LC₅₀/100'lük doza maruz kalanlara göre genel olarak daha önemli düzeyde cevap oluşturduğu gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın akut döneminde SOD enzim aktivitelerinin 72. saate kadar arttığı 96. saatte ise kısmen düştüğü gözlenmiştir. 7. günde enzim aktivitesinin LC₅₀/10 grubunda, kontrole ve LC₅₀/100'e göre önemli düzeyde indüklendiği saptanmıştır (p<0.05). 14. Günde ise her iki dozda kontrole göre önemli düzeyde artış tespit edilmiştir (p<0.05). Yaptığımız çalışmada thiamethoxama maruz kalan canlılarda SOD enziminin zaman bağlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Atrazin ve thiamethoxamın CAT ve SOD enzim cevapları karşılaştırılacak olursa benzer şekilde davrandıkları görülebilir. Bu durum süperoksit radikalindeki artış (O₂⁻) CAT aktivitesinde inhibisyona neden olması ve aynı zamanda SOD enzim aktivitesindeki artışın nedeni de süperoksit radikalindeki (O₂⁻) artıştan kaynaklandığı düşüncesini destekleyebilir (Santos ve Martinez, 2012). Malev ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmada neonikotinoit bir insektisit olan imidaclopridin ticari formülasyonunun (Confidor 200SL) standart imidaclopridin ve onun transformasyon ürünü olan 6-kloronikotinik asitin farklı konsantrasyonlarının (62.8, 94.6, 126.2, 157.7 ve 315.5 µg/L) hedef olmayan sucul canlılar (*Gammarus fossarum*) üzerindeki 24 saatlik etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda imidacloprid uygulana canlıların CAT ve GST enzim aktivitelerinde önemli bir değişim gözlenmezken Confidor 200SL uygulanan canlılarda enzimler önemli düzeyde indüklenmiştir. Yaptığımız çalışmayla benzer şekilde 24 saat subletal dozlara maruz kalan canlılardaki CAT enzim aktivitesinin yüksek doza maruz kalma sonucunda, düşük doza nazaran inhibe olduğu tespit edilmiştir. CAT aktivitesindeki bu düşüş pestisit uygulamasına bağlı olarak artan H₂O₂ seviyesiyle ilişkilendirilebilir. Bu durum pestisit uygulamasıyla indüklenen reaktif oksijen türlerindeki artış ve bu reaktif oksidanların enzim sentezinde görev

yapan genlerin ifadelerindeki baskılanma ile, enzimin aktivasyonunun engellenmesi ile ya da sentezlenen enzimlerin yapılarındaki oksidasyonla açıklanabilir. Thiamethoxam subletal konsantrasyonlarına ($LC_{50}/10$: 0.8985 mg/L ve $LC_{50}/100$: 0.08985 mg/L) maruz kalan *G. kichneffensis*'in GR aktivitesi incelendiğinde; akut uygulama sürecinde 96. saate kadar, $LC_{50}/10$ 'luk ve $LC_{50}/100$ 'lük pestisit dozuna maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinin kontrole karşılaştırıldığında indüklendiği gözlenmiştir. 48. saate $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinde, hem kontrol hem de $LC_{50}/100$ 'lük pestisit dozuna maruz kalan canlılardaki enzim seviyesine göre önemli düzeyde artış gözlenmiştir ($p<0.05$). 96. saate geldiğinde ise $LC_{50}/100$ 'lük doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyesi $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan canlılara ve kontrole göre yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). GR aktivitesi ve GST aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. GST aktivitesinin pestisit, ağır metaller veya farklı ksenobiyotikler gibi her türlü stres koşullarından etkilendiği bilinmektedir. GST, reaktif bir elektrofilik merkeze sahip çeşitli ksenobiyotikleri glutatyonun tiol grubu ile konjugasyonunu katalizleyen bir enzimdir. GST enzimi bu reaksiyonları katalizlerken GSH da GSSG'ye dönüşmektedir. Stres altındaki bir canlıda ya da hücrede GR aktivitesinin yüksek olması, GR'nin GSSG'yi GSH'a dönüştüren bir enzim olmasıyla ilişkilendirilebilir.

Neonikotinoidler nikotinik asetilkolin reseptörlerinin (nAChRs) agonisti olmalarına rağmen, AChE aktivitesini OP pestisitler gibi direkt olarak inhibe etmezler (Malev ve ark. 2012). Dondero ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise thiamethoxama maruz kalan deniz midyesi *Mytillus galloprovincialis*'in AChE enziminin önemli düzeyde inhibe olduğu gözlenmiştir. Yaptığımız çalışmada benzer şekilde uygulamanın ilk 48. saatinde $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan canlılarda enzim seviyesi kontrole ve $LC_{50}/100$ 'lük uygulama grubundaki canlıların AChE enzim seviyesine göre önemli düzeyde inhibe olmuşken, 96. saatte $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan canlılardaki enzim seviyesinde kontrole ve $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyona maruz kalan canlılardaki enzim seviyesine göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca subakut uygulama sürecinde ise hem $LC_{50}/100$ 'lük hem de $LC_{50}/10$ 'luk doza maruz kalan canlılarda enzim seviyesi kontrole göre önemli düzeyde inhibe olmuştur ($p<0.05$). Bu sonuçlardan yola çıkarak thiamethoxamın dolaylı olarak AChE enzimini inhibe ettiği söylenebilir.

Ksenobiyotikler ile ilgili çalışmaların büyük çoğunluğunda bu kimyasalların tek olarak kullanıldıklarında ne tür etkilerin ortaya çıkacağı araştırılmıştır. Fakat kirli ekosistemlerde canlılar bir tek kimyasal yerine çok çeşitli toksik maddelere birlikte maruz kalmaktadırlar. Bu kirleticiler arasında maruz kalan canlıdaki toksik tepkiyi arttıran veya azaltan (durduran) bir ilişki vardır. Etkileşim, kinetik fazda canlı tarafından toksik maddenin alınımını, dağılımını, depolanmasını ve metabolizmasını değiştirerek ya da dinamik fazda, toksik madde-reseptör bağlanma aktivitesi ve çekimini değiştirerek kimyasal ya da fiziksel olabilir. "Çoklu toksisite oluşturan etkileşim mekanizmaları Anderson ve D' Apolonia (1978) tarafından aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir. Öncelikle toksik kimyasal, çevresel ortamda bulunan diğer kimyasallar ile etkileşerek yeni bileşikler, şelatlar, kompleksler oluşturur veya kimyasal durumu değiştirir. Özetle kirletici maddeler ve diğer substratlar arası etkileşim, kirleticinin fizikokimyasal yapısını ve toksik olma durumunu değiştirir. Canlıya geçişte çoklu kirleticiler aynı hedef organda aynı bölgeyi etkileyebilir veya farklı hedef dokularda farklı bölgeleri etkileyebilir ve bu şekilde yaygın olumsuz tepki ortaya çıkar. Bir kirletici toksik madde olarak normalde inaktif olduğu halde diğer maddeler ile birlikte etkisi değişebilir ve çoklu kirleticilerde kimyasalların tek tek oluşturdukları toksik etki bir arada olduklarında değişebilir. Kinetik fazda ise, çoklu kirleticiler içindeki maddelerin hedef doku tarafından alınması farklılık gösterebilir. Çoklu kirleticilerde bulunan maddeler orijinal maddelere göre metabolitlerin üretimini artırır veya azaltır" (Parlak 2009)

Yaptığımız çalışmada bir herbisit olan atrazinin insektisitler ile (indoxacarb, thiamethoxam, endosulfan) LC₅₀/100'lük konsantrasyonlarının pestisit kombinasyonlarının GST, CAT, SOD, GR ve AChE enzimleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmadan elde edilen spesifik aktivitelerin kontrole göre yüzdeleri hesaplanarak karşılaştırma yapılmıştır.

Tierney ve arkadaşları (2008) somon balıkları ile yaptıkları çalışmada atrazin ve endosulfanında dahil olduğu 10 pestisit karışımının doğada bulunan dozunu baz alarak düşük ve yüksek dozlarının GST enzimi üzerine etkilerini incelemiştir. Çalışma sonucunda doğada tespit edilen dozun ve düşük dozun enzim aktivitesini yüksek doza göre indüklediği tespit edilmiştir. Bu nedenle kombine etki

incelemelerinde düşük doza maruz kalmanın daha gerçekçi sonuçlar vereceği sonucuna varılabilir.

Yaptığımız çalışmada atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlardaki kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalmanın *Gammarus kischineffensis*'in GST enzimi üzerindeki etkileri incelendiğinde; ilk 48. saatte kombinasyon etkisi gözlenmiştir (p<0.05). Uygulamanın 72. ve 96. saat; 7. ve 14. günlerinde ise atrazin ve endosulfanın LC₅₀/100'lük dozuna maruz kalan canlılara göre kombine etkiye maruz kalan canlılarda önemli düzeyde sinerjistik bir etki tespit edilmiştir (p<0.05). Atrazin ve indoxacarbın tek ve kombine etkisine maruz kalan canlılarda, uygulamanın sadece 72. ve 96. saatlerinde kombine etkiden kaynaklanan GST aktivitesinin, pestisitlerin tek kullanımından kaynaklanan aktiviteye göre önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir (p<0.05). Yaptığımız çalışmada atrazin ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük konsantrasyonlardaki kombine etkisine maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'in GST enzim aktivitesinin 24. saatte, 7. ve 14. günlerde pestisitlerin LC₅₀/100'lük tek uygulamalarındaki aktiviteye göre önemli düzeyde düşük olduğu gözlenmiştir (p<0.05). Oruç ve Üner (2000) yaptıkları çalışmada 2,4-D ve azinfosmetilin *Oreochromis niloticus* 'un antioksidan enzimleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerini araştırmışlardır. Öncelikle 96 saatlik LC₅₀ değeri 2,4-D için 80 ppm azinfosmetil için 0.09 ppm olarak tespit edilmiştir. Daha sonra 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca 27 ppm 2,4-D ve 0.03 azinfosmetile birlikte ve ayrı maruz bırakılan *Oreochromis niloticus* 'un antioksidan enzimlerine incelenmiştir. Pestisitlerin birlikte ve ayrı uygulamaları sonucunda CAT ve GST aktivitesinde önemli bir değişiklik olmamıştır. Benzer şekilde Riviere ve ark., (1990) yaptıkları çalışmada 4-kloro-2 metil fenoksi asetik asite 3 gün maruz kalan *Cyprinus carpio*'da GST aktivitesinde önemli bir değişiklik olmadığını rapor etmişlerdir. Fakat Egaas ve arkadaşları (1993) yaptıkları çalışmada 14 gün atrazine maruz kalan gökkuşacağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) karaciğerindeki GST aktivitesinin sitümüle olduğunu tespit etmişlerdir. Tüm bu bulgular bakılarak GST aktivitesinin farklı türler ve farklı ksenobiyotik türleri için aynı cevabı oluşturmadığını düşünülebilir. Yaptığımız çalışmada CAT enziminin atrazin endosülfan kombinasyonuna maruz kalma sonucunda her zaman diliminde kombine etkinin, sadece atrazinin LC₅₀/100'lük dozuna maruz kalan canlılardaki CAT enzim aktivitesine göre önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir (p<0.05). Pestisitlerin birlikte

kullanıldıklarında aditif veya sinerjistik etki gösterdiği sonucuna varılabilir (Güven, 1999). Özellikle 72. saatte kombine etki oldukça yüksek bir cevap oluşturmuştur ($p<0.05$). Atrazin ve indoxacarbın tek ve kombine etkisine maruz kalan canlılarda CAT aktivitesi incelendiğinde 24. ve 48. saatlerde kombine etkinin CAT enzim aktivitesinde pestisitlerin ayrı uygulandığı canlılardaki enzim aktivitesine göre önemli düzeyde indüklenmeye neden olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Uygulamanın sonraki günlerinde ise kombine uygulamanın CAT enzim aktivitesi atrazin ve indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük dozuna maruz kalan canlılardaki aktiviteye göre daha düşüktür ($p<0.05$). Atrazinin thiamethoxam ile oluşturduğu kombine etkin ve pestisitlerin ayrı kullanımından kaynaklanan CAT enzim aktivitelerinin incelendiğinde ise uygulamadaki tüm zamanlarda pestisit kombinasyonuna maruz kalan canlılardaki CAT aktivitesinin, $LC_{50}/100$ 'lük thiamethoxama maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesine göre anlamlı şekilde inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Yaptığımız çalışmada Oruç ve Üner (2000); Riviere ve ark., (1990) tarafından yapılan çalışmalardan elde ettikleri sonucun aksine CAT aktivitesi tüm pestisitler için kontrolden önemli düzeyde farklı yanıtlar oluşturmuştur ($p<0.05$). Buradan yola çıkarak *G. kichneffensis*'in kombine etki ile oluşan oksidatif stres için balık türlerine göre daha iyi bir biyoindikatör tür olduğu sonucuna ulaşılabılır.

Yaptığımız çalışmada atrazin ve endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonlardaki kombine etkisine maruz kalan canlılarda SOD enzim aktivitesinde 24. saatte pestisitlerin kombine kullanımının hem atrazinin hem de endosulfanın tek kullanımlarına göre enzim aktivitesinde oldukça fazla artış gözlenmiştir ($p<0.05$). Uygulamanın 96. saati, 7. ve 14. günlerinde pestisit karışımının diğer iki pestisit uygulamasına oranla SOD enzim düzeyini önemli derecede indüklediği tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu deneyde genel olarak pestisitlerin birlikte kullanımı daha toksik bir etkiye neden olduğu görülebilir ($p<0.05$). Atrazin ve indoxacarbın kombine etkisine farklı sürelerde maruz kalan *Gammarus kischineffensis*'de ise SOD enzim aktivitesinin 48., 72. saatlerde ve 14. günde her iki pestisitinin tek kullanımlarına göre önemli düzeyde farklı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Atrazin ve thiamethoxamın kombine etkisine maruz kalan canlılarda ise sadece 96. saat ve 14. günde SOD enzim seviyesi pestisitlerin tek kullanıldığı uygulamalardaki enzim aktivitesine oranla yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).

Oruç ve arkadaşları (2004) 2,4-D ve azinfosmetilin ayrı ve kombine haline maruz kalan balık türlerinin (*Oreochromis niloticus* ve *Cyprinus carpio*) karaciğer, beyin ve solungaç dokularındaki SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktivitelerindeki değişimi incelemişlerdir. Oruç ve arkadaşları yaptıkları çalışmada karaciğer dokusunda 2,4-D ve azinfosmetilin kombine etkisinin kontrole oranla GST aktivitesini önemli düzeyde indüklediğini tespit edilmişlerdir. Bu sonuç yaptığımız çalışmada atrazinin endosulfan ve indoxacarb ile birlikte kullanıldığında oluşan GST cevabı ile benzerdir. GST aktivitesindeki indüklenmenin nedeninin, enziminin pestisit toksisitesine karşı daha iyi bir cevap oluşturması olarak değerlendirilebilir (Oruç ve ark. 2004). Oruç ve arkadaşlarının (2004) yaptığı çalışmada SOD enzim aktivitesi karaciğer ve beyin dokularında kontrole göre önemli düzeyde bir değişiklik gözlenmemiştir. Fakat solungaçlarda hem pestisitler ayrı hem de birlikte uygulandığında SOD enziminin aktivitesinde anlamlı düzeyde indüklenme olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde CAT enzim aktivitesinde de sadece karaciğer dokusunda önemli bir değişiklik olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar bize bir ksenobiyotığın aynı canlının farklı dokularında bile benzer olmayan düzeyde oksidatif strese neden olduğunu düşündürülebilir.

Yaptığımız çalışmada atrazin ve endosulfanın kombine etkisine maruz kalan canlılardaki GR enzim seviyesinin tüm gruplarda tek kullanımlara oranla azalma eğiliminde olduğu görülmekle beraber, zamana bağlı olarak artış tespit edilmiştir ($p<0.05$). Atrazinin ve indoxacarbın karışımına maruz kalan canlılarda ise uygulamanın akut döneminde 72. saate GR aktivitesinin artış eğiliminde olduğu saptanmıştır. Subakut uygulamada kombine etkiye maruz kalan canlılarda enzim aktivitesinin pestisitlerin ayrı $LC_{50}/100$ 'lük konsantrasyonuna maruz kalan canlılardakine göre oldukça fazla indüklendiği gözlenmiştir ($p<0.05$). Yaptığımız çalışmada atrazin ve thiamethoxamın birlikte ve ayrı kullanıldığı uygulama grupları karşılaştırıldığında, atrazine maruz kalan canlılarda enzim aktivitesindeki değişimin zaman bağlı olmadığı, thiamethoxama maruz kalan canlılarda ise 24. saat dışındaki günlerde GR aktivitesindeki değişimin zaman bağlı olduğu gözlenmiştir. 24. saatte kombine etkiye maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi pestisitlerin ayrı kullanıldığı gruplardaki enzim aktivitesine göre düşük olmasına rağmen diğer uygulama zamanlarında daha yüksek aktivite tespit edilmiştir. Oruç ve arkadaşları (2000) yaptıkları çalışmada 2,4-D ve azinfosmetilin kombine etkisine maruz kalan canlıların kontrole göre GR

aktivitesinde kontrolle karşılaştırıldığında önemli düzeyde artış rapor etmişlerdir. GPx aktivitesinde ise kombine pestisit uygulaması sonucunda ayrı kullanımlara oranla bir azalma gözlenmiştir.

Yaptığımız çalışmada atrazinin endosulfanın birlikte ve ayrı olarak uygulanmasına maruz kalan *Gammarus kichneffensis*'in AChE seviyeleri incelendiğinde; 14. gün hariç tüm zaman dilimlerinde kombine etkiye maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesinin pestisitlerin tek kullanımına göre inhibe olduğu gözlenmiştir. Atrazin ve indoxacarbın kombine ve ayrı kullanımının etkisi incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde pestisitlerin kombine etkisine maruz kalan canlıların enzim aktivitesinin tek bir pestisite maruz kalan canlılarınkine göre önemli düzeyde inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Akut uygulamada 72. saatte pestisitlerin kombine etkisine maruz kalan canlıların AChE aktivitesi yüksek seviyesine ulaşmıştır. Subakut uygulamada ise kombine etkiye maruz kalan canlılardaki enzim aktivitesi diğer gruplardaki AChE aktivitesine göre önemli düzeyde yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre akut uygulama döneminde atrazin ve thiamethoxamın kombine etkisine maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesinin LC₅₀/100'lük atrazine ve thiamethoxama maruz kalan canlılardaki AChE aktivitesine göre inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Uygulamanın subakut döneminde kombine etkiye maruz kalan canlılardaki AChE enzim aktivitesi tek kullanılan pestisitlere maruz kalan canlılardaki aktiviteye göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Xing ve arkadaşları (2010) 40 gün maruziyet sonunda atrazin ve klorpirifosun ayrı ve kombinasyon halinde sazanların beyin ve kas dokularında oluşturdukları AChE enzim cevaplarını incelemişlerdir. Yapılan çalışmada her iki uygulamada da enzim aktivitesinin doz artışına bağlı olarak inhibe olduğu saptanmıştır. Jin-Clark ve arkadaşlarının (2010) yaptıkları çalışmada ise iki herbisit (atrazin ve siyanazin) 1, 10, 100 ve 1.000 mg/L konsantrasyonlarına ve organoklorlu insektisit klorpirifosun 0.25 mg/L'lik konsantrasyonuna ikili kombine olarak maruz bırakılan ve bir sucül Diptera türü olan *Chironomus tentans*'ın AChE enzimi üzerine etkisini incelemişlerdir. 48 saat sonunda enzim cevapları incelendiğinde; bizim yaptığımız çalışmaya benzer bir şekilde pestisit karışımına maruz kalan gruptaki canlılarda AChE enzimi inhibe olurken, atrazinin ve klorpirifosun tek kullanıldığı gruptaki canlılarda inhibisyon gözlenmemiştir. Bu durum pestisitlerin ayrı kullanımının *Chironomus tentans* için

nörotoksik etkilerinin olmadığını göstermiştir. Kloropirifos organofosfatlı bir insektisittir ve genelde OP pestisitler için AChE enziminin ilk hedef olması beklenmektedir. Fakat OP insektisitler sitokrom P450 enzimi tarafından sağlanan oksidatif aktivasyonla, okson analoglarına dönüştürülmeleri gerekmektedir. Ancak bu şekilde AChE enzim inhibisyonu için daha etkin olabilmektedirler. Buradan yola çıkarak atrazinin sitokrom P450 enzimini indükleyerek kloropirifosun kloropirifos-oksona dönüştürüldüğü ve bu şekilde AChE enziminin kombine etkiye maruz kalan canlılarda inhibe olurken atrazine maruz kalan canlılarda neden inhibe olmadığı açıklanabilir (Jin-Clark 2010).

Canlılar bu ve bunun gibi pekçok mekanizmayı birlikte kullanarak ksenobiyotikler için cevap oluşturmaktadır. Yaptığımız çalışmada bu mekanizmaların bir kısmını kullanarak atrazin, endosulfan, indoxacarb ve thiamethoxamın ayrı ve kombine etkilerinin pestisitler için hedef olmayan sucul bir canlı olan *Gammarus kichneffensis* ve dolayısı ile çevre üzerine etkileri incelenmeye çalışılmıştır.

Çalışmanın diğer bir basamağını atrazinin, endosulfan, indoxacarb ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'lük konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan *Gammarus kichneffensis*'lerde yapılan kalıntı analizi oluşturmaktadır (Çizelge 4.12.).

Bu çalışma kapsamında örneklerinde pestisit kalıntı analizi için GC cihazı kullanılmıştır. Yapılan bir çok derleme ve araştırma sucul organizmalarda pestisit kalıntı analizi için GC'nin önemini vurgulamıştır (Arts ve ark. 1995, Viana ve ark. 1996, Simon ve ark. 1998). Metabolomik bir hücrede, dokuda veya biyolojik sıvılarda bulunan tüm metabolitler GC-MS'de yüksek verimli teknolojilerle kısa sürede, ucuz ve doğru ayrılarak, tanımlanabilir ve ölçülebilir (Özkara 2008).

Yaptığımız çalışmada atrazinin indoxacarb ve thiamethoxamın LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'lük konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarada kalıntı analizi sonuçları incelendiğinde canlılarda tespit edilen atrazin miktarının zamanla azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.12.).

Atrazin bir herbisittir ve tarımsal savaşımında çok yaygın olarak kullanılan orta derecede kalıcı bir herbisittir (Başaran 2010). Bu nedenle incelenen örneklerde atrazin kalıntısı belirlenebilmiştir. Atrazin sucul organizmalarda olduğu gibi toprakta da orta

derecede kalıcılık özelliği taşımaktadır. 7 ve 14 gün boyunca atrazinin LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonlarına maruz kalan canlılarda gerçekleştirilen kalıntı analizinde pestisit miktarının zaman bağılı olarak düştüğü gözlenmiştir.

Endosulfan uygulanan canlı örneklerinde yapılan pestisit kalıntı analizlerinde dedeksiyon limitinin üzerinde pestisit kalıntısı belirlenmemiştir. Bunun durumun deneylerde pestisitlerin LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonları gibi subletal konsantrasyonlar kullanılmış olmasından kaynaklanabileceğini sonucuna varılabilir. Ancak bu çok düşük konsantrasyonlarda bile dedeksiyon limitinin altında pestisit kalıntısının belirlenmesi bu canlıların birer biyoindikatör organizma olduğu gerçeğini bir kez daha göstermektedir. Yine kullanılan bu pestisit canlı organizmalar üzerinde kalıntı bırakabilirliği ve olumsuz etkiler ortaya çıkarabileceği (enzim değişimleri ile) bu çalışma kapsamında bir kez daha ortaya koyulmuştur.

Indoxacarb canlıların sinir hücrelerindeki sodyum kanallarını kapatarak onların hareket kabiliyetlerinin durmasına sebep olur. Bu etki şekli önemlidir. Çünkü bilinen diğer bir çok insektisit bu etki mekanizması ile çalışmaz. Indoxacarb 24-60 saat sonra bile etkili olup kalıntıları belirlenebilir (Wing 2000). Yaptığımız çalışmada indoxacarbın LC₅₀/100'lük ve LC₅₀/10'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda yapılan kalıntı analizi sonucunda konsantrasyon artışına paralel olarak indoxacarb kalıntı miktarının da oldukça önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.12.). Beketov ve Liess, 2008 yılında yaptıkları çalışmada farklı pestisitlerin (thiacloprid, imidacloprid, acetamiprid, iprodione, fenvalerate, ve indoxacarb) *Simulium latigonium* larvaları ve *Gammarus pulex* üzerine etkilerini incelemişlerdir. Indoxacarbın *Gammarus pulex* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 2520 µg/L olarak tespit etmişler ve indoxacarbın subletal konsantrasyonuna 4 saat maruz kalan canlılarda indoxacarb kalıntı miktarının LC₅₀ değerine göre önemli düzeyde yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bu sonuç yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz bulguları desteklemektedir.

Yaptığımız çalışmada farklı konsantrasyonlarda thiamethoxam maruz kalan *Gammarus kichneffensis*'de oluşan kalıntı miktarları belirlenmiştir. Thiamethoxam neonikotinoid sınıfı insektisittir ve sistemiktir. Sistemik olması bu pestisit etki spektrumunu ve kalıntı bırakabilirliğini arttırabilmektedir (Gökbayrak 2006). Beketov ve Liess 2008 yılında yaptıkları çalışmada thiamethoxam gibi neonikotinoid bir pestisit olan imidacloprid ve thiaclopridin 4 saatlik maruziyet sonundaki kalıntı miktarlarını

incelemiş ve bu iki pestisit için farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Imidacloprid kalıntı miktarı LC_{50} değerine oranla önemli düzeyde yüksek iken thiaclopridin kalıntı analizinde benzer bir sonuç gözlenmemiştir. Yaptığımız çalışmada thiamethoxamın $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyonuna maruz kalan canlılarda tespit edilen kalıntı miktarının zamanla arttığı gözlenmiştir fakat bu artış indoxacarb uygulamasındaki kadar yüksek değildir (Çizelge 4.12.).

Yaptığımız çalışmada atrazinin $LC_{50}/100$ 'lük ve $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda kalıntı analizi ve enzim aktivite sonuçları karşılaştırıldığında; $LC_{50}/10$ 'luk yüksek konsantrasyona maruz kalan canlılarda daha belirgin bir korelasyon gözlenmiştir (Çizelge 4.12.). Yüksek doza maruz kalan canlılarda zamana bağlı olarak atrazin kalıntı miktarı azalmış ve buna bağlı olarak GST, CAT, SOD ve GR aktivitesinin düştüğü gözlenmiştir. Fakat AChE önemli bir değişiklik olmamıştır. GST, CAT, SOD ve GR antioksidan sistem içerisinde önemli enzimlerdir ve canlıların maruz kaldığı pestisit miktarı zamanla azaldığı için oluşan enzim aktivitesinde de bir düşüş olduğu düşünülebilir.

Endosulfanın $LC_{50}/100$ 'lük ve $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda analiz sonucunda kalıntıya rastlanmamıştır (Çizelge 4.12.). Organoklorlu bir pestisit olarak endosulfanın LC_{50} değerinin $\mu\text{g/L}$ düzeyinde olmasından dolayı kalıntı tespit aralığının oldukça altında olduğu düşünülmektedir.

Indoxacarbın $LC_{50}/100$ 'lük ve $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda kalıntı analizi ve enzim aktivite sonuçları karşılaştırıldığında (Çizelge 4.12.); özellikle $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyonuna maruz kalan canlılarda zaman bağlı olarak kalıntı miktarının önemli düzeyde arttığı gözlenmiştir. GST, SOD ve GR aktivitelerinde ise $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyona maruz kalan canlılarda enzim aktivitelerinin inhibe olduğu gözlenmiştir. AChE aktivitesinde ise zamana bağlı önemli bir değişiklik olmamıştır. Indoxacarbın zaman bağlı kalıntı miktarının bu denli yüksek olmasının antioksidan ve detoksifikasyon mekanizması üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu düşünülebilir.

Yaptığımız çalışmada thiamethoxamın $LC_{50}/100$ 'lük ve $LC_{50}/10$ 'luk konsantrasyonuna 7 ve 14 gün boyunca maruz kalan canlılarda kalıntı analizi ve enzim aktivite sonuçları karşılaştırıldığında (Çizelge 4.12.); özellikle $LC_{50}/10$ 'luk

konsantrasyonuna maruz kalan canlılarda zamana bağlı olarak kalıntı miktarında önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Enzim aktivitelerinde de benzer bir sonuç elde edilmiştir.

Sonuç olarak, yaptığımız çalışmada atrazin, indoxacarb ve thiamethoxamın *Gammarus kischineffensis* için 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin pratik olarak toksik olmadığı tespit edilmiştir. Buna rağmen bu pestisitlerin subletal konsantrasyonlarının, tek ve kombine kullanımlarının bile ksenobiyotikler için biyobelirteç olan antioksidan enzimlerin (CAT, GST, SOD ve GR) seviyelerinde ve AChE enziminde değişikliğe yol açtığı tespit edilmiştir. Ayrıca kullanılan pestisitlerden indoxacarb ve thiamethoxamın yeni nesil pestisitler olarak *Gammarus kischineffensis* gibi hedef olmayan organizmalar için daha az toksik olduğu düşünülmektedir. Fakat yaptığımız çalışmada bu iki pestisit atrazin ve endosulfan kadar toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Buradan yola çıkarak çevrede bulunan bir ksenobiyotiğin daha az toksik olduğu ileri sürülemeyeceği gibi hedef olmayan pek çok canlı üzerindeki toksik etkisinin belirlenmesinin de zorunlu olduğu sonucuna varılabilir. Özellikle tarımda verimi artırmak ve kaliteli ürünler elde etmek için kullanılan pestisitler diğer ksenobiyotiklerden farklı olarak canlıları (hem hedef hem de hedef olmayan organizmaları) öldürmek için özel olarak tasarlanmış ve istenmeyen canlıları yok etmek amacı ile kullanılan kimyasallar olması nedeniyle önemli düzeyde çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Pestisit kullanımındaki riskleri gösterebilmek ve bu konudaki bilinci arttırmak amacıyla bu ve benzeri çalışmalar yol gösterici olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abel, P.D. 1996. Water pollution, Second Edition. Taylor & Francis Ltd., 1-2, New Fetter Lane, London.
- Adam, O., Badot, P.M., Degiorgi, F., Crini, G. 2009. Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *Gammarus pulex* (L.). *Ecotox. Environ. Safe.*, 72; 441–449.
- Afonso, V., Champy, R., Mitrovic, D., Collin, P., Lomri, A. 2007. Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases. *Joint Bone Spine*. 74: 324-329
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ASTDR). 2000. Toxicological Profile for Endosulfan, Atlanta, GA.
- Ahmad, M., Arif, M.I., Ahmad, Z. 2003. Susceptibility of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) to newchemistries in Pakistan. *Crop Prot.*, 22: 539–544.
- Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yayınları: 38, Sağlık dizisi:5, Konya.
- American Public Health Association (APHA). 1998. Standard methods for the Examination of water and wastewater, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation, 20th Edition., USA
- Anderson, P.D., D'Apollonia S. 1982. Aquatic animals. Editör; G.C. Butler, Principles of ecotoxicology, SCOPE 12 John Wiley&Sons, 187, New York.
- Antunes-Kenyon S.E., Kennedy G. 2001. Thiamethoxam: a new ingredient review for the massachusetts pesticide board subcommittee, Massachusetts Pesticide Bureau, Department of Food and Agriculture, 37 Massachusetts, USA
- Apel, K., Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 55: 373–399.
- Arts, M.T., Headley J.V., Peru K.M. 1996. Persistence of Herbicide residues in *Gammarus Lacustris* (Crustacea: Amphipoda) in prairie wetlands. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15; 481–488.
- Atasoy, D. 2007 Harran toprak serisinde endosulfanın adsorpsiyon ve desorpsiyonu. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Urfa. 2.

Aydın, G.H. 2004 Piretroid grubundan iki insektisitinin *Xenopus laevis*'de toksik etkileri üzerine bir çalışma. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya. 10.

Badouard, C., Douki, T., Faure, P., Halimi, S., Cadet, J., Favier, A., Ravanat, J.L. 2005. DNA Lesions as Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress: A Preliminary Evaluation. Edidör; T. Grune Free Radicals and Diseases: Gene Expression, Cellular Metabolism and Pathophysiology, 1, NATO Public Diplomacy Division, IOS Press, Amsterdam.

Ballesteros, M.L., Wunderlin, D.A., Bistoni, M.A. 2009. Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotox. Environ. Safe.*, 72: 199–205

Barata, C., Varo, I., Navarro, J.C., Arun, S., Porte C. 2005. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comp Biochem Phys C*, 140; 175–186.

Barbee, G.C. Stout M.J. 2009. Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice–crayfish crop rotations. *Pest Manag Sci.*, 65: 1250-1256

Banni, M., Jebali, J., Daubeze, M., Clerandau, C., Guerbej, H., Narbonne, J. F., Boussetta, H. 2005. Monitoring pollution in Tunisian coasts: application of a classification scale based on biochemical markers. *Biomarkers*, 10: 105-116.

Başaran, MS., 2010. Herbisitlerin Toprakta Parçalanması. *Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 2: 54-61

Bekdeşer, B. 2012. Biyolojik örneklerde reaktif oksijen türleri süpürme etkinliği ölçümü için spektrofotometrik yöntemler geliştirilmesi. Doktora Tezi, 8-9.

Beketov, M., Liess, M. 2008. Potential of 11 Pesticides to Initiate Downstream Drift of Stream Macroinvertebrates. *Arch Environ Contam Toxicol*, 55, 247-253.

Beliaeff B., Burgeot T. 2002. Integrated biomarker response: a useful tool for ecological risk assessment. *Environ. Toxicol. Chem.*, 21: 1316–1322.

Beneteau, A.B., Carvalho S.M., Bruneta, J.L., Carvalho, G.A., Bulete A., Giroud B., Belzunces, L.P. 2012. Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: Application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotox. Environ. Safe*, 82; 22-31.

Berg, D.S. 1997. Photodegradation of radiolabeled DPX-JW062 (a racemic mixture of DPXKN128 and IN-KN127) on soil under simulated sunlight. DuPont Report No. AMR 2818-93. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Bisson, M., Hontela, A. 2002. Cytotoxic and endocrine-disrupting potential of atrazine, diazinon, endosulfan, and mancozeb in adrenocortical steroidogenic cells of Rainbow Trout Exposed in Vitro. *Toxicol. Appl. Pharm.*, 180; 110–117.

Bradford, M.M.1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 7; 248-54.

Borazan, G.Ö. 2004, Marmara ve Karadeniz bölgesi yüzey balıkları karaciğerinde vitamin a ile süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzim düzeyleri, Doktora Tezi Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Brooks, G.T. 1974. Chlorinated insecticides. Editör; G. Zweig, Technology and Application Vol.I. CRC Press, Inc, USA.

Brugger, K.E. 1997. DPX-MP062: Prospective tier I ecological effects assessment for non-target organisms. DuPont Report No. AMR 4782-97. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Campbell, S., Chen, L., Yu, J., Li., Q.X. 2005. Adsorption and analysis of the insecticides thiamethoxam and indoxacarb in Hawaiian soils. *J. Agric. Food. Chem.*, 53; 5373-5376.

Carson, R. 2004. Silent Spring, Houghton Mifflin Company, Boston.

Cengiz, E. I. 1997. Thiodan'ın *Gambusia affinis* ve *Gammarus pulex* üzerindeki toksik etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Diyarbakır.

Cengiz, E.I., Ünlü, E. 1999. The effect of different concentrations of thiodan on the mortality rates of *Gambusia affinis* and *Gammarus pulex*, *Biochemical Archives*, 15; 251-254.

Chelikani, P., Fita, I., Loewen, P.C. 2004. Diversity of structures and properties among catalases. *Cell Mol.Life Sci*, 61: 192-208.

Christopher, S.V., Bird, K.T. 1992. The effects of herbicides on development of *Myriophyllum spicatum* L. cultured in vitro. *J. Environ. Qual*, 21; 203-207.

Cobranchi, D.P., Schmuckler, M.E. 1997. Vapor pressure of DPX-KN128 and calculation of Henry slaw constant. DuPont Report No. AMR 4169-96. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Colborn, T., vom Saal, F.S., Soto, A.M. 1993. Developmental effects of endocrine-disrupting chemicals in wildlife and humans. *Environ Health Perspect*, 101: 378–384.

Cold, A., Forbes, V.E. 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquatic Toxicology*, 67; 287–299.

Correia, A.D., Costa, M.H., Luisb, O.J., Livingstone, D.R. 2003. Age-related changes in antioxidant enzyme activities, fatty acid composition and lipid peroxidation in whole body *Gammarus locusta* (Crustacea: Amphipoda), *J. Exp. Mar. Biol. and Ecol.*, 289: 83-101

Costa, C., Silvani, V., Melchini, A., Catani, S., Heffron, J.J., Trovati, A., De Pasquale, R. 2009. Genotoxicity of imidacloprid in relation to metabolic activation and composition of the commercial product. *Mutat. Res.*, 672: 40–44

Cox, C. 2001. Insecticide factsheet: imidacloprid. northwest coalition for alternatives to pesticides. *J Pest Reform*, 21:15–21

Cribb, A.E., Leeder, J.S., Spielberg, S.P. 1989. Use of a microplate reader in an assay of glutathione reductase using 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid). *Anal. Biochem.*, 183: 195-196.

Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 3(4): 92-95

Davies, P.E., Cook, L.S.J., Goenarso, D. 1994. Sublethal responses to pesticides of several species of australian freshwater fish and Crustaceans and rainbow trout. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13: 1341-1354.

Den Besten P.J. 1998. Concepts for the implementation of biomarkers in environmental monitoring. *Mar. Environ. Res.*, 46: 253-256

Devi, V. 2007. Studies on the impact of indoxacarb (Avaunt) A new generation insecticide on the freshwater murrel *Channa Punctatus* (Bloch). PhD Thesis, Acharya Nagarjuna University, Nagarjunnagar, India.25.

Di Giulio, R. T., Benson, W. H., Sanders, B. M., and Van Veld, P. A. (1995). Biochemical mechanisms of contaminant metabolism, adaptation, and toxicity. In *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, 2nd ed. (G. M. Rand, Ed.), pp.

523–561. Taylor and Francis, Bristol, PA.

Dondero, F., Negri, A., Boatt, L., Marsano, F., Mignone, F., Viarengo, A. 2010. Transcriptomic and proteomic effects of a neonicotinoid insecticide mixture in marine mussel (*Mytilus galloprovincialis*, Lam). *Sci. Total Environ.*, 408: 3775–3786.

Donner, E., Eriksson, E., Holten-Lützhøft, H.C., Scholes, L., Revitt, M., Ledin A. 2010. Identifying, and classifying the sources and uses of xenobiotics in urban environments. Editörler; Fatta-Kassinos, D., Bester, K., Kümmerer, K. Xenobiotic in the urban water cycle mass flows, environmental processes, mitigation and treatment strategies. Springer, 33, New York.

Dorough, H.W., Huhtanen, K., Marshall, T.C., Bryant, H.E. 1978. Fate of endosulfan in rats and toxicological considerations of apolar metabolites, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 8: 241–252.

Dortsa, J., Silvestrea, F., Thi Tua, H., T., Anne-Eric, Phuongb, T.N., Kestemonta, P. 2009. Oxidative stress, protein carbonylation and heat shock proteins in the black tiger shrimp, *Penaeus monodon*, following exposure to endosulfan and deltamethrin. *Environ. Toxicol. Phar.*, 28: 302-310.

DURMUŞOĞLU, E., TİRYAKİ, O., CANHİLAL, R. 2013. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları Erişim: [http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/52cf38361a20908_ek.pdf] Erişim tarihi: 11.02.2013

Dutta, H.M., Arends, D.A. 2003. Effects of endosulfan on brain acetylcholinesterase activity in juvenile bluegill sunfish. *Environ. Res.*, 91: 157–162.

Eaton, R.A., Hale, M.D.C. 1993. *Wood: Decay, pest and protection*, Chapman and Hall, London 546

Edwards, W.M., Shipitalo, M.J., Owens, L.B., Dick, W.A. 1993. Factors affecting preferential flow of water and atrazine through earthworm burrows under continuous non-till corn. *J Environ. Qual.*, 22: 453-457.

Egaas, E., Skaare, J.U., Swendsen, N.O., Sandvik, M., Falls, J.G., Dauterman, W.C., Collier, T.K., Netland, J. 1993. A comparative study of effects of atrazine on xenobiotic metabolizing enzymes in fish and insect, and of the in vitro phase II atrazine metabolism in some fish, insects, mammals and one plant species. *Comp. Biochem. Physiol*, 160C (1): 141–149.

Ellman, G.L. 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetyl cholinesterase activity. *Biochemistry*, 7: 88-95.

European Food Safety Authority (EFSA). 2005. Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain on a request from the commission related to endosulfan as undesirable substance in animal feed. *EFSA J.*, 234: 1-29.

Fernández-Alba, A.R., Hernando, L., Díaz, G., Chisti Y. 2002. Comparative evaluation of the effects of pesticides to acute toxicity bioassays. *Anal Chim Acta*, 451: 195–202.

Ferraro, P., McEuen, S.F. 1996. Hydrolysis of DPX-JW062 (a racemic mixture of DPXKN128 and DPX-KN127) in buffer solutions of pH 5, 7, and 9. DuPont Report No. AMR 2789-93. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Finney, D. J. 1952. Probit analysis, Cambridge University Press., Cambridge, England.

Ford, K.A., Casida, J.E. 2006. Unique and common metabolites of thiamethoxam, clothianidin, and dinotefuran in mice. *Chem. Res. Toxicol*, 19: 1549-1556.

Frank, R., Sirons, G.J. 1999. Atrazine: its use in corn production and its loss to stream waters in southern Ontario. *Sci. Total Environ.*, 12: 223-239.

Fulton, M.H., Key, P.B. 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ. Toxicol. Chem.*, 20: 37-45.

Galloway, T.S., Sanger, R.C., Smith, K.L., Fillmann, G., Ford, T.E., Readman, J.W. Depledge, M.H. 2002. Rapid assessment of marine pollution using multiple biomarkers and chemical immunoassays. *Environ. Sci. Technol.*, 36: 2219-2226.

Gamil, W.E., Mariy, F.M., Youssef , L.A., Abdel Halim, S.M. 2011. Effect of indoxacarb on some biological and biochemical aspects of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. *Ann. Agr. Sci.*, 56:121–126.

Gestel, C.A.M., Brummelen, T.C. 1996. Incorporation of the biomarker concept in ecotoxicology calls for a redefinition of terms. *Ecotoxicology*, 5: 217-225.

Gish, Y.J., Helling, C.S. 1991. Majasevic M. Preferential movement of atrazine and cymazine under field conditions. *Trans. Am. Soc. Agric. Eng.*, 34; 1699-1705.

Glotfelty, D.E., Taylor, A.W., Esensee, A.R., Glenn, S. 1984. Atrazine and simazine movement to Wye River estuary. *J Environ. Qual.*, 13, 115-121.

Gökbayrak, Z. 2006. Bağcılığın Belalı Zararlısı: Filoksera. *Alatarım*, 5: 37-43

Grandjean, P., Brown, S.S., Reavey, P., Young, D.S. 1994. Biomarkers of chemical exposure: state of the art. *Clin. Chem*, 40: 1360–1362.

Graymore, M., Stagnitti, F., Allinson, G. 2001. Impacts of atrazine in aquatic ecosystems, 26; 483–495.

Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. 1997. Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Sayfa: 10. Ankara.

Güngördü, A. 2007. Karakaya baraj gölünün su kalitesinin ekotoksikolojik yaklaşımla değerlendirilmesi, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya. 21.

Güven, K. 1999. Biyokimyasal ve moleküler toksikoloji. Dicle Üniversitesi Basımevi, Sayfa:17. Diyarbakır.

Güven K., Özbay C., Ünlü E., Satar A. 1999. Acute lethal toxicity and accumulation of copper in *Gammarus pulex* (L.) (Amphipoda). **Tr. J. of Biology**, 23: 513–521.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochem. J.** 219: 1–14.

Halliwell, B. 1991. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. **Am J Med**, 91: 14-21.

Halliwell, B. 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. **Nutr. Rev.**, 52: 253-265.

Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. 1974. The first enzymatic step in mercapturic acid formation glutathione S-transferases. **J. Bio. Chem.**, 249: 7130-7139.

Hayes, J. D., Flanagan, J.U., Jowsey, I.R. 2005. Glutathione transferases. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol**, 45:51–88

Hetrick, J., Evans, W., Abel, S. 2005. Environmental fate and effects division risk assessment for proposed new uses of indoxacarb on grapes, fire ants, mole crickets, alfalfa, peanut, soybeans, brassica leafy vegetables (Group 5) and turnip greens, PC Code 067710. U.S. EPA, Washington, D.C.

Hoguet, J., Key, P.B. 2008. Baseline activities of four biomarkers in three life-stages of the amphipod, *Leptocheirus plumulosus*. **J. Environ. Sci. Heal. B**, 43: 465–470.

Huggett, R.S., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., Bergman, H.L. 1992. Biomarkers, Lewis Publishers, Boca Raton, FC.

Hussein, S.Y., El-Nasser, M.A, Ahmed, S.M. 1996. Comparative studies on the effects of herbicide atrazine on freshwater fish *Oreochromis niloticus* and *Chrysichthyes auratus* Assiut. **Egypt. Bull. Environ. Contam. Toxicol.**, 57: 503-510.

Jemec, A., Tišler, T., Drobne, D., Sepčić, K., Fournier, D., Trebše P. 2007. Comparative toxicity of imidacloprid, of its commercial liquid formulation and of diazinon to a non-target arthropod, the microcrustacean *Daphnia magna*. **Chemosphere**, 68:1408–1418

Jin-Clark, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., Fu, Z. 2010. Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). **Chemosphere**, 78:846–852

Jin-Clark, Y., Lydy, M.J., Zhu K.Y. 2002. Effects of atrazine and cyanazine on chlorpyrifos toxicity in *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). **Environ. Toxicol. Chem.**, 21: 598–603.

Jonsson, C.M., Toledo M.C.F. 1993. Acute toxicity of endosulfan to the fish *Hyphessobrycon bifasciatus* and *Brachydanio rerio*. **Arch. Environ. Con. Tox.**, 24: 151-155.

ARCH ENVIRON CON TOX

Kehrer, J.P. 2000. The Haber–Weiss reaction and mechanisms of toxicity. **Toxicology**, 149: 43–50.

Kılınç, K., Kılınç, A. 2002. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. **Hacettepe Tıp Dergisi**, 33(2): 110-118.

Kidd, H., James, D.R. 1991. The agrochemicals Handbook, Third Edition. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK.

Klaassen C.D., 2001. In: Casarett&Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, pp 763-774, 6th Ed.USA: McGraw-Hill., USA

Korkutan, S., Comelekoglu, U., Yalin, S., Berkoz, M., Eroglu, P., Sogut, F. 2008. Investigation of lipid peroxidation in isolated muscle tissue following in vitro application of indoxacarb. 2nd International Congress on Cell Membranes and Oxidative Stress: Focus on Calcium Signaling and TRP Channels Süleyman Demirel University Medical Faculty Department of Biophysics Isparta, Turkey, S, 41.

Kubiak, R. 1996. Investigation of the volatilization of [14C]-DPXJW062 from plant and soil surfaces under laboratory conditions, DuPont Report No. AMR 3711-95. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Kuhn, K., Streit, B. 1994. Detecting sublethal effects of organophosphates by measuring acetylcholinesterase activity in *Gammarus*. **B. Environ Contam. Tox.**, 53: 398-404.

Kumar, V.A., Janaiah, C., Venkateshwarlu, P. 2010. Effect of thiamethoxam alters serum biochemical parameters in *Channa punctatus* (Bloch). **Asian Journal of Bio Science**, 5:106-110

Kunz, P.Y., Kienle, C., Gerhardt, A. 2010. *Gammarus spp.* in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests. Editör; D.M. Whitacre, Reviews of environmental contamination and toxicology, 51. Volume 205, New York.

Kyle, D., Hoagland, R.W., Drenner, J., Smith, D., Cross, D.R. 1993. Freshwater Community Responses to Mixtures of Agricultural Pesticides: Synergistic Effects of Atrazine and Bifenthrin, *Environ. Toxicol. Chem.*, 12: 627–637.

Kwon, G.S., Kim, J.E., Kim, T.K., Sohn, H.Y., Koh, S.C., Shin, K.S., Kim, D.G. 2002. Klebsiella pneumoniae KE-1 degrades endosulfan without formation of toxic metabolite, endosulfan sulfate. *FEMS Microbiology Letters*, 215: 255-259.

Langston, W.J., Chesman, B.S., Burt, G.R. 2007. Review of biomarkers, bioassays and their potential use in monitoring the Fal and Helford SAC. Project Report. Marine Biological Association, Plymouth, UK.

Leight, A.K. 1999. Van Dolah R.F. Acute toxicity of the insecticides endosulfan, chlorpyrifos, and malathion to the epibenthic estuarine amphipod *Gammarus palustris* (bousfield). *Environ. Toxicol. Chem. Article*, 18; 958–964.

Lenoir, J.S., McConnel, L.L., Fellers, G.M., Cahill, T.M., Seiber, J.N. 1999. Summertime transport of current-use pesticides from California's central valley to the Sierra Nevada mountain range, USA. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 2715–2722.

Lentz, N. 2002. Photodegradation of 14C-DPX-MP062 in pH 5 buffer by simulated sunlight. DuPont-9801. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Li, Y., Wei, G., Chen, J. 2004. Glutathione: a review on biotechnological production. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 66: 233–242

Liu, J., Hinkhouse, M.M., Sun, W., Weydert, C.J., Ritchie, J.M., Oberley, L.W., Cullen, J.J. 2004. Redox regulation of pancreatic cancer cell growth: role of glutathione peroxidase in the suppression of the malignant phenotype. *Hum. Gene Ther.*, 15: 239–250.

Lukancic, S., Zibrat, U., Mezek, T., Jerebic, A., Simcic, T., Brancelj, A. 2010. Effects of exposing two non-target Crustacean species, *Asellus aquaticus* L., and *Gammarus fossarum* Koch., to atrazine and imidacloprid. *Bull Environ Contam Toxicol*, 84: 85–90.

Luck, H. 1963. Catalase, Methods of Enzymatic Analysis, Sayfa; 885-888.

Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., Steinemann, A., Widmer, H. 2001. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest. Manag. Sci.*, 57: 906–913.

Maltby L. 1994. Stress, shredders and streams: using *Gammarus* energetics to assess water quality. Editör; D.W. Sutcliffe, Water quality and stress indicators in marine and

freshwater systems: linking levels of organisation freshwater biological association, Ambleside, UK.

Malev, O., Klobucar, R.S., Fabbretti, E., Trebse P. 2012. Comparative toxicity of imidacloprid and its transformation product 6-chloronicotinic acid to non-target aquatic organisms: Microalgae *Desmodesmus subspicatus* and amphipod *Gammarus fossarum*. ***Pestic. Biochem. Phys.***, 104(3): 178–186.

Maltby, L. 1994. Responses of *Gammarus pulex* (amphipoda, crustacea) to metalliferous effluents: Identification of toxic components and the importance of interpopulation variation. ***Environ. Pollut.***, 84(1): 45–52

Markert, B.A., Breure, A.M., Zechmeister, H.G. 2003. Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. Editörler; Markert, B.A., Breure, A.M., Zechmeister, H.G., *Bioindicators & Biomonitoring Principles, Concepts and Applications*, 15, Trace Metals and other Contaminants in the Environment No 6. London

Marvelli, I., Rotilio, G. 1984. Oxygen free radicals, and tumor cells, icosanoids and cancer Editörler; H. Thaler-Dao, A. Crastes de Panlet, R. Paoletti, Raven Press, New York, 1-10.

Meister, A. 1991. Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy. ***Pharmacol. Ther.***, 51: 155-194.

Moody, C.S., Hassan, H.M. 1984. Anaerobic biosynthesis of the manganese containing superoxide dismutase in *E.coli*. ***J. Biol. Chem***, 20: 12821-12825.

Moreno, I., Pichardo, S., Gomez-Amores, L., Mate, A., Vazquez, C.M., Camean, A.M. 2005. Antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in liver and kidney of rat sex posed to microcystin-LR administered intraperitoneally. ***Toxicol.***, 45: 395–402.

Mudaraddi, T.Y., Potadar, R. R., Kaliwal, B.B. 2012. Indoxacarb induces liver oxidative stress in Swiss Albino Mice. ***Eur. J Exp. Bio.***, 2: 180-186.

Naqvi, S.M., Hawkins, R., Naqvi., N.H. 1987. Mortality response and LC₅₀ values for juvenile and adult crayfish, *procamurus clarkia* exposed to thiodan (Insecticide), treflan, msma, oust (Herbicide) and cutrine-plus (Algicide). ***Environ. Pollution***, 48: 275-283.

Noctor, G., Gomez, L., Vanacker, H., Foyer, C.H. 2001. Interactions between biosynthesis, compartmentation and transport in the control of glutathione homeostasis and signalling. ***J. Exp. Bot.***, 53: 1283-1304.

Oliveira, I.M., Nunes, B.V.F., Barbosa, D.R., Pallares, A.M., Faro, L.R.F. 2010. Effects of the neonicotinoids thiametoxam and clothianidin on in vivo dopamine release in rat striatum. *Toxicol. Lett.*, 192: 294–297

Okado-Matsumoto, A., Fridovich, I. 2001. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu,Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem*, 27: 38388–38393.

Ongley, E.D. 1996. Control of water pollution from agriculture FAO Irrigation and Drainage, pp.55, Rome

Oruc, E.Ö., Üner, N. 2000. Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*, *Comparative Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 127: 291–296.

Oruç, E.O., Sevgiler, Y., Üner, N. 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.*, 137: 43–51

Özbey, E. 2009. Radyasyona dirençli *Deinococcus radiodurans* ile *Escherichia Coli*'de radyasyonun antioksidan sistem üzerine etkisinin araştırılması, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya. 37-38.

Özkara, H.A. 2008. Gelişen klinik biyokimya: metabolomik. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 39: 4-8.

Özmen, M., Sener, S., Mete, A., Küçükbaş, H. 1999. In vitro and In vi acetylcholinesterase-inhibiting effect of new classes of organophosphorus compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 241-246.

Paller, M.S., Patent, M.T. 1991. Hydrogen peroxide and ischemic renal injury: effect of catalase inhibition. *Free Radical Biol. Med*, 10: 29-34.

Palma, P., Palma, V.L., Fernandes, R.M., Soares, A.M.V.M., Barbosa, I.R. 2008. Acute toxicity of atrazine, endosulfan sulphate and chlorpyrifos to *Vibrio fischeri*, *Thamnocephalus platyurus* and *Daphnia magna* relative to their concentrations in surface waters from the alentejo region of portuga. *Bull Environ Contam Toxicol.*, 81: 485–489.

Pantani, C., Pannunzio, G., Cristofaro, M., Novelli, A.A., Salvatori, M. 1997. Comparative acute toxicity of some pesticides, metals, and surfactants to *Gammarus italicus* Goedm. and *Echinogammarus tibaldii* Pink. and stock (Crustacea: Amphipoda). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 59: 963-967.

Parlak, H., 2009. Ekotoksikoloji biliminin tanımı ve genel prensipleri. Editörler; H. Parlak, Ö.Ç. Arslan, M., Boyacıoğlu ve M.A. Karaaslan, Ekotoksikoloji. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları No:79, Sayfa: 65,-66; 83 Bornova, İzmir.

Pennington, P.L, De Lorenzo, M.E, Lawton, J.C., Srozier, E.D, Fulton, M.H., Scott G.I. 2004. Modular esturine mesocosm validation; ecotoxicological assessment of direct effect with the model compound endosulfan. *J.Experimen.Mar. Biol. Ecol.*, 298: 369-387

Rainbow P.S. 1995. Biomonitoring of heavy metal availability in the marine environment. *Mar. Pollut. Bull.*, 31: 183-192.

Rinderhagen M., Ritterhoff J., Zauke G.P. 2000. Crustaceans as bioindicators, biomonitoring of polluted water – reviews on actual topics. *Trans Tech Publications – Scitech Publications, Environmental Research Forum*, 9: 161-194.

Riviere, J.L., Devaux, A., Gonin, O., Monod, G. 1990. Effects of b-naphtoflavone and MCPA on liver and kidney drug-metabolizing enzymes from the carp, *Cyprinus carpio*. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 19, 276–284.

Roast, S.D., Widdows, J., Jones, M.B. 2000. Disruption of swimming in the hyperbenthic mysid *Neomysis integer* (Peracarida: Mysidacea) by the organophosphate pesticide chlorpyrifos. *Aquat. Toxicol.*, 47: 227-241.

Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., Reiter, R.J. 2004. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res.*, 36: 1–9.

Rodwell, V.W., 1993. Peptides. Editörler; R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes In Harper's Biochemistry 24., 33-40, No Appleton & Lange: USA

Ru, S., Wei, X., Jiang, M., Li Y. 2003 In vivo and in vitro inhibitions of red drum (*Sciaenops ocellatus*) brain acetylcholinesterase and liver carboxylesterase by monocrotophos at sublethal concentrations. *Water Air Soil Pollut.*, 149: 17–25.

Russell, M.H. 1997. Calculation of potential concentrations of DPX-MP062 in ground water and surface water. DuPont Report No. JW062/ENV2. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Salaberria, I., Hansen, B.H., Asensio, V., Olsvik, P.A., Andersen, R.A., Jenssen B.M. 2009. Effects of atrazine on hepatic metabolism and endocrine homeostasis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicol. Appl. Pharm.*, 234: 98–106.

Salvo, L.M., Sinhorini, I.L., Malucelli, B.E., Klemz, C., Sanchez, D.C.O., Nicaretta, L., Malucelli, M.I.C., Bacila, M., Assis, H.C.S. 2008. Effects of endosulfan sublethal concentrations on carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus, 1758): Morphometric, histologic, ultrastructural analyses and cholinesterase activity evaluation Braz. *J. Vet. Res. Anim. Sci., São Paulo*, 45: 87-94.

Santos, T.G., Martinez C.B.R. 2012. Atrazine promotes biochemical changes and DNA damage in a Neotropical fish species. *Chemosphere*, 89: 1118–1125.

Sandstrom, J., Carlsson, L., Marklund, S.L., Edlund, T. 1992. The heparin-binding domain of extracellular superoxide dismutase C and formation of variants with reduced heparin affinity. *J Biol Chem*, 267: 18205–18209.

Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol.*, 101: 7-12.

Schulz-Jander, D.A., Leimkuehler, W.M., Casida, J.E. 2002. Neonicotinoid insecticides: reduction and cleavage of imidacloprid nitroimine substituent by liver microsomal and cytosolic enzymes. *Chem. Res. Toxicol*, 15: 1158–1165.

Sies, H. 1997. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp Physiol.*, 82: 291-295

Simon, D., Helliwell, S., Robards, K. 1998. Analytical chemistry of chlorpyrifos and diuron in aquatic ecosystems. *Analytica Chimica Acta*, 360: 1-16.

Singles, S.K. 2004. Overview of the environmental fate of DPX-MP062 in soil and aquatic systems. DuPont-15311. E. I. du Pont de Nemours and Company, Wilmington, DE.

Shackelford R.E., Kaufmann W.K. 2000. Paules R.S., Oxidative Stress And Cell Cycle Checkpoint Function. *Free Radical Bio. Med.*, 28: 1387–1404.

Sohn, H.Y., Kwon, C.S., Kwon, G.S., J.B. Lee Kim, E. 2004 Induction of oxidative stress by endosulfan and protective effect of lipid-soluble antioxidants against endosulfan-induced oxidative damage. *Toxicol. Lett.*, 151: 357–365.

Solomon, K.R., Baker, D.B., Richards, R.P., Dixon, K.R., Klaine, S. J., La Point, T.W., Kendall, R.J., Weisskopf, C.P., Giddings, J.M., Giesy, J.P., Hall Jr., L.W., Williams, W.M. 1996. Ecological risk assessment of atrazine in north american surface waters. *Environ. Toxicol. Chem.*, 15: 31–76.

Shao, B., Zhu, L., Dong, M., Wang, J., Wang, J., Xie, H., Zhang, Q., Du, Z., Zhu, S. 2012. DNA damage and oxidative stress induced by endosulfan exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology*, 21:1533–1540.

Sornom, P., Felten, V., Medoc, V., Sroda, S., Rousselle, P., Beisel, J.N. 2010. Effect of gender on physiological and behavioural responses of *Gammarus roeseli* (Crustacea Amphipoda) to salinity and temperature. *Environ. Poll.*, 158: 1288-1295.

Song, M.Y., Stark, J.D., Brown, J.J. 1997. Comparative toxicity of four insecticides, including imidacloprid and tebufenozide to four aquatic arthropods. *Environ Toxicol Chem.*, 16: 2494–2500.

Stark, J.D., Banks J.E. 2001. "Selective pesticides": are they less hazardous to the environment. *BioScience*, 51: 980–982.

Sturtz, L.A., Diekert, K., Jensen, L.T., Lill, R., Culotta, V.C. 2001. A fraction of yeast Cu,Zn-superoxide dismutase and its metallochaperone, CCS, localize to the intermembrane space of mitochondria. A physiological role for SOD1 in guarding against mitochondrial oxidative damage. *J Biol Chem*, 276: 38084-38089.

Taylor, E.J., Maund, S.J., Pascoe, D. 1991. Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta:Diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: Amphipoda). *Arch Environ Contam Toxicol.*, 21(3):371-6.

Terradez, P.; Asensi, M.; Lasso de la Vega, M.C.; Puertes, I.R.; Vina, J.; Estrela, J.M. 1993. Depletion of tumour glutathione *in vivo* by buthionine sulphoximine: Modulation by the rate of cellular proliferation and inhibition of cancer growth. *Biochem. J.*, 292: 477-483.

Tierney, K., Sampson, J., Ross, P.S., Sekel, M., Kennedy, C. 2008. Salmon olfaction is impaired by an environmentally realistic pesticide mixture. *Environ. Sci. Technol.*, 42: 4996-5001.

Timofeyev, M.A., Shatilina, Z.M., Bedulina, D.S., Protopopova, M.V., Pavlichenko, V.V., Grabelnych, O.I., Kolesnichenko, A.V. 2008. Evaluation of biochemical responses in Paelearctic and Lake Baikal endemic amphipod species exposed to CdCl₂. *Ecotox. Environ. Safe.*, 70: 99–105.

Tišler, T., Jemec, A., Mozetič, B., Trebše, P. 2009. Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*,;76: 907–14.

Trevan, J.W. 1927. The error of determination of toxicity, *Proceedings of the Royal Society of London. Series B*, 76: 483-512.

Tsurubuchi, Y., Kono, Y. 2003. Modulation of sodium channels by the oxadiazine insecticide indoxacarb and its N-decarbomethoxylated metabolite in rat dorsal root ganglion neurons. *Pest. Manag. Sci.*, 59: 999-1006.

Townsend, D.M., Tew, K.D. 2003. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene*, 22: 7369-7375.

Um, J.H.; Kwon, J.K.; Kang, C.D.; Kim, M.J.; Ju, D.S.; Bae, J.H.; Kim, D.W.; Chung, B.S. 2004. Kim, S.H. Relationship between antiapoptotic molecules and metastatic potency and the involvement of DNA-dependent protein kinase in the chemosensitization of metastatic human cancer cells by epidermal growth factor receptor blockade. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 311: 1062-1070.

U.S. EPA, 2004. Indoxacarb; time-limited pesticide tolerance. *Fed. Regist.*, 69: 28832-28842. U.S. EPA, Washington, DC.

U.S. EPA, 2000. Pesticide fact sheet: Indoxacarb. U.S. EPA, Washington, DC.

U.S. EPA, 2013. Appendix I. Toxicity Categories and LOCs Erişim: [<http://www.epa.gov/espp/litstatus/effects/redleg-frog/naled/appendix-i.pdf>] Erişim tarihi: 12.02.2013

Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 13: 57-149.

Viana, E., Redondo, M.J., Font, G., Molto, J.C. 1996. Disks versus columns in the solid-phase extraction of pesticides from water. *J. Chromatography A*, 733: 267-274.

Vural, N. 1995. Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No: 73, Ankara.

Waring, C.P., Moore, A. 2004. The effect of atrazine on Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts in fresh water and after sea water transfer. *Aquat. Toxicol.*, 66: 94-104.

Weydert, C.J., Cullen J.J. 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. *Nature Protocols*, 5: 51-66.

Weber, J., Halsall, C.J., Muir, D., Teixeira, C., Small, J., Solomon, K., Hermanson, M., Hung H., Bidleman, T. 2010. Endosulfan, a global pesticide: A review of its fate in the environment and occurrence in the Arctic. *Sci. Total Environ.*, 408: 2966-2984

WHO (1984) The WHO recommended classification of pesticides by hazard. Guidelines to classification 1984-1985, Geneva, World Health Organization (Unpublished report VBC/84.2).

Who Guidelines for drinking-water quality. 1996. 2nd ed. Vol.2. Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva.

Wiegand, C., Pflugmacher, S., Giese, M., Frank, H., Steinberg, C. 2000. Uptake, toxicity, and effects on detoxication enzymes of atrazine and trifluoroacetate in embryos of zebrafish. *Ecotox. Environ Safe.*, 45: 122-131.

Wing, K.D., Schnee, M.E., Sacher, M., Connair, M. 1998. A novel oxadiazine insecticide is bioactivated in Lepidopteran larvae. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 37: 91-103.

Wing, K.D., Sacher, M.E, Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, L., Connair, M., Schnee, M. 2000. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection*, 19: 537-545.

Winston, G.W., Di Giulio, R.T. 1991. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquat. Toxicol.* 19: 137–161.

Xing, H., Wang, J., Li, J., Fan, Z., Wang, M., Xu, S. 2010. Effects of atrazine and chlorpyrifos on acetylcholinesterase and carboxylesterase in brain and muscle of common carp. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 30:26–30.

Xuereb, B., Lefevre, E., Garric, J., Geffard, O. 2009. Acetylcholinesterase activity in *Gammarus fossarum* (Crustacea Amphipoda): Linking AChE inhibition and behavioural alteration. *Aquat. Toxicol.*, 94: 114–122.

Zhang, J.F., Wang, X.R., Guo, H.Y., Wu, J.C., Xue, Y.O. 2004. Effects of water-soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defences of the goldfish *Carassius auratus*. *Ecotoxicol. Environ. Safe.*, 58:110–116.

Zhao, X., T., Ikeda, Yeh, J.Z. Narahashi, T. 2003. Voltage- dependent block of sodium channels in mammalian neurons by the oxadiazine insecticide indoxacarb and its metabolite DCJW, *NeuroToxicology*, 24: 83–96.

Zhao, X., Ikeda T., Salgado V.L., Yeh, J.Z., Narahashi, T. 2005. Block of two subtypes of sodium channels in cockroach neurons by indoxacarb insecticides. *NeuroToxicology*, 26: 455–465.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı : Özlem DEMİRCİ
Doğum tarihi ve yeri : 01.08.1978/ Ankara
Elektronik posta adresi : ozdem22@gmail.com

Eğitim Bilgileri

Eğitim derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Dicle Üniv./ Fen Bilimleri Enstitüsü	2013
Yüksek Lisans	İnönü Üniv./Fen Bilimleri Enstitüsü	2006
Lisans	İnönü Üniv. Fen Edebiyat Fak. Biyoloji Bölümü	2001

İş Deneyimi

Görev	Yer	Yıl
Araştırma Görevlisi	Dicle Üniversitesi	2006-

Yabancı Dil : İngilizce

Yayımlar

1. Demirci, Ö. & Asma D. 2012. Antioxidant responses in *Phanerochaete chrysosporium* exposed to Astrazone Red FBL textile dye, *Cell Biochem Funct*, 31: 86-90.

Bildiriler

1. Demirci, Ö. & Asma D., Beyaz Çürükçül Fungus *Phanerochaete chrysosporium* (ME446)'un Glutasyon Döngüsü Enzimleri Üzerine Astrazon Kırmızı FBL Tekstil Boyasının Etkisi, VI. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 2006, Diyarbakır
2. Güngördü, A., Demirci, Ö., Aydın, G. H., Endokrin Bozucu Kimyasallar, II. Disiplinlerarası Toksikoloji Kongresi, 2007, Mudanya- Bursa

3. Özdemir, S., Aydın, G. H., Demirci, Ö., Mitokondriyal Zehirler, VII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi, 2007, Malatya
4. The Effect of Astrazone Red FBL Textile Dyes on Catalase Enzyme of *Phanerochaete chrysosporium*, 34th FEBS Congress, 4-9.07.2009, Prague, Czech Republic.
5. Organoklorlu Bir İnsektisit Olan Endosulfan'ın *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937 (Crustacea: Amphipoda) Üzerindeki Akut Toksik Etkilerinin İncelenmesi POP İzleme: Çevre Ve Sağlık Çalıştayı 3-5 Kasım 2010, Antalya
6. The Acute Toxic Effects of Indoxacarb and Thiamethoxam On *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937 (Crustacea:Amphipoda), First International Biology Congress 24-26 September 2012, Bishkek-Kyrgyzstan.
7. The Acute Toxic Effects Of Endosulfan And Atrazine On *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937 (Crustacea:Amphipoda) First International Biology Congress 24-26 September 2012, Bishkek-Kyrgyzstan.
8. The Effect of Atrazine Antioxidant Enzymes of *Gammarus kischineffensis* Schellenberg, 1937, 8. Türk Toksikoloji Derneği Kongresi 15-18 Kasım 2012, Antalya-Türkiye

Proje Bilgileri

Projenin Adı	Destekleyen Kuruluş	Tarih
1. Beyaz Çürükçül Fungusların Antioksidatif Sistemi Üzerine Bazı Tekstil Boyalarının Etkisi	BAP	2010-2011
2. Çeşitli Pestisitlerin <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in Antioxidan Enzim Sistemi ve Bazı Biyobelirteçler Üzerine Etkisi	TÜBİTAK	2011-2012
3. Çeşitli Pestisitlerin <i>Gammarus kischineffensis</i> 'in Antioxidan Enzim Sistemi ve Bazı Biyobelirteçler Üzerine Etkis	DÜBAP	2012-2013