

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FLUVALİNATE'NİN SUB-LETHAL KONSANTRASYONLARININ LEPİSTES'İN
(*Poecilia reticulata* Peters, 1859); BAZI DOKULARINDA OKSİDATİF STRES VE
ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdurrahman KOÇ
DANIŞMAN: Dr. Öğr. Üyesi Necati ÖZOK

VAN-2019

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FLUVALİNATE'NİN SUB-LETHAL KONSANTRASYONLARININ LEPİSTES'İN
(*Poecilia reticulata* Peters, 1859); BAZI DOKULARINDA OKSİDATİF STRES VE
ANTİOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: Abdurrahman KOÇ

Bu çalışma YYÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı tarafından FYL-2018-7267 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

VAN-2019

KABUL VE ONAY SAYFASI

Biyoloji Anabilim Dalı'nda Dr. Öğretim Üyesi Necati Özok'un danışmanlığında, Abdurrahman Koç tarafından sunulan "Fluvalinate'nin sub-lethal konsantrasyonlarının *Lepistes*'in (*Poecilia reticulata* Peters, 1859); bazı dokularında Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri" isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince 29/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ

İmza:

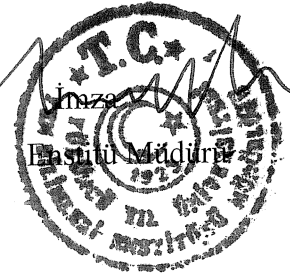
Üye: Doç. Dr. Fatih Çağlar ÇELİKEZEN

İmza:

Üye: Dr. Öğretim Üyesi Necati ÖZOK

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08.08/2019 tarih ve 2019/43-I sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Prof. Dr. Suat ŞENSOY
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



İmza

Abdurrahman Koç

ÖZET

FLUVALİNATE'NİN SUB-LETHAL KONSANTRASYONLARININ LEPİSTES'İN (*Poecilia reticulata* Peters, 1859); BAZI DOKULARINDA OKSİDATİF STRES VE ANTIOKSİDAN ENZİMLER ÜZERİNE ETKİLERİ

KOÇ, Abdurrahman
Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Dr.Öğr. Üyesi Necati ÖZOK
Ağustos 2019, 71 sayfa

Sentetik bir pretiroid olan fluvalinatenin subletal konsantrasyonlarının, dişi lepistes balıklarında (*Poecilia reticulata* Peters, 1859) antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Lepistes balıkları dört farklı zaman diliminde (0., 24., 48. ve 72. saatlerde) 96 saat boyunca fluvalinatenin subletal dozlarına [(96 h, LC₅₀:0,026 µg/L), (0.0033, 0.0065 ve 0.063 µg/L)] maruz bırakıldı. Deneme sonrasında balıklar karanfil yağı (%85-95 eugenol (4- ally-methoxyphenol-C₁₀H₁₂O₂), %5-15 isoeugenol ve methyleugenol) ile anestezi edildi. Stereo mikroskoplar yardımı ile dokular alındı. Fluvalinatenin oksidatif etkilerini belirlemek için karaciğer, kas ve solungaç dokularında Süper Oksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Katalaz (CAT) enzim aktiviteleri, Dokuda lipid peroksidasyon (MDA) düzeyleri spektrofotometrik yöntemlerle tespit edildi. Uygulanan subletal fluvalinate dozları antioksidan aktivitede (SOD, GSH-Px ve CAT enzim aktivitelerinde) kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşüşe neden olurken MDA düzeylerinde ise kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artışa neden oldu (p ≤ 0.05).

Bu çalışmada, fluvalinatenin *Poecilia reticulata* Peters,1859 üzerinde oksidatif strese sebep olduğu ve toksisitenin belirlenmesinde biyobelirteç olarak kullanılabileceği düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Antioksidan, Fluvalinate, Oksidatif stres, *Poecilia reticulata*, Sentetik piretiroid

ABSTRACT

EFFECTS OF FLUVALINATE SUB-LETHAL CONCENTRATION ON OXIDATIVE STRESS AND ANTIOXIDANT ENZYMES IN SOME TISSUES OF GUPPY (*Poecilia reticulata* Peters, 1859)

KOÇ, Abdurrahman
M.Sc. Thesis, Department of Biology
Supervisor: Asst. Prof. Dr. Necati ÖZOK
August 2019, 71 pages

The purpose of the study is to research effects of sublethal concentrations of Fluvalinate, which is a synthetic prethyroid, on antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation in female guppies (*Poecilia reticulata* Peters, 1859). Guppies were exposed to sublethal doses of Fluvalinate [(96 h, LC₅₀:0,026 µg/L), (0.0033, 0.0065 ve 0.063µg/L)] in four different timeframes (0, 24, 48 and 72 hours) during 96 hours. After the experiment, the fish were anesthetized with clove oil (%85-95 eugenol (4- ally-methoxyphenol-C₁₀H₁₂O₂), %5-15 isoeugenol ve methyleugenol). Tissues were taken with the help of stereo microscopes. To determine oxidative effects of Fluvalinate, Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GSH-Px), Catalase enzyme activities (CAT), levels of Malondialdehyde (MDA) on muscles and gill tissues were detected through spectrophotometric methods. Sublethal fluvalinate doses caused a significant decrease in antioxidant activity (SOD, GSH-Px and CAT enzyme activities) compared to the control group, MDA levels increased significantly compared to the control group ($p \leq 0.05$).

In this study, fluvalinatenin has oxidative stress on *Poecilia reticulata* Peters, 1859 and can be used as a biomarker in the determination of toxicity.

Keywords: Antioxidant, Fluvalinate, Guppy, Oksidative stress, Synthetic pyretroid



ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında, gösterdiği sabır ve anlayış ile çalışmanın geliştirilmesi aşamasında desteğini ve ilgisini esirgemeyen danışmanım Sayın Dr. Öğretim Üyesi Necati ÖZOK'a teşekkür ederim.

Bilgilerimin temellendirilmesinde katkı sağlayan başta Doç. Dr. Ahmet Regaib OĞUZ olmak üzere, yüksek lisans derslerini aldığım değerli hocalarıma, Deneysel çalışmalarında yanımda olan İsa Kıran'a, tez hazırlık sürecinde özverili destekleri ile bana yardımcı olan Rıdvan Yıldırım'a, hastahanedeki mesai arkadaşlarıma, tez çalışmamı destekleyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkür ederim.

Hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim sevgili aileme, zamanından çalmak zorunda kaldığım kızım Elif Naz ve eşim Evin'e şükranlarımı sunarım.

2019

Abdurrahman Koç



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Pestisitlerin Genel Özellikleri.....	2
1.2. Piretrum	4
1.3. Sentetik Piretroitler.....	4
1.4. Fluvalinate	8
1.4.1. Fluvalinate'ın çevresel etkileri	10
1.4.2. Fluvalinate'ın ekolojik etkileri	13
1.5. Serbest Radikaller.....	13
1.6. Radikallerin Oluşumu.....	14
1.6.1. Kovalent bağların homolitik kırılması.....	14
1.6.2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi	15
1.6.3. Normal bir moleküle elektron transferi	15
1.7. Oksidatif Stres	16
1.8. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)	16
1.8.1. Süperoksit radikali ($O_2\bullet^-$)	17
1.8.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)	17

	Sayfa
1.8.3. Hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$)	18
1.8.4. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)	18
1.8.5. Peroksil radikali ($\text{ROO}\bullet$).....	18
1.9. Reaktif Azot Türleri (RNS)	19
1.9.1. Nitrik oksit (NO')	19
1.10. ROS ve RNS'nin Kaynakları.....	20
1.10.1. Endojen kaynaklar	20
1.10.2. Ekzojen kaynaklar	21
1.11. Serbest Radikallerinin Etkileri	22
1.11.1. Karbohidratlara etkileri.....	22
1.11.2. Lipitlere etkileri	23
1.11.3. Proteinlere etkileri	24
1.11.4. DNA ve nükleik asitlere etkileri	25
1.12. Antioksidan Savunma Sistemleri	25
1.12.1. Eksojen antioksidanlar	28
1.12.2. Endojen antioksidanlar	28
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
3.1. Deney Hayvanı	35
3.1.1. Lepistes (<i>Poecilia reticulata</i> Peters, 1859).....	35
3.2. Deney Ortamı	37
3.3. Deneyde Kullanılan Kimyasal ve Diğer Materyaller	38
3.3.1. Deneyde kullanılan kimyasal.....	38
3.1.2. Deney akvaryumları.....	38

	Sayfa
3.1.3. Deneyde kullanılan cihazlar ve malzemeler	39
3.3.4. Deneyde kullanılan kimyasal ve anesteziik maddeler	39
3.4. Deneysel Dizayn ve Doku Örneklerinin Alınması	39
3.4.1. Deney hayvanlarının gruplandırılması	39
3.4.2. Doku örneklerinin alınması	40
3.5. Doku Süpernatantların Eldesi	41
3.6. Analizlerin Yapılması.....	42
3.6.1. Süperoksid dismutaz (SOD) enzim tayini	42
3.6.2. Katalaz (CAT) enzim tayini.....	43
3.6.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim tayini	45
3.6.3. Lipid peroksidasyon (MDA) tayini	47
4. BULGULAR	49
4.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)	49
4.2. Katalaz (CAT)	50
4.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	51
4.4. Malondialdehit (MDA).....	52
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	55
KAYNAKLAR.....	61
ÖZ GEÇMİŞ.....	71

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 1.1. Bazı sentetik piretroidlerin genel ve kimyasal adları.	7
Çizelge 1.2. Fluvalinate'ın genel özellikleri.....	9
Çizelge 1.3. Piretroid pestisitlerinin bazı memelilerdeki toksisiteleri.....	11
Çizelge 1.4. Başlıca piretroid pestisitlerin balıklar, kuşlar ve arıların doğal yaşam alanlarındaki toksisite oranları.....	12
Çizelge 1.5. Biyolojik moleküllerin başlıca yapısal atomlarının elektronik konfigürasyonları.....	14
Çizelge 1.6. Reaktif oksijen türleri.....	17
Çizelge 1.7. Oksijenden ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler.....	20
Çizelge 1.8. Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar.....	27
Çizelge 1.9. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri.....	29
Çizelge 3.1. 24 saatlik sürelerde akvaryum suları analiz sonuçları.....	38
Çizelge 3.2. SOD ayıraçları ve numunenin küvete pipetlenme oranları.....	43
Çizelge 3.3. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin hazırlanışı.....	44
Çizelge 3.4. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin eklenme oranları.....	44
Çizelge 3.5. CAT tampon ve örneklerinin pipetlenme oranları.....	45
Çizelge 3.6. GSH-Px ayıraçları ve numunenin küvete pipetlenme oranları.....	46
Çizelge 4.1. Grupların çeşitli dokularındaki SOD aktivite düzeyleri.....	49
Çizelge 4.2. Grupların çeşitli dokularındaki CAT aktivite düzeyleri.....	50
Çizelge 4.3. Grupların çeşitli dokularındaki GSH-Px aktivite düzeyleri.....	51
Çizelge 4.4. Grupların çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri.....	52



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Işığa dayanıklı piretroidlerden başlıcalarının yapısal formülleri.	6
Şekil 1.2. Glutasyon peroksidaz-glutasyon redüktaz şaftı.....	21
Şekil 1.3. Hücre zarının yapısı.	23
Şekil 3.1. Dişi Lepistes Balığı'nın genel görünümü.....	36
Şekil 3.2. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarları deney ünitesi.....	37
Şekil 3.3. Diseksiyon ünitesi ve stereo mikroskoplar.....	41
Şekil 4.1. Grupların çeşitli dokularındaki SOD aktivite düzeyleri.....	50
Şekil 4.2. Grupların çeşitli dokularındaki CAT aktivite düzeyleri.....	51
Şekil 4.3. Grupların çeşitli dokularındaki GSH-Px aktivite düzeyleri	52
Şekil 4.4. Grupların çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri	53



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
cm	Santimetre
cm³	Santimetreküp
dH	Alman sertliği
dk	dakika
Fe⁺²	2 değerlikli demir
Fe⁺³	3 değerlikli demir
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
log	Logaritma
mL	Mililitre
mM	Milimolar
mmol	Milimol
mPA	Megapaskal
nM	Nanomolarite
°C	Santigrat derece
ppm	Milyonda kısım
rpm	Devir/dakika
µg	Mikrogram
ΔA	Absorbans Değişimi

Kısaltmalar	Açıklama
BHT	Bütillenmiş Hidroksitoluen
CAT	Katalaz
dH₂O	Distile Su
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DPT	Devlet Planlama Teşkilatı
EIFAC	European Inland Fisheries Advisory Commission
EPA	Uluslararası Abd Çevre Koruma Ajansı
FA	Formaldehit
FAO	Food And Agriculture Organisation
FLV	Fluvalinate
G6PD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GSH	Redükte Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	Okside Glutasyon
GST	Glutasyon S Transferaz
H₂O	Su
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
KH₂PO₄	Potasyum Dihidrojen Fosfat
LC50	lethal konsntrasyon
MA	Molekül Ağırlığı
MDA	Malondialdehit
Na₂HPO₄	Disodyum Hidrojen Fosfat
NaCl	Sodyum Klorür
NADP	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH	İndirgenmiş Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaH₂PO₄	Sodyum Dihidrojen Fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
NO	Nitrik Oksit

Kısaltmalar**Açıklama**

NOS	Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻	Süperoksit Radikali
OD	Optik Dansite
OH[·]	Hidroksil Radikali
PAN	Pesticide Action Network
RNS	Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RUP	Restricted Use Products
SEM	Standart Eror Mean
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBA	Tribarbütik Asit
TCA	Trikloraasetik Asit
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
XO	Ksantin Oksidaz



1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artış hızı yoğun kentleşmeye, bu da ekilebilir tarım alanlarının gün geçtikçe azalmasına neden olmaktadır. Tarımsal ihtiyacı karşılamada; bitki gelişimini teşvik, birim alanda üretilen ürün miktarını, kalitesini ve çeşitliliğini arttırmak için en önemli uygulamalardan biri pestisitlerdir. Toksikoloji biliminin temelini oluşturan ve belirli bir yelpazedeki zararlıları hedef alarak yok etmek için kullanılan pestisitler, hedef olmayan ve zararsız olan birçok organizmayı da olumsuz etkilemektedir (Güven, 2005; Siemering ve David, 2005).

Pestisitler, belirli organizmalara özel olarak toksik olacak şekilde tasarlanmış kimyasallardır. Binlerce biyoaktif, toksik bileşik üretilir ve endüstriyel, tarımsal ve halk sağlığı uygulamaları için dünya çapında kullanılır. Sonuç olarak, insan popülasyonunun önemli bir kısmı bu kimyasallara maruz kalmaktadır. Pestisitler genelde hedef organizmalara tamamen spesifik olmadıkları için, insan dahil diğer canlı türlerini de tehlikeye düşürür (Aprea ve ark., 2002; Hayes ve ark., 2002). Aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu artan pestisit tüketimi çevre kirlenmesi ve insan sağlığı açısından da çeşitli sorunların ortaya çıkmasına yol açmaktadır (Delen, 2008). Doğal yaşam ve dengeli bir ekosistemin vazgeçilmezi olan su, metaller, pestisitler ve diğer kirleticilerin aşırı kullanımı ile kirlenmektedir (Glaser, 2006), çünkü kullanıldıkları hedef bölgelerden yağmur ve sellerle yıkanarak göl ve ırmaklara taşınmakta bu da gün geçtikçe akuatik sistemlerde birikmelerine neden olmaktadır (Dhawan ve Kaur, 1996; Gilliom, 2007). Pestisitlerin suya karışma ihtimalini etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Pestisitlerin sudaki çözünürlüğü, toprak, hava, iklim, su kaynaklarına uzaklık gibi çevresel faktörler, pestisit kullanımı sırasında uygulanan metodlar pestisitlerin suya karışma ihtimalini etkileyen faktörler arasında sayılabilir (Levine, 2007). Bunununla birlikte karasal alan, bahçe, park ve diğer yerlere uygulandığında bu kimyasalların büyük bir kısmı kalıntı bırakmaktadır. Benzer şekilde pestisitler yasal biçimde kentsel ve kentsel olmayan alanlara uygulandığında, yağmur suları ile pestisitlerin bir kısmı kanalizasyona karışarak dere ve nehir kıyılarına dökülmektedir (Glaser, 2006). Tarımda kullanılan pestisitlerin yüzey sularına bulaşması küresel bir sorun haline dönüşmektedir. Balıklarla ilgili nehir ve akarsularda yapılan çalışmaların %96'sında, yüzey su örnekleri ile ilgili

çalışmaların tamamında ve yer altı suları ile ilgili çalışmaların %33'ünde ise bir ya da daha fazla pestisit önemli miktarda tespit edilmiştir (Kumar ve ark., 2010). Pestisitlerin bir kısmı yer altı sularına da karışmaktadır. Az miktarda pestisit atmosferde buharlaşır ve sonra yağışlarla tekrar yeryüzüne döner. Uygulanan pestisitlerin % 85- 90'ı hedef canlılara ulaşmamaktadır (Kumar ve ark., 2010). Pestisit uygulamasının yapılmadığı kutuplardaki penguenlerde, ayıbalığı ve eskimolarda DDT'nin varlığının saptanması bazı tarım ilaçlarının dünyadaki sirkülasyonunun ne kadar güçlü olduğunu göstermesi bakımından önemlidir (Tok, 1997).

Dünya nüfusunun yaklaşık beşte birinin güvenli suya erişimi yoktur. Beşte ikisi ise su kaynaklarının tarım, sanayi ve evsel faaliyetlerin atıklarından çıkan çeşitli sentetik bileşiklerle kontamine olması nedeniyle, kabul edilemez sağlık koşulların sonuçlarına maruz kalmaktadır (He ve ark., 2011). Bu nedenle, tatlı su rezervlerindeki kimyasal kirliliğin dünyanın neredeyse tüm bölgelerinde insanlığın karşılaştığı en önemli ekolojik kaygılardan biri olduğu açıktır. Çünkü kirlilik nerede oluşursa oluşsun sonunda sucul sisteme ulaşmaktadır (Dutta ve Dalal, 2008).

Tarım sektörü, su kirliliğinin en yaygın kaynaklarından biridir. Yılda birkaç milyon ton pestisit uygulanmaktadır (Schwarzenbach ve ark., 2006). Özellikle kimyasal savaşta kullanılan bu yöntem öncelikli olarak toksikolojik bir indikatöre dönüşen balıkları etkileyip doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Dutta ve Dalal, 2008).

1.1. Pestisitlerin Genel Özellikleri

ABD Çevre Koruma Dairesi (U.S. Environmental Protection Agency, EPA) nin tanımlamasına göre, tarımsal üretimi sekteye uğratan haşereler, mantarlar, kemiriciler ve yabancı otlar gibi zararlılarla mücadele için kullanılmakta olan kimyasal ve biyolojik ajanlara pestisit adı verilmektedir (Klaassen, 2001). Zararlıları yok etmek için kullanılan pestisitler aynı zamanda hedef dışı canlılar için de tehlike arz etmektedir. Pestisitler dolaylı olarak kuşların ve memelilerin besin kaynaklarını yok ederken çeşitli yollarla

besin zincirinde birikmektedir (Hond ve ark, 2003). Pestisitlerin hedef dışı canlıları da etkilemesi, organizmaların doğal popülasyonlarında istem dışı düzensizliklere, varolan ekosistemde dengesizliğe, besin ağının farklılaşmasına ya da besin zincirinin kırılmasına yol açabilmektedir (Dökmeci, 1988). Tarımsal savaşımında bitkilerin zararlı mikroorganizmalar ve diğer bitkilerden korunması, tarımda sürekliliği sağlamak amacıyla bitkileri koruma amaçlı uygulanmaktadır. Bu mücadele ile ekonomik olarak kazanç amaçlanmaktadır. Hem insan hem çevre sağlığı göz önüne alınarak tarımsal mücadele için birçok yöntem denenmektedir. Pestisitler, yani tarım ilaçları, tarımsal mücadele yöntemlerinden sadece birisidir (Delen Nafiz ve Durmuşoğlu, 2005). Pestisitler, haşereler, otlar, mantarlar, kemiriciler gibi istenmeyen canlıları kontrol etmek için tüm çevresel alanlarda kullanılmaktadır. Çevreye uygulanan en zararlı kimyasallardan biridir. Pestisitlerin insan gereksinimleri için katkısı olsa da hedef dışı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri büyüktür (Kumar ve ark., 2010). Pestisitler tarım alanları kadar ev ve bahçelerde sivrisinek vb. vektörlere karşı da kullanılmaktadır (Matthews, 2006).

Pestisitler hedef canlılara göre gruplara ayrılmaktadır (Satoh ve Gupta, 1989).

- İnsektisitler (Organofosfat, Organoklorinler, Karbamatlar, vb.)
- Herbisitler (Paraquat, diquat, 2,4-diklorofenoksiasetik asit, vb.)
- Fungusitler (Dithiokarbamat, Captan, vb)
- Fumigantlar (Etilen dibromit, Metil bromit, Fosfin, vb)

Pestisitler çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler (Öztürk, 1990).

- Formülasyon şekillerine
- Kullanım tekniğine
- İlacın fiziki haline
- Kullanıldıkları zararlı grubuna
- Etki şekillerine
- Zararlının biyolojik dönemine

- Kontrol ettiği zararlının bulunduğu yer ve konukçu durumuna ve
- Bileşimindeki etkili madde grubuna göre.

Pestisit kalıntılarının etkisi ve sonuçları, bunların farklı iklimatik koşullardaki etkisini tahmin etmeyi güçleştiren birçok biyolojik, kimyasal, fiziksel faktörlere bağlıdır. Dünya genelinde, pestisit yararları ve zararları çok değişkendir. Ürüne, yıla, bölgeye ve diğer faktörlere göre çeşitlilik gösterir (Brooks ve Roberts, 1999).

Pestisit amaçlı kullanılan toksik maddelerin hedef organizma dışında çevreye, insan ve diğer organizmalara zarar verme riski kaçınılmaz olduğu için pestisitlerin toksisitesi ve kullanımı ile ilgili düzenlemeler geliştirilmiştir. Bununla birlikte pestisitlerin sebep olacağı risklerin değerlendirilmesi ve bunların uygun miktarda kullanımına karar vermek kolay değildir. Toksik materyalin riski, hem onun toksisitesi hem de hassas olduğu organizmaya olan etkisinin kesin olmamasıdır. Toksik madde etkisini laboratuvar koşullarında ölçmek kolaydır, ancak organizmalara olan etkisine karar vermek zordur (Siemering ve ark., 2005).

1.2. Piretrum

En eski pestisitlerden birisi olan piretrum *Chrysanthemum cinerarifolium*'dan, elde edilmektedir. Bunlar kullanıldıkları zararlılara karşı çok spesifikdir. İnsanlara çok daha az toksiktir. Günümüzde piretrum diğer pestisitlerle kombine olarak kullanılmaktadır. Piretrum böceklere karşı etkili olma özelliğini sürdürmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Piretrum balık ve iribaş larvalara karşı yüksek oranda toksiktir. Larvaların derilerine, dokunma reseptörlerine ve denge organlarına etki etmektedir (Tomlin, 1999).

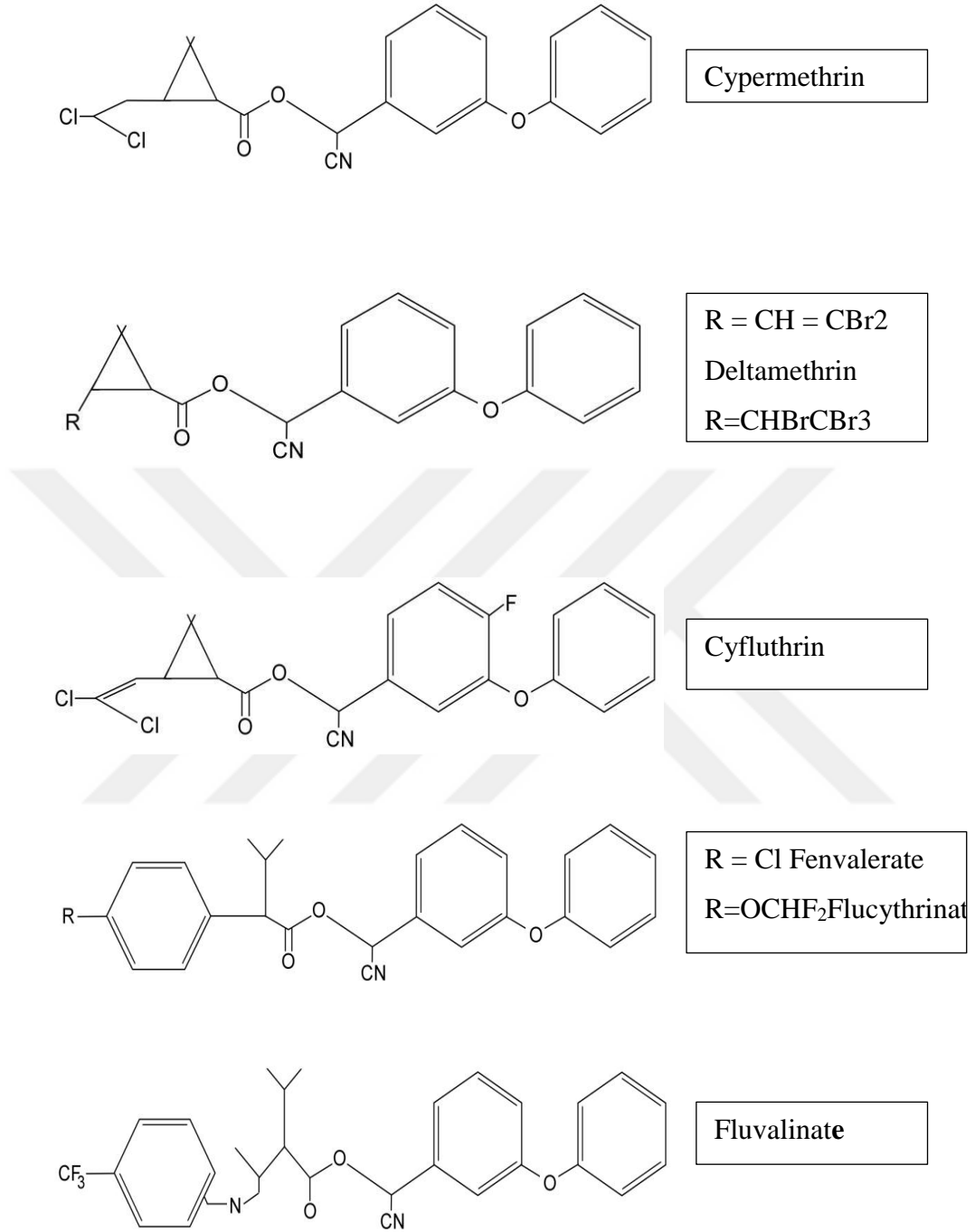
1.3. Sentetik Piretroitler

Doğal piretroidler ışık ve sıcaklık karşısında kararsızdır. Bu kararsızlık nedeniyle ışık ve sıcaklık karşısında daha kararlı olan sentetik piretroidler geliştirilmiştir. Binin üzerinde sentetik piretroid, yüksek insektisal potansiyelleri ve

doğadaki kalıcılıklarının azlığı nedeniyle evsel zararlıları kontrol etmek kadar zirai mücadelede de kullanılmak üzere üretilmiştir. Başlıca sentetik piretroid örnekleri: alletrin, resmetrin, d-fenotrin, tetrametrin, sipermetrin, deltametrin, fenvalerat, furametrin, kadetrin, tellaterin, fenpropatrin, tralommetrin, sihalotrin, lambda-sihalotrin, teflutrin, flusitrat, fluvalinate ve bifenatdır (Stohton, 1990; Williams ve ark., 2000).

Sentetik piretroidlerin temel avantajı, ışığa karşı kararlılıkları, düşük konsantrasyonda dahi etkili olmaları, kolay çözünmeleri, kuş ve memeli türlerine karşı düşük toksisite göstermeleridir (Amin ve Hashem, 2012). İnert (Aktif olmayan) maddelerin toksisitesi genellikle bilinmemekle birlikte, bazılarının bilinen toksik bileşiklerle yapısal benzerliğe sahip oldukları gösterilmiştir. Ticari sır özelliği nedeniyle Amerika Birleşik Devletleri'nde söz konusu inert bileşen olarak tanımlanan maddelerin niteliğinin bulunabilmesi mümkün olamamaktadır. EPA bu bileşenlerle ilgili ayrıntılı bir değerlendirme başlatmıştır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Işığa dayanıklı bazı piretroidlerin yapısal formülleri Şekil 1.1.'de verilmiştir (Tomlin, 1995).



Şekil 1.1. Işığa dayanıklı piretroidlerden başlıcalarının yapısal formülleri.

Sentetik piretroidlerin genel ve kimyasal adları Çizelge 1.1.'de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Bazı sentetik piretroidlerin genel ve kimyasal adları (Anonim, 1996)

Allethrin	(RS)-3-alil-2-metil-4-oksiklopent-2-enil (1RS) cis, trans krizantamat
Bifenthrin	[1-alfa,3-alfa-(Z)] -(+)-(2 metil[1,1'-bif enil]-3 yl) metil 3-(2,2-kloro-3,3,3-trifloro-1-profenil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Cyfluthrin	Siyano(4-floro-3-fenoksifenil) metil 3-(2,2-dikloroetenil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Cyhalothrin	Alfa-siyano-3-fenoksibenzil 3-(2-kloro-3,3,3-trifloroprop-1-enil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Cypermethrin	Alfa-siyano-3-fenoksibenzil (+) cis,trans-3-(2,2-diklorovinil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Deltamethrin	(S)- siyano-(3-fenoksibenzil) (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Esfenvalerate	(S)- siyano-(3-fenoksifenil) metil(S)-4-kloro-alfa-(1-metiletil)-benzenasetat
Fenpropathrin	RS-alfa-siyano-3-fenoksibenzil 2,2,3,3-tetrametilkloropropankarboksilat
Fluvalinate	A-RS,2(R)-fluvalinate[(RS)-alfa-siyano-3-fenoksibenzil(R)-2-[2-kloro-4-(triflorometil)anilino]-3-metil-butanot]
Permethrin	2,2-dikloroetenil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Resmethrin	[5-(fenilmetil)-3-furanil metil 2,2-dimetil-3-(2-metil-1-proenil) klöröpropankarboksilat
Tefluthrin	2,3,5,6-tetrafloro-4-metilbenzil (Z)-(1 RS, 3 RS)-3-(2-kloro-3,3,3-trifloroprop-1-etil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Tetramethrin	2,3,5,6-tetrafloro-4-metilbenzil (Z)-(1 RS, 3 RS)-3-(2-kloro-3,3,3-trifloroprop-1-etil)-2,2-dimetilkloropropankarboksilat
Fluvalinate	A-RS,2(R)-fluvalinate[(RS)-alfa-siyano-3-fenoksibenzil(R)-2-[2-kloro-4-(triflorometil)anilino]-3-metil-butanot]

Sentetik piretroidler, nörotoksiktir (Vijverberg ve Vanden Bercken, 1990). Memeli vücudunda birikmezler ve memeliler üzerinde oldukça az etki bırakırlar; kuşlar için de yüksek güvenlik katsayısına sahiptir; fakat sucul omurgasızlara ve balıklara karşı yüksek oranda toksiktir (Moore ve Waring, 2001; Kumar ve ark., 2010). Sentetik piretroidler gereğinden fazla kullanıldıkları zaman, birbirleriyle tepkimeye girerler ve sudaki hedef olmayan canlılara, bilhassa balık ve artropodlara toksik etki yaparlar. Bu olumsuz etkileri nedeniyle çevresel bir tehdit oluşabilmektedir (Moore, 2001; Solomon ve ark., 2001). Biyolojik zarlar ve dokular bu kimyasalları kolaylıkla absorbe edebilmektedir (He, 1994). Bu kimyasallar çeşitli dokuların metabolizmalarını ve enzimlerini etkileyerek birçok fizyolojik ve biyokimyasal değişime neden olmaktadır (Kamalaveni ve ark., 2001). Sentetik piretroidler lipofilik etkileri nedeniyle suda az miktarda bulduklarında dahi sucul canlıların solungaçlarından yüksek oranda absorbe edilmektedir (Viran ve Erkoç, 2003). Balıklar, memeliler ve kuşlara göre sentetik piretroidleri çok yavaş metabolize etmektedir. Bu bileşenler balıklar tarafından daha yavaş atılmaktadır. Bu durum pestisitlerin balıklarda diğer organizmalardan yüksek toksisitesini açıklamaktadır (Solomon ve ark., 2001). Sentetik piretroidlerin akut toksikolojisi, birçok türde kapsamlı şekilde ele alınmıştır. Kronik maruz kalmanın sonucunda, davranışları ve üremeyi kapsayan çeşitli etkiler, omurgalılar ve omurgasızlarda incelenmiştir. Toksikite yüksek oranda sterokimyasal yapıya bağlıdır, her geometrik veya optik izomer bireysel toksik güce sahiptir. Çoğunlukla, ürünler izomerlerin karışımıdır (Solomon ve ark., 2001). Sentetik piretroidlerin memeli canlılar üzerindeki etkilerinin kısa süreli olması beklenmektedir. Yine de sentetik piretroidlerin neden olduğu zehirlenmeler Çin gibi bazı ülkelerde ölümlere yol açtığı bildirilmiştir (He, 1994).

1.4. Fluvalinate

Fluvalinate EPA toksisite II sınıfından orta dereceli bir toksik bileşendir (Anonim, 1996). Çizelge 1.2.' de Fluvalinate'ın genel özellikleri belirtilmiştir.

Çizelge 1.2. Fluvalinate'ın genel özellikleri (Kidd ve James, 1991)

Görünüşü	Viskoz, sarı
Genel adı	Tau- fluvalinate
Kimyasal adı	RS)-alfa-siyano-3-fenoksifenil N-(2-kloro-a,a,a-trifloro-p-tolil)-D-valinat
Molekül formülü	C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃
Molekül ağırlığı	502.93
Sudaki çözünürlüğü (25 C°)	0.002 mg/l
Diğer çözücülerde çözünürlüğü	Organik çözücülerde vb., aromatik hidrokarbonlarda (örnek: hidrokarbon) çözünebilir.
Kaynama noktası	> 450 C°
Buharlaşma basıncı (25 C°)	< 0.013 mPa
Yoğunluk	1.29 g/cm ³

Fluvalinate, geniş spektrumlu bir insektisittir, pulkanatlılar ve kınkanatlılar; pamuk, patates, meyve ağaçları, sebzeler ve tarla mahsulleri, çim, süs bitkileri üzerinde yaşayan diğer zararlılara karşı geniş alanlarda kullanılan sentetik bir piretroiddir. Emülsiyon, süspansiyon şeklinde veya sıvı formülasyonda olabilir (Anonim, 1996). Meyve ağaçları, sebzeler, tahıl, pamuk, çay, tütün ve diğer ürünler üzerinde bulunan örümcek akarını kontrol etmek içinde kullanılır. Aynı zamanda arı kovanlarında yer alan parazitleri kontrol etmek için de kullanılır (Roberts ve Hutson, 1999).

Fluvalinate pestisitinin kullanılan bazı formülleri gözde kaşınma yapma kapasitesine sahiptir. Fluvalinate içeren ürünlerin etiketlerinde tehlikeli madde yazısı bulunmalıdır. Balıklar ve akuatik canlılara yüksek toksik etkileri nedeniyle sınırlı kullanımı olan pestisitler (RUP) sınıfına dahil edilmektedir (Anonim, 1996). Fluvalinate, sodyum kanallarını inhibe eden sentetik bir piretroiddir. Genel olarak

sentetik piretroidler benzer çalışma şekline sahiptir. Sinir hücre zarlarında sodyum kanallarını açık tutarak etkiler. Sentetik piretroidler böceklerin periferik ve merkezi sinir sistemini etkiler. Bunlar, başlangıçta sinir hücrelerini uyarır ve daha sonra sinir hücrelerinde felce neden olurlar (Anonim, 2005).

1.4.1. Fluvalinate'ın çevresel etkileri

Fluvalinate toprakta 6-8 günlük yarılanma süresiyle düşük oranda kalıntı bırakmaktadır (Kidd ve James, 1991; Wauchope ve ark., 1992). Aerobik koşullarda, killi ve kumlu topraklarda fluvalinate yarılanma süresini 4-8 güne düşürmektedir. Anaerobik koşullarda kumlu topraklarda fluvalinate'ın yarılanma süresi 15 gün olabilmektedir (Anonim, 2005). Fluvalinate suda hemen hemen hiç çözünmemektedir ve topraktaki partikülleri bağlamak için güçlü bir eğilim göstermektedir (Wauchope ve ark., 1992). Fluvalinate'nın suda yarılanma süresi 1 gündür ve fluvalinate suda ışık karşısında bozunmaktadır. Işıktaki bozunma sonucu anilino asit ve 3 fenoksil benzoik asit oluşturmaktadır. Normal çevresel sıcaklık ve pH değerlerinde fluvalinate hidroliz karşısında kararlıdır (Anonim, 2005). Çizelge 1.3.'de piretroid pestisitlerinin vücut ağırlığına göre memelilerdeki toksisite verilmektedir. Çizelge 1.3.'deki değerlere göre fluvalinate memeli hayvanlar üzerinde düşük toksisite göstermektedir. Diğer sentetik piretroidlerle karşılaştırıldığında LD₅₀ değerinin yüksek olması toksik etkisinin az olduğunu belirtmektedir.

Çizelge 1.3. Piretroid pestisitlerinin bazı memelilerdeki toksisiteyi (mg/kg vücut ağırlığı) (Fishel, 2005)

Genel adı	Farelerde oral LD ₅₀	Tavşanlarda dermal LD ₅₀
Allethrin	860	11.332
Bifenthrin	375	>2.000
Cyfluthrin	869-1271	>5.000
Cyhalothrin	79	632
Cypermethrin	250	>2.000
Deltamethrin	31-139 (dişi)	>2,000
Esfenvalerate	451	2.500
Fenpropathrin	70.6-164	>2.000
Fluvalinate	261-282	>20.000
Permethrin	430-4.000	>2,000
Resmethrin	1.244- >2.500	>2.500
Tefluthrin	969	>2.000
Tetramethrin	>5.000	>2.000
Tralomethrin	284	>2.000

Çizelge 1.4. başlıca piretroid pestisitlerin balıklar, kuşlar ve arıların doğal yaşam alanlarındaki toksisite oranlarını belirtmektedir. Çizelge 1.4.'e göre Fluvalinate kuşlar üzerinde nerdeyse toksik olmayan, balıklar üzerinde yüksek oranda toksik, bal arılarında ise uygulandığında canlıyı öldürecek kadar toksik etki göstermektedir (Fishel, 2005). Yapılan deneyler, Fluvalinate'ın balıklar üzerinde yüksek oranda toksik olduğunu göstermektedir (Bkz. Çizelge 1.4).

Çizelge 1.4. Başlıca piretroid pestisitlerin balıklar, kuşlar ve arıların doğal yaşam alanlarındaki toksisite oranları (Fishel, 2005)

Genel adı	Kuşlarda akut oral LD ₅₀	Arılarda LD ₅₀	Balıklarda LC ₅₀
	(mg/kg)*	(mg/kg)*	(ppm)
Allethrin	PNT	HT	HT
Bifenthrin	ST-PNT	HT	HT
Cyfluthrin	PNT	HT	VHT
Cyhalothrin	PNT	HT	HT
Cypermethrin	PNT	HT	VHT
Deltamethrin	PNT	HT	HT
Esfenvalerate	PNT	HT	VHT
Fenpropathrin	ST	HT	VHT
Fluvalinate	PNT	MT	VHT
Permethrin	PNT	HT	VHT
Resmethrin	PNT	HT	VHT
Tefluthrin	ST-PNT	HT	VHT
Tetramethrin	PNT	---	HT
Tralomethrin	---	HT	VHT
Allethrin	PNT	HT	HT

Kuşlarda LD₅₀: Pratikte nontoksik (PNT) = >2,000; az toksik (ST)= 501-2,000; orta derecede toksik (MT)= 51-500; aşırı toksik (HT)= 10-50; çok yüksek oranda toksik (VHT)= <0,1.

Balıklarda LC₅₀: PNT= >100; ST= 10-100; MT= 1-10; HT=0,1-1; VHT= <0,1.

Arılarda LD₅₀: HT= aşırı toksik; MT= orta derecede toksik; PNT= pratikte toksik değil.

1.4.2. Fluvalinate'ın ekolojik etkileri

Kuşlar üzerinde düşük derecede toksiktir. *Coturnix coturnix* üzerinde tespit edilen oral akut LD₅₀ değeri 2510 mg/kg'dan fazladır (Kidd ve James, 1991). Fluvalinate'ın besin yoluyla verilerek belirlenen LC₅₀ değeri *Anas platyrhynchos* ve *Coturnix coturnix* için 5620 ppm'den fazla olarak bildirilmektedir (Kidd ve James, 1991; Anonim, 2005). Sentetik piretroidler, hayvanlara farklı derece ve şekillerde toksik etki yapmaktadır. Memeli ve kuşlarda daha güvenli olmalarına rağmen, balık ve arthropodlara karşı akut etkileri vardır. Maruz kalma yolu, metabolizma ve eliminasyon oranı toksisite miktarını etkiler (Solomon ve ark., 2001). Toksik etkinin olduğu yere göre, insektisite verilen tepkiler önemli derecede farklılık gösterir. Sentetik piretroidlerin su, toprak, hava, ürünler ve hedef olmayan türlerde var olmalarının sonuçlarının araştırılması, bugün ve gelecekte kullanımları için gereklidir (Satoh ve Gupta, 1989).

1.5. Serbest Radikaller

Kimyasal ve biyokimyasal tepkimeler atomların dış orbitallerindeki elektronlar kısmında gerçekleşir. Dış orbitallerinde paylaşılmamış elektron içeren kimyasal türlere radikal denir. Radikaller reaktivitesi çok yüksek olan kimyasal türlerdir. Basit bir atom ya da karmaşık yapılı bir organik molekül radikal olabilir. Canlı sistemde bu radikallerin en önemlileri oksijen ile elde edilmektedirler (Valko ve ark., 2004). Atomik yapılarında paylaşılmamış elektron içeren elementlerin bir kısmı doğada atomları şeklinde değil moleküller şeklinde bulunurlar. Doğada atomları şeklinde serbest bulunmayan ve organik moleküllerin başlıca atomları olan H, C, N, O ve S'ün elektron konfigürasyonları Çizelge 1.5'de verilmiştir.

Çizelge 1.5. Biyolojik moleküllerin başlıca yapısal atomlarının elektronik konfigürasyonları (Kılınç ve Kılınç, 2002)

Element	Atom Numarası	Elektronik Konfigürasyon	Orbitallere Elektronların Yerleşimi
H	1	1s ¹	↑
C	6	1s ² 2s ² 2p ²	↑↓↑↓ ↑ ↑
N	7	1s ² 2s ² 2p ³	↑↓↑↑↓ ↑ ↑ ↑
O	8	1s ² 2s ² 2p ⁴	↑↓↑↓↑↑ ↑ ↑
S	16	1s ² 2s ² 2p ⁶ 3s ² 3p ⁴	↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓↑↓ ↑ ↑

Çevremizde meydana gelen fiziksel ve kimyasal olayların yanı sıra hücrel koşullarda da radikaller üretilmektedir. Metabolik sürecin bir parçası olarak vücudumuzda sürekli olarak bir serbest radikal üretimi vardır. Radikaller, reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif azot türleri (RNS), kükürt merkezli radikaller ve diğerleri olarak sınıflandırılabilirler. Radikaller temel olarak kovalent bağların homolitik kırılması, normal bir molekülün elektron kaybetmesi ve normal bir moleküle elektron transferi gibi mekanizmaların gerçekleşmesi ile oluşur (Halliwell ve Gutteridge, 1984;Gutteridge, 1995).

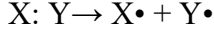
1.6. Radikallerin Oluşumu

Serbest radikallerin oluşması ise üç yolla şekillenir (Cheeseman ve Slater, 1993)

1.6.1. Kovalent bağların homolitik kırılması

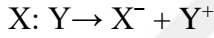
Yüksek sıcaklık (500-600°C) veya yüksek enerjili elektromanyetik dalgaların etkisinde kalan kimyasal bağların kırılması ile bağ yapısındaki iki elektronun her biri

farklı atomlar üzerinde yer alıyorsa, bu tür kırılmaya homolitik kırılma denir. Organik moleküllerdeki bağların heterolitik kırılması durumunda zıt yüklü iyon çiftleri oluşur ve bu türler de reaktiflerdir (Türkmen ve Özdemir, 2011).



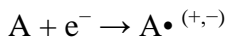
1.6.2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi

Heterolitik bölünmede kovalent bağı oluşturan her iki elektron, atomlardan birinin üzerinde kalır. Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden elektron kaybı sırasında dış orbitalinde paylaşılmamış elektron kalıyorsa, bu molekülün radikal formu meydana gelir. Örneğin askorbik asit, glutatyon ve tokoferoller gibi hücreyel antioksidanlar, radikal türlere tek elektron verip radikalleri indirgerken, kendilerinin radikal formları oluşur. Glutatyon (GSH) radikalleri indirgerken, kendisinin tiyil radikali oluşur (GS•). İki tiyil radikalinin birbiriyle tepkimesi sonucu oluşan tür ise glutatyonun oksitlenmiş (GSSG) formudur (Türkmen ve Özdemir, 2011).



1.6.3. Normal bir moleküle elektron transferi

Radikal özelliği taşımayan bir moleküle tek elektron transferi ile dış orbitalinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa, bu tür indirgenme radikal oluşumuna neden olabilir. Örneğin moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi, radikal formu olan süperoksitin ($O_2^{\cdot-}$) oluşumuna neden olur. Bu mekanizma ile oluşan radikaller canlılar için önemlidir. Canlılarda süperoksit üretimi birçok enzimatik olmayan tepkimelerle meydana gelir. Süperoksit radikalinin yapımındaki artış, oksijenin diğer radikal türlerinin ve diğer atom merkezli radikallerinin oluşumu için etkin rol oynar (Akkuş, 1995).



1.7. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türleri (ROS) ve bunların son derece yıkıcı doğası en az otuz yıldır bilinen bir gerçektir. Bunların çeşitli hayati organlara patofizyolojik etkileri büyüktür ve bunların diğer etkileri hala merak uyandırmaktadır. Oksidatif stres en basit şekilde hücre tabakasının lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi ile vücudun antioksidan savunma sistemi arasında dengesizlik olarak tanımlanabilir. Vücutta serbest radikaller oksidatif stresin bir durumu olarak kronik ve kalıcı hasarlara neden olabileceğinden canlılığın korunması için antioksidanlar geliştirilir (Harman, 1999). ROS, süperoksit anyonları ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenli solunum sonucu sürekli oluşturulduğu gibi radyasyon ışınları, ozon, sigara, bazı ilaçlar, pestisitler gibi kimyasal ajanlara maruz kalınmasından dolayı hücre ve dokularda oluşur (Davies ve Dean 1997). ROS hücresel bileşenlerde oksidatif zararlara neden olmaktadır, böylece bozulmalara ve yaşlanmaya sebep olur (Orr ve Sohal, 1994; Hermes-Lima ve Zenteno-Savín, 2002). Serbest radikal oluşumunun bir sonucu olarak, hücrelerde sürekli enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonlar gerçekleşir (Halliwell, 1994). Oksidatif stresin tam doğasını anlamak için, serbest radikal üretiminin prensipleri ve vücudun normal savunma sistemini açıklamak gereklidir.

1.8. Oksijen ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Moleküler oksijen dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron içerir. Bu elektronlar, spinleri aynı yönde ve farklı orbitallerde iken minimum enerji seviyesindedirler (Halliwell ve Guttridge, 1999). Bu nedenle moleküler oksijen ile reaksiyona girecek olan molekülünde aynı özelliğe sahip olması gerekmektedir; fakat diğer moleküllerin dış orbitallerindeki elektronları eşleşmiş ve antiparalel olarak yerleştiğinden oksijenin diğer moleküllere olan reaktivitesi son derece kısıtlıdır. Canlıların oksijeni kullanabilmesi için, oksijene elektron transferi yaparak söz konusu spin kısıtlamasını aşmaları gerekir. Bu işlem için canlılar geçiş elementleri sınıfından bazı metal iyonlarından (Fe, Cu, Mn, Zn, Co ve Mo vb.) yararlanırlar. Canlılarda

oksijeni kullanan enzimler ya da oksijenle etkileşime giren proteinler, bu elementlerden en az bir tanesini içermek zorundadırlar (Kılınç ve Kılınç, 2002).(Bkz. Çizelge 1.6).

Çizelge 1.6. Reaktif oksijen türleri (Abuja ve Albertini, 2001)

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil [$\bullet\text{OH}$]	Peroksinitrit[ONOO-]
Alkoksil [L(R)O \bullet]	Hipoklorid[-OCI]
Peroksil [L(R) OO \bullet]	Hidroperoksit[L(R)OOH]
Nitrik oksit[NO \bullet]	Singlet oksijen[$^1\text{O}_2$]
Süperoksit[O $_2\bullet^-$]	Hidrojen peroksit[H $_2\text{O}_2$]

1.8.1. Süperoksit radikali (O $_2\bullet^-$)

Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi sonucu süperoksit radikali (O $_2\bullet^-$) oluşur. Oksijen ile reaksiyona giren indirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri oksitlendiğinde, enzimlerin katalitik etkilerinde, NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçışında, fagositik lökositlerin aktivitesi sonucu süperoksit radikali oluşur. Kendisi direkt olarak zarar vermezken, aldığı elektronu metal iyonuna, sitokrom c'ye veya bir radikale vererek tekrar oksijene oksitlenir (Akkuş, 1995).

1.8.2. Hidrojen peroksit (H $_2\text{O}_2$)

Peroksitin iki proton (H $^+$) ile birleşmesi sonucu meydana gelir. Hidrojen peroksit bir radikal olmadığı halde, Fe $_2^+$ veya diğer geçiş metallerinin varlığında (Fenton reaksiyonu), süperoksit radikalının (O $_2\bullet^-$) varlığında (Haber-Weiss reaksiyonu) en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalini ($\bullet\text{OH}$) oluşturduğu için ROS kapsamına girer ve serbest radikal biyokimyasında önemli bir rol oynar (Gutteridge, 1995).

1.8.3. Hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$)

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) en güçlüsüdür. Biyolojik ve kimyasal sistemlerde üretilen hidroksil radikali ($\bullet\text{OH}$) son derece reaktif bir oksidan radikaldir ve sulu ortamlardaki yarı ömrü 1 nano saniyeden daha azdır. Bu nedenle oluştuktan sonra yakın olduğu substratlarla reaksiyona girer. Oluştığı yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak tiyil radikalleri ($\text{RS}\bullet$), karbon merkezli organik radikaller ($\text{R}\bullet$), organik peroksitler ($\text{RCOO}\bullet$) gibi yeni radikallerin oluşmasına ve sonuçta büyük hasara neden olur (Kılınç ve Kılınç, 2002).

1.8.4. Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)

Moleküler oksijene kıyasla singlet oksijende ($^1\text{O}_2$) elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve çeşitli yörüngelerde bulunurlar. Bu nedenle eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur. Kovalent tepkimelerden özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu moleküllerden doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksi radikalini ($\text{ROO}\bullet$) oluşturarak etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Gutteridge, 1995).

1.8.5. Peroksil radikali ($\text{ROO}\bullet$)

İçerdiği R grubuna bağlı olarak redoks potansiyeli yüksek enerjili bir radikaldir. Radikalin etkinliği içerisinde bulunduğu çevreye, oksijene, diğer reaktanların varlığına ve çeşidine göre değişir (Burcham, 1998).

1.9. Reaktif Azot Türleri (RNS)

Oksijen radikalleri çok sayıdaki fiziksel/kimyasal mekanizmalarla, enzimatik ve enzimatik olmayan yollar ile oluşturulmasına rağmen vücudumuzda reaktif azot türlerinin sentezini sağlayan mekanizmalar son derece kısıtlıdır. Ekzojen azot bileşiklerinin metabolize edilmesi sırasında oluşan nitrik oksitin yanı sıra oluşturan endojen nitrik oksitin tek kaynağı nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleridir (Kılınç ve Kılınç, 2002).

1.9.1. Nitrik oksit (NO[•])

Canlılarda önemli biyolojik fonksiyonları yerine getiren azot merkezli bir radikal olan nitrik oksit üzerindeki paylaşılmamış elektron hem azot hem de oksijen atomu üzerinde lokalizedir. Bu nedenle tam radikal özelliği taşımaz. Radikal olarak reaktivitesi düşük olan NO, metal içeren merkezler ve radikaller ile büyük bir hızla tepkimeye girer. Süperoksit ile NO arasındaki tepkime ile oluşan peroksinitrit (ONOO⁻), hidroksil radikali benzeri aktiviteye sahiptir. Oksijen radikallerindeki durumun aksine, nitrik oksiti ortamdaki temizleyen herhangi bir özel enzim yoktur. Biyolojik dokularda nitrik oksit sentaz tarafından üretilen NO[•], nörotransmisyon, kan basıncının düzenlenmesi, savunma mekanizması, düz kas gevşemesi ve immün regülasyon gibi pek çok biyolojik süreçte önemli bir oksidatif biyolojik sinyal molekülüdür (Alderton ve Ark., 2001).

Çizelge 1. 7. Oksijenden ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler (Nordberg ve Arner, 2001)

Tür	Adı	Tür	Adı
1O_2	Singlet oksijen	$NO\cdot$	Nitrik oksit
$O_2\cdot^-$	Süperoksit	$NO_2\cdot$	Nitrojen dioksit
H_2O_2	Hidrojen peroksit	NO_2^+	Nitrit kasyonu
$\cdot OH$	Hidroksil radikali	$NO\cdot$	Nitroksil
$ROO\cdot$	Peroksil radikali	NO^+	Nitrozil
$ROOH$	Hidroperoksit	$ONOO\cdot$	Peroksinitril
$RO\cdot$	Alkoksil radikali	$ONOO\cdot$	Peroksinitril radikali
$ROOR\cdot$	Endoperoksit	N_2O_3	Dinitrojen trioksit
$HO_2\cdot$	Hidroperoksi radikali	N_2O_4	Dinitrojen tetroksit

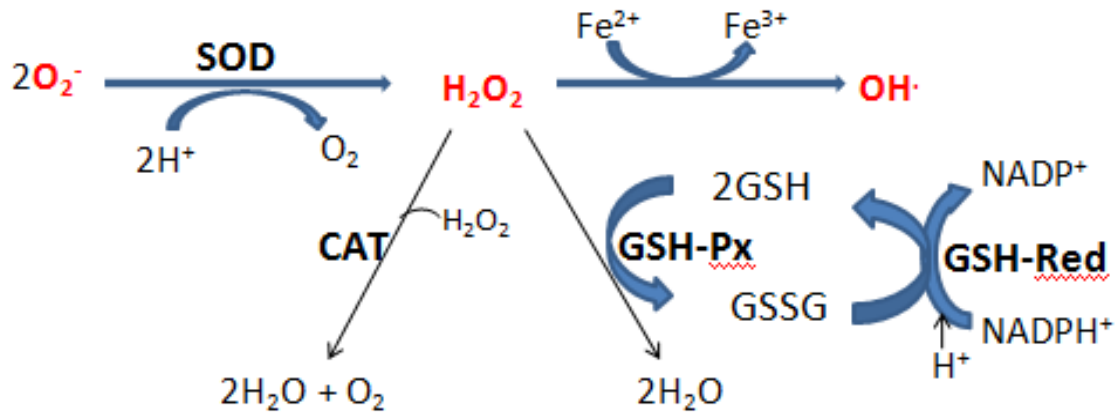
1.10. ROS ve RNS'nin Kaynakları

Reaktif oksijen ve azot türleri hem endojen hem de ekzojen kaynaklı olabilir.

1.10.1. Endojen kaynaklar

İçerisinde mitokondri, sitokrom p450 metabolizması, peroksizomlar ve inflamatuvar hücre aktiviteleri bulunur (Inoue ve Ark., 2003). Aktive makrofajlarda oksijen tüketimi yükselir ve dolayısıyla süperoksit anyonu ve nitrik oksit gibi radikaller ile hidrojen peroksit açığa çıkar (Conner ve Grisham, 1996). Sitokrom p450'nin katalitik döngüsünde meydana gelen bir ayrılma ve aksamada süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumu olasıdır. Mikrozoimler, in vivo hiperoksia alanlarında üretilen H_2O_2 'nin %80'inden sorumludur. Peroksizomlardaki D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L-hidroksil asit oksidaz ve yağ asidi açıl-CoA oksidaz gibi oksidazlar, süperoksit üretmeden bol miktarda hidrojen peroksit (H_2O_2) üretimine neden olurlar. Hipoksantinden ksantin ve ksantinden ürik asit reaksiyonunu katalizleyen ve her iki

adımında da moleküler oksijen kullanarak birinci adımda süperoksit anyonu, ikinci adımda hidrojen peroksit oluşturan ksantin oksidaz (XO) enzimi mitokondride bulunur. Membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan kaynaklı olarak endoplazmik retikulum ve nükleer membranda da serbest radikal üretimi olmaktadır (Valko ve Ark., 2004). Fagositlerin uyarılması sonucu heksoz monofosfat yoluyla glukozun oksidasyonunda artış meydana gelir. Bu esnada elektron vericisi olarak NADPH kullanılır ve moleküler oksijenin (O_2) süperoksit radikaline (O_2^-) indirgenmesi sonucu $NADP^+$ üretimi artar ve heksoz monofosfat yolu aktive olur. Heksoz monofosfat yolunun aktivasyonuna neden olan $NADP^+$ nin diğer kaynağı hidrojen peroksidin (H_2O_2) detoksifikasyonundan sorumlu olan glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz sistemidir (Bkz. Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Glutatyon peroksidaz-glutatyon redüktaz şaftı.

1.10.2. Ekzojen kaynaklar

Eksojen kaynaklar bazı yabancı toksik maddelerle ya doğrudan serbest radikal üretirler ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılmasını sağlayan antioksidan aktiviteyi düşürerek hücrede ROS ve RNS üretimine neden olurlar. Bu toksik maddelerin içerisinde klorlu bileşikler, metal iyonları, radyasyon, barbitüratlar, karbon tetraklorür, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara ve sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler sayılabilir (Mercan, 2004). Örneğin azot dioksit gazı ($NO_2\cdot$) etkili bir lipid peroksidasyonu başlatıcısı olarak direkt etki eder. Öte yandan kuru temizlemede kullanılan toksik bir madde olan karbon tetraklorür (CCl_4) karaciğerde sitokrom p450

tarafından triklorometil serbest radikale ($CCl_3\bullet$) dönüştürülürken, triklorometil serbest radikali de moleküler oksijenle (O_2) etkileşerek peroksil serbest radikali ($CCl_3O_2\bullet$) oluşturur ve bunlarda lipid peroksidasyonu başlatıcılarıdır. Böylece reaktif serbest radikal üretimi karaciğerde antioksidan savunmaları aşar, sellüler membranlarda oksidatif yıkımı başlatarak ciddi doku hasarı meydana gelmesine neden olur.

1.11. Serbest Radikallerinin Etkileri

Radikallerin biyolojik sistemlerde hem yararlı hem de zararlı olmak üzere iki çeşit etkileri bulunmaktadır. Düşük konsantrasyonlardaki ROS/RNS enfekte ajanlara karşı savunma ve hücrel sinyal sisteminde değişik fonksiyonları harekete geçirirken, yüksek konsantrasyondaki ROS/RNS lipitler, membranlar, karbohidratlar, proteinler, nükleik asitler gibi hücrenin önemli moleküler yapılarına zarar verir (Valko ve Ark., 2006). Süperoksit radikali ve hidroksil radikali sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipit peroksidasyonunu başlatarak membran permeabilitesinin artmasına yol açar (Word ve Peters, 1996).

Antioksidan savunma sistemleri ile radikallerin bu zararlı etkileri non-enzimatik ve enzimatik olarak engelleyerek dengeler. Fakat buna rağmen oksidatif hasar hücrenin yaşam döngüsü boyunca birikir ve radikal hasarına bağlı olarak DNA, protein, karbohidrat ve lipitlerdeki bozulmalar yaşa bağlı görülen hastalıkların gelişmesinde (kanser, ateroskleroz, artrit, nörodejeneratif hastalıklar ve diğer durumlar) önemli rol oynar (Halliwell ve Guttridge, 1999). Öte yandan serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının diyabet, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, amfizem/bronşit, gebelik preeklampsisi ve akut renal yetmezlik gibi birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına sebep olduğu düşünülmektedir (Akkuş, 1995).

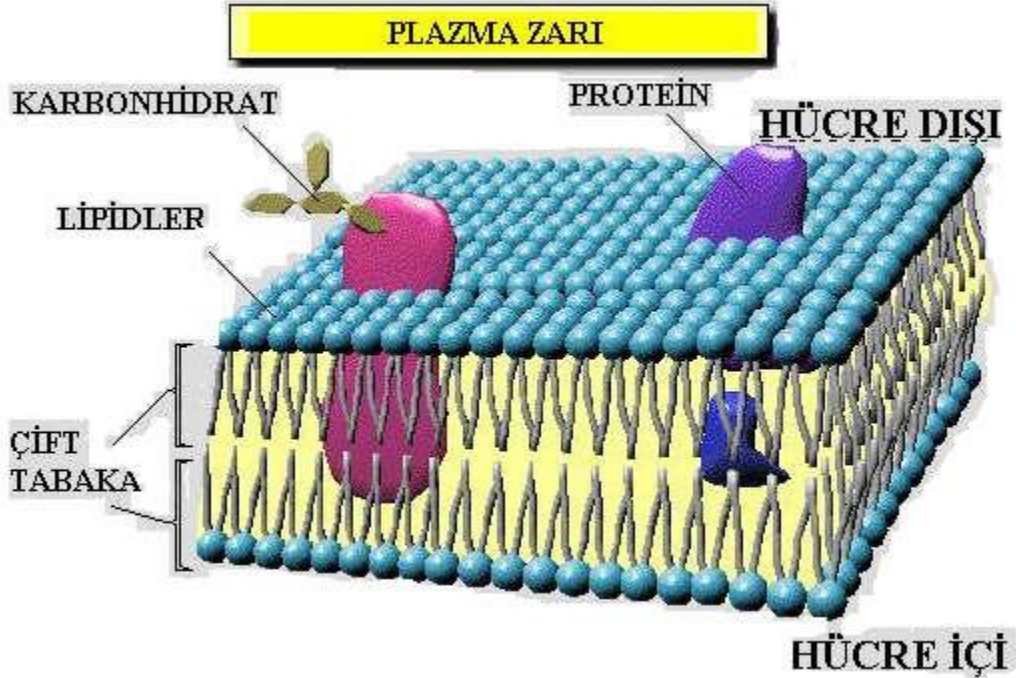
1.11.1. Karbohidratlara etkileri

Serbest radikallerin etkileri sonucu monosakkaritlerde hidrojen peroksit, peroksit ve oksoaldehitler meydana gelir. Açığa çıkan oksoaldehitler proteinlere bağlanabilme

özelliklerinden dolayı antimitotik etki göstererek etki eder ve böylece kanser ve yaşlanmaya neden olabilirler (Meram ve Aktaran, 2002). ROS, bağ dokunun önemli bir bileşeni olan hiyalüronik asit gibi karbohidratların parçalanmalarına da yol açabilir (Belge ve Ark., 2004).

1.11.2. Lipitlere etkileri

Serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküller biyolojik dokulardaki çoklu doymamış yağ asitlerine (PUFA) sahip olan lipitlerdir. Tüm biyolojik zarlar, çoklu doymamış yağ asitleri ile amfipatik lipitler ve zar proteinlerinin birleşmesinden oluşur. (Şekil 1.3) Lipit peroksidasyonu (LPO), çoklu doymamış yağ asitlerinin radikaller ile oksidasyonu sonucu başlayan ve oto katalitik zincir reaksiyonları şeklinde uzayan, lipit peroksitlerinin aldehit türevleri, hidrokarbon radikalleri ve uçucu bazı ürünlere çevrilmesi şeklinde sonlanan süreçtir (Dikici, 1999; Yanbeyi, 1999) (Bkz.Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Hücre zarının yapısı (Koolman ve Roehm, 2005).

Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Lipit peroksidasyonu, membranlara yakın bölgelerde ortaya çıkan hidroksil radikalının membran fosfo lipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırmasıyla oluşur (Yanbeyi, 1999; Barım Öz, 2005). Lipit peroksidasyonu reaksiyonu ya toplayıcı antioksidan reaksiyonlarla sonlandırılır ya da oto katalitik yayılma reaksiyonları ile devam eder. Serbest radikaller hücre membranının stabilizasyonunu ortadan kaldırarak hızlı hücre ve doku bozulmalarına neden olur (Dikici, 1999).

Balıkların kas dokularında bulunan en önemli prooksidanlar; yapısında hem olan ve olmayan pigmentler, kompleks demir, ferritin, mitokondri-sarkoplazmik retikulum enzim sistemi, NADH (nikotinamid adenin dinükleotid hidrojenaz) ve lipoksijenaz'dır. Antioksidanlar ise; suda çözünen süperoksit dismutaz, katalaz, Fe-tutucular, askorbat, glutatyon peroksidaz, E vitamini, C vitamini, ubiquinol ve karotenoitler'dir. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), proteinler, DNA ve bazı renk pigmentleri, prooksidanların etkisi altındadır. Balıklar diğer omurgalılardan farklı olarak ya günlük ya da mevsimsel sıcaklık ve oksijen değişikliğine maruz kaldıkları için kararsız çevre şartlarına uyum sağlayan metabolizmaya sahiptirler (Filho, 1996; Orbea ve Ark.,2000; Abele ve Puntarulo, 2004; Ögüt, 2005; Piner, 2005; Borazan Özkurt, 2006).

1.11.3. Proteinlere etkileri

Özellikle doymamış ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren protein moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Serbest radikallerin etkileri sonucu lipit, karbohidrat gibi diğer makromoleküller ile protein oksidasyon ürünleri arasında karbonil türevleri oluşabilir. Öte yandan disülfid bağı fazla olan immungulobin G (IgG) ve albumin gibi proteinlerin ise üç boyutlu yapılarının bozulmasına neden olur (Meram ve Aktaran, 2002).

1.11.4. DNA ve nükleik asitlere etkileri

ROS, nükleik asitlerdeki baz ve şekerde lezyonlara, tek ve çift zincir kırıklarına, abazik bölgelere, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım modifikasyonlara neden olur. Oluşan bu oksidatif hasar, yaşlanma, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, immünsistem hastalıkları, dejeneratif hastalıklar gibi doku fonksiyonlarının bozulması ile ortaya çıkan hastalıkların başlıca nedeni ve göstergesi olarak görülmektedir (Dizdaroglu ve Karakaya, 1999).

Ekzojen kaynaklı radyasyona maruz kalınması sonucu oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona neden olurlar. Sitotoksik etki, büyük oranda nükleik asit baz modifikasyonlarından kaynaklanan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer değişikliklere bağlıdır. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlar ile kolayca reaksiyona girerken hidrojen peroksit zarlardan kolayca geçip hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücrede fonksiyon bozukluğuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (Meram ve Aktaran, 2002; Özkan ve Fıskın, 2004).

1.12. Antioksidan Savunma Sistemleri

Serbest radikallerin oluşturduğu olumsuz etkilere karşı organizmanın korunması için antioksidan savunma sistemleri mevcuttur (Çelik ve Ark. 2007). Bu antioksidan savunma sistemleri, endojen ve eksojen olarak iki gruba ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar vücutta doğal olarak bulunan savunma sistemleridir. Bu savunma sistemleri de kendi içerisinde enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak sınıflandırılır. Enzimatik olanlar SOD, CAT, GSH-Px, sitokrom oksidaz, glutatyon S transferaz (GST), ksantin oksidaz ve Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz'dır. Nonenzimatik endojen kaynaklı antioksidanlar, GSH, seruloplazmin, transferrin, albümin, selenyum, ürik asit, α -lipoik asit, melatonin ve koenzim Q₁₀ gibi molekülleridir. Flavonoidler, fenolik asitler, A, C ve E vitaminleri ise eksojen olarak dışarıdan alınabilen antioksidanlardır. SOD, CAT, GSH-Px enzimleri GSH içeriği, süperoksit anyonu, hidroksil radikali, alkoksil radikalleri gibi organizmada en çok üretilen ROT'ların

olumsuz etkilerini ortadan kaldırırlar. Bu serbest radikallerin üretimi istenmeyen seviyelere ulaştığı zamanlarda endojen antioksidanlar yetersiz kalabilmekte vücut eksojen antioksidanlara ihtiyaç duymaktadır (Dündar ve Aslan, 2000; Karabulut ve Gülay, 2016; Koçyiğit ve Selek, 2016). Böylelikle oksidan/antioksidan dengesi endojen ve eksojen yollarla sağlanmış olur. Eksojen antioksidanlar dışarıdan yeterince alınamadığında organizmada bulunan antioksidanlar çeşitli sebeplerle oksidanların olumsuz etkisine karşı savunmasız kalmakta ve oksidatif hasarların oluşması kaçınılmaz olmaktadır (Siti ve Ark., 2015). ROT'un hücre içi düzeyindeki artışı, hücrelerde zar fonksiyon bozukluğu, DNA hasarı ve protein inaktivasyonu yaparak oksidatif hasar oluşmasına yol açar. Kronik hale gelen oksidatif stres, kanser, renal toksikasyon, hepatik hasar, artrit, nörodejeneratif hastalıklar gibi çok sayıda patolojik durumun meydana gelmesine yol açmaktadır (Hayes ve McLellan, 1999). Oksidatif hasara yol açan, reaksiyonları oldukça hızlı olan bu oksidan maddeler, özellikle metabolik ürünleri depolayan ve vücuttan atan sistemlerde daha çok olumsuz etkilere yol açmaktadır (Lichtenberg ve Pinchuk 2015). Oksidatif stres belirteçlerinin anlaşılması ROT'un doğru bir şekilde ölçülmesiyle ilişkilidir. Klinik ortamlarda oksidatif stres biyolojik belirteç ölçümleri için yeni metodolojiler geliştirilmektedir (Edwin ve Ark. 2013). Reaktif ve kısa ömürlü olmaları nedeniyle ROT ve diğer serbest radikalleri tespit etmek oldukça zordur. Organizmada ortaya çıkan oksidatif hasar, genel olarak aminoasitler, nükleik asitler ve lipid peroksidasyon ürünlerinin ölçülmesiyle analiz edilmektedir (Kohen ve Nyska 2002). Biyolojik sistemlerdeki bazı antioksidanlar ve etkileri Çizelge 1.8'de verilmiştir.

Çizelge 1.8. Hidrofilik ve lipofilik fazda bazı antioksidanlar (Sorg, 2004)

Antioksidan	Faz	Etki
Süperoksit dismutaz (SOD)	Hidrofilik	$O_2^{\cdot -}$ 'nin H_2O_2 ve O_2 'e dismutasyonu
Katalaz(CAT)	Hidrofilik	H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'e dismutasyonu
Glutasyon peroksidaz(GSH-Px)	Hidrofilik veya Lipofilik	R-OOH'nin R-OH indirgenmesi
Glutasyon redüktaz (GSH-Rd)	Hidrofilik	Okside glutasyonun indirgenmesi
Glutasyon S -transferaz (GST)	Hidrofilik	R-OOH'nin GSH ile konjugasyonu
Metallotieninler	Hidrofilik	Geçiş metalleriyle nötralizasyon
Tiyoredoksinler	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'ine indirgenmesi
Glutasyon	Hidrofilik	R-S-S-R'nin R-SH'a indirgenmesi Serbest radikal temizleyicisi GSH-Px ve GST'nin kofaktörü
Ubikinon	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonundan korur
Askorbik asit	Hidrofilik	Serbest radikal temizleyicisi Tokoferol kazanımı Enzimlerin redükte formda korunması
Karotenler	Lipofilik	Serbest radikal temizleyicisi $O_2^{\cdot -}$ baskılayıcı
Tokoferol	Lipofilik	Selenyum absorpsiyonunu artırır Serbest radikal temizleyicisi Lipid peroksidasyonundan korur
Selenyum	Amfifilik	Tiyoredoksin, GSH-Px yapıtışı

1.12.1. Eksojen antioksidanlar

Vitamin, ilaç, gıda gibi dışarıdan takviye olarak vücudumuza aldığımız antioksidan grubunu oluştururlar (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Vitaminler: α -tokoferol (vitamin E), β -karoten, askorbik asit (vitamin C), folik asit (folat).

İlaçlar: Sitokinler (TNF ve IL-1), ksantin oksidaz inhibitörleri, NADPH oksidaz inhibitörleri, desferroksamin gibi demir redoks döngüsü inhibitörleri, rekombinant süperoksit dismutaz, trolox-c, asetilsistein gibi endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar, barbitüratlar ve şelatörler.

Gıda antioksidanları: Bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), propil galat (PG), sitrik asit, EDTA, adaçayı, kekik ve karanfil gibi bitkiler.

1.12.2. Endojen antioksidanlar

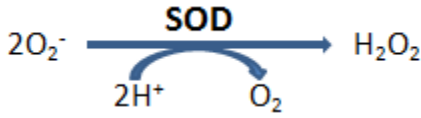
Vücudumuzda bulunan ve herhangi bir oksidasyon durumunda devreye giren antioksidanlardır. Endojen antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak iki sınıfa ayrılırlar (Önenç ve Zümrüt, 2005) (Bkz.Çizelge 1.9).

Çizelge 1.9. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

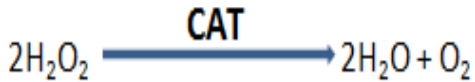
Enzimatik antioksidanlar	Etkileri
Sitokrom oksidaz sistemi	Hücrelerdeki O ₂ 'nin %95-99' unu detoksifiye eder
Süperoksit dismutaz (SOD)	Süperoksit anyonunun detoksifikasyonu
Katalaz (CAT)	Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu
Glutasyon Peroksidaz (Gpx)	Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu
Glutasyon redüktaz	Okside glutasyonun indirgenmesi
Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz	NADP'nin NADPH'a dönüşmesi
Enzimatik olmayan antioksidanlar	Etkileri
α -tokoferol	Zincir kırıcı antioksidan
β -karoten	Radikal tutucu
Askorbik asit	\cdot OH radikali tutucu
Glutasyon	Hücre içi sülfhidril tamponu
Albumin	Hem ve bakır bağlar
Seruloplazmin	Bakır bağlar
Haptoglobulin	Hemoglobin bağlar
Transferrin	Dolaşımdaki demir iyonlarını bağlar
Ferritin	Dokudaki demir iyonlarını bağlar
Hemopeksin	Hem bağlayıcı proteindir
Bilirubin	Peroksil radikali tutucu
Ürat	Radikal tutucudur, metal iyonlarını bağlar
Glukoz	\cdot OH radikali tutucu
Sistein	Radikal tutucu
Koenzim Q	Antioksidanlarla etkileşebilir

1.12.2. Enzimatik antioksidanlar

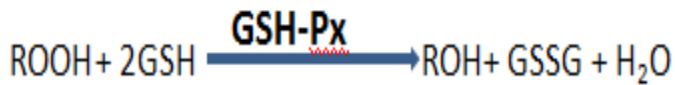
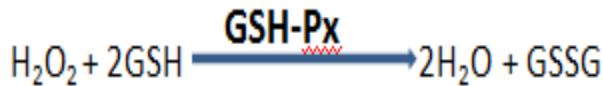
Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) (EC 1.15.1.1): ROS'a karşı ilk etki eden antioksidan enzim süperoksit dismutaz'dır. SOD, süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismute eden bir metalloenzimdir. Aralarında aminoasit dizilimi, aktif metal bölgesi ve hücresel dağılım farkı bulunan üç tür SOD vardır. Birincisi mitokondride lokalize Mn-SOD, ikincisi sitozolde lokalize Cu-ZnSOD ve üçüncüsü de plazmadaki süperoksit radikallerini metabolize eden, vasküler endotele bağlı Cu-SOD'dur (Young ve Woodside, 2001).



Katalaz Enzimi (CAT) (EC 1.11.1.6): CAT enzimi yapısında Fe⁺³ bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş, peroksizomlarda yer alan bir hemoproteindir. Katalaz hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalizleyen ve aktivitesi eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğun olan bir antioksidan enzimdir (Young ve Woodside, 2001).



Glutasyon Peroksidaz Enzimi (GSH-Px) (EC 1.11.1.9): Glutasyon peroksidaz enzimi lipit, DNA gibi organik hidroperoksitlerin veya hidrojen peroksitin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini katalizler (Knapen ve Ark., 1999).



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

Tarımsal ve endüstriyel ürünlerin kalıntıları, akuatik sistemde (nehir, göl, gölet vb.) kirliliğe neden olan yüksek miktarda toksik bileşen içermektedir (Amin ve Hashem, 2012). Çevrenin korunması ve sürdürülebilirliği için temel sorunlardan biri, su kaynaklarının pestisit kalıntılarıyla kirlenmesidir (Brooks ve Roberts, 1999). Suda çözünebilen pestisitler, kısa süre içerisinde su içinde dağılırken, suda az çözünen bileşimler daha çok partiküllere yapışarak sediment şeklinde sürüklenirler ve su içerisinde askıda kalarak uzun süre aktif maddelerin yayılmasına neden olurlar. Suda çözünemeyen pestisitlerin sedimentlerdeki partiküllere yapışması, onların hareketini ve dipte yaşayan organizmaları etkiler. Su kalite parametreleri; pH, O₂ miktarı, suyun kimyasal özellikleri ve biyokimyasal reaksiyonlar, partiküllere bağlanmış olan pestisitlerin tekrar serbest hale geçmesini etkileyen faktörlerdir (Tucker ve Crabtree, 1979; Yıldız ve ark., 2005). Küresel bazda tatlı su ortamlarında biyolojik çeşitliliğin azalmasının nedenleri arasında, gün geçtikçe artan kullanımıyla yüzey sularında tespit edilen pestisitlerin de olduğu bildirilmektedir (Kunce ve ark., 2017). Buna bağlı olarak balıkların başlıca besini olan zooplankton ve böcek larvaları pestisitlerden etkilenerek zarara uğramaktadırlar (Akman ve ark., 2000). Sucul ortamı habitat olarak kullanan balıkların solungaçları, buldukları çevre ile doğrudan temasta oldukları için, sudaki kirleticilerin yol açtığı doku hasarlarını kolaylıkla yansıtmaktadır (Yerli ve ark., 1997). Pestisitlerin balıklara etkileri doğrudan ölüm olabileceği gibi yumurta bırakma, engelleme ve fekonditeyi düşürme, dokularda hasar meydana getirme ve buna bağlı olarak mevsimsel sıcaklık değişimlerinden, geçici açlıktan gereğinden fazla etkilenme şeklinde olmaktadır. Yavru balıklar ise daha hassas oldukları için bu durumdan daha fazla zarar görebilmektedir (Toros ve Maden, 1991).

Bir çeşit akarisit olan Fenpiroksimat'ın (FP) ergin lepistes balıkları üzerine akut toksik etkisini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada FP'nin balık karaciğer dokusunda oksidatif stresi teşvik ettiği bulunmuştur. Bu da FP'nin oksidatif strese yol açtığı yani serbest oksijen radikallerinin oluşumunu teşvik ettiği, antioksidan seviyenin değişmeden kalması ise ilgili enzimlerin üretimi için yeterli sürenin geçmediği şeklinde yorumlanmıştır (Doğan ve ark., 2011). Yapılan başka bir çalışmada 48 saat

Fenpiroksimat'a maruz bırakılmış Pisi balığının (*Paralichthys olivaceus*) karaciğerindeki detoksifikasyon enzimleri olan GST (Glutasyon-s-transferaz) ve EROD (etoksiresorufin-o-deetilaz) aktivitelerinde önemli artışlar gözlenmiştir. Ayrıca SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz) ve GPx (glutasyon peroksidaz) enzim aktivitelerinde de önemli artışlar görülmüş ve bu iki durum oksidatif stres varlığının bir işareti olarak kabul edilmiştir (Na ve ark., 2009). Bispyribac sodium herbisitine (20.87 $\mu\text{g l}^{-1}$) yedi gün maruz kalan *Cyprinus carpio*'da CAT ve GST aktivitelerinde önemli derecede değişiklikler olduğu bildirilmiştir (Toni ve ark., 2010). Bakır sülfat ile muamele görmüş balıklarda toplam süperoksit dismutaz ve Mn SOD aktivitesinde azalma görüldüğü bildirilmiştir (Borazan Özkurt, 2006). Azinfos metil pestisidi *Cyprinus carpio*'da SOD, CAT ve GPX aktivitelerinde artışa neden olduğu ileri sürülmüştür (Oruç ve ark., 2004). Diazinon pestisidi *Oncorhynchus mykiss*'de SOD, GST ve GPX aktivitelerinde artışa neden olduğu ortaya konulmuştur (Işık ve Çelik, 2008). Atrazin pestisidi de *Lepomis macrochirus*'da karaciğer GSH, GST, SOD ve GPX seviyelerinde önemli artışlara yol açtığı bildirilmiştir (Elia ve ark., 2002). Fluvalinate'ın merkezi sinir sistemini olumsuz etkilediği karaciğer ve böbrek ağırlıklarının artmasına da neden olduğu ileri sürülmüştür (Anonim, 1996). Van Gölü'nün kirliliğine bağlı gonad anormallikleri bulunan Van balığında ovaryum anormalliği belirlenen ve normal balıklarda malondialdehit (MDA) seviyeleri ve redükte glutasyon (GSH) düzeyleri ile süperoksit dismutaz (SOD) ve glutasyon peroksidaz (GSH-px) gibi antioksidan enzim seviyeleri solungaç, karaciğer ve gonadlarda karşılaştırılmıştır. MDA seviyeleri anormal bireylerde normal bireylere göre bütün dokularda önemli oranda artış göstermiştir ($p < 0.05$). Anormal bireylerin solungaç ve ovaryum dokularındaki SOD aktivitesi ve karaciğer dokusundaki GSH-Px aktivitesinin normal bireylere göre azalması önemli görülmüştür ($p < 0.05$). GSH seviyesinde ise normal ve anormal dokuların karşılaştırılmasında fark bulunmamıştır. Sonuç olarak belirli bir dönemde kirleticilere maruz kaldığı düşünülen anormal ovaryumlu balıkların normal balıklarla karşılaştırıldığında antioksidant savunma sistemlerinin etkilendiği söylenmiştir (Özok ve ark., 2017). Polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) bileşikleri midyelerde, katalaz düzeyini düşürürken, kirletici miktarına bağlı olarak glutasyon peroksidaz ve süperoksit

dismutaz düzeyleri artar. Organik kirleticilerden TCDD (2, 3, 7, 8 tetraklorodibenzo-p-dioksin) ile kirlenmiş sulardaki alabalıklarda karaciğer süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz düzeylerinin daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Borazan Özkurt, 2006). Sublethal derişimde deneysel malationa maruz bırakılan balıklarda katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim düzeylerindeki değişimler, histopatolojik değişimlerden çok daha erken oluşur. Malationa maruz kalan balıklarda katalaz aktivitesinde önemli düzeyde azalma meydana gelirken, diğer iki enzimde artış gözleendiği belirtilmiştir (Rosety ve ark., 2005). Oruç ve ark., (2004), tatlısu çipurasında (*Oreochromis niloticus*) ve sazanlarla (*Cyprinus carpio*) yaptıkları çalışmalarında her iki balık türüne 96 saat boyunca 2,4-D ve azinphosmethyl uygulayarak farklı dokulardaki enzim aktivitelerini araştırmışlar. Deneme süresi sonunda her iki balık türünde enzim aktivitelerinde artış gözlediklerini, özellikle sazanların solungaçlarında SOD aktivitesinin, böbrek dokularında ise CAT ve GPx enzimlerinin artış gösterdiklerini bildirmişlerdir. Tatlısu çipurasında ise beyin dokularında katalaz aktivitesinin değişmediğini fakat GPx de artış olduğunu kaydetmişlerdir. Yine GST enzim aktivitesinin her iki türde bütün dokularda arttığını, MDA (molondialdehit) seviyelerinde herhangi bir değişim olmadığını ifade etmişlerdir. Aynı kimyasallarla yaptıkları bir başka çalışmada ise belirli dozlarda karıştırdıkları (27 ppm 2,4-D+ 0.003 ppm azinphos metil) kimyasalları 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarla uygulayarak *O. niloticus* hepatik antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon seviyelerini araştırmışlardır. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) ve glutatyon reduktaz (GR) aktivitelerinde kontrol grubuna nazaran yüksek bir artışın olduğunu, MDA seviyesinin değişmediğini bildirilmişlerdir (Oruç ve Üner, 2000). Sayeed ve ark., (2003), yeşil yılanbaş (*Channa punctatus*) balıkları ile yaptıkları çalışmalarında 48 saat boyunca deltametrinin tek dozajını (0,75 µg/L) uygulayarak karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Deltametrinin tüm çalışma dokularında katalaz aktivitesini artırdığını, lipid peroksidasyonunu indüklediğini bildirmişlerdir. Nil tilapıyası (*Oreochromis niloticus*) yapılan bir çalışmada, balıklar farklı konsantrasyon (0.3 ve 0.6 mg/L) ve sürelerde (7, 14 ve 21 gün) oxyfluorfen maruz bırakılarak CAT, SOD, GR ve GST aktivitelerine bakılmış tüm çalışma gruplarında artış olduğu

bildirilmiştir (Peixoto ve ark., 2006). Sazan yavruları (*C. carpio*) ile yapılan bir çalışmada Sepici ve ark. (2009), Cyfluthrin'in subletal dozajına (10 µg/L) 48 saat boyunca balıkları maruz bırakmışlar ve *C. carpio*'nun beyin dokusunda MDA düzeyinin arttığını kaydetmişlerdir. Propiconazole (PCZ) ile yapılan bir çalışmada, gökkuşuğu alabalıkları (*O. mykiss*) farklı sürelerde (7, 20 ve 30 gün) ve sublethal konsantrasyonlarda (0, 2, 50 ve 500 µg/L) adı geçen fungusite maruz bırakılmış, oksidatif stres göstergeleri (LPO ve ROS) ve antioksidan (SOD, CAT, GR ve GPx) enzim aktivitelerine bakılmış, yedi günlük çalışmada antioksidan savunma sistemi bu etkiye adaptasyonla cevap vermiş, 20 ve 30 günlük sürelerde oksidatif stresin göstergelerinin yüksek seviyeleri ile antioksidan enzimlerde inhibisyon görülmüş, uzun süreli muamelelerin ise ciddi oksidatif hasara yol açtığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2010). Avrupa yılan balığı (*Anguilla anguilla*) ile yapılan bir çalışmada, balıklar 96 saat boyunca DDVP (2, 2-dichlorovinyl dimethyl phosphate)'nin sublethal dozuna maruz bırakmışlar ve deneme süresi sonunda GR aktivitesinde artış olduğunu bildirmişlerdir (Peña-Llopis ve ark., 2003). Kızılgöz (*Rutilus rutilus*) ile yapılan bir çalışmada, farklı sürelerde uygulanan diazonin CAT aktivitesi üzerine etkisine bakılmış, 24. saatte CAT aktivitesinin artışı adaptasyon olarak belirtilmiş, 48 ve 96. saatlerde ise CAT aktivitesinde azalma olduğu bildirilmiştir (Keramati ve ark., 2010). Aynı kimyasalla aynalı sazanlarda (*C. carpio*) Oruç ve Usta (2007) çalışmışlar ve farklı sürelerde (15 ve 30 gün) kullandıkları insektisit çeşitli dokulardaki antioksidan enzim aktiviteleri üzerinde etkili olduğunu, SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ve MDA seviyesinde artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Diazoninin uygulandığı başka bir çalışmada ise, *O. niloticus* farklı periyotlarda (1, 7, 15 ve 30 gün) adı geçen kimyasala maruz bırakılmış, deneme süresi sonunda SOD, CAT ve GPx aktiviteleri ile MDA seviyesinde artış olduğu bildirilmiştir (Durmaz ve ark., 2005). Dorval ve Hontela, (2003), yaptıkları çalışmalarında, bir organoklorlu pestisit olan endosulfanın farklı seviyelerdeki uygulama dozlarının *O. mykiss* enzim aktivitelerine bakmışlar, bu pestisit CAT, GST ve GPx aktiviteleri ile MDA seviyesini yükselttiğini bildirmişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanı

3.1.1. Lepistes (*Poecilia reticulata* Peters, 1859)

Tamaru ve ark. (2001)'na göre lepisteslerin sistematigi aşağıda verilmiştir.

Regnum: Animale

Subregnum: Metazoa

Phylum: Chordata

Subfilum: Vertebrata

Classis: Actinopterygii

Ordo: Cyprinodontiformes

Subordo: Cyprinodontoidea

Superfamily: Poecilioidea

Family: Poeciliidae

Subfamily: Poeciliinae

Genus: Poecilia

Species: *Poecilia reticulata* (Peters, 1859)

Lepistesler, Dünya'da en fazla dağılım gösteren tropikal balıklardan biridir. Antartika dışında bütün kıtalarda bulunmaktadır ve yayılımı devam etmektedir. Akvaryum balığı olarak ve sıtma vektörü sivrisineklere karşı yetiştirilmektedir. Lepisteslerin doğal dağılım gösterdikleri yerler: Trinidad, Venezuela, Guyana, Surinam, Tobago'dur. Özellikle Güney Amerika'nın kıyı kesimlerinde bulunan nehirlerde yoğunlaşmaktadır. Guppy olarak da bilinmektedir. Poeciliidae familyasına aittir. Bu familya, i döllenme, canlı doğurma, erkeklerde kopulasyon organı ve gonopodyum ile karakterize edilmektedir (Magurran,2005). Lepistes bentopelajik bir balık türüdür. Sadece erkeklerde renklilik görülmektedir. Dişi lepistesler erkeklere göre daha fazla büyümektedir. Erkeklerde gonopodyum çiftleşme organı biçiminde gelişmektedir. Dişilerde anüs bölgesinde gebelik beneği bulunmaktadır (Houde,1997). Sıcaklık ve suyun diğer fiziksel ve kimyasal özellikleri açısından oldukça geniş toleranslıdırlar.

Yetiştiricilik ve akvaryum koşullarında ortalama olarak 21-25°C 'de rahatlıkla hayatsal aktivitelerini sürdürebilirler. Ancak üretim sırasında su sıcaklığının 24-26°C arasında olmasında yarar vardır. Bu balıklar için suyun pH'sının 7, yani nötr veya nötre yakın, sertlik değerinin 9-19 dH (Alman sertliği) arasında değişmesi ve su sirkülasyonunun devamının sağlanması gerekir. Doğada bulunan türleri aynı zamanda az miktarda tuzluluğu da tolere edebilirler. Kuluçka akvaryumlarında 25°C su sıcaklığındaki ortalama kuluçka süresi 4-5 haftadır ve her 27-30 günde bir yavru bırakabilirler (Rodriuez,1997).



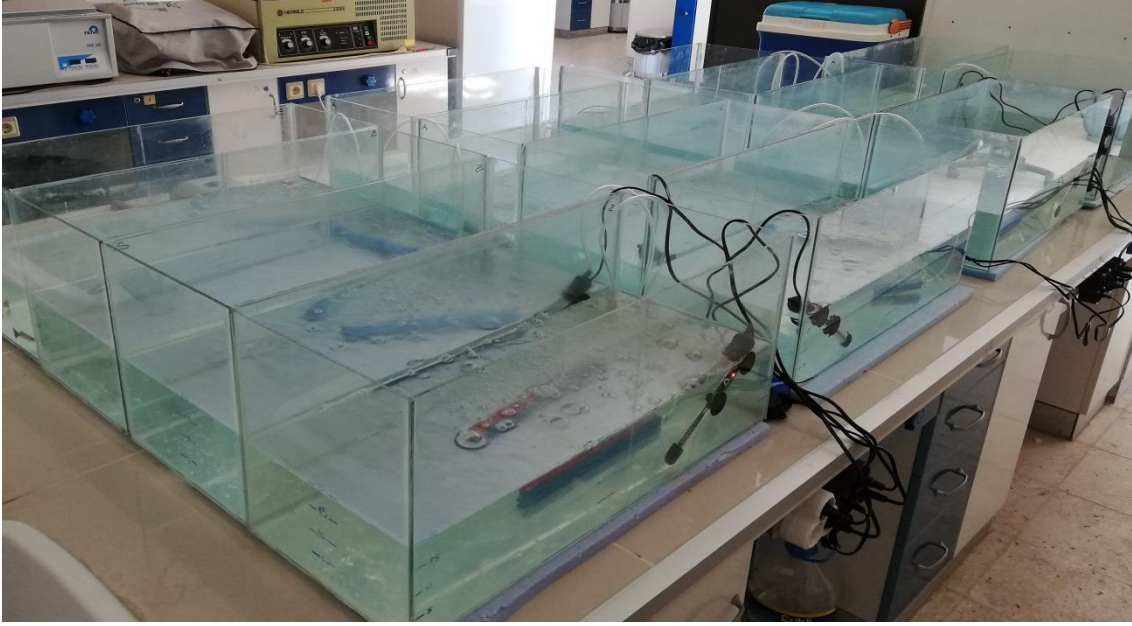
Şekil 3.1. Dişi Lepistes Balığı'nın genel görünümü.

Bu çalışmada *Poecilia reticulata* türüne ait balıklar, standart test balığı olması nedeniyle tercih edilmiştir (Greenberg ve ark., 1998). Ayrıca kimyasal karsinogen araştırmalarında omurgalı hayvan modellerinin ucuz olması ve boyutlarının küçük olması istenir. Bu hayvanlar daha hassas oldukları ve birden fazla kimyasalla çalışılmasına imkan sağladığı için çok tercih edilirler (Kissling ve ark., 2006). Çalışmada ortalama boyları 3.5-4 cm olan, sağlıklı, hastalık belirtisi ve davranışı

göstermeyen dişi lepistes balıkları İzmir'deki yerel yetiştiricilerden temin edilip kullanılmıştır.

3.2. Deney Ortamı

Denemeler, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarları'nda yürütüldü.



Şekil 3.2. Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araştırma Laboratuvarları deney ünitesi.

Denemede 48 saat dinlendirilmiş, havalandırılmış ve kloru giderilmiş şehir suyu kullanıldı. Deneyde kullanılan balıklar için optimum şartlar oluşturuldu. Akvaryumların su sıcaklıkları, termostatlı ısıtıcılar yardımı ile $24\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de tutuldu, hava motoru ile sürekli havalandırıldı, oksijen miktarının 7-8 mg/L olması sağlandı (Greenberg, 1998).

Deneyde kullanılacak balıklar, bol oksijen içeren poşetlerde laboratuvarımıza ulaştırıldı. Suya alışmaları için bir süre poşetlerindeki suyla boş bir kaba alındı, ince bir hortum vasıtasıyla daha önceden hazırlanmış akvaryum sularından damla damla 45

dakika boyunca su aktarılarak ortama uyumları sağlandı, daha sonra akvaryumlar içine konuldu (Bkz. Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. 24 saatlik sürelerde akvaryum suları analiz sonuçları

	0 SAAT	24 SAAT	48 SAAT	72 SAAT
Sıcaklık (°C)	22	24	23	24
Ph	8.59	8.34	8.32	8.26
Çözünmüş Oksijen seviyesi(mg/L)	7.58	7.26	7.19	7.31

3.3. Deneyde Kullanılan Kimyasal ve Diğer Materyaller

3.3.1. Deneyde kullanılan kimyasal

Araştırmada toksik madde olarak fluvalinate [(RS)-alfa-siyano-3-fenoksibenzil (R)-2-(2-kloro-4-(triflorometil)anilino-3-metil-butanat);RS)-alpha-Siyano-3- fenoksi benzil N-(2-kloro-alfa, alfa, alfa-trifloro-pitolil)-D-valinat; DL-Valin, N-(2-kloro-4-(triflorometil) fenil)-, siyano (3-fenoksifenil) metil ester] kullanıldı (Anonim,1996). Toksik madde 240 g/L etken madde içermektedir. Bir tarımsal ilaç tedarikçisinden (ADAMA Agricultural Solutions Ltd. İzmir-Türkiye) satın alındı.

3.1.2. Deney akvaryumları

Deneyde 45 cm derinliğinde 50 cm uzunluğunda 20 cm genişliğinde 8 adet cam akvaryum kullanıldı, akvaryumlar Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi'nden temin edildi. Deneylerde kullanılan akvaryumlar Zehirlilik Seyreltme Faktörü (ZSF) Tayini metodunda belirtilen ölçülere uygun cam akvaryumlardır (Anonim, 1971).

3.1.3. Deneyde kullanılan cihazlar ve malzemeler

Manyetik karıştırıcı, çalkalayıcı, vorteks, dijital hassas terazi, soğutmalı santrifüj, sıcak su banyosu, Ph metre, mikro pipet, derin dondurucu (-80 °C), spektrofotometre, homojenizatör, saf su cihazı, plastik tüp, termostatlı ısıtıcılar, hava motorları, hava hortumları, hava taşları ve akvaryumlar.

3.3.4. Deneyde kullanılan kimyasal ve anestezi maddeleri

SOD ve GSH-Px enzim kiti (RANSOD) ,H₂O₂, Potasyum dihidrojen fosfat(KH₂PO₄), Disodyum Hidrojen Fosfat(Na₂HPO₄), EDTA, Tris(Hidroksi metil amino metan hidroklorid tris HCl) , Hidroklorik asit (HCl), Beta Nikotinamid Adenin dinükleotit fosfat (NADPH) , 1,2 Dikloro nitrobenzoik asit (CDNB), Etanol, Sodyum klorür (NaCl), Sodyum dihidrojen fosfat (NaH₂PO₄), Bütillenmiş hidroksitolüen(BHT), Tiyobarbitürik asit (TBA), Triklor asetik asit(TCA), Sodyum hidroksit (NaOH), Metafosforik asit, Karanfil Yağı(%85-95 eugenol (4- ally-methoxyphenol-C₁₀H₁₂O₂), %5-15 isoeugenol ve methyleugenol).

3.4. Deney Dizayn ve Doku Örneklerinin Alınması

3.4.1. Deney hayvanlarının gruplandırılması

Deneyde her biri 10 dişi lepistes balığından oluşan biri kontrol olmak üzere dört farklı grup oluşturuldu. Balıklar gruplara rastgele dağıtıldı (Bkz. Çizelge 1.11).

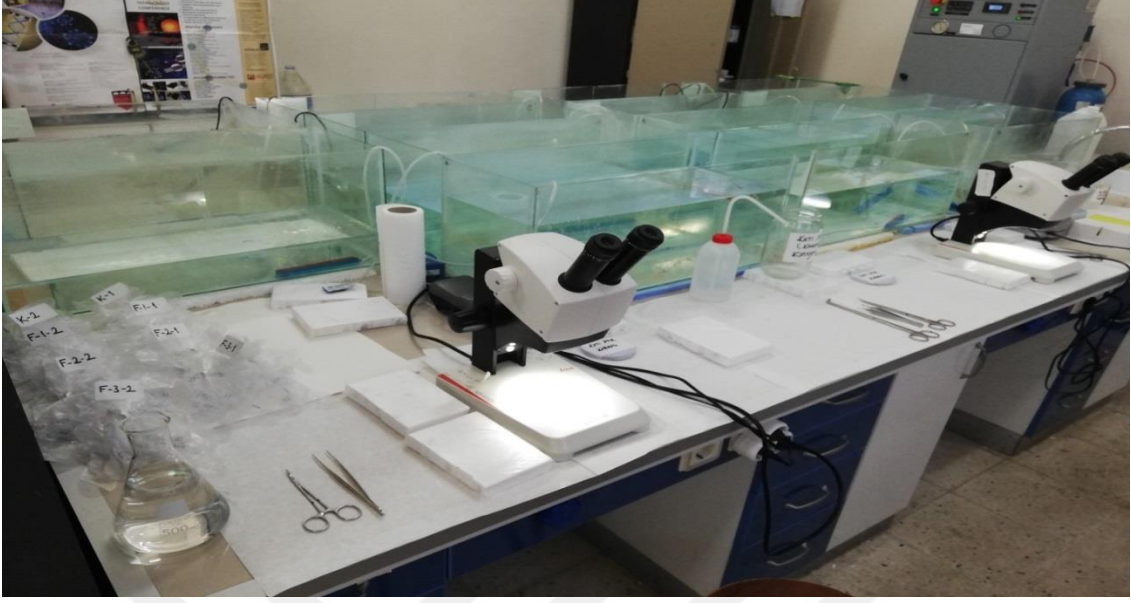
Çizelge 3.2. Deney hayvanlarının gruplandırılması

1. Grup (n=10)	Kontrol	Herhangi bir kimyasal muamele yapılmadı.
2. Grup (n=10)	FLV-1	1. Konsantrasyon dozu (0.0033 µg/L) uygulandı.
3. Grup (n=10)	FLV-2	2.Konsantrasyon dozu (0.0065 µg/L) uygulandı.
4. Grup (n=10)	FLV-3	3.Konsantrasyon dozu (0.063 µg/L) uygulandı.

Deney hayvanları deneye başlamadan önce havalandırılmış, dinlendirilmiş ve kloru giderilmiş şehir suyu bulunan akvaryumlara konularak 15 gün süreyle uyum sürecine tabi tutuldu. Balıklar günde en az bir defa standart yem (TetraMin^R) ile yemlendi. Deney süresince yemlemeye devam edildi. Deneye başlama tarihinden önceki dört gün içinde balıkların hastalanma ya da ölüm oranının %5'ten fazla olmamasına dikkat edildi (Moriarity, 1988).

3.4.2. Doku örneklerinin alınması

Deneyde her biri 10 dişi lepistes balığından oluşan biri kontrol olmak üzere dört farklı grup oluşturuldu. Kontrol grubu hariç, gruplara 96 saat boyunca 24 saatte bir 3 farklı konsantrasyonda (0.0033 µg/L, 0.0065 µg/L, 0.063 µg/L) kimyasal uygulandı. Deneme sonrasında balıklar karanfil yağı (%85-95 eugenol (4- ally-methoxyphenol-C₁₀H₁₂O₂), %5-15 isoeugenol ve methyleugenol) ile anestezi edildikten sonra diseksiyon ünitesinde, stereo mikroskop altında disekte edilerek karaciğer, kas ve solungaç dokuları alındı. Alınan dokular fizyolojik suyla yıkandı biyokimyasal analizlerin yapılacağı zamana kadar -80 °C' de muhafaza edildi. Yapılan deneysel çalışma bir kez tekrar edildi.



Şekil 3.3. Diseksiyon ünitesi ve stereo mikroskoplar.

Deney sonrası kullanılan hayvanların karkasları, diğer vücut atıkları, deneysel çalışmalar sırasında oluşan kimyevi atıklar ve kimyasalın uygulama esnasında bulaştırıldığı akvaryum suyu (kimyasalın yarılanma ömrü için gerekli zaman geçinceye kadar plastik bidonlarda muhafazası gerçekleştirildi) uygun bir şekilde ambalajlandıktan sonra tıbbi atık olarak imhası gerçekleştirildi.

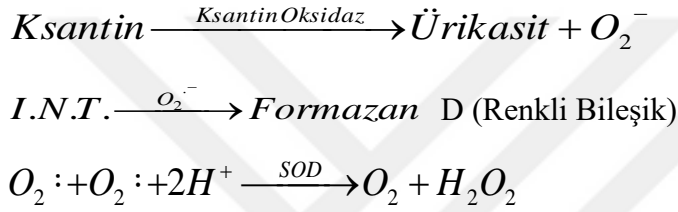
3.5. Doku Süpernatantların Eldesi

Dokularda antioksidan enzim ve malondialdehid tayinleri için karaciğer, kas ve solungaç doku ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi. Ekstraksiyon için 0.32 mol/L sukroz, 1 mmol/L EDTA, 10 mmol/L Tris HCl (pH 7.4) içeren tampon kullanıldı (Xia ve ark., 1994). 500 mg dokular üzerine 1,5 ml soğuk tampon eklendi. Dokular cam bagetle iyice ezilerek Ultrasonic Processor homojenizatörde 5 dakika homojenize edildi. Ekstrakt hemen +4 °C'de 30 dakika 9500 rpm'de BHG Hermler soğutmalı santrifüj cihazında santrifüj edildi. Karaciğer, kas ve solungaç dokusundan elde edilen berrak süpernatantlar hedeflenen SOD, CAT, GSH-Px, enzim aktiviteleri ve MDA düzeylerinin analizleri için kullanıldı.

3.6. Analizlerin Yapılması

3.6.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim tayini

Prencip: Bu metotla aşağıdaki formülde görüldüğü gibi ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksit radikali, 2-(iyodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolyum klörür (INT) ile kırmızı boya formuna dönüşür. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülecektir (McCord ve Fridovich, 1969).



Ayırçlar Konsantrasyonları

1. Karışık Substrat

Ksantin	0.05 mmol/l
I.N.T.	0.025 mmol/l
2. Tampon	
CAPS	40 mmol/l pH 10.2
EDTA	0.94 mmol/l
3. Ksantin Oksidaz (XO)	80 U/l
4. Standart	5.70/ml

Deneyin yapılışı: SOD enzim aktivitesi Randox-Ransod enzim kiti ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 505 nm'de 37 °C'de ölçüldü (Randox Lab., 2013a). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80 °C) muhafaza edilen doku süpernatantları kullanıldı.

Çizelge 3.2. SOD ayıracıları ve numunenin küvete pipetlenme oranları

	StandartS1(µL)	Standart S2 (µL)	Örnek (µL)	Kontrol (µL)
Sulandırılmış Ransod Ör.	15 µL	-----
Standart	-----	15 µL	-----	-----
Suland Ör.	-----	-----	15 µL	-----
Sulandırılmış Kontrol	-----	-----	-----	15 µL
Karışık Substrat (R1)	500 µL	500 µL	500 µL	500 µL
Ksantin Oksidaz (R2)	75 µL	75 µL	75 µL	75 µL

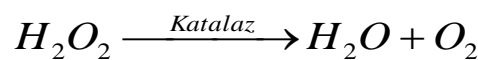
İçerik karıştırılarak ilk absorbans A_1 30 saniye sonra okundu ve eş zamanlı olarak zaman başlatılarak son absorbans A_2 3 dakika sonra okundu. Spektro fotometreden alınan optik dansite sonuçları aşağıdaki "Eş.3.1" de yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları hesaplandı.

$$100 - \frac{(\Delta A_{StdDk} \times 100)}{(\Delta A_{BlankDk})} = \% \text{İnhibisyon} \quad 100 - \frac{(\Delta A_{ÖrnekDk} \times 100)}{(\Delta A_{BlankDk})} = \% \text{İnhibisyon} \quad (3.1)$$

SOD enzim aktivitesinin hesaplanması için standart grafiği elde edildi. Standart grafikten elde edilen $y = 48.85 \ln(x) - 12.218$ formülü ile sulandırma faktörü de hesaba katılarak SOD aktivitesi U/g doku olarak hesaplandı.

3.6.2. Katalaz (CAT) enzim tayini

Prencip: Enzim aktiviteleri süpernatantlarda ölçüldü. Katalaz enziminin aktivite tayini, 37°C 240 nm'de H_2O_2 'in tüketilme esasına dayanan spektrofotometrik metoda göre gerçekleştirilmektedir (Aebi, 1974). Katalaz, aşağıdaki reaksiyona göre H_2O_2 'in suya ve oksijene ayrılmasını katalizler.



Katalaz tarafından H_2O_2 'in dekompoze olma oranı, spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda ölçülür. Çünkü H_2O_2 , ışığı bu dalga boyunda absorbe etmektedir. Kullanılan solüsyonlar aşağıdaki tablodaki gibi hazırlanarak fosfat tamponları hazırlanır.

Çizelge 3.3. CAT Fosfat Tamponu kimyasal içeriklerinin hazırlanışı (pH:7.5)

Kimyasal	MA(g/mol)	50 Mm(g)	Son Hacim dH ₂ O(mL)	Solüsyon adı
KH ₂ PO ₄	136.09 g/mol	6.805gr	1000mL	A
Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O	358.14 g/mol	17.907 gr	1000 mL	B ₁
Na ₂ HPO ₄ .2H ₂ O	178.14 g/mol	8.907 gr	1000 mL	B ₂
Na ₂ HPO ₄ (saf)	141.96 g/mol	7.098 gr	1000 mL	B ₃

Hazırlanan fosfat tampon solüsyonları aşağıdaki tabloda olduğu gibi karıştırılarak hazırlanır.

Çizelge 3.4. CAT fosfat tamponu kimyasal içeriklerinin eklenme oranları

50 mM Fosfat tamponu (1 L)	A Solüsyonu (mL)	B Solüsyonu (mL)
pH 7.5 için	160	840

H_2O_2 Çözeltisi ise; Absorbansı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan H_2O_2 'li fosfat tamponudur. H_2O_2 'li fosfat tamponu şu şekilde hazırlanmaktadır; Yaklaşık 300 mL, pH 7.50 mM olan fosfat tamponu renkli kaba (plastik, cam olabilir) aktarılmaktadır. Spektrofotometre 240 nm'de fosfat tamponuna göre sıfırlanmaktadır. Renkli kaptaki tampona Optik Dansite (OD) 0.500 nm oluncaya kadar 10-20 μ L hacimlerle H_2O_2 ilâve edilerek arada karıştırılır.

Deneyin yapılışı: H_2O_2 'li çözeltiye numune ilâvesi yapıldıktan sonra kuartz küvetin ağzı bekletilmeden kapatıldı ve hemen küvet alt-üst edilip absorbans okundu.

Her 15 sn'de bir defa olmak üzere 5 dakika süre ile absorbanstaki azalma tespit edildi. Lineer azalma tespit edilirse okuma bitirilebilir. Hesaplama 1 dakikalık lineer absorban azalmasının en yüksek (OD₁) ve en düşük (OD₂) değerleri esas alınarak hesaplama yapıldı.

Çizelge 3.5. CAT tampon ve örneklerinin pipetlenme oranları

	Kör (mL)	Numune (mL)
Fosfat Tamponu	2.99	-
H ₂ O ₂ çözeltisi	0.01	-
H ₂ O ₂ 'li fosfat tamponu	-	2.99
Süpernatant	-	0.01

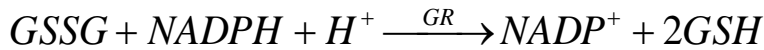
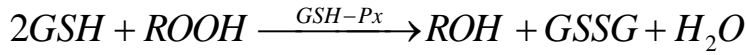
Hesaplama

$$K = \{ [2.3 \times \log (OD_1 / OD_2)] / \Delta t (\text{sn}) \} \quad (3.2)$$

“Eş.3.2” ile hesaplanarak katalaz aktivitesi dokular için U/g doku olarak hesaplandı.

3.6.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enzim tayini

Prencip: Glutasyon peroksidaz, kümen hidroperoksitin GSH varlığında indirgenmesini katalizler. Kümen hidroperoksidin indirgenmesiyle oluşan glutasyonun formu GSSG, GR ve NADPH varlığında NADPH'ın NADP⁺'ye yükseltgenmesiyle redükte forma dönüşmekte ve enzim aktivitesi, 340 nm'de absorbanstaki değişime göre tayin edilir (Paglia ve Valentine, 1967).



Ayır�a�lar	Konsantrasyonları
1. Ayır�a� (R1a)	
Glutasyon	4.0 mmol/l
G. Red�ktaz	≥ 0.5 U/l
NADPH	0.34 mmol/l
2. Tampon (R1b)	
Fosfat	0.05 mol/l pH 7.2
EDTA	4.3 mmol/l
3. Kumen Hidroperoksit (R2)	0.18 mmol/l
4. Sulandırma Ayır�acı (R3)	

Deneyin yapılışı: Glutasyon peroksidaz enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 340 nm'de ultraviyole metotla 37 °C'de  l ildi (Randox Lab., 2013b). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar derin dondurucuda (-80°C) muhafaza edilen doku süpernatantları kullanıldı. Sulandırma oranları da hesaba katılarak sonuçlar tüm dokuda U/g doku olarak hesaplandı.

Çizelge 3.6. GSH-Px ayır aları ve numunenin küvete pipetlenme oranları

	Sulandırılmış �rnek (�L)	Ayır�a� K�r� dH�O (�L)
�rnek veya dH�O	100	100
Ayır�a� (R1)	500	500
Kumen (R2)	200	20

Küvetler karıştırılarak, örnek ve k r n absorbanları 1 dakika sonra  l ildi. Zaman başlatılmasından 1 ve 2 dakika sonra absorbanlar tekrar okunarak dakika absorban değişimi hesaplandı.

Hesaplama: Örnek ve körün U/g tüm doku sonuçları için, örnek değerden (U/g), kör değeri (U/g) çıkarıldı. Sulandırma faktörde hesaba katılarak sonuçlar tüm dokuda U/g doku olarak hesaplandı.

3.6.3. Lipid peroksidasyon (MDA) tayini

Prensip: Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit (MDA), tiyobarbiturik asit (TBA) ile renkli forma girmesi ile ölçülür. (Jain ve ark., 1989).

Ayrıçlar

1. EDTA Çözeltisi (0.1 M) : 37.224 g EDTA- $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 1 litre distile suda eritildi.
2. BHT Çözeltisi (%88) : 0.220g BHT 25ml mutlak alkolde çözünmesi sağlandı.
3. NaOH Çözeltisi (0.05 N) : 2 g NaOH 1 litre distile suda çözdürüldü.
4. TBA Çözeltisi (%1) : 1 g TBA 100 ml'ye 0.05N NaOH ile tamamlandı.
5. TCA (% 30) : 30 g TCA 100 ml distile suda çözdürüldü.
6. Fosfat Tamponu : 8.1 g NaCl, 2.302 g Na_2HPO_4 , 0.194 g NaH_2PO_4 distile suda eritilerek 1 litreye tamamlandı. (pH 7.4).

Deneyin yapılışı: Lipid peroksidasyon ürünü MDA seviyesi, TBA reaktifi ile renk reaksiyonu sonucu Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede maksimum 532 nm'de absorbanslar ölçüldü. Bir tüpe ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku süpernatantlarından 200 µl alınarak üzerine 800 µl fosfat tamponu ve 25 µl BHT ile süspanse edildi. Sonra 500 µl % 30'luk TCA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırılarak 2 saat -20 °C'de buzdolabında tutuldu. Sonra 15 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantın 1 ml'si alınarak başka tüplere aktarıldı. Bunların üzerine 75 µl EDTA $\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$, 250 µl TBA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırıldıktan sonra 15 dakika sıcak su banyosunda (90 °C) tutuldu. Sonra oda ısısına getirilerek 532 nm'de optik dansiteleri okundu. (Jain ve ark., 1989).

$$A = a \times b \times c \quad (3.3)$$

A = Absorbans, a= Ekstinksiyon katsayısı, b= Işık yolu, c= Konsantrasyon

$$1. \text{Sulandırma: } 0.2 + 0.8 + 0.025 + 0.5 = 1.525 / 0.2 = 7.625$$

$$2. \text{Sulandırma: } 1 + 0.075 + 0.25 = 1.325 / 1 = 1.325$$

$$\text{Sonuç} = 7.625 \times 1.325 = 10.103125 = F$$

$$c = A/a \times b = (A/\text{mol} \times \text{cm}) / (1.56 \times 10^5 \times \text{lt}) \times (1/\text{cm}) \times (10^9 \text{ nM/mol}) \times (\text{lt}/10^3 \times \text{ml})$$

$$c = A \times 1 \times F \times 10 / 1.56 = \text{nmol/g doku olarak hesaplandı.}$$



4. BULGULAR

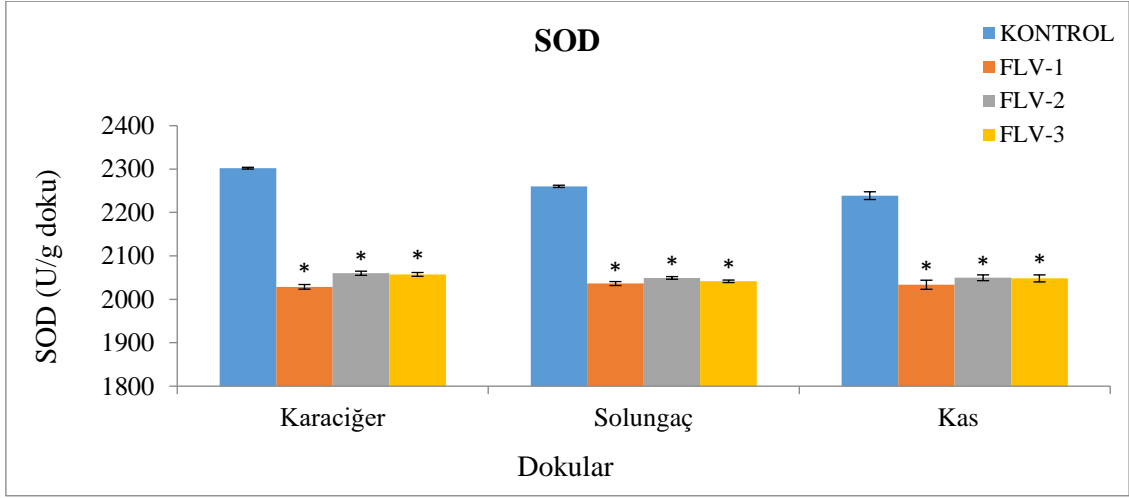
Fluvalinate ile yapılan deneme süresi boyunca (96 saat), balıklar günde bir kez (her gün aynı saatte) yem kısıtlaması yapılmadan, tüketebilecekleri oranda standart yemle beslendi. Fluvalinate'nın suda yarı ömrü 24 saat olduğundan (Anonim, 2005), kontrol grubu hariç uygulama gruplarına 24 saatte bir üç farklı sub-lethal konsantrasyonda (0.0033 µg/L, 0.0065 µg/L, 0.063 µg/L) bu kimyasal uygulandı. Deneme süresi sonunda karanfil yağı (%85-95 eugenol (4- ally-methoxyphenol- C₁₀H₁₂O₂), %5-15 isoeugenol ve methyleugenol) ile anesteziye alınan balıkların karaciğer, kas ve solungaç dokuları alınarak SOD, CAT, GSH-Px enzim aktiviteleri ile MDA düzeyleri belirlendi.

4.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Çizelge 4.1. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki SOD aktivite düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları)

SOD					
Uygulama süresi 96 saat	DOKULAR	KONTROL X ± SEM	FLV-1 X ± SEM	FLV-2 X ± SEM	FLV-3 X ± SEM
	Karaciğer U/g	2302.18±1.96	2028.83±5.35*	2060.09±4.81*	2057.44±4.37*
Solungaç U/g	2260.30±2.52	2036.41±4.51*	2049.37±3.05*	2041.58±2.90*	
Kas U/g	2238.77±8.94	2033.61±10.48*	2049.65±6.65*	2048.17±8.12*	

*Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır (p ≤ 0.05).



Şekil 4.1. Fluvalinate'nin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki SOD aktivite düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları). *Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).

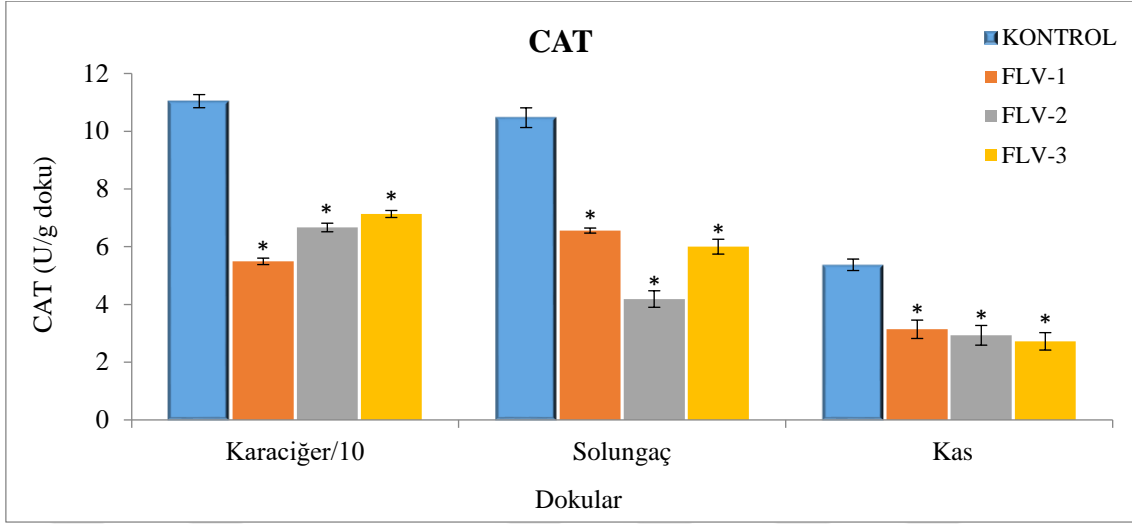
Çizelge 4.1.'e göre karaciğer, solungaç ve kas dokusu SOD aktivite değerlerinde Kontrol grubuna göre; FLV-1, FLV-2, FLV-3 gruplarındaki azalma anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$).

4.2. Katalaz (CAT)

Çizelge 4.2. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki CAT aktivite düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları)

		CAT			
		KONTROL	FLV-1	FLV-2	FLV-3
Uygulama süresi 96 saat	DOKULAR	X ± SEM	X ± SEM	X ± SEM	X ± SEM
	Karaciğer U/g	110.41±2.27	54.93±1.12*	66.65±1.49*	71.33±1.21*
	Solungaç U/g	10.46±0.34	6.56±0.08*	4.18±0.28*	6.00±0.25*
	Kas U/g	5.37±0.19	3.14±0.31*	2.93±0.34*	2.72±0.30*

*Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



Şekil 4.2. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki CAT aktivite düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları). *Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).

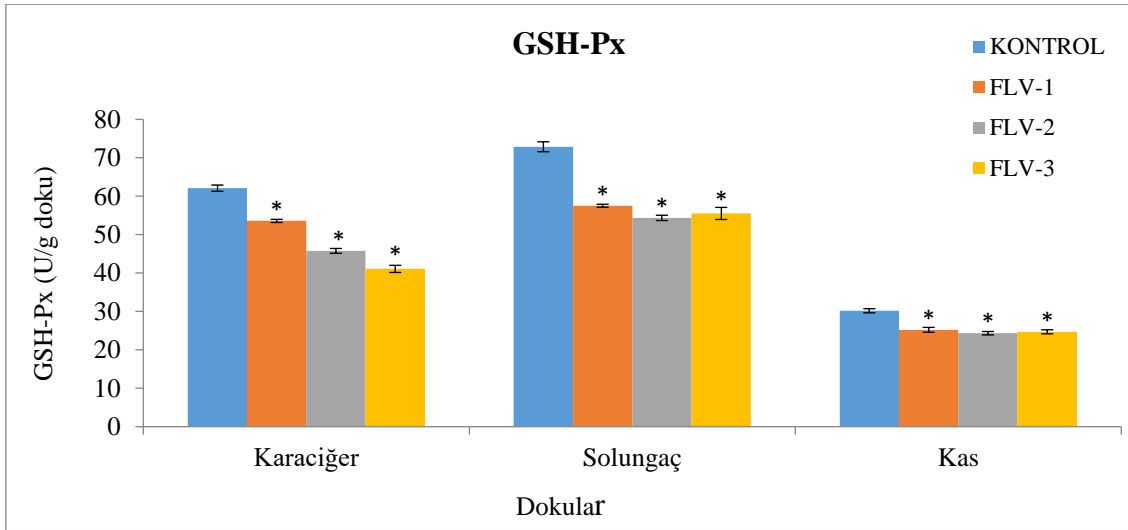
Çizelge 4.2.'e göre karaciğer, solungaç, kas dokusu CAT aktivite değerlerinde Kontrol grubuna göre; FLV-1, FLV-2, FLV-3 gruplarındaki azalma anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$).

4.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

Çizelge 4.3. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki GSH-Px aktivite düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları)

		GSH-Px			
		KONTROL	FLV-1	FLV-2	FLV-3
Uygulama süresi 96 saat	DOKULAR	X ± SEM	X ± SEM	X ± SEM	X ± SEM
	Karaciğer nmol/g	62.10±0.82	53.57±0.40*	45.77±0.62*	41.08±0.92*
	Solungaç nmol/g	72.88±1.29	57.53±0.38*	54.36±0.69*	55.52±1.57*
	Kas nmol/g	30.18±0.54	25.21±0.63*	24.33±0.44*	24.70±0.52*

*Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



Şekil 4.3. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki GSH-Px aktivite düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları). *Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).

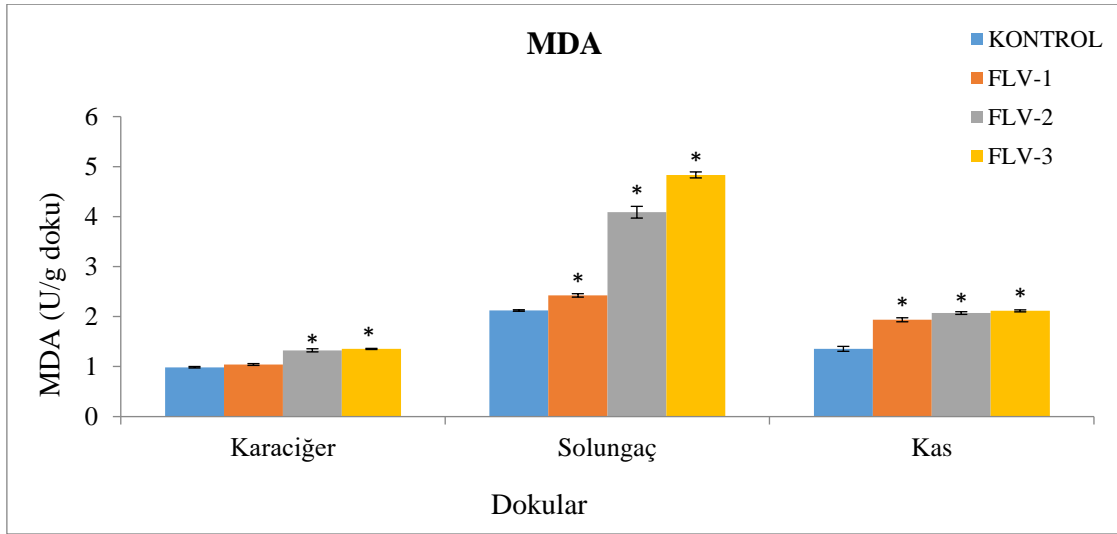
Çizelge 4.3.'e göre karaciğer, solungaç, kas dokusu GSH-Px aktivite değerlerinde Kontrol grubuna göre; FLV-1, FLV-2, FLV-3 gruplarındaki azalma anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$).

4.4. Malondialdehit (MDA)

Çizelge 4.4. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları)

		MDA			
		KONTROL	FLV-1	FLV-2	FLV-3
Uygulama süresi 96 saat	DOKULAR	X ± SEM	X ± SEM	X ± SEM	X ± SEM
	Karaciğer nmol/g	0.98±0.01	1.04±0.01	1.32±0.03*	1.35 ± 0.01*
	Solungaç nmol/g	2.12±0.01	2.42±0.03*	4.08±0.11*	8.83±0.06*
	Kas nmol/g	1.35±0.04	1.93±0.04*	2.07±0.02*	2.11±0.02*

*Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).



Şekil 4.4. Fluvalinatenin sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik uygulama sonrası *Poecilia reticulata*'nın çeşitli dokularındaki MDA düzeyleri (iki tekerrürlü deney ortalamaları). *Kontrol grubu ile FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları arasındaki fark anlamlıdır ($p \leq 0.05$).

Çizelge 4.4.'e göre karaciğer FLV-2, FLV-3 gruplarında MDA düzeyindeki artış anlamlı bulunurken ($p \leq 0.05$), FLV-1 grubunda ise artış anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$). Solungaç, kas dokularında ise FLV-1, FLV-2, FLV-3 grupları MDA düzeyindeki artış kontrol grubuna göre anlamlı bulundu ($p \leq 0.05$).



5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Pestisit toksisitesi serbest radikallerin oluşmasını ve lipid peroksidasyonuna neden olan oksidatif stresi indükleyebilir (Agrawal ve ark., 1991; Kehrer, 1993; Almeida ve ark.,1997; Köprücü ve ark., 2008). Sentetik pretroid gibi pestisitler, biyolojik bozunma süreleri kısa ve organizmalarda birikme eğilimlerinin düşük olmasından dolayı tarımsal faaliyetlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Laskowski, 2002). Organofosfatlar(OP) başta olmak üzere bir takım pestisitlerin kullanımına dair yasak ve kısıtlamalar da sentetik piretroidlerin kullanımını arttırmıştır. Diğer pestisitlere nazaran doğada bulunma süresi daha az olan bu insektisitler memelilere ve kuşlara toksisitesi az olmasına rağmen, hedef olmayan sucul organizmalar üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri endişe oluşturmaktadır (Elia ve ark., 2017). Artan lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres, bu durumun hassas göstergeleri olarak bilinen bir dizi koruyucu enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanın aktivitesini etkileyebilir. Organizmaların tamamında, reaktif oksijen türleri detoksifikasyon işleminde görev alan temel antioksidan enzimler, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT) ve (GSH) gibi diğer düşük molekül ağırlıklı temizleyicilerdir (Storey, 1996; Droge, 2002).

Bu çalışmada fluvalinate'nin sebep olduğu oksidatif hasara karşı koruyucu etkiye sahip antioksidan enzim aktiviteleri (SOD, CAT, GSH-Px) ve zar yapılarında serbest radikallerin sebep olduğu kalıcı hasar oluşturan LPO'nun son ürünü olan MDA seviyeleri balıkların karaciğer, kas ve solungaç dokularında değerlendirilmiştir.

Süperoksit anyonunun hidrojen peroksit'e dönüşmesini katalizleyen SOD ile hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüşümünü katalize eden CAT ve GSH-Px toksikolojik etkilere karşı ilk savunma hattını oluştururlar ve bu enzimler toksisitenin belirlenmesinde biyobelirteçler olarak kullanılırlar (Pandey ve ark., 2003). SOD'un fizyolojik görevi metabolizma sırasında elektron taşıma sisteminden sızan oksijen radikallerinin hücrelerin membran yapılarının lipid peroksidasyonunu önlemektir. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler mortalitesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, oksijen kullanımının fazla olduğu dokularda fazladır. SOD hücre dışı aktivitesi çok düşüktür (Ihara ve ark., 2005; Lushchak ve Bagnyukova, 2006). Soğuk bölgelerde

yaşayan balıklarda SOD aktivitesi sıcak bölgelerde yaşayan balıklara oranla daha fazladır (Abele ve Puntarulo, 2004). CAT enzimi yapısında Fe^{+3} bulunduran 4 hem grubundan oluşmuş, peroksizomlarda yer alan bir hemoproteindir. Hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene dismutasyonunu katalizleyen CAT; eritrosit, karaciğer ve böbrekte yoğun olarak bulunan bir antoksidan enzimdir (Young ve Woodside, 2001). GSH-Px, her biri yapısında selenosistein içeren 4 alt birimden oluşan tetramerik bir enzimdir. Hidroperoksitlerin veya hidrojen peroksitin GSH tarafından indirgenmesi tepkimesini katalizler. Redükte glutasyonu yükseltirken H_2O_2 'i de suya çevirir ve böylece membran lipid yapısını ve hemoglobini oksidan strese karşı korur (Knapen ve Ark., 1999; Akkuş ve ark., 1996).

Oksidan - antioksidan durumun ölçülmesine dair sazanlar (*Cyprinus carpio*) üzerinde deltametrin (DM) 'nin oksidatif hasarına karşı likopen'in iyileştirici özelliklerini araştırdıkları bir çalışmada karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında antioksidan enzim (SOD, CAT ve GSH-Px) aktivitelerinde belirgin ölçüde azalma olduğu bildirilmiştir (Yonar ve Sakin, 2011). Stara ve ark., (2012), Yaygın olarak kullanılan bir s-triazin herbisit olan simazin'in, sazanlarda (*Cyprinus carpio*) antioksidan sistem ve oksidatif stres indeksleri üzerindeki kronik etkisini araştırdıkları bir çalışmada 14, 28 ve 60 gün boyunca simazin'in düşük ölümcül konsantrasyonlarına maruz bırakılan balıkların 14. ve 28. Günlerde, solungaç, kas ve karaciğer dokularında antioksidan aktivitenin (SOD, CAT, GPx) artışını adaptasyon olarak belirtmiş fakat 60 günlük maruziyet sonrası artan ROS üretiminin antioksidan kapasitenin inhibisyonuna yol açarak azaldığını bildirmişlerdir. Vektörlerle mücadelede yoğun olarak kullanılan deltametrinin, Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) nın karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında oksidatif stres seviyesi ve bu duruma bağışıklık düzenleyici etkileri ile beraber antioksidan potansiyelininde olduğu düşünülen *Spirulina platensis*'in oksidatif stres üzerindeki koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada deltametrin toksisitesinin enzimatik antioksidanlardan GSH-Px, SOD ve CAT aktivite düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düştüğü bildirilmiştir (Abdelkhalek ve ark., 2015). Bunun yanında Figueiredo-Fernandes ve ark., (2006), paraquatın, Nil tilapyası (*O. niloticus*)' nın bazı dokuları üzerinde oksidatif stres ve antioksidan enzimler üzerine

etkisini inceledikleri çalışmalarında ise adı geçen herbisitlerin SOD, GST ve GR aktivitelerinde artışa sebep olduğunu kaydetmişlerdir. Amin ve Hashem, (2012), organoklorinler ve organofosfatlar ile kıyaslandığında daha düşük çevresel kalıcılığı ve toksisiteyi nedeniyle yoğun olarak kullanılan deltametrinin, yayın balığı (*Clarias gariepinus*) nın karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında oksidatif stres seviyesi, askorbik asit düzeyinin deltametrin kaynaklı oksidatif stres üzerindeki koruyucu etkisini araştırdıkları bir çalışmada Deltametrin grubunda katalaz aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede azaldığını ve bu önemli azalmanın, CAT aktivitesini azalttığı bildirilen süperoksit radikallerinin artışına bağlanabileceğini bildirmişlerdir. Oruç ve Usta, (2007), yapmış oldukları bir çalışmada oksidatif yıkıma neden olduğu düşünülen bir organofosfat insektisit olan diklorvoslara maruz kalan sazan (*C. carpio*) ve yayın balıklarının (*Ictalurus nebulosus*) bazı dokularında CAT aktivitelerinde düşüş olduğunu bildirmişlerdir. Diazinon'un *C. carpio*'nun kas dokusunda CAT aktivitesinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu ve balık türleriyle ilgili yapılan çeşitli çalışmalarda, pestisit sebepli toksik etkilerin CAT aktivitesinin inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Orun ve ark.,2008; Yonar ve Sakin, 2011). Sipermetrine maruz bırakılarak oksidatif stres oluşturulan Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda propolis oksidatif hasara karşı koyucu ve antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada alabalıkların dalak ve kalp dokularında sipermetrin maruziyeti sonrası katalaz (CAT) aktivitelerinde azalma olduğu belirtilmiştir (Aldemir ve ark., 2014).

Bu çalışmanın, lepistes balıklarına ait karaciğer, solungaç ve kas dokusu antioksidan enzim (SOD, CAT, GSH-Px) aktivite değerleri Çizelge 4.1., 4.2., 4.3.'de verilmiştir.

Bu verilere göre; FLV-1, FLV-2, FLV-3 gruplarında karaciğer, solungaç ve kas SOD, CAT, GSH-Px enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma ($p \leq 0.05$), fluvalinate'nin toksik etkisinden kaynaklı oksidatif strese bağlı aşırı ROS üretilmesinin, DNA hasarına ve antioksidan kapasitenin inhibisyonuna sebep olduğu söylenebilir.

Pestisit kaynaklı toksisitenin moleküler düzeydeki önemli etkilerinden biri de hücre zarlarında yapısal ve işlevsel bütünlüğün bozulmasına neden olan lipid

peroksidasyonuna yol açmasıdır. Bu durum oksidatif stresin önemli belirteçlerinden biridir. Hücre zarlarının yapısal ve işlevsel bütünlüğünün bozulmasına neden olan lipid peroksidasyonu malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesiyle gösterilebilmektedir (Toroser ve ark., 2007). Yonar ve Sakin, (2011), oksidan-antioksidan durumunun ölçülmesine dair sazanlar da (*Cyprinus carpio*) bir pestisit olan deltametrin'in oksidatif hasarına karşı likopen'in iyileştirici özelliklerini araştırdıkları bir çalışmada karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında MDA düzeylerinin önemli ölçüde yükseldiğini bildirmişlerdir.

Nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*) üzerinde, tarımsal savaşta yoğun olarak kullanılan deltametrinin, oksidatif stres seviyesi ve bu duruma bağışıklık düzenleyici etkileri ile beraber antioksidan potansiyelinde olduğu düşünülen *Spirulina platensis*'in oksidatif stres üzerindeki koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, deltametrin toksisitesinin karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında lipid peroksidasyonuna neden olarak MDA düzeylerini arttırdığı bildirilmiştir (Abdelkhalek ve ark., 2015). Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nda sipermetrinin oksidatif streste rolü ve propolisin oksidatif hasara karşı koyucu ve antioksidan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada alabalıkların bazı dokularında sipermetrin maruziyeti sonrası MDA seviyelerinde artış olduğu belirtilmiştir (Aldemir ve ark., 2014). Yayın balığı (*Clarias gariepinus*) üzerinde, diğer pestisitlerle ile kıyaslandığında daha düşük çevresel kalıcılığı ve toksisiteleri nedeniyle yoğun olarak kullanılan deltametrin uygulamasının, oksidatif stres seviyesi ve a-tokoferolün deltametrin kaynaklı oksidatif stres üzerindeki koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada deltametrin grubunun kontrol grubuna göre karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında MDA seviyesinin anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir (Amin ve Hashem, 2012).

Yaptığımız bu çalışmada, çizelge 4.4.'e göre karaciğer FLV-2, FLV-3; solungaç ve kas dokularında FLV-1, FLV-2, FLV-3 MDA değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış ($p \leq 0.05$) gözlemlendi. Bu durum detoksifikasyon işlevinde önemli derecede rol oynayan bir organ olan karaciğerde serbest oksijen radikallerinin arttığı ve oksidatif stresten dolayı hücre membranlarında hasar oluşturduğunun bir göstergesi olabilir. Solungaçların ise toksik madde maruziyetinde ilk hedef organ olması ve toksik

maddeyi emilim hızının yüksek olması bu organlarda oluşabilecek oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonunu arttırdığı düşünülebilir. Deltametrin'e maruz kalan balıklarda yüksek toksik etki ve oksidatif hasarın özellikle solungaçlarda fazla olmasının nedeninin solungaçların bu pestisit maruziyetinde etkilenen birincil yerler olması ve deltametrinin solungaçlar tarafından emilim hızının yüksek olması ve balıklarda detoksifikasyon işleminden sorumlu enzimlerin yetersiz kalmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Sayeed ve ark., 2003; Kochhann ve ark., 2009). Balıkların kas dokularında bulunan önemli prooksidanlar yapısında hem olan ve olmayan pigmentler, kompleks demir, ferritin, mitokondri-sarkoplazmik retikulum enzim sistemi, NADH (nikotinamid adenin dinüleotid hidrojenaz) ve lipoksijenaz'dır. Özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), proteinler, DNA ve bazı renk pigmentleri, prooksidanların etkisi altındadır (Filho, 1996; Orbea ve Ark., 2000; Abele ve Puntarulo, 2004; Ögüt, 2005; Piner, 2005; Borazan Özkurt, 2006). Bu durumun kas dokusunda fluvalinate toksisitesi ile oluşan reaktif oksijen türlerinin lipid peroksidasyonu tetikleyerek MDA seviyelerinde artışına sebep olduğu düşünülebilir.

Sonuç olarak; elde ettiğimiz bulgular sentetik bir pretiroid olan fluvalinate'ın, farklı stres biyobelirteci olan antioksidan enzimlerinin spesifik aktivitelerinde değişikliklere ve farklı sub-lethal konsantrasyonlarının 96 saatlik kısa sürede bile moleküler düzeyde önemli etkiler oluşturarak hücre zarlarının yapısal ve işlevsel bütünlüğünün bozulmasına neden olan lipid peroksidasyonuna yol açabileceğini göstermiştir. Bu çalışma, *Poecilia reticulata*'daki oksidatif stresin fluvalinate tarafından indüklendiğini göstermektedir.



KAYNAKLAR

- Abdelkhalek, N. K., Ghazy, E. W., Abdel-Daim, M. M., 2015. Pharmacodynamic interaction of Spirulina platensis and deltamethrin in freshwater fish Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*: impact on lipid peroxidation and oxidative stress. *Environmental Science and Pollution Research*, **22**(4): 3023-3031.
- Abele, D., Puntarulo, S., 2004. Formation of reactive species and induction of antioxidant defence systems in polar and temperate marine invertebrates and fish, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* **138**: 405– 415.
- Abuja, P. M., Albertini, R., 2001. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, **306**(1-2): 1-17.
- Aebi, H., 1974. Catalase, In Methods of Enzymatic Analysis (Bergemeyer, H U., ed) *Academic Press*, **673-684.**, New York-London.
- Agrawal, D., Sultana, P., Gupta, G. S. D., 1991. Oxidative damage and changes in the glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclohexane. *Food and Chemical Toxicology*, **29**(7): 459-462.
- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M., Raisuddin, S., 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, **1523**(1): 37-48.
- Akkuş, İ., Kalak, S., Vural, H., Çağlayan, O., Menekşe, E., Can, G., Durmuş, B., 1996. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clinica Chimica Acta*, **244**(2): 221-227.
- Akkuş, İ., 1995. *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. Mimoza Yayınları, Konya, 1.
- Akman, Y., Ketenoğlu, O., Evren, H., Kurt, L., Düzenli, S., 2000. *Çevre Kirliliği (çevre biyolojisi)*. Palme Yayıncılık, 274.
- Aldemir, O. S., Selamoğlu, Z., Gulhan, M. F., Cakır, O., Ozdemir, I., Dastan, S. D., Dogan, H., 2014. Role of propolis on oxidative stress in various tissues of fish. *Fresenius Environmental Bulletin*, **23**(12): 3546-3550.
- Alderton, W. K., Cooper, C. E., Knowles, R. G., 2001. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. *Biochemical Journal*, **357**(3): 593-615.
- Almeida, M. G., Fanini, F., Davino, S. C., Aznar, A. E., Koch, O. R., Barros, S. D. M., 1997. Pro-and anti-oxidant parameters in rat liver after short term exposure to hexachlorobenzene. *Human & Experimental Toxicology*, **16**(5): 257-261.
- Altınışık, M., 2006. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar, *ADÜ. Tıp Fakültesi Biyokimya AD Eğitim Semineri, Aydın*.
- Amin, K. A., Hashem, K. S., 2012. Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol. *BMC Veterinary Research*, **8**(1): 45.
- Anonim, 1971. Standart methods for the examination of water and wastewater. *APHA, AWWA, WPCF*, Washington.

- Anonim, 1996. Fluvalinate, <http://extoxnet.orst.edu/pips/fluvalin.htm>, Erişim tarihi: 06.012.2019.
- Anonim, 2005. Enviromental Protection Agency,Pesticide Fact Sheet Number 86, Fluvalinate, *Office of Pesticides and Toxic Substances*, Washington, DC, 2-39.
- Apra, C., Colosio, C., Mammone, T., Minoia, C., Maroni, M. 2002. Biological monitoring of pesticide exposure: a review of analytical methods. *Journal of Chromatography B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, **769**: 191– 219.
- Bainy, A.C.D., Saito, E., Carvalho, P.S.M., Junqueira, V.B.C., 1996. Oxidative stress in gill, erythrocytes, liver and kidney of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from a polluted site, *Aquatic Toxicology*, **34**: 151–162.
- Banerjee, B.D., Seth, V., Ahmed, R.S., 2001. Pesticide-İnduced Oxidative Stress: Perspectives and Trends. *Rev Environ Health*, **16**(1):1-40.
- Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pahsa, S.T., Chakraborty, A.K., 1999. Biochemical Effects of Some Pesticides on Lipid Peroxidation and Free-Radical Scavengers. *Toxicology Letters*, **107**: 33–47.
- Barım Öz, Ö., 2005.*Keban Baraj Gölü'nde Yaşayan Tatlısu İstakozu (Astacus leptodactylusEsch. 1823) Rasyonuna Farklı Oranlarda İlave Edilen Vitamin E'nin Etkileri*, (doktoratezi)Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- Belge EK, İnanç Güler F, Kılınç M., 2004. *Serbest Radikaller. Arşiv*; **13**:120-13.
- Blanc, A., Vivien-Roels, B., Pevet, P., Attia, J., Buisson, B., 2003.Melatonin and 5-methoxytryptophol (5-ML) in nervous and for neurosensory structures of a gastropodmollusc (*Helix aspersa maxima*); synthesis and diurnal rhythms, *General and Comparative Endocrinology*, **131**: 168-175.
- Borazan-Özkurt, G.,2006.Balıklarda deniz kirliliğinin biyobelirteçleri, *Türk Veteriner HekimlerBirliği Dergisi*, **1** (2): 71–76.
- Brooks, G. T., Roberts T.R., 1999. Pesticide Chemistry and Bioscience, *Royal Society of Chemistry*, **219-222**, 419,408,368,382,386.
- Burcham PC., 1998. Genotoxic lipid peroxidation products: Their DNA damaging properties and role in formation of endogenous DNA adducts. *Mutatagenesis*, **13**:287-305.
- Cheeseman, K. H., Slater, T. F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* **49**, 481–493.
- Conner EM., Grisham MB., 1996. Inflammation, free radicals and antioxidants. *Nutrition*; **12**:274-277.
- Çelik A., Varol R., Onat T., Dağdelen Y., Tugay F., 2007. Akut Egzersizin Futbolcularda Antioksidan Sistem Parametrelerine Etkisi. *Spormetre Beden Eğitimi ve Spor Bilimleri Dergisi*, **4**,167-172.
- Davies, M. J., Dean R. T., 1997. Radical-Mediated Protein Oxidation. *Fromdefence Systems in Polar and Temperate Marine Invertebrates and Fish*, Comparative
- Delen Nafiz, M., Durmuşoğlu, E., 2005, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre*, Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, 3-7 Ocak, Ankara, Researchgate, 629-648.
- Delen, N., 2008. Fungisitler, *Nobel Yayın Dağıtım. Nobel Yayın No: 1360*, Ankara.

- Dhawan, A., Kaur, K., 1996. Toxic effects of synthetic pyrethroids on *Cyprinus carpio* Linn. eggs. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **57**(6): 999-1002.
- Dikici, İ. 1999, *Akut Viral Hepatitlerle İnterferon Tedavisi Görmüş Kronik Viral Hepatitlerde Oksidatif Stresin Araştırılması*. Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, (uzmanlık tezi). Konya.
- Dizdaroglu M, Karakaya AE.,1999. Advances in DNA damage and repair. *Kluwer Academic/Plenium Publishers*;67-87. Newyork.
- Doğan, N.,Yazıcı, Z.,Şişman, T., 2011. Lepistes Balığının Karaciğeri Üzerine Fenpiroksimat Akarisiti'nin Biyokimyasal Etkileri. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **13**(1):1-8.
- Dorval, J., Hontela, A., 2003. Role of Glutathione Redox Cycle and Catalase in Defense Against Oxidative Stress Induced by Endosulfan in Adrenocortical Cells Of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Toxicology And Applied Pharmacology*, **192** :191–200.
- Dökmeci, İ., 1988. Toksikoloji: *Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi*. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- Droge, W., 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, **82**(1): 47-95.
- Durmaz, H., Sevgiler, Y., Uner, N., 2005. Tissue-specific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in *Oreochromis niloticus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **84**: 215-226.
- Dutta, H. M., Dalal, R., 2008. The Effect of Endosulfan on the Ovary of Bluegill Sunfish: A Histopathological Study (*Lepomis macrochirus*). *International Journal of Environmental Research*, **2**(3).
- Dündar, Y.,Aslan R., 2000. Hekimlikte oksidatif stres ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Yayınları*. Afyonkarahisar.
- Dzikowski, R., Hulata, G., Karplus, I., Harpaz, S., 2001. Effect of temperature and dietary l-carnitine supplementation on reproductive performance of female guppy (*Poeciliareticulata*). *Aquaculture*, **199**(3-4): 323-332.
- Edwin H., Galougahia KK., Liua CC., Bhindia R., Gemma A., 2013. Figtreea,b,n Biological markers ofoxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biology*, **1**(1):483-491.
- Elia, A. C., Giorda, F., Pacini, N., Dörr, A. J. M., Scanzio, T., Prearo, M., 2017. Subacute toxicity effects of deltamethrin on oxidative stress markers in rainbow trout. *Journal of Aquatic Animal Health*, **29**(3): 165-172.
- Elia, A. C., Waller, W. T., Norton, S. J., 2002. Biochemical responses of bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*, Rafinesque) to atrazine induced oxidative stress. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **68**(6): 809-816.
- Fırat S., 1997.*Kobaylarda Radyasyonla Oluşan Akciğer Hasarında Doku Glutasyon, Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon S-Transferaz Düzeyleri ve N-Asetil Sistein'in Bu Sistem Üzerindeki Etkisi*.(uzmanlık tezi). Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.

- Figueiredo-Fernandes, A., Fontai'nhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Rocha, E., Reis-Henriques, M.A., 2006. Effects of gender and temperature on oxidative stress enzymes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to paraquat. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **85**: 97–103.
- Filho, H.W., 1996. Fish antioxidant defenses-A comparative approach. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* **29**: 1735-1742.
- Fishel, F. M., 2005. Pesticide toxicity profile: neonicotinoid pesticides. *University of Florida, IFAS*.
- Gilliom, R.J., 2007. Pesticides in U.S. Streams and Groundwater, *Environ Sci Technol*, **41**(10): 3401-3413.
- Glaser, A., 2006. Threatened Waters Turning the Tide on Pesticide Contamination., *Beyond Pesticides*.
- Greenberg, A.E., Eaton, A. D., Clescerl, L.S, 1998. Standart Methods for the Examination of Water, 20th edition, *United Book Press, Inc, USA, Part 8910*, 8-126.
- Gutteridge, J. M., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry*, **41**(12), 1819-1828.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997. Pestisitler, *Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No:52*, İlköz Matbaası, Ankara, 173.
- Güven, K.C., 2005. Deniz kirliliği, *Türk Deniz Araştırma Vakfı*, İstanbul.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. *Nutrition Reviews*, **52**(8): 253-265.
- Halliwell, B., 1994. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence?. *The Lancet*, **344**(8924): 721-724.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., 1999. Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press. *Inc, New York*.
- Halliwell, B., Gutteridge, J., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal*, **219**(1): 1.
- Harman, D., 1999. *Aging and Oxidative Stress*. **10**: 24–47
- Hayes, J. D., Mclellan, L. I., 1999. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radical Research*, **31**(4): 273-300.
- Hayes, T.B., Collins, A., Lee, M., Mendoza, M., Noriega, N., Stuart, A.A., Vonk, A., 2002. Hermaphroditic, demasculinized frogs after exposure to the herbicide atrazine at low ecologically relevant doses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**: 5476– 5480.
- He, B., Oki, T., Sun, F.B., Komori, D., Kanae, S., Wang, Y., Kim, H., Yamazaki, D., 2011. Estimating monthly total nitrogen concentration in streams by using artificial neural network. *Journal of Environmental Management*, **92**: 172–177.
- He, F., 1994. *Synthetic Pyrethroids, Toxicology*, 43-49.
- Hermes-Lima, M., Zenteno-Savín T., 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Physiol.*, **(133C)**: 537–556.
- Hond, F. D., Groenewegen, P., Straalen, N.V., 2003. Pesticides: Problems, Improvements. *Alternatives. Blackwell Science, UK*.

- Houde, A., 1997. Sex, color, and mate choice in guppies. *Princeton University Press*.
- Ihara, Y., Nobukuni, K., Takata, H., Hayabara, T., 2005. Oxidative stress and metal content in blood and cerebrospinal fluid of amyotrophic lateral sclerosis patients with and without a Cu, Zn-superoxide dismutase mutation. *Neurological Research*, **27**(1): 105-108.
- Inoue, M., Sato, E. F., Nishikawa, M., Park, A. M., Kira, Y., Imada, I., Utsumi, K., 2003. Mitochondrial generation of reactive oxygen species and its role in aerobic life. *Current Medicinal Chemistry*, **10**(23): 2495-2505.
- Işık, I., Çelik, I., 2008. Acute effects of methyl parathion and diazinon as inducers for oxidative stress on certain biomarkers in various tissues of rainbowtrout (*Oncorhynchus mykiss*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **92**(1): 38-42.
- Jain, S. K., McVie, R., Duett, J., 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. *Diabetes*, **38**: 1539–1543.
- Kamalaveni, K., Gopal, V., Sampson, U., Aruna, D., 2001. Effect of pyrethroids on carbohydrate metabolic pathways in common carp, *Cyprinus carpio*. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, **57**(12): 1151-1154.
- Karabulut H, Gülay MŞ., 2016. Antioksidanlar. *Mehmet Akif Ersoy Üniv. Vet. Fak. Derg.* **1**(1): 65-76.
- Karabulut H, Gülay MŞ., 2016. Serbest Radikaller. *Makü Sağ. Bil. Enst. Derg.* **4**(1): 50-59.
- Kehrer, J. P., 1993. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*, **23**(1): 21-48.
- Kehrer, J.P., 1993. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. *Critical Reviews in Toxicology*, **23**(1): 21-48.
- Keramati, V., Shahla, J., Ramin, M., 2010. Effect of diazinon on catalase antioxidant enzyme activity in liver tissue of *Rutilus rutilus*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*. **5**(5): 368- 376.
- Kılınç K, Kılınç A., 2002. Oksijen Toksikitesinin 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, 2-13.
- Kissling, G. E., Bernheim, N. J., Hawkins, W. E., Wolfe, M. J., Jokinen, M. P., Smith, C. S., Boorman, G. A., 2006. The utility of the guppy (*Poecilia reticulata*) and medaka (*Oryzias latipes*) in evaluation of chemicals for carcinogenicity. *Toxicological Sciences*, **92**(1): 143-156.
- Klaassen, C. D., 2001. Casarett and Doull's Toxicology: *The Basic Science of Poisons*, 763-774, No. 6. McGraw-Hill, USA.
- Klaassen, C.D. 2001. Doull's Toxicology, *The Basic Science of Poisons*. New York, McGraw-Hill, 763- 810.
- Knapen, M. F., Zusterzeel, P. L., Peters, W. H., Steegers, E. A., 1999. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction: a review. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, **82**(2): 171-184.
- Kochhann, D., Pavanato, M. A., Llesuy, S. F., Correa, L. M., Riffel, A. P. K., Loro, V. L., Baldisserotto, B., 2009. Bioaccumulation and oxidative stress parameters in

- silver catfish (*Rhamdia quelen*) exposed to different thorium concentrations. *Chemosphere*, **77**(3): 384-391.
- Koçyiğit A, Selek Ş., 2016. Eksojen Antioksidanlar İki Yönü Keskin Kılıçlardır. *Bezmialem Science*, **2**: 70-5.
- Kohen, R., Nyska, A., 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, **30**(6): 620-650.
- Koolman, J., Röhm, K. H., Wirth, J., Robertson, M., 2005. *Color Atlas of Biochemistry* (Vol. 2). Stuttgart: Thieme.
- Köprücü, S. Ş., Yonar, E., Seker, E., 2008. Effects of deltamethrin on antioxidant status and oxidative stress biomarkers in freshwater mussel, *Unio elongatulus eucirrus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **81**(3): 253-257.
- Kumar, A., Sharma, B., Pandey, R.S., 2010. Toxicological assessment of pyrethroid insecticides with special reference to cypermethrin and cyhalothrin in freshwater fishes. *International Journal of Biological Medical Research*, **1**(4): 315-325.
- Kunce, W., Stoks, R., Johansson, F., 2017. Single and mixture impacts of two pyrethroids on damselfly predatory behavior and physiological biomarkers. *Aquatic Toxicology*, **190**, 70-77.
- Laskowski, D. A., 2002. Physical and chemical properties of pyrethroids. *In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (49-170). Springer, New York, NY.
- Levine, M. J., 2007. *Pesticides: A Toxic Time Bomb in Our Midst*. Greenwood Publishing Group.
- Li, Z., Zlabeka, V., Grabica, R., Lia, P., Machovaa, J., Veliseka, J., Randak, T., 2010. Effects of exposure to sublethal propiconazole on the antioxidant defense system and Na⁺- K⁺-ATPase activity in brain of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquatic Toxicology* **98**: 297-303.
- Lichtenberg, D., Pinchuk, I., 2015. Oxidative stress, the term and the concept. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **461**(3): 441-444.
- Lushchak, V. I., Bagnyukova, T. V., 2006. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 2. Antioxidant and associated enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **143**(1): 36-41.
- Magurran, A. E., 2005. *Evolutionary Ecology: The Trinidadian Guppy*, Oxford University Press, 1-7.
- Matthews, G. A., 2006. Pesticides: Health, Safety and the Environment, *Application Research Centre Imperial College, Silwood Park Ascot, Berkshire UK*, **46**.
- McCord, J. M., Fridovich, I., 1969. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte protein (Hemocytin). *J. Biol. Chem.*, **244**: 6049-6055.
- Meram İ, Aktaran Ş., 2002. Serbest Radikallerin Biyomoleküller Üzerine Etkileri. *Arşiv*. **11**: 299-304.
- Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak. Derg.* **15**(1-2): 91-96.

- Moore, A., Waring, C. P., 2001. The Effects of a Synthetic Pyrethroid Pesticide, *Aquatic Toxicology*, **52**: 1-12.
- Moriarity, F., 1998. The study of pollutants in ecosystems, Ecotoxicology. *Academic Pres*, **289** pp, London.
- Na, N., Guo, H., Zhang, S., Li, Z., Yin, L., 2009. In vitro and in vivo acute toxicity of fenpyroximate to flounder *Paralichthys olivaceus* and its gill cell line FG. *Aquatic Toxicology*, **92**(2): 76-85.
- Nordberg, J., Arnér, E. S., 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, **31**(11): 1287-1312.
- Orbea, A., Fanimi, D.H. and Cajaravile, M.P., 2000. Immunolocalization of four antioxidantenzymes in digestive glands of mollusks and crustaceans and fish liver. *Histochem.Celi. Biol.* **114**: 393-404
- Orr, W. C. and Sohal, R. S., 1994. Extension of life-span by over expression of superoxide dismutase and catalase in *Drosophila melanogaster*. *Science*, **(263)**: 1128–1130.
- Oruc, E.Ö., Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environ. Toxicol. Phar.*, **23** (1): 48–55.
- Oruç, E. O., Sevgiler, Y., Uner, N., 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, **137**(1): 43-51.
- Oruç, E. Ö., Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **23**(1): 48-55.
- Oruç, 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 Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, **127**(3): 291-296.
- Orun, I., Talas, Z.S., Ozdemir, I., Alkan, A., Erdogan, K., 2008. Antioxidative role of selenium on some tissues of (Cd²⁺ ,Cr³⁺) induced rainbow trout. *Ecotox. Environ. Safe.*, **71**:71–75.
- Öğüt, H., 2005. Balıklarda Stres, Balık Biyolojisi Araştırma Yöntemleri, *Nobel Yayın Dağıtım1. Basım*, 377–394.
- Önenç SS., Zümrüt A., 2005. Aromatik Bitkilerin Hayvansal Ürünlerde Antioksidan Etkileri. *Hay Üret*, **46** (1): 50-55.
- Özkan A, Fışkın K., 2004. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidan Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*, **14**: 52-60.
- Özok,N.,Oğuz A.R., Doğan,A., Ergöz,B., 2017. Oxidative Damage in Some Tissues of Van Fish (*Alburnus tarichi* *Güldenstadt*, 1814) Having Abnormal Ovary, *YYÜ Tar Bil Derg (Yyu J Agr Sci)* , **27**(3): 447-452.
- Öztürk, S., 1990. *Tarım İlaçları*. Hasad Yayıncılık, Ankara, 523.
- Paglia, D. E., Valentine, W. N., 1967. Studies on quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, **70**: 158.

- Pandey, S., Parvez, S., Sayeed, I., Haque, R., Bin-Hafeez, B. ve Raisuddin, S., 2003. Biomarkers of oxidative stress: a comparative study of river Yamuna fish Wallago attu (Bl. & Schn.), *Science of the Total Environment*, **309** (1-3): 105- 115
- Peixoto, F., Alves-Fernandes, D., Santos, D., Fontainhasfernandes, A., 2006. Toxicological Effects of Oxyfluorfen on Oxidative Stress Enzymes in Tilapia Oreochromis Niloticus. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **85**: 91-96.
- Peña-Llopis, S., Dolores, F.M, Peña, J.B., 2003. Increased recovery of brain acetylcholinesterase activity in dichlorvosintoxicated European eels Anguilla anguilla by bath treatment with N-acetylcysteine. *Diseases of Aquatic Organisms*. **55**: 237–245.
- Piner, P. 2005, *Fenthion İçeren Ortamda BSO ve NAC'nin Oreochromis Niloticus'da Beyindokusunda Glutasyon Metabolizması, Lipid Peroksidasyonu ve Asetilkolinesteraz Aktivitesine etkileri*, (yüksek lisans tezi, basılmamış). Biyoloji Anabilim Dalı, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Roberts, T.R., Hutson, D.H., 1999. Metabolic Pathways of Agrochemicals, *Royal Society of Chemistry*, 670.
- Rodriguez, C. M., 1997. Phylogenetic analysis of the tribe Poeciliini (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Copeia*, **663**-679.
- Rosety, M., Rosety-Rodrigue, M., Ordonez, F.J., Rosety, I., 2005. Time course variations of antioxidant enzyme activities and histopathology of gilthead seabream gills exposed to malathion. *Histol Histopathol*. **4**: 1017–1020.
- Satoh, T., Gupta, R. C., 1989. Anticholinesterase Pesticides: Metabolism, Neurotoxicity and Epidemiology, John Wiley & Sons Inc'e göre Bradbury, Steven, P. and Coats, Joel, R., 1989, Comparative Toxicology of the Pyrethroid Insecticides, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, **108**: 133-177, 2011
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin, S., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **56**: 295–301.
- Schwarzenbach, R.P., Escher, B.I., Fenner, K., Hofstetter, T.B., Johnson, C.A., Von Gunten, U., Wehrli, B., 2006. The challenge of micropollutants in aquatic systems, *Science* **313**: 1072–1077.
- Sepici, D. A., Benli, A.C., Selvi, M., Sarıkaya, R., Sahin, D., Ozkul, A., Erkoç, F., 2009. Sublethal Cyfluthrin Toxicity to Carp 66 (Cyprinus Carpio L.) Fingerlings: Biochemical, Hematological, *Histopathological Alterations*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72** :1433–1439.
- Shen, H.M., Liu, Z.G., 2006. JNK signaling pathway is a key modulator in cell death mediated by reactive oxygen and nitrogen species, *Free Radical Biology and Medicine*, **40**(6): 928-939.
- Siemering, G., David, N., Hayworth, J., Franz, A., 2005. Aquatic Pesticides Monitoring Program Literature Review, *San Francisco Estuary Institute*, California, 10-20, 35-45.
- Siti HN., Kamisah Y., Kamisah J., 2015. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease. *Vascular Pharmacology*, **71**: 40-56.

- Solomon, K. R., Giddings, J. M., Maund, S. J., 2001. Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: I. Distributional analyses of laboratory aquatic toxicity data. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, **20**(3): 652-659.
- Sorg, O., 2004. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. *Comptes Rendus Biologies*, **327**(7): 649-662.
- Stara, A., Machova, J., Velisek, J., 2012. Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **33**(2): 334-343.
- Stocton., 1990. *General and Applied Toxicology*, **2**: 1333-1334.
- Storey, K.B., 1996. Oxidative stress: animal adaptations in nature, *Braz. J. Med. Biol. Res.* **29**: 1715–1733.
- Tamaru, C.S., Cole, B., Bailey, R., Brown, C., Ako, H., 2001. A manual for commercial production of the swordtail, *Xiphophorus helleri*, *CSTA Publication number 128*: 36.
- Tok, H. H., 1997. *Çevre Kirliliği*. Trakya Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bölümü Yayın No: 185, Ders Kitabı No:20, Tekirdağ. (In Turkish)
- Tomlin, C., 1995. The Pesticide Manual, *Crop Protection Publications*, **1341**.
- Tomlin, C., 1999. A World Compendium., *The Pesticide Manual Incorporating The Agrochemicals Handbook*, **562**-563.
- Toni, C., De Menezes, C. C., Loro, V. L., Clasen, B. E., Cattaneo, R., Santi, A., Leitemperger, J., 2010. Oxidative stress biomarkers in *Cyprinus carpio* exposed to commercial herbicide bispyribac-sodium. *Journal of Applied Toxicology*, **30**(6): 590-595.
- Toros, S. ve Maden, S., 1991. *Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları*, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 1222, Ders Kitabı No: 332,352.
- Toroser, D., Orr, W. C., Sohal, R. S., 2007. Carbonylation of mitochondrial proteins in *Drosophila melanogaster* during aging. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **363**(2): 418-424.
- Tucker, R. K., Crabtree, D. G., 1979. Toxicity of Pesticides to Wildlife Effect of Pesticides on Wildlife, *Chapter, 10*: 436-487.
- Türkmen, R., Özdemir, M., 2011. Diabetes mellitus' ta serbest radikallerin rolü. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, **4**(1): 65-72.
- Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C. J., Telser, J., 2004. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **266**(1-2): 37-56.
- Valko, M., Rhodes, C., Moncol, J., Izakovic, M. M., Mazur, M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, **160**(1): 1-40.
- Vijverberg, H. P., Vanden Bercken, J., 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Critical Reviews in Toxicology*, **21**(2): 105-126.
- Viran, R., Erkoç, F. Ü., Polat, H., Koçak, O., 2003. Investigation of acute toxicity of deltamethrin on guppies (*Poecilia reticulata*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **55**(1): 82-85.

- Wauchope, R. D., Buttler, T. M., Hornsby, A. G., Augustijn-Beckers, P. W. M., Burt, J. P., 1992. The SCS/ARS/CES pesticide properties database for environmental decision-making. *In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* (1-155). Springer, New York, NY.
- Williams, P. L., James, R. C., Roberts, S. M., 2000. Principles of Toxicology, *Environmental and Industrial Applications, John Wiley & Sons Inc*, 354.
- Word, R. J., Peters, T. J., 1996. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical Chemistry. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc*, 765-777.
- Xia, E., Rao, G., Remmen, H.V., Heydari, A.R., Richardson, A., 1994. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fischer 344 rats are altered by food restriction. *J. Nutr.*, **125**: 195-201.
- Yanbeyi, S., 1999. *Aspirin ve Antioksidant Buthylated Hydroxyanisole'ün Tavşanlarda Eritrosittotal Katalaz, Süperoksit dismutaz ve Glutasyon peroksidaz Aktiviteleri Üzerine Etkileri*, (doktora tezi, basılmamış). Ondokuz Mayıs Üniv. Samsun.
- Yarsan, E., Tanyuksel, M., Celik, S., Aydın, A., 1999. Effects of Aldicarb and Malathion on Lipid Peroxidation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **63**:575-581
- Yerli, S.V., Çalışkan, M. ve Erkmen, B.B., 1997, *Bazı Kirleticilerin Laboratuvar Şartlarında Sucul Ekosistemdeki Canlılar Üzerine Etkisi: Sonuç Raporu*, Ankara, 33.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları, *TMMOB Ziraat Mühendisleri 6. Teknik Kongresi*, Ankara, 1-22.
- Yılmaz, Y., 2006. *Antioksidan Enzim Aktivitelerinin (Cat ve Gsh-Px) Koroner Anjiyoplasti Sırasında ve Sonrasındaki Değişimi ve Bu Enzim Aktivitelerine Anjiyoplasti Sırasında Verilen Nazal Oksijenin Etkisinin Araştırılması* (yüksek lisans tezi, basılmamış). Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Yonar, M. E., Sakin, F., 2011. Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **99**(3): 226-231.
- Young, I., Woodside, J. V., 2001. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, **54**(3): 176-186.

ÖZ GEÇMİŞ

Abdurrahman KOÇ 1984 yılında Van'da doğdu. İlk ve orta öğretimini Van'ın Edremit ilçesine bağlı Elmalık Mahallesi'nde tamamladı. 2001 yılında Van Atatürk Lisesi'nden mezun oldu. 2010 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Özalp Meslek Yüksek Okulu, Laboratuvar Teknolojileri Bölümü önlisans programını bitirdi. Lisans eğitimine Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde başlayıp 2015 yılında mezun olan Abdurahman KOÇ lisans mezuniyetine müteakip 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Evli ve bir çocuk babasıdır.



T.C
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
LİSANSÜSTÜ TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 20/08/2019

Tez Başlığı / Konusu: **Fluvalinate'nın Sub-Lethal Konsantrasyonlarının Lepistes'in (*Poecilia reticulata* Peters, 1859); Bazı Dokularında Oksidatif Stres ve Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri**

Yukarıda başlığı/konusu belirlenen tez çalışmamın Kapak sayfası, Giriş, Ana bölümler ve Sonuç bölümlerinden oluşan toplam 71 sayfalık kısmına ilişkin, 20/08/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtreleme uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 12 (Oniki) dir.

Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:

- Kabul ve onay sayfası hariç,
- Teşekkür hariç,
- İçindekiler hariç,
- Simge ve kısaltmalar hariç,
- Gereç ve yöntemler hariç,
- Kaynakça hariç,
- Alıntılar hariç,
- Tezden çıkan yayınlar hariç,
- 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit inatch size to 7 words)

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

Abdurrahman KOÇ

20/08/2019

Adı Soyadı: Abdurrahman KOÇ

Öğrenci No: 159102078

Anabilim Dalı: Biyoloji Anabilim Dalı

Programı:

Statüsü: Y. Lisans

Doktora

DANIŞMAN ONAYI
UYGUNDUR

Dr. Öğr. Üyesi Necati ÖZOK

