

**İMİDACLOPRİD, NİKOTİN VE  
ANTAGONİSTLERİNİN KURBAĞA  
(*RANA RIDIBUNDA*, PALLAS, 1771) PERİFERİK  
SİNİRLERİ ÜZERİNE ELEKTROFİZYOLOJİK  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DİLEK KUMARGAL**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOLOJİ  
ANA BİLİM DALI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MERSİN  
KASIM – 2007**

**İMİDACLOPRİD, NİKOTİN VE ANTAGONİSTLERİNİN  
KURBAĞA (*RANA RIDIBUNDA*, PALLAS 1771) PERİFERİK  
SİNİRLERİ ÜZERİNE ELEKTROFİZYOLOJİK ETKİLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**DİLEK KUMARGAL**

**Mersin Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Biyoloji  
Ana Bilim Dalı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Tez Danışmanı  
Doç.Dr.Ali AŞKIN**

**MERSİN  
Kasım - 2007**

Bu tezin gerek bilimsel içerik, gerekse elde edilen sonuçlar açısından tüm gerekleri sağladığı kanaatine ulaşan ve aşağıda imzaları bulunan biz jüri üyeleri, sunulan tezi oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul ediyoruz.

Tez Danışmanı  
Doç.Dr. Ali AŞKIN

Jüri Üyesi  
Prof.Dr. Serap ERGENE

Jüri Üyesi  
Doç.Dr. Bedii CİCİK

Bu tezin Fen Bilimleri Enstitüsü yazım kurallarına uygun olarak yazıldığı Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../.....tarih ve ...../..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr.Mahir TURAN  
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

## ÖZ

İmidacloprid zararlılarla savaşmada yaygın olarak kullanılan bir neonikotinoid insektisittir. Bu insektisit nörotoksik etkiye sahip olup, canlıların sinir sisteminde tahribata neden olmaktadır.

Bu çalışmada agonist olan imidacloprid ve nikotin, antagonist olan  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlaminin *Rana ridibunda* siyatik sinirinde aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Hem imidacloprid, hem de nikotin için eşit sayıda grup (n=8) oluşturulmuş, üç farklı doz ( $1 \times 10^{-6}M$ ,  $1 \times 10^{-5}M$ ,  $1 \times 10^{-4}M$ ) uygulanmış ve ölçümler 0, 30, 60, 90 ve 120. dakikada yapılmıştır. İmidacloprid ve nikotinin etkileri hem ayrı ayrı, hem de antagonist olan  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamin ile birlikte araştırılmıştır. Antagonistlerin agonistler ( $1 \times 10^{-6}M$ ) üzerindeki etkisi  $1 \times 10^{-5}M$  olarak test edilmiştir. Ayrıca kontrol grubu olarak herhangi bir kimyasala maruz kalmayan sinirlerin aksiyon potansiyeli parametrelerindeki değişiklikler kaydedilmiştir. Aksiyon potansiyeli kayıtlarında BIOPAC MP 100 Acquisition sistemi kullanılmış ve aksiyon potansiyelinin genlik, alan, süre ve latans değerleri incelenmiştir. Elde edilen bulgularda imidacloprid, aksiyon potansiyeli genliğini %10-45 düşürmüş, alanını %20-33 küçültmüş, latansını %4-20 ve süresini de %4 oranında kısaltmıştır. Nikotin ise, aksiyon potansiyeli genliği %10-95 düşürürken, alanını %10-90 küçültmüştür. Buna karşılık latansı %8-77 ve süreyi %10-80 oranında kısaltmıştır. Mecamlamine ve  $\alpha$ -bungarotoksin ise imidaclopridin etkisini sırayla %80 ve %75, nikotinin etkisini de %95 ve %90 oranında ortadan kaldırmıştır.

**Anahtar Kelimeler :** Neonikotinoid insektisitler, imidacloprid, nikotin, nikotinic asetilkolin reseptörü, aksiyon potansiyeli.

## ABSTRACT

Imidacloprid which is widely used for insect warfare is a neonicotinoid insecticide. This insecticide has neurotoxic effects and causes damage in nervous system.

In this study, the effects of imidacloprid and nicotine as agonist, mecamylamine and  $\alpha$ -bungarotoxin as antagonist, on *Rana ridibunda* sciatic nerve parameters of action potential were investigated. For both imidacloprid and nicotine groups (n=8) and three different doses ( $1 \times 10^{-6}$ M,  $1 \times 10^{-5}$ M,  $1 \times 10^{-4}$ M) were composed. The effects of imidacloprid and nicotine were investigated alone and in combination with  $\alpha$ -bungarotoxin or mecamylamine. As control groups the sciatic nerves were not exposed to insecticides. The effects of both agonist ( $1 \times 10^{-6}$ M), were investigated in combination with both antagonists in concentration of  $1 \times 10^{-5}$ M. The measurements of insecticides or control groups were taken on the 0<sup>th</sup>, 30<sup>th</sup>, 60<sup>th</sup>, 90<sup>th</sup>, 120<sup>th</sup> minutes. Action potential records were obtained by BIOPAC MP 100 Acquisition system and action potentials amplitude, area, latans and duration were investigated. It was observed from the obtained results that imidacloprid reduced action potential amplitude between %10-45, area between %20-33, latans between %4-20 and duration %4. In contrast nicotine reduced action potential amplitude between %10-95, area between %10-90, latans between %8-77 and duration between %10-80. On the other hand mecamylamine and  $\alpha$ -bungarotoxin inhibited the effects of imidacloprid by %80 and %70 and the effects of nicotine by %95 and %90 respectively.

**Key Words :** Neonicotinoid insecticides, imidacloprid, nicotine, nicotinic acetylcholine receptors, action potential.

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve önerileriyle bana yol gösteren tez danışmanım Doç.Dr. Ali AŞKIN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın yürütülmesinde Tıp Fakültesinin bütün olanaklarından yararlanmamı sağlayan ve her türlü yardım ve katkısını esirgemeyen ikinci tez danışmanım Doç.Dr. Ülkü ÇÖMELEKOĞLU'na gösterdiği özveri için teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında sağladığı kolaylıktan ötürü Biyoloji Bölüm Başkanı Prof.Dr. Serap ERGENE'ye teşekkür ederim. Tez çalışmama maddi destek sağlayan Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Birimine teşekkür ederim.

Tez çalışmam süresince maddi ve manevi destekleriyle daima yanımda olan annem Besime KUMARGAL ve babam Mustafa KUMARGAL'a sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZ</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR</b> .....	iii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iv
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	viii
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMASI</b> .....	3
2.1. NİKOTİN.....	3
2.2. NEONİKOTİNOİDLER.....	4
2.2.1. İmidacloprid.....	4
2.3. NİKOTİNİK ASETİLKOLİN RESEPTÖRLERİ.....	5
2.3.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörlerinin Çeşitliliği.....	7
<b>3. MATERYAL ve METOD</b> .....	13
3.1. DENEY HAYVANLARI.....	13
3.1.1. Deneylede Kullanılan Kurbağa Türünün Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri.....	13
3.2. DENEY HAYVANLARININ DİSEKSİYONU.....	14
3.3. İNSEKTİSİTLER.....	15
3.4. UYGULANAN DOZLARIN BELİRLENMESİ.....	15
3.5. DENEY GRUPLARININ HAZIRLANMASI .....	15
3.6. ÇÖZELTİLER.....	16
3.7. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYITLAR.....	16
3.8. ANALİZ.....	17
3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	18
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b> .....	19

4.1. BULGULAR.....	19
4.1.1. İmidaclopridin Tek Başına veya Kombinasyon Halinde Siyatik Sinir Aksiyon Potansiyel Parametreleri Üzerine Doza ve Zamana Bağlı Etkileşimi.....	19
4.1.1.1. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli genliği üzerine etkileşimi.....	19
4.1.1.2. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli alanı üzerine etkileşimi.....	21
4.1.1.3. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli latansı üzerine etkileşimi.....	23
4.1.1.4. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli süresi üzerine etkileşimi.....	25
4.1.2. Nikotinin Tek Başına veya Kombinasyon Halinde Siyatik Sinir Aksiyon Potansiyel Parametreleri Üzerine Doza ve Zamana Bağlı Etkileşimi.....	28
4.1.2.1. Nikotinin aksiyon potansiyeli genliği üzerine etkileşimi.....	28
4.1.2.2. Nikotinin aksiyon potansiyeli alanı üzerine etkileşimi.....	30
4.1.2.3. Nikotinin aksiyon potansiyeli latansı üzerine etkileşimi.....	32
4.1.2.4. Nikotinin aksiyon potansiyeli süresi üzerine etkileşimi.....	34
4.2. TARTIŞMA.....	38
<b>5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....</b>	<b>45</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>46</b>
<b>EKLER</b>	
EK 1 İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde siyatik sinir aksiyon potansiyel parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi....	55
EK 2. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde siyatik sinir aksiyon potansiyel parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	56
EK 3. İmidaclopridin tek başına veya $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamin ile <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli üzerine etkileşimi.....	57
EK 4. Nikotinin tek başına veya $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamin ile <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli üzerine etkileşimi.....	58
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>59</b>



## ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	SAYFA
Şekil 2.1. Nikotinin kimyasal yapısı.....	3
Şekil 2.2. İmidacloprid'in kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.3. Asetilkolinin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2.4. Kolinerjik sinaps boyunca nöral iletim.....	6
Şekil 2.5. Bir heteromerik nAChR'ünün muhtemel üç boyutlu yapısı.....	7
Şekil 2.6. Omurgalı nACh reseptörlerinin fonksiyonel yapılanması ve Çeşitliliği.....	9
Şekil 3.1. <i>Rana ridibunda</i> .....	13
Şekil 3.2. Kurbağa siyatik sinirinin izolasyonu.....	14
Şekil 3.3. Sinir kutusu.....	16
Şekil 3.4. Hücre dışı kayıt alım sistemi.....	17
Şekil 3.5. Aksiyon potansiyeli.....	18
Şekil 4.1. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	20
Şekil 4.2. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	21
Şekil 4.3. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	22
Şekil 4.4. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	23
Şekil 4.5. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R. ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	24
Şekil 4.6. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde	

<i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	25
Şekil 4.7. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	26
Şekil 4.8. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	27
Şekil 4.9. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	29
Şekil 4.10. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	30
Şekil 4.11. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	31
Şekil 4.12. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	32
Şekil 4. 13. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	33
Şekil 4. 14. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	34
Şekil 4. 15. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	36
Şekil 4. 16. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde <i>R.ridibunda</i> siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi.....	37

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

M	: Molar
mM	: Milimolar
$\mu$ M	: Mikromolar
ACh	: Asetilkolin
nAChR	: Nikotinik asetilkolin reseptörü
AchE	: Asetilkolin esteraz enzimi
LD <sub>50</sub>	: Letal dozun yarısı
mg	: Miligram
kg	: Kilogram
Na <sup>+</sup>	: Sodyum iyonu
K <sup>+</sup>	: Potasyum iyonu
Ca <sup>++</sup>	: Kalsiyum iyonu
MSS	: Merkezi sinir sistemi
PSS	: Periferel sinir sistemi
kDa	: Kilo dalton
$\alpha$	: Alfa
$\beta$	: Beta
$\delta$	: Delta
$\gamma$	: Gama
$\epsilon$	: Epsilon
$\mu$ mol/l <sup>-1</sup>	: Mikromol bölü litre
[ <sup>3</sup> H]	: Tritiyum (radyoaktif izotop)
D $\alpha$ 2	: İlk olarak Meyve sineği <i>Drosophila melanogaster</i> ' de belirlenen böcek nAChR alt ünitesi.
EC	: Uyarıcı doz.
IC	: İnhibe eden doz.
PC12	: Adrenal bezin merkezinde çıkan tümör hücreleri.
°C	: Santigrat derece
m	: Metre
cm	: Santimetre

İmi	: İmidacloprid
Ni	: Nikotin
$\alpha$ Btx	: Alfa bungarotoksin
Meca	: Mecamylamine
NaCl	: Sodyum klorür
KCl	: Potasyum klorür
CaCl <sub>2</sub>	: Kalsiyum klorür
NaHCO <sub>3</sub>	: Sodyum bikarbonat
Ag	: Gümüş
AgCl	: Gümüş klorür
V	: Volt
mV	: Milivolt
ms	: Milisaniye
%	: Yüzde
AP	: Aksiyon potansiyeli

## 1. GİRİŞ

Pestisitler, çeşitli alanlarda zararlıları öldüren yada uzaklaştıran kimyasal maddelerdir. İnektisitler ise tarım alanlarında, seralarda, zararlı böceklerle karşı yaygın olarak kullanılan pestisitlerin bir alt grubudur [1]. Bir tarım ülkesi olan Türkiye’de inektisitlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. İnektisit çeşitliliğinin çok olması, özellikle polikültür tarım yapan Mersin ilinde farklı inektisitlerin kullanımını tetiklemiştir. Günümüzde çokça kullanılan bu inektisitlerin, uygulanış yöntemlerinin ve uygulama miktarlarının bilinçsizce belirlenmesi, sadece hedef organizmanın değil, diğer canlıların da toksik etkileriyle karşı karşıya kalmasına neden olmuştur. Ayrıca su ve rüzgar yardımıyla bu kimyasalların çevreye dağılması bir çok organizmaya daha kolay ulaşmasını sağlamaktadır.

İnektisitler; klorlu hidrokarbonlar, organofosforlu bileşikler, metilkarbamatlar, pretroidler ve neonikotinoid inektisitler olmak üzere beş ana gruba ayrılırlar [2]. Neonikotinoid inektisitler, bitki ve hayvanlar üzerindeki zararlı böcekleri kontrol altında tutan, son yıllarda üretilmiş en önemli yeni sentetik inektisit sınıfıdır [3,4,5]. Günümüzde organofosforlu bileşikler ve metilkarbamatların toksikolojik etkilerinden dolayı yasaklanmasının artması nedeniyle, neonikotinoid inektisitler daha çok kullanım alanı bulmuştur [3]. İlk üretilen neonikotinoid inektisit imidacloprid’tir. İmidacloprid’in, ışığa dayanıklılığının iyi olması [6,7,8,9] ve omurgalılara kıyasla böceklerde yüksek seçici toksisite göstermesi, dünya çapında yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır [10,11,12].

Neonikotinoid teriminden de anlaşılacağı gibi imidacloprid, nikotine yapısal benzerliği olan ve aynı etkiyi gösteren bir bileşiktir [13]. Neonikotinoid’ler, böcek nikotinic asetilkolin reseptörü (nAChR) üzerine başlıca agonist (doğal transmitterle aynı türden yanıt oluşturan madde) veya kısmen agonist etkiye sahiptirler [14,15]. Neonikotinoidlerin ana örneği olan imidaclopridin doğal [16] ve rekombinant [17,18] nikotinic asetilkolin reseptörüne kısmen agonist etkileri gösterilmiştir. İmidacloprid, nAChR’ne nikotin ve asetilkolin (ACh) ile aynı bölgede bağlanır. İmidacloprid’in

nAChR'ne bağlanmasıyla postsinaptik membranda iyon kanalları depolarize olmakta, uzun süre bağlı kalmasıyla birlikte iyon kanallarının repolarizasyonu engellenmektedir. Bunun sonucunda hayvanın vücut işlevleri yapılamaz hale gelir ve hayvan ölür [3].

Pestisitlerin, hedef olmayan organizmalar üzerindeki toksik etkisi ve ekosisteme olan etkileri dünya çapında ilgilenilen bir konudur [19]. Nikotinic asetilkolin agonisti olarak imidacloprid'in birçok böceğe karşı etkili olduğu gösterilmiştir ve çoğu zararlı böceğe karşı kullanılmaktadır [20,21]. Kullanılan pestisitler gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır ve pestisitlerin hedef olmayan canlılar üzerindeki potansiyel toksik risk değerlerinin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle su ve tarım ekosistemlerindeki hedef olmayan organizmalar üzerine olan etkileri tamamen anlaşılmış değildir [22].

Amfibiler su ve tarım ekosistemleri içerisinde önemli organizmalardır ve birçok tarım pestisitinin etkisine maruz kalmaktadırlar [22]. Amphibiler, larva yaşamlarını sucul ortamda geçirmeleri nedeniyle habitatlarındaki değişikliklere olan duyarlılıkları sayesinde su ve tarım ekosistemlerin biyoindikatörleri olarak göze çarparlar. Bu nedenle su ve tarım ekosistemleri üzerinde kimyasalların etkilerini ölçmek için tipik test hayvanıdır [23].

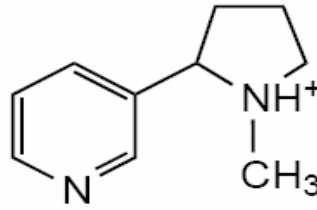
Bu çalışmanın amacı, neonikotinoid insektisit olan imidacloprid'in in vitro koşullarda, eksojen uygulama ile kurbağa periferik sinirleri üzerine olan etkisini doza ve uygulama süresine bağlı olarak araştırmaktır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. NİKOTİN

Nikotin (Şekil 2.1.), tütün bitkisi *Nicotiana*'dan elde edilen doğal bir insektisittir [24, 25]. Bu madde yüzlerce yıl insektisit olarak kullanılmıştır. Bugün hala buharla veya yaprak spreyi olarak, emici zararlıların kontrolü için uygulama alanı bulmaktadır [2, 26]. Birçok yeni insektisit, nikotine akraba olup, memelileri de içeren, hedef olmayan birçok organizmada yüksek toksisite gösterir. Radyoligand bağlama ve elektrofizyolojik tekniklerin kullanıldığı ilk çalışmalarda, nikotinin böcek nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) bağlandığı gösterilmiştir [27].

Bitkilerde nikotin ve anabasin (tütünden), cystisin (sarısalkımdan), metilcaconit (hezaren çiçeği), tubocurarin (Güney Amerika bitkisi *Chondodendron*'dan) gibi nAChR'üne bağlanan agonist ve antagonist etkiye sahip çok sayıda bileşiğin varlığı gösterilmiştir. Bu gibi bileşiklerin çokluğu, böcekleri ve diğer herbivorları caydırmak için bitkiler tarafından geliştirilen evrimsel bir adaptasyon ile ilişkili olabilir [28]. Ticari biyopestisitlerden farklı olarak bu bileşikler sadece böcek nAChR'leri için seçicilik göstermezler [29].



Şekil 2.1. Nikotinin kimyasal yapısı [14].

## 2.2. NEONİKOTİNOİDLER

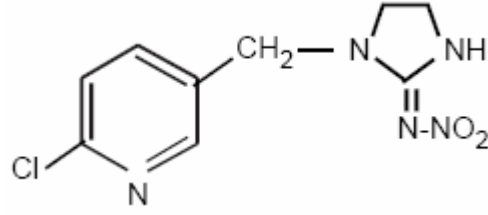
Neonikotinoidler, imidacloprid ve nikotine yapısal benzerlik gösteren ve ortak etki biçimleri olan insektisit bileşiklerini kapsamaktadır [13]. 1970’lerde güçlü insektisit aktivitesi olan ve nAChR agonistlerine analog olan sentetik nitrometilen bileşikler grubu tanımlanmıştır [30, 31, 32, 33, 34]. Nithiazin, güçlü bir insektisit olup, 1970’lerin sonunda Shell tarafından geliştirilmiş, fakat ticari bir ürün olarak yaygın bir şekilde kullanılmamıştır [35]. Fakat buna rağmen nithiazin yeni neonikotinoid insektisitlerin geliştirilmesi için öncü bir bileşik olmuştur [36, 37]. İmidacloprid, 1985’de Bayer tarafından patentlenen ve ilk kez 1991’de marketlerde yerini alan neonikotinoid sınıfı insektisitlerin ilkidir. Akabinde diğer neonikotinoid insektisitler geliştirilmiş ve marketlerde yerini almıştır. Bunlar nitepyram, acetamiprid, thiamethoxam, thiacloprid, clothianidin ve dinotefuran olarak neonikotinoid sınıfı insektisitleri oluşturmaktadırlar [29].

Neonikotinoidler kimyasal yapılarının farklılıklarından dolayı; “chloronicotinyll” (imidacloprid, nitenpyram, acetamiprid, ve thiacloprid) “thianicotinyll” (thiamethoxam ve clothianidin) ve “furanicotinyll” (dinotefuran) alt grubuna ayrılmışlardır [38, 39, 40].

### 2.2.1. İmidacloprid

Kimyasal adı 1-(6-cloro-3-pyridylmethyl)-2-nitroimino-imidazolidin olan imidacloprid, neonikotinoid insektisitlerin ilk ve önemli bir bileşiğidir (Şekil 2.2.). Molekül formülü  $C_9H_{10}ClN_5O_2$  ve molekül ağırlığı 255,7 gramdır. Rengi beyaz, sarımtırak olabilmekte ve genellikle sıvı haldedir. Akut LD<sub>50</sub> dozu sıçanlarda ağız yolu ile 450 mg/kg, farelerde 131 mg/kg; sıçanlarda deri yolu ile 24 saatte >5000 mg/kg’dır [41, 42].



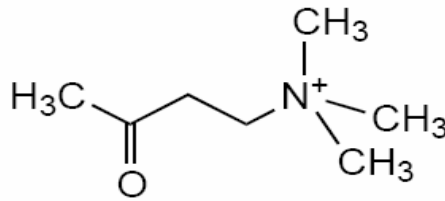


Şekil 2.2. İmidacloprid'in kimyasal yapısı [43].

Ülkemizde her türlü meyve ve sebze yetiştiriciliğinde kullanımı yaygındır. İmidacloprid güçlü bir nörotoksik insektisit olup, hedef canlıların yanı sıra hedef olmayan organizmaları da etkilemektedir [44, 45, 46].

### 2.3. NİKOTİNİK ASETİLKOLİN RESEPTÖRLERİ

Asetilkolin (ACh), omurgalı ve omurgasız türlerinin her ikisinde uyarıcı (eksitator) bir nörotransmitterdir asetilkolin iki tip reseptörü aktive eder (Şekil 2.3.) [29]. Bunlara “muskarinik” ve “nikotinik” reseptörler adı verilmektedir. Bu adların verilmesinin nedeni bir cins zehirli mantardan (*Amanita muscarina*) elde edilen muskarinin sadece muskarinik reseptörleri aktive etmesi ve nikotinik reseptörleri aktive etmemesi; buna karşılık nikotinin sadece nikotinik reseptörleri aktive etmesidir. ACh ise her iki reseptöre etkili olmaktadır [47].



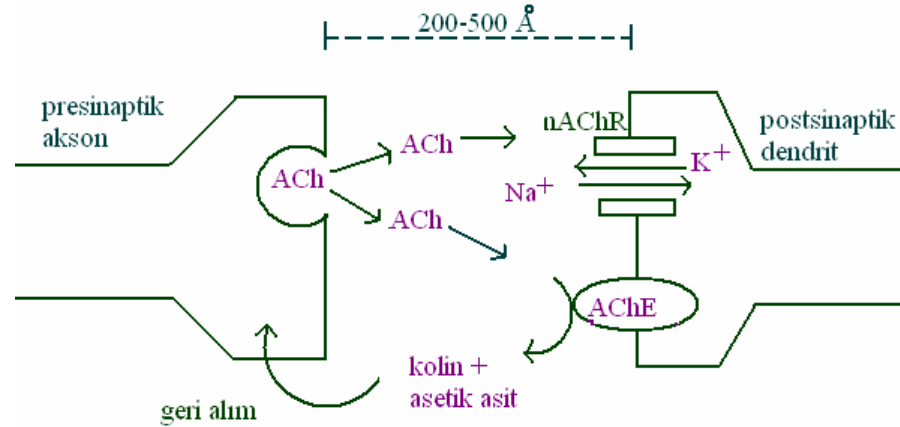
Şekil 2.3. Asetilkolinin kimyasal yapısı [14].

Nikotinik reseptörlerin, insektisit bileşikler için potansiyel hedef oldukları, uzun zamandan beri bilinmektedir ve son 20 yıldan fazla bir süredir bu reseptörleri hedef alan insektisitler, tarımda, veterinerlikte ve zararlı böceklerin kontrolünde etkili biçimde kullanılmaktadır [29]. Bu nAChR'leri, asetilkolinesteraz enzimi ve

voltaj kapılı sodyum kanallarından sonra insektisitler için en önemli hedef bölgeleridir [48].

nAChR'leri, ACh'a duyarlı hızlı tipte bir ligand (nörotransmitter)-kapılı iyon kanalıdır [4,14,49]. nAChR'leri ve diğer nörotransmitter kapılı iyon kanalları sinir sistemi boyunca sinaptik iletimde anahtar rol oynarlar [50].

Genel olarak sinaptik iletim, nikotinik kolinerjik sinaps boyunca iki adımda yürütülür. Önce, ACh, ekzositoz yoluyla presinaptik membrandan salınır ve nAChR/iyon kanal kompleksinin ekstrasellüler alanındaki bağlanma bölgesi ile ilişkiye girer. Sonra oluşan reseptör-molekül kompleksindeki konformasyonal değişim, iyon kanalının açılmasına neden olur ve hücre dışındaki  $Na^+$ 'un hücre içine, hücre içindeki  $K^+$ 'in hücre dışına akışını sağlayarak, membran potansiyelindeki eşitliği bozar (Şekil 2.4.) [3].



Şekil 2.4. Kolinerjik sinaps boyunca nöral iletim.

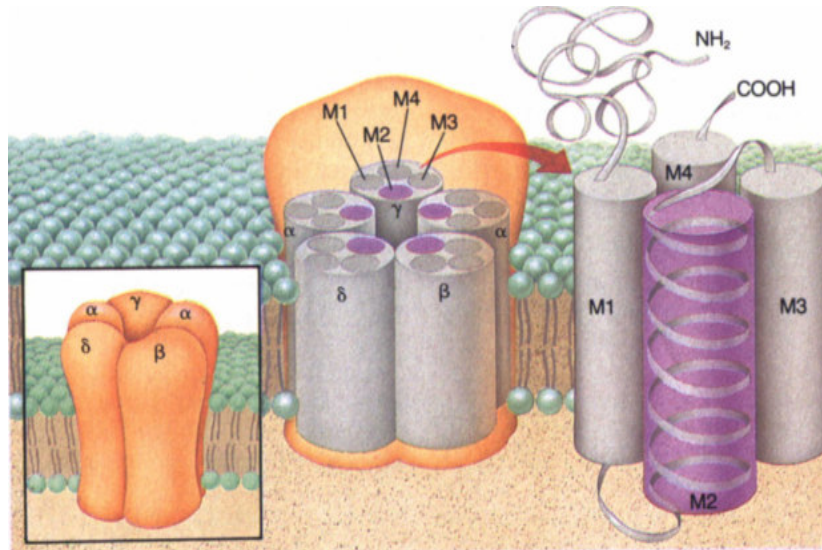
nAChR böcek ve omurgalı sinir sisteminde sinaptik iletimi sağlamakla birlikte dağılımları ve yapıları farklılık gösterir. Omurgalılarda, nAChR'leri nöromusküler kavşağa, merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik sinir sistemine (PSS) [29, 51] ve bazı mekanosensör hücreler üzerinde yayılış göstermektedirler [52, 53, 54]. Böceklerde nikotinik asetilkolin reseptörleri sinir sistemiyle sınırlanmıştır ve sinir dokularında asetilkolin reseptörleri bakımından en zengin dokudur [3,49].

Böcekler, ACh'ı merkez eksitator nörotransmitterleri olarak kullanirlar. Bu özelliklerinden dolayı omurgalılardan farklıdırlar. Memeli beyinde, glutamat ana eksitator nörotransmitter madde iken böceklerde bu role ACh sahiptir. Böceklerde nAChR'leri en bol bulunan eksitator postsinaptik reseptörlerdir [29]. Bu nedenle, dünyada yaygın olarak kullanılan nörotoksik insektisitlerin hedef bölgeleri nAChR'leridir.

### 2.3.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörlerinin Çeşitliliği

Reseptörler tarihinde nAChR'leri ilk olarak omurgalı nöromusküler kavşagında ve *Torpedo marmorata* balığının elektrik organında tanımlandı. Çünkü bu doku, reseptör bakımından oldukça zengindi. Bu biyolojik kaynak biyokimyasal deneylerin önünü açtı ve böylece nikotinik reseptör modeli araştırmalarına başlanmış oldu [55].

Nikotinik reseptörler, merkezi bir por (iyon kanalı) etrafına simetrik olarak dizilmiş beş alt üniteden oluşan ve moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 280kDa olan glikoproteinlerdir (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Bir heteromerik nAChR'ünün muhtemel üç boyutlu yapısı. [56].

Her bir alt ünite M1, M2, M3 ve M4 olarak adlandırılan protein yapıda dört transmembran segmente sahiptir [57]. M2 alt ünitesi iyon kanalının lümenini astarlar ve iyon kanal blokerleri için bağlanma bölgelerini içerir [58, 59, 60, 61]. Günümüzde kassal tipte ve nöronal tipte olarak 17 nAChR alt ünitesi belirlenmiştir [62]. Kassal tipte nAChR'leri iki  $\alpha$ , bir  $\beta$ , bir  $\delta$  ve bir  $\gamma$  (veya yetişkinlerde  $\epsilon$ ) alt ünitesinden oluşmuştur [63]. Şimdiye kadar omurgalı dokularında 12 nöronal nikotinik reseptör alt ünitesi ( $\alpha 2$ 'den  $\alpha 10$ 'a kadar ve  $\beta 2$ 'den  $\beta 4$ 'e kadar) klonlanıp belirlenmiştir [53]. Nöronal nAChR genlerinin belirlenmesi nörotransmisyon çalışmalarına önemli bir hız kazandırmıştır [55].

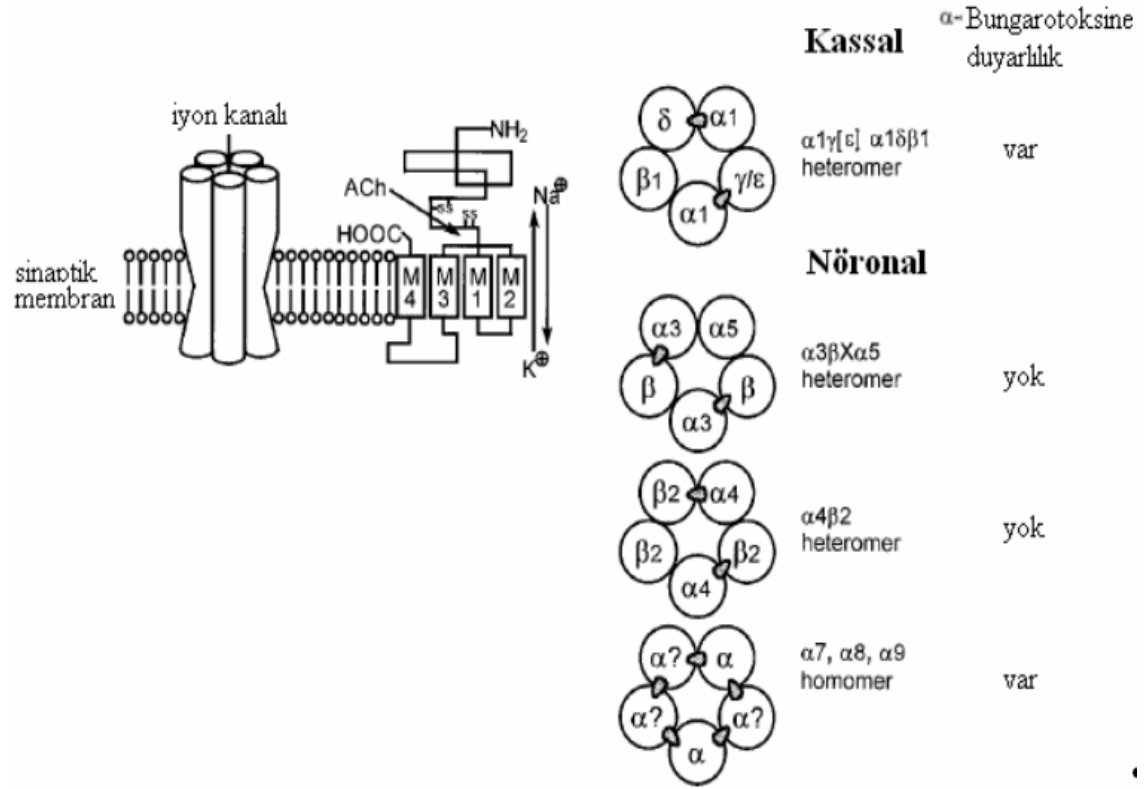
Bu 17 alt ünitelerden  $\alpha 2$ 'den  $\alpha 7$ 'ye ve  $\beta 2$ 'den  $\beta 4$ 'e kadarı insandan klonlanmıştır. Geriye kalan genler ise tavuk ve rat genomlarında tanımlanmıştır [64]. Tablo 1'de nAChR alt üniteleri, protein dizilimlerinin benzerliği temelinde sınıflandırılmıştır.

Çizelge 2.1. Nikotinik asetilkolin reseptör alt tiplerinin çeşitliliği [62].

Nöronal Tip					Kassal Tip
I	II	III			IV
		1	2	3	
$\alpha 9, \alpha 10$	$\alpha 7, \alpha 8$	$\alpha 2, \alpha 3, \alpha 4, \alpha 6$	$\beta 2, \beta 4$	$\beta 3, \alpha 5$	$\alpha 1, \beta 1, \delta, \gamma, \epsilon$

Nöronal nAChR'leri tek bir alt ünite tipine sahip homomerik reseptörler ( $\alpha 7$ 'den  $\alpha 10$ 'a kadar) ve farklı alt ünite tiplerinin oluşturduğu heteromerik reseptörler ( $\alpha 2$ 'den  $\alpha 6$ 'ya ve  $\beta 2$ 'den  $\beta 4$ 'e alt ünitelerin farklı kombinasyonları ile oluşturulan) olmak üzere iki gruba ayrılırlar (Şekil 2.6) [65]. Bu iki grup nöronal nAChR'leri arasında  $\alpha$ -bungarotoksine duyarlılık bakımından da farklılık olduğu bilinmektedir. Homomerik reseptörler daha çok kalsiyum iyonuna ( $Ca^{++}$ ) geçirendir ve  $\alpha$ -bungarotoksine duyarlıdır. Farklı olarak heteromerik reseptörler,  $\alpha$ -bungarotoksine duyarlı değildir [66, 67]. Deneysel veriler göstermektedir ki farklı reseptör alt tipleri, farklı sinir sistem işlevine sahiptir. Örneğin ağrı, esas olarak  $\alpha 4\beta 2$  alt tipteki reseptör tarafından kontrol edilir [68]. Beyindeki dopaminerjik nöronlardan dopamin salınımı  $\alpha 4$  veya  $\alpha 6$ 'yı içeren reseptörler tarafından kısmen kontrol edilir [69, 70, 71],

glutamat salınımı ise tamamen  $\alpha 7$ 'yi içeren alt tip reseptörü tarafından kontrol edilir [72, 73].



Şekil 2.6. Omurgalı nACh reseptörlerinin fonksiyonel yapılanması ve çeşitliliği [74].

İmidacloprid ve nikotinin böcek sinir sistemi üzerine elektrofizyolojik etkileri birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. Buckingham ve ark. [75] Patch-klamp yöntemini kullanarak, imidaclopridin ( $3-100\mu\text{mol/l}^{-1}$ ), doza bağlı olarak hamamböceği (*Periplaneta americana*) dev internöron sinapslarının ucunda depolarizasyon yarattığını tespit etmişlerdir. Bu yanıtların  $20\mu\text{mol/l}^{-1}$  atropine duyarsız olduğunu, fakat nikotinik antagonist mecamylamine ( $50\mu\text{mol/l}^{-1}$ ) tarafından tamamen bloke edildiğini gözlemlemişlerdir. Aynı gangliyondan alınan (terminal abdominal) çifti olmayan hamamböceği dorsal median nöronları (DUM) kültürüne imidacloprid etkili depolarizasyon  $100\mu\text{mol/l}^{-1}$  mecamylamine tarafından tamamen bloke edilmiştir.

Zhang ve ark. [76] dört böcek türü olan, yaprak biti *Myzus persicae* ve *Aphis craccivara*'nın ve *Drosophila melanogaster* ve *Musca domestica*'nın kafa membranlarını kullanılarak, [<sup>3</sup>H]imidacloprid bağlanma bölgelerinin sayısı, yapı-aktivite ilişkisinin türe göre çeşidini karakterize etmişlerdir. Neonikotinoidlerin insektisit potansiyeli türlere bağlı olmasının yanı sıra, bu çalışma dört böceğin her birinde, neonikotinoid spesifitesi korunmuş nAChR bağlanma bölgesi olduğunu söyleyen hipotezi desteklemektedir.

Brown ve ark. [77] *Drosophila* larvalarının merkezi sinir sisteminden alınan kolinerjik nöron kültürlerinden tüm hücre (whole-cell) patch-klamp kaydını kullanarak, ACh, nikotin, ek olarak neonikotinoidlerden imidacloprid'in agonist etkisinin yanı sıra clothianidin ve P-CH-clothianidi'nin süper agonist etkisini göstermişlerdir.

Nishiwaki ve ark. [78] neonikotinoidlerin insektisit etkilerini *Xenopus laevis* oositlerinde tanımladıkları *Drosophila* Da2 ve tavuk  $\beta$ 2 alt ünitelerine sahip rekombinant nAChR'leri üzerinde araştırmışlardır. [<sup>3</sup>H]imidacloprid kullanılarak ölçülen bağlanma aktivitesinin de Da2/ $\beta$ 2 rekombinant nAChR'üne agonist etkisinin insektisit aktivitesiyle ilişkili olduğunu göstermişlerdir.

Matsuda ve ark. [17] imidacloprid, epibatidine, nikotin ve asetilkolini iki rekombinant nAChR üzerine iki-elektrot voltaj-klamp elektrofizyolojik tekniğini kullanarak karşılaştırmışlardır. Kullandıkları preparatın ilki; rekombinant tavuk  $\alpha$ 4 $\beta$ 2 nöronal nAChR'üdür, diğeri *Drosophila* Da2 ve tavuk  $\beta$ 2 alt ünitelerinin heterojen dağıldığı rekombinant nAChR'üdür. Rekombinant reseptörler *Xenopus laevis* oositlerinde tanımlanmıştır. Çalışmalarında imidaclopridin  $\alpha$ 4 $\beta$ 2 reseptörüne kısmen agonist etki gösterirken epibatidin, nikotin ve asetilkolinin tam agonist etki göstermiştir. *Drosophila* Da2/ tavuk  $\beta$ 2 reseptörüne ise hem imidacloprid hem de nikotinin kısmen agonist, epibatidin ve asetilkolinin ise tam agonist etkisini gözlemlemişlerdir.

Ihara ve ark. [18] imidacloprid ve türevlerinin nAChR'lerinin  $\alpha$  alt ünitesi ile olan etkileşimini araştırmışlardır. Bunun için *Xenopus laevis* oositlerinde tanımlanan tavuk  $\alpha 7$  ve  $\alpha 4\beta 2$  nAChR'lerinde, ayrıca *Drosophila melanogaster*/tavuk hibrid nAChR'leri üzerinde voltaj-klamp elektrofizyolojik tekniği ile çalışmışlardır. İmidacloprid'in bu reseptörler üzerine kısmen agonist etki gösterirken, nitro grubu uzaklaştırılan imidacloprid (desnitroimidacloprid), bu reseptörlerin hepsinde tam agonist etki göstermiştir.

Zafeiridou ve Theophilidis [79] *Tenebrio molitor* böcek türünü kullanarak solunum merkezi sinapsları üzerine imidacloprid'in etkisini elektrofizyolojik olarak test etmişlerdir. 0.001 $\mu$ M ve 0.010 $\mu$ M konsantrasyonundaki imidacloprid çözeltileri ile yapılan deneylerde bir etki gözlemleyememişlerdir. Fakat 0.10 $\mu$ M imidacloprid çözeltisi, solunum motor nöronlarında hipereksitasyon yaratmıştır. 1.00 $\mu$ M konsantrasyonundaki imidacloprid ise solunum motor nöronların aktivitesini aniden hızlandırmış, sonra tamamen inhibe etmiştir.

Böceklerde yapılan elektrofizyolojik çalışmalar imidaclopridin etki mekanizmasını açıklamaya yöneliktir. Özellikle sinir dokusu üzerinde yoğunlaşan bu çalışmalarda imidaclopridin böcek nAChR'leri üzerine etkili olduğu gösterilmiştir.

İmidaclopridin, hedef olmayan organizmalardaki toksik etkisi ile ilgili elektrofizyolojik çalışmalar oldukça sınırlıdır.

Seifert ve Stollberg [80], embriyonik kurbağa kas hücrelerinde, imidaclopridin nAChR'lerle olan etkileşimini araştırmışlardır. Çalışmalarında ACh, nikotin ve imidaclopridin kas hücrelerinde kontraksiyona neden olduğunu göstermişlerdir. Fizyolojik test sisteminde asetilkolinin nikotinden daha baskın olduğunu bulunmuştur. Oluşan kontraksiyonlar  $\alpha$ -bungarotoksin tarafından ortadan kaldırılmıştır.

Nagata ve ark. [81] imidacloprid ve kartap'ın nAChR'üne etkilerini klonlanmış sıçan PC12 (adrenal bezin merkezinde çıkan tümör hücreleri) hücrelerinde patch-klamp tekniğini kullanarak araştırmışlardır. Sonuç olarak imidacloprid ve kartap'ın nAChR'ünü farklı mekanizmalar ile etkilediğini göstermişlerdir. İmidaclopridin kısmen agonist gibi davranırken, kartap'ın nAChR'ü üzerine bir açık kanal blokeri olarak davrandığını rapor etmişlerdir.

Nagata ve ark. [82] bir başka çalışmalarında yine tüm hücre patch-clamp metodunu kullanarak imidaclopridin nAChR üzerine etkilerini klonlanmış sıçan PC12 (adrenal bezin merkezinde çıkan tümör hücreleri) hücrelerinde çalışmışlardır. İmidacloprid nedenli nAChR/iyon kanalının ortalama açık kalma süresi ve akım iletimi asetilkolin ile meydana gelen etkiden daha düşük olduğunu bulmuşlardır.



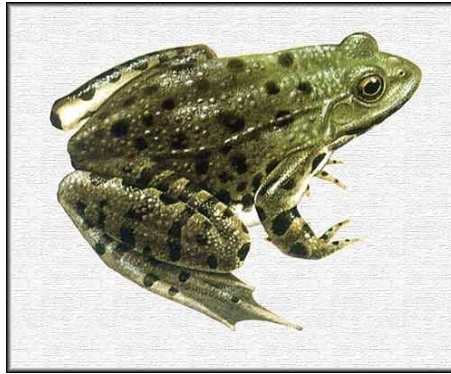
### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. DENEY HAYVANLARI

Deneylerde Mersin Müftü Deresinden yakalanan *Rana ridibunda* türünden kurbağalar kullanıldı (Şekil 3.1.). Kurbağaların dişi yada erkek olmasına bakılmaksızın aynı yerden yakalanmalarına ve aynı büyüklükte (50-60 gram) olmalarına özen gösterildi. Kurbağalar, içerisinde dere suyu bulunan bir akvaryuma yerleştirildi ve bir hafta boyunca adaptasyon sağlamları amacıyla laboratuarda bekletildi. Akvaryumdaki su sıcaklığı 20-24 °C de tutuldu. Akvaryumdaki su gün aşırı değiştirildi.

##### 3.1.1. Deneylerde Kullanılan Kurbağa Türünün Biyolojik ve Ekolojik Özellikleri

Deneylerde kullanılan *Rana ridibunda* (ova kurbağası, yeşil kurbağa) türünün sırt bölgesinin rengi yeşilimsi gri, açık yada koyu kahverengi olabilir. Karın tarafları çoğunlukla kirlili beyaz veya sarımsıdır. Kulak zarları belirgin olup, arka bacakları fazla uzun değildir. Derileri genellikle pürüklüdür ve temporal bant bulunmaz. Vomer dişleri enine yada biraz eğik iki sıra halindedir. Erkekleri, dişilerinden, ses keselerinin bulunması; ön bacaklarının daha kuvvetli olması ve birinci parmaklarının kaide tarafında şişkinliklerin bulunmasıyla ve biraz daha küçük olmalarıyla ayırt edilirler [83,84].

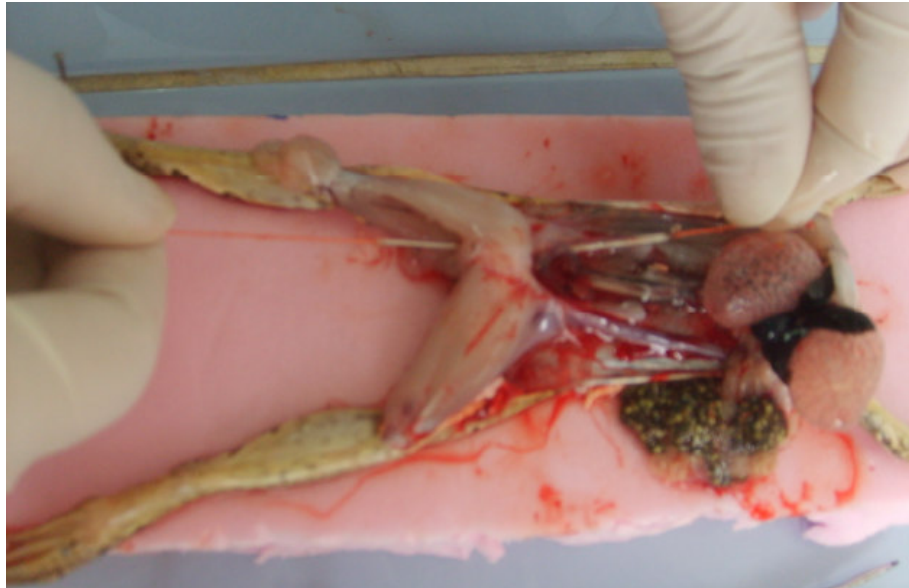


Şekil 3.1. *Rana ridibunda* [85].

Bu tür, kural olarak ovalardaki bitkisi bol, durgun ve sığ suların içinde, kıyılarında ve su üzerine çıkmış yaprakların üzerinde yaşar. Göz ve burun delikleri suyun dışında kalacak şekilde su içerisinde gizlenirler. Dağlık bölgelerde az bulunmalarına karşın, 2250m'ye kadar yayıldıkları olur. Çiftleşme Mayıs-haziran aylarında gerçekleşir. Üreme mevsiminde bir dişi, yaklaşık 5000-10000 yumurta bırakır. Sıcaklığa bağlı olarak larva evresi 3-4 ay sürer. Eşeyssel olgunluğa 3 yıl sonra ulaşılır. Boyları 10-15cm kadardır. Kuzey Afrika, Orta ve Güney Avrupa ve Batı Asya'da; ülkemizde ise uygun olan her yerde bulunurlar [83,84].

### 3.2. DENEY HAYVANLARININ DİSEKSİYONU

Kurbağalar kulak arkasından makasla kesilerek spinal hale getirildi. Daha sonra ince bir tel ile vertebral kolona girilerek medulla spinalis (omurilik) tahrip edildi. Böylece herhangi bir uyuşturucu madde kullanmadan refleks merkezi ortadan kaldırılmış ve kurbağalar hareketsiz hale getirilmiş oldu. Her kurbağadan iki adet siyatik sinir izole edildi (Şekil 3.2.). İzole edilen sinirler, soğuk kanlı hayvanlardan alınan dokuları canlı korumak için hazırlanmış ringer çözeltilisine konuldu.



Şekil 3.2. Kurbağa siyatik sinirinin izolasyonu.

### 3.3. İNSEKTİSİTLER

Deneylede nAChR'lerinin doğal bir agonisti olan nikotin ( $C_{10}H_{14}N_2$ ) ve sentetik bir agonist olan imidacloprid ( $C_9H_{10}ClN_5O_2$ ) kullanılmıştır. Ayrıca insektisitlerin etki mekanizmalarını açıklayabilmek ve karşılaştırma yapabilmek için antagonist etki gösteren  $\alpha$ -bungarotoxin ve mecamlamine ( $C_{11}H_{21}N$ ) kullanılmıştır.

### 3.4. UYGULANAN DOZLARIN BELİRLENMESİ

Deney gruplarında kullanılan dozları belirlemek için ön elektrofizyolojik deneyler yapıldı. Yalnız agonistle çalışılan ön deneylerde imidacloprid ve nikotinin  $1 \times 10^{-7}M$ ,  $1 \times 10^{-6}M$ ,  $1 \times 10^{-5}M$ ,  $1 \times 10^{-4}M$ ,  $1 \times 10^{-3}M$ ,  $1 \times 10^{-2}M$  olmak üzere 6 farklı konsantrasyonuyla çalışıldı. Ön deney sonucunda imidacloprid ve nikotin için  $1 \times 10^{-6}M$ ,  $1 \times 10^{-5}M$ ,  $1 \times 10^{-4}M$ , konsantrasyonlarının uygun olduğuna karar verildi. Agonist ve antagonistin birlikte çalışılan ön deneylerde  $1 \times 10^{-6}M$  agonist +  $1 \times 10^{-6}M$  antagonist,  $1 \times 10^{-6}M$  agonist +  $1 \times 10^{-5}M$  antagonist,  $1 \times 10^{-6}M$  agonist +  $1 \times 10^{-4}M$  antagonist,  $1 \times 10^{-6}M$  agonist +  $1 \times 10^{-3}M$  antagonist olmak üzere 4 farklı kombinasyon denendi. Ancak agonist + antagonist kombinasyonu için de  $1 \times 10^{-6}M$  agonist +  $1 \times 10^{-5}M$  antagonist kombinasyonu uygun görüldü.

### 3.5. DENEY GRUPLARININ HAZIRLANMASI

Bu çalışmada ekstrasellüler elektrofizyolojik kayıt tekniğinden yararlanılan deneylerde her insektisit dozu için sekiz siyatik sinir çalışılmıştır.

İnsektisitlerin zamana bağlı etkilerini de inceleyebilmek için bütün siyatik sinir preparatların 0. dakikada (insektisit uygulamadan önce), 30. dakikada, 60. dakikada, 90. dakikada ve 120. dakikada aksiyon potansiyel parametreleri ölçümü yapılmıştır. 0. dakikadaki ölçüm preparatın kendi kontrolüne karşılık gelmektedir. Aynı şekilde kontrol grupları için aksiyon potansiyel parametreleri ölçümü siyatik sinirde zamana bağlı olarak yapılmıştır.

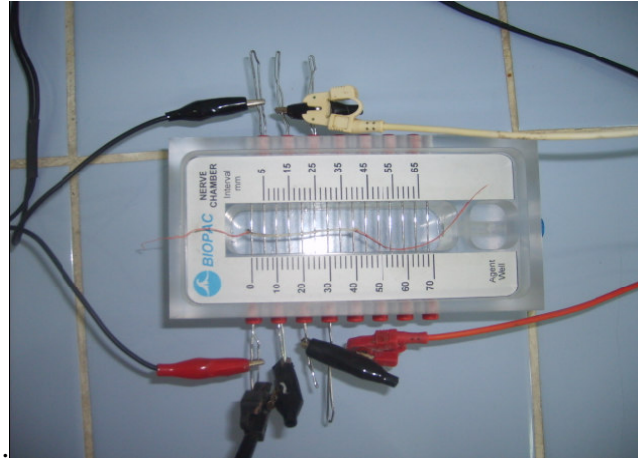
### 3.6. ÇÖZELTİLER

Siyatik sinirlerin canlı kalabilmeleri için fizyolojik olarak ringer çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti aşağıdaki gibidir.

Ringer Çözeltisi : NaCl, 111.87 mM; KCl, 2.47mM; CaCl<sub>2</sub>, 1.08 mM; ve NaHCO<sub>3</sub>, 2.38 mM (pH=7.2).

### 3.7. ELEKTROFİZYOLOJİK KAYITLAR

Verilerin kayıt ve analizi için bilgisayara bağlı BIOPAC MP 100 A elektrofizyolojik kayıt istasyonu kullanılmıştır. Cihazın bünyesindeki stimülatör ile sinirler supramaksimal uyarın şiddeti ile uyarılmıştır. Oluşan bileşik sinir aksiyon potansiyelleri ERS 100 B amplifikatörde yükseltildikten sonra analog/dijital çevirici aracılığıyla daha sonra analiz edilmek üzere bilgisayara aktarılmıştır. Kayıtlar sırasında izole siyatik sinir şeffaf sinir kutusuna yerleştirilmiştir. Sinir kutusu içerisinde aralarında 0.5 cm mesafe bulunan Ag/AgCl (gümüş/gümüşklorür) elektrotlar yer almaktadır (Şekil 3.3. ve Şekil 3.4.).



Şekil 3.3. Sinir kutusu.



Şekil 3.4. Hücre dışı kayıt alım sistemi.

### 3.8. ANALİZ

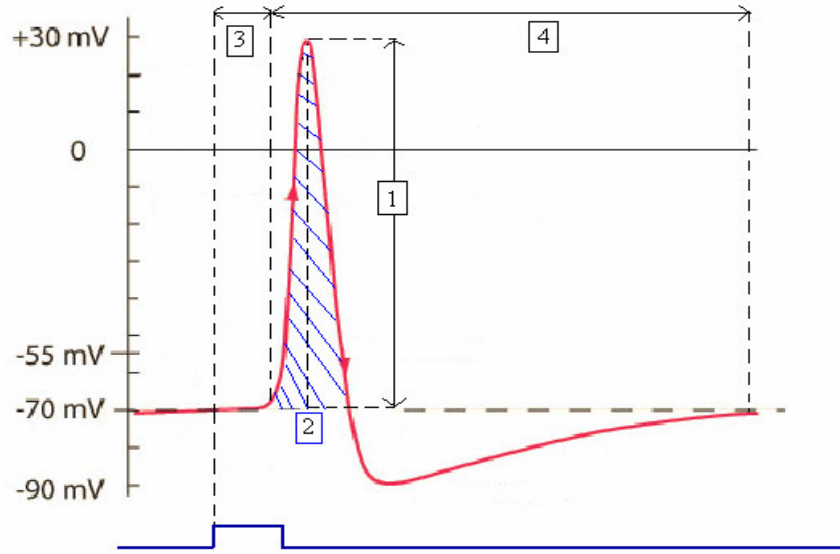
Kaydedilen bileşik sinir aksiyon potansiyellerinden aşağıdaki değişkenler değerlendirildi (Şekil 3.5.):

Genlik (mV) : Dinlenim zar potansiyeli ile aksiyon potansiyelinin maksimum değeri arasındaki potansiyel değeri.

Alan (V.ms.) : Aksiyon potansiyelinin altında kalan bölge.

Latans (ms) : Uyarı verildikten sonra aksiyon potansiyelinin oluşumuna kadar geçen süre.

Aksiyon potansiyelinin süresi (ms) : Aksiyon potansiyelinin başlangıcından dinlenim zar potansiyeline kadar geçen süre.



Şekil 3.5. Aksiyon potansiyeli. 1: Maksimum genlik, 2: Alan, 3: Latans, 4: Aksiyon potansiyelinin süresi (duration).

### 3.9. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Veriler istatistiksel olarak SPSS 11.5 paket programı kullanılarak analiz edildi. Değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediğini belirlemek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanıldı.

İmidacloprid, nikotin,  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlaminin sinir aksiyon potansiyeli genliği, alanı, latansı ve süresi üzerine zamana ve doza bağlı etkileri tekrarlayan ölçümlü varyans analizi yöntemi kullanılarak belirlendi. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılığın sınırı  $p < 0.05$  olarak belirlendi.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. BULGULAR

#### 4.1.1. İmidaclopridin Tek Başına veya Kombinasyon Halinde Siyatik Sinir Aksiyon Potansiyel Parametreleri Üzerine Doza ve Zamana Bağlı Etkileşimi

İmidaclopridin aksiyon potansiyel parametreleri üzerine zamana ve doza bağlı etkilerine ait bulgular EK 1.'de gösterilmiştir. Ayrıca aynı bulguların, kontrol grupları değerleriyle karşılaştırılarak yüzdesi alınmıştır (Şekil 4.1-8).

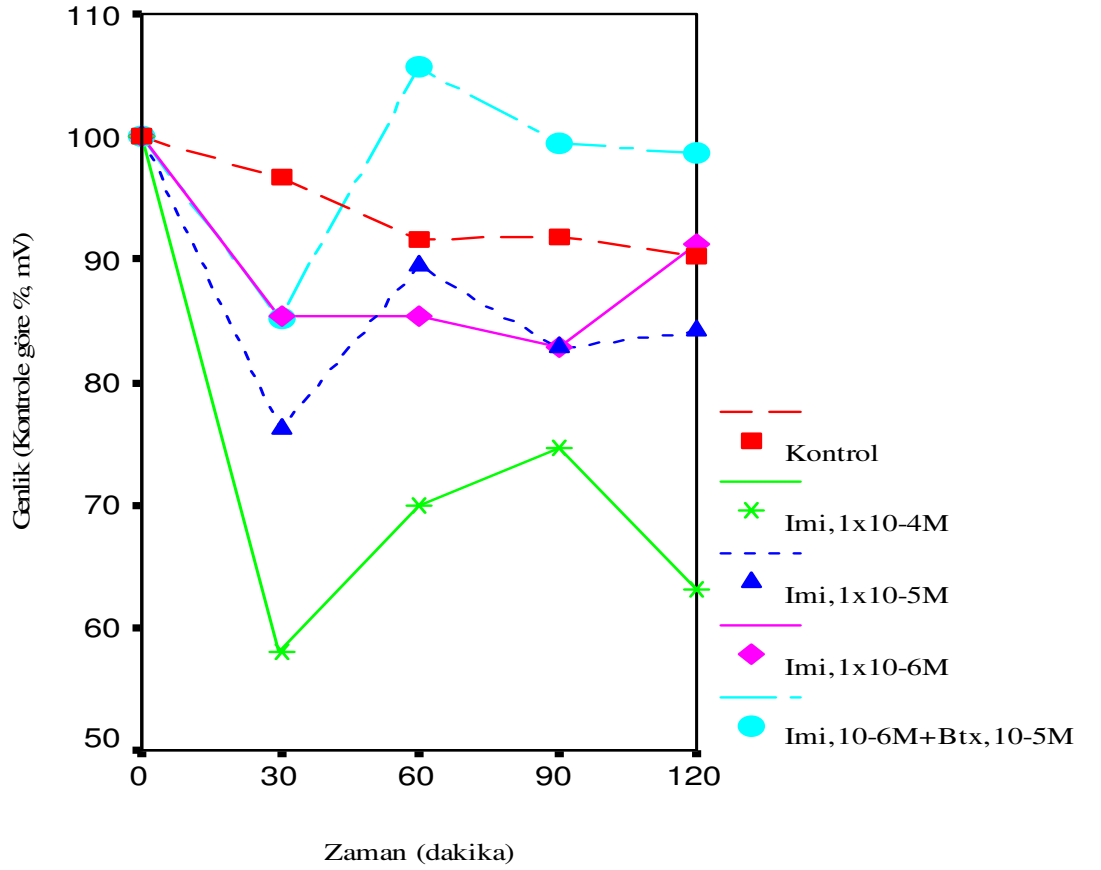
##### 4.1.1.1. İmidaclopridin aksiyon potansiyel genliği üzerine etkileşimi

İmidacloprid, sinir-aksiyon potansiyel genliğini zamana bağlı olarak EK 1.'de görüldüğü gibi, 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında,  $1 \times 10^{-4}M$ ,  $1 \times 10^{-5}M$  ve  $1 \times 10^{-6}M$  konsantrasyonda 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda azaltmıştır. Bu azalmalar,  $1 \times 10^{-4}M$  imidacloprid uygulamasında 30, 60 ve 120. dakikalarda,  $1 \times 10^{-6}M$  imidacloprid uygulamasında ise 60, ve 90. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Doza bağlı olarak da imidacloprid, sinir-aksiyon potansiyeli genliğini 30. dakikada  $1 \times 10^{-4}M$  konsantrasyonda %45,  $1 \times 10^{-5}M$  konsantrasyonda %24,  $1 \times 10^{-6}M$  konsantrasyonda ise %14 düşürmüştür. 60. dakikada 0. dakikaya göre  $1 \times 10^{-4}M$  konsantrasyonda %30,  $1 \times 10^{-5}M$  konsantrasyonda %10,  $1 \times 10^{-6}M$  konsantrasyonda %15 düşürmüştür. 90. dakikada ise 0. dakikaya göre  $1 \times 10^{-4}M$  konsantrasyonda %25,  $1 \times 10^{-5}M$  konsantrasyonda %15,  $1 \times 10^{-6}M$  konsantrasyonda da %15 düşürmüştür. Buna karşılık 120. dakikada 0. dakikaya göre  $1 \times 10^{-4}M$  konsantrasyonda %35,  $1 \times 10^{-5}M$  konsantrasyonda %14 düşüş görülmüştür. 120. dakikada  $1 \times 10^{-6}M$  konsantrasyonda %10 düşürmüştür. Azalan bu genlikler arasında doza bağlı olarak istatistiksel anlamlılık yoktur ( $p > 0.05$ ).

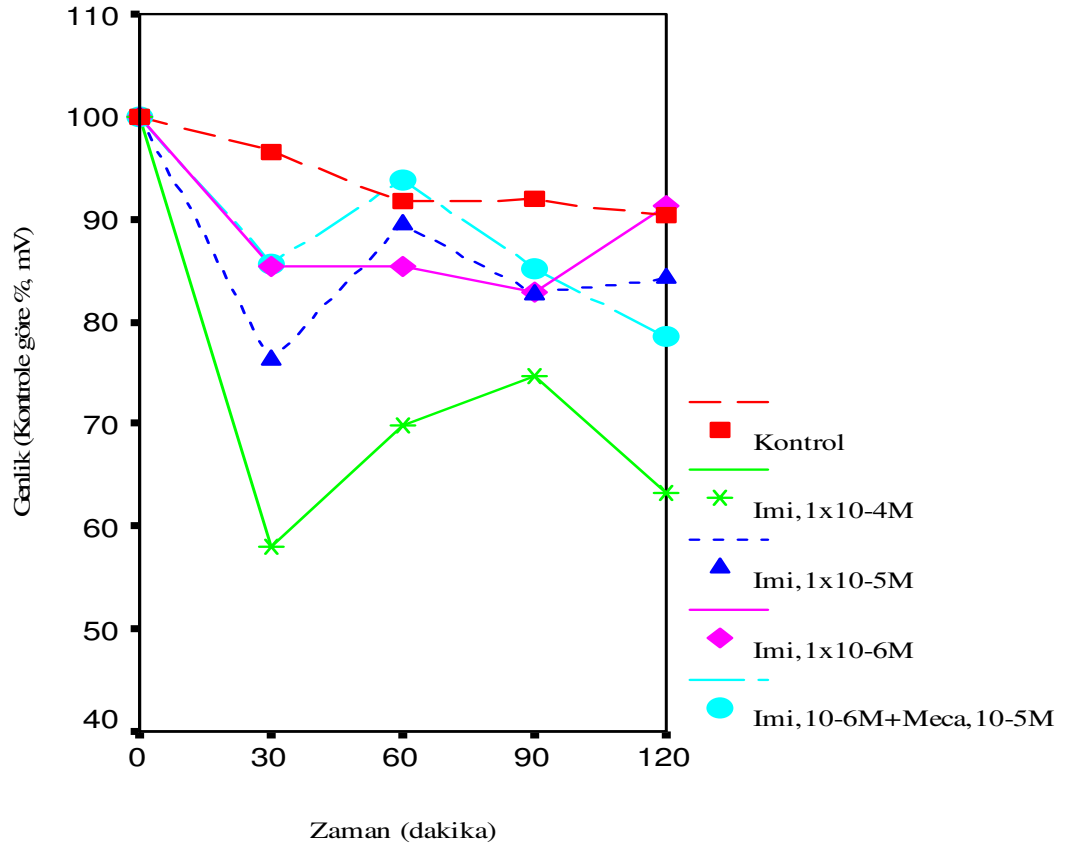
$1 \times 10^{-6} \text{M}$  imidacloprid +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  bungarotoksin kombinasyonu ile yapılan deney grubunda sadece 30. dakikada %15 bir düşüş gözlemlenirken, 60, 90 ve 120. dakikalarda önemli bir değişiklik olmamıştır ( $p > 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  imidacloprid +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  mecamlamine kombinasyonu ile yapılan deney grubunda 0. dakikayla karşılaştırıldığında 30, 60, 90. dakikalarda istatistiksel olarak bir anlamlılık yokken ( $p > 0.05$ ), 120. dakikadaki düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).



Şekil 4.1. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.





Şekil 4.2. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Meca; mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma ) olarak verilmiştir.

#### 4.1.1.2. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli alanı üzerine etkileşimi

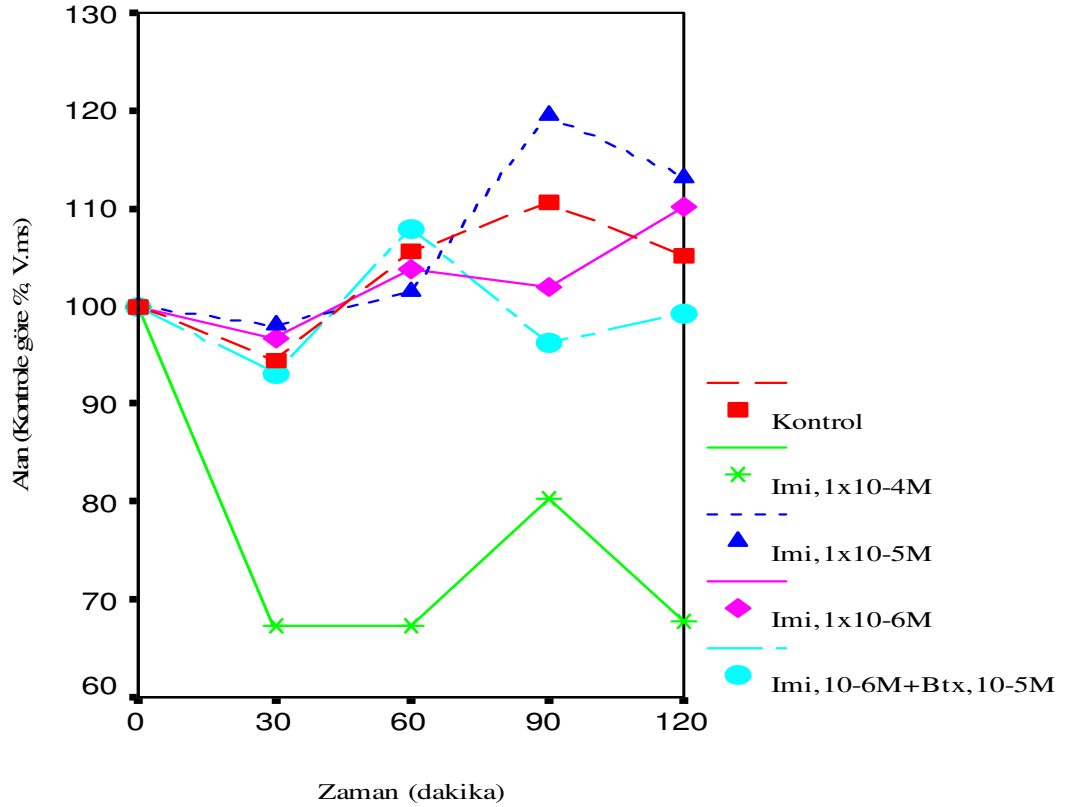
İmidaclopridin, sinir-aksiyon potansiyeli alanını zamana bağlı olarak  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonda 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda küçültmüştür. Bu küçülmeler 60 ve 120. dakikalarda istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Diğer dozlarda imidacloprid, sinir-aksiyon potansiyeli alanını süreye bağlı olarak istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde değiştirmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Doza bağlı olarak imidacloprid sinir-aksiyon potansiyeli alanını 0. dakikaya göre  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonda 30. dakikada %33, 60. dakikada %33, 90. dakikada %20, 120. dakikada %30 düşürmüştür. Şekil 4.3.'de de görüldüğü gibi

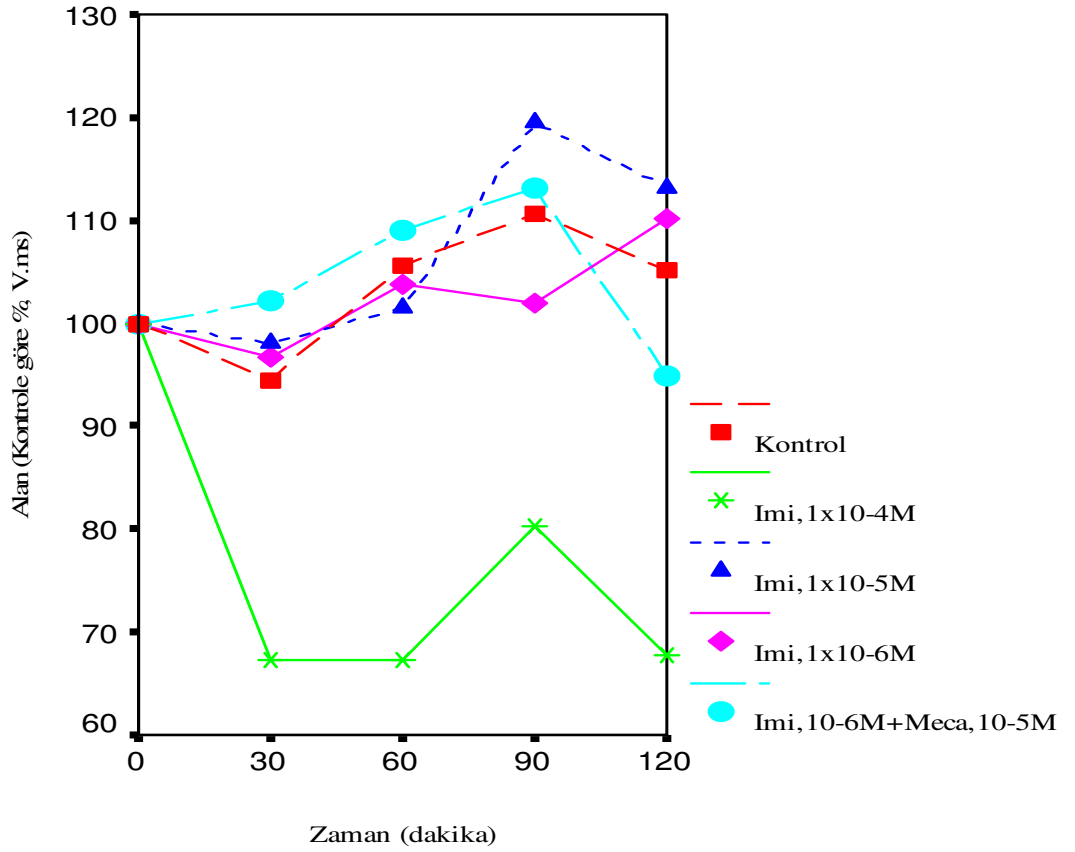
$1 \times 10^{-4} \text{M}$  konsantrasyondaki imidacloprid grubu ile  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  ve  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  konsantrasyondaki imidacloprid grubu arasındaki fark 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda oldukça fazladır ve dozlar arasındaki bu fark EK 1.'de de görüldüğü gibi istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  imidacloprid +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  imidacloprid +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  mecamlamine kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4.3. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* sıyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.



Şekil 4.4. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma ) olarak verilmiştir.

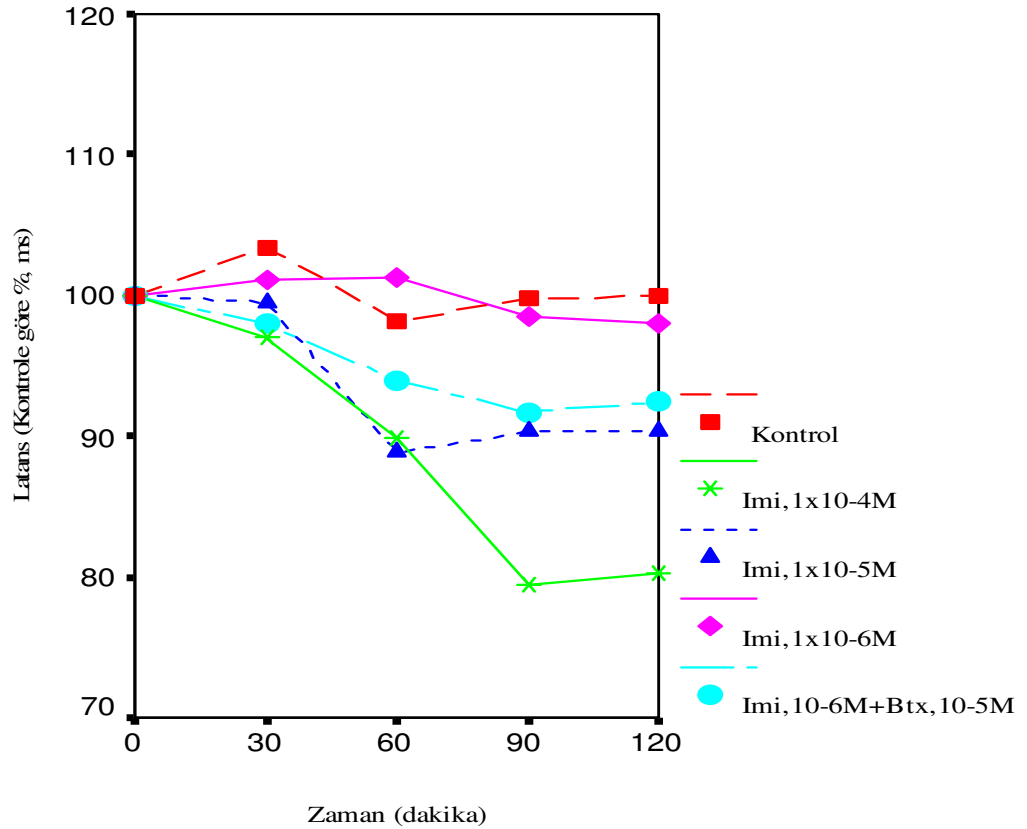
#### 4.1.1.3. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli latansı üzerine etkileşimi

İmidacloprid, sinir-aksiyon potansiyeli latansını zamana bağlı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonda 30. dakikada %4, 60. dakikada %10, 90. dakikada %20 ve 120. dakikada %20 azalmıştır.  $1 \times 10^{-5}$ M konsantrasyonda 0. dakikayla karşılaştırıldığında 60. dakikada %11, 90. dakikada %10, 120. dakikada %10 azalmıştır.  $1 \times 10^{-6}$ M konsantrasyonda ise 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda belirgin bir değişim görülmemiştir. Bu üç dozda da latansın zamana bağlı değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

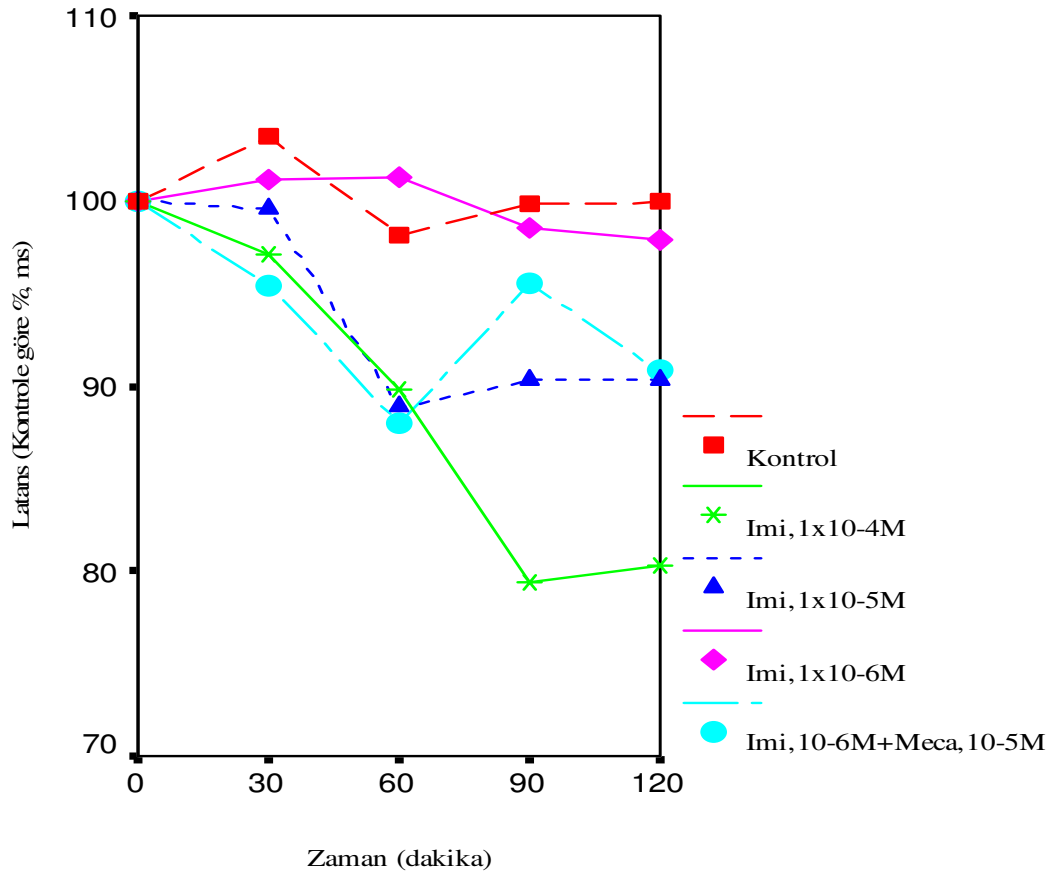
Doza bağılı olarak ise imidaclopridin sinir-aksiyon potansiyeli latansı 0, 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda her üç imidacloprid konsantrasyonu arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılık vardır ( $p<0.05$ ).

$1 \times 10^{-6}M$  imidacloprid+ $1 \times 10^{-5}M$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda 0. dakikaya göre 30, 60, 90. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ). Fakat 120. dakikadaki değişimin istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ( $p<0.05$ )

$1 \times 10^{-6}M$  imidacloprid+ $1 \times 10^{-5}M$  mecamlamine kombinasyonu ile yapılan deneyde, 0. dakikayla karşılaştırıldığında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).



Şekil 4.5. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağılı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.



Şekil 4.6. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.

#### 4.1.1.4. İmidaclopridin aksiyon potansiyeli süresi üzerine etkileşimi

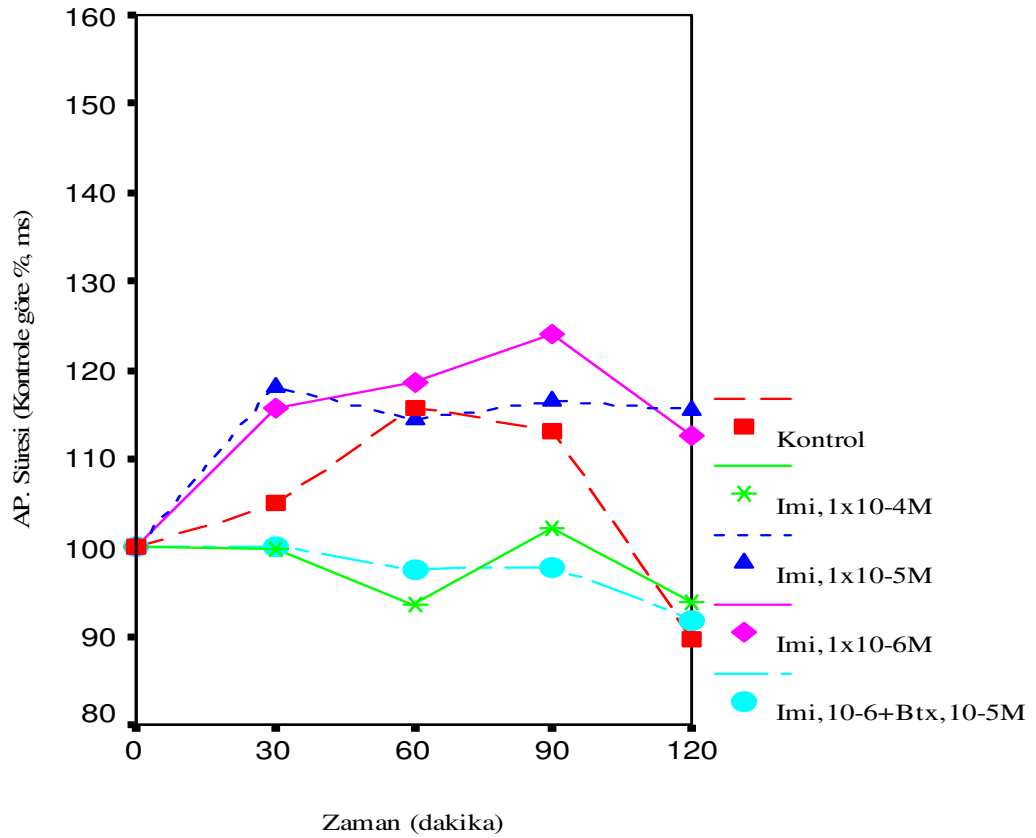
İmidacloprid, sinir-aksiyon potansiyeli süresini zamana bağlı olarak  $1 \times 10^{-5}M$  ve  $1 \times 10^{-6}M$  konsantrasyonlarda 0. dakikayla karşılaştırıldığında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda arttırmıştır. İmidacloprid, sinir-aksiyon potansiyeli süresini zamana bağlı olarak  $1 \times 10^{-4}M$  konsantrasyonda ise 90. dakikada arttırmış fakat 30, 60 ve 120. dakikalarda azaltmıştır. Her bir dozdaki zamana bağlı olarak meydana gelen bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

Doza bağlı olarak ise imidaclopridin sinir-aksiyon potansiyeli süresi üzerindeki değişim, 30. dakikada  $1 \times 10^{-4}M$  ve  $1 \times 10^{-5}M$  konsantrasyonlar arasında

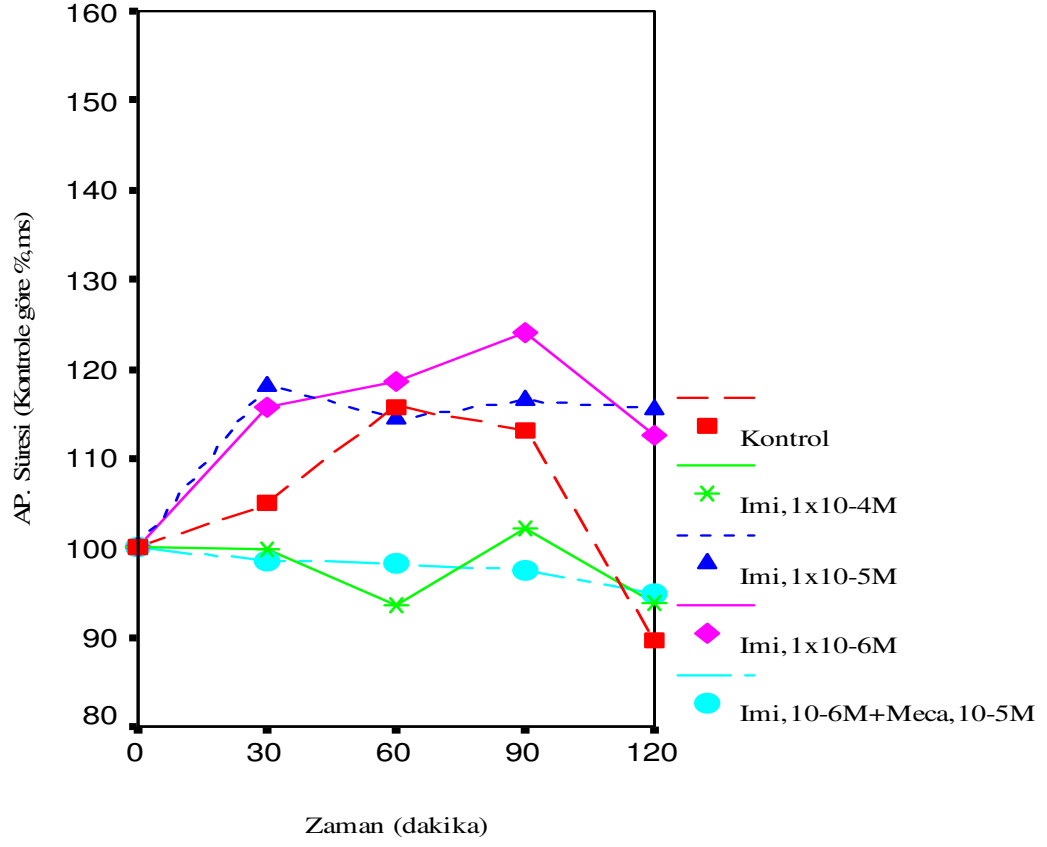
istatistiksel olarak anlamlıdır. 60. dakikada ise her üç konsantrasyon arasında istatistiksel olarak bir anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  imidacloprid +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli süresinde 0. dakikaya göre 30, 60, 90. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  imidacloprid +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  mecamlamine kombinasyonu ile yapılan deneyde, sinir-aksiyon potansiyeli süresinde 0. dakikayla karşılaştırıldığında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ( $p > 0.05$ )



Şekil 4.7. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.



Şekil 4.8. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde *R.ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.

#### 4.1.2. Nikotinin Tek Başına veya Kombinasyon Halinde Siyatik Sinir Aksiyon Potansiyel Parametreleri Üzerine Doza ve Zamana Bağlı Etkileşimi

Nikotinin aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine zamana ve doza bağlı etkilerine ait bulgular EK 2.'de gösterilmiştir. Ayrıca aynı bulgular kontrol grupları ile karşılaştırılarak değişimler yüzde olarak ifade edilmiştir (Şekil 4.9-16).

##### 4.1.2.1. Nikotinin aksiyon potansiyeli genliği üzerine etkileşimi

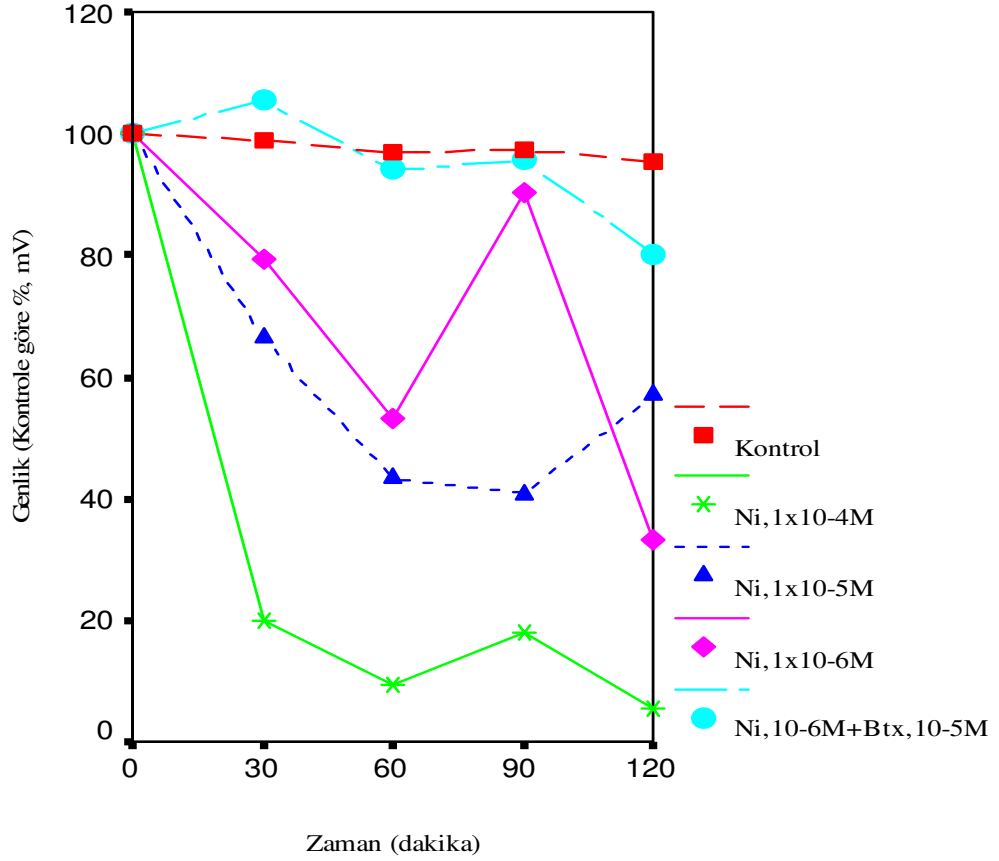
Nikotin, sinir-aksiyon potansiyeli genliğini zamana bağlı olarak 0. dakikadaki ölçümleriyle karşılaştırıldığında  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  konsantrasyonda 30. dakikada % 80, 60. dakikada %90, 90. dakikada %80, 120. dakikada %95 düşürmüştür.  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  konsantrasyondaki ölçümler ise 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında 30. dakikada %30, 60. dakikada %57, 90. dakikada %56, 120. dakikada %40 düşürmüştür. Aynı şekilde  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  konsantrasyondaki ölçümler 0. dakikadakilere karşılaştırıldığında 30. dakikada %20, 60. dakikada %42, 90. dakikada %10, 120. dakikada %63 düşürmüştür. Sinir-aksiyon potansiyeli genliğindeki bu düşüşler  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  konsantrasyonda 30, 60, 90 ve 120. dakikada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  konsantrasyondaki düşüşler 60, 90 ve 120. dakikada,  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  konsantrasyondaki düşüşler 60 ve 120. dakikada istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Doza bağlı olarak ise 30, 60 ve 90. dakikalarda  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  konsantrasyon ile çalışılan deney grubunda ve  $10^{-6} \text{M}$  konsantrasyon ile çalışılan deney grubu arasında, 120. dakikada ise tüm konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlılık vardır ( $p < 0.05$ ).

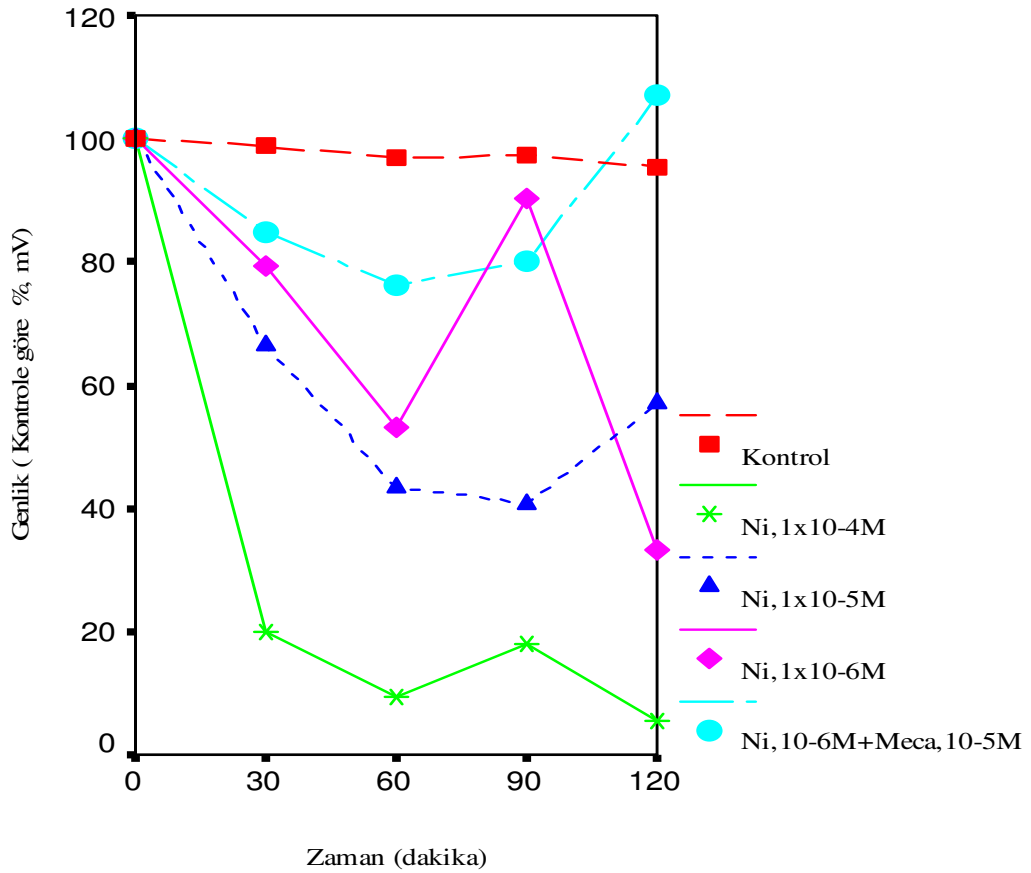
$1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli genliğinde 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).



$1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  mecamylamine kombinasyonu ile yapılan deneyde, sinir-aksiyon potansiyeli genliğinde 0. dakikayla karşılaştırıldığında 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4.9. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.



Şekil 4.10. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli genliği üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.

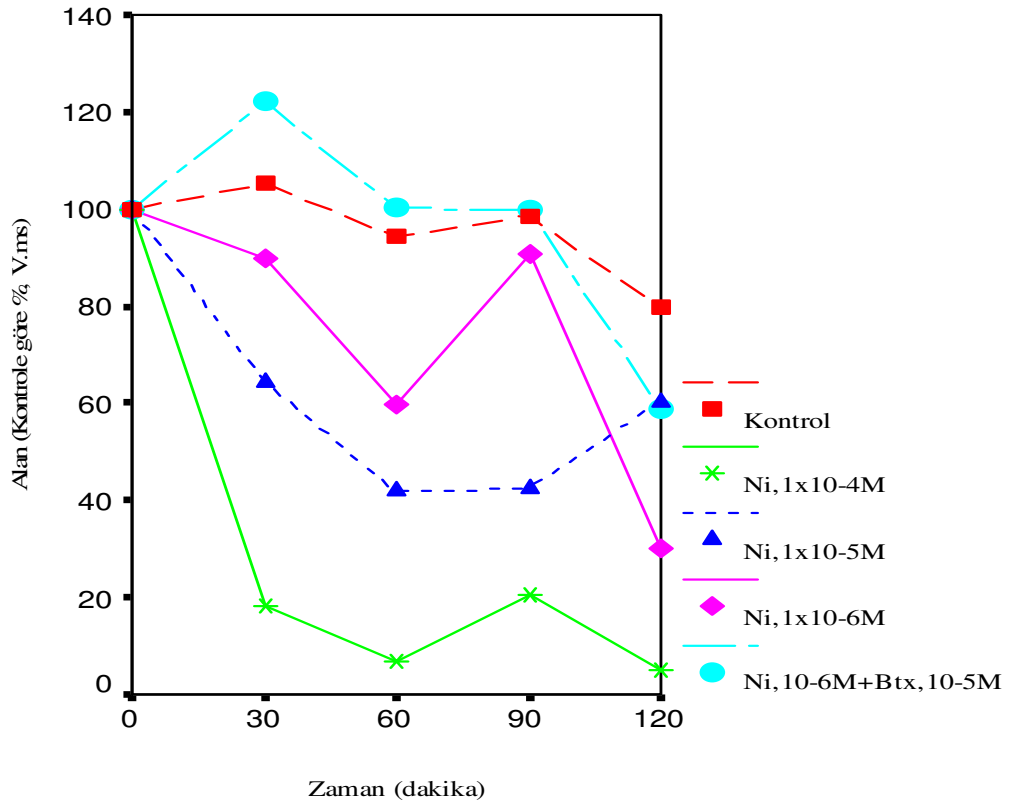
#### 4.1.2.2. Nikotinin aksiyon potansiyeli alanı üzerine etkileşimi

Nikotin, sinir-aksiyon potansiyeli alanı zamana bağlı olarak 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonda 30. dakikada %80, 60. dakikada %90, 90. dakikada %80, 120. dakikada %90 düşüş göstermiştir.  $1 \times 10^{-5}$ M konsantrasyonda 0. dakikadaki ölçümlerle karşılaştırıldığında ise 30. dakikada %30, 60. dakikada %60, 90. dakikada %60, 120. dakikada %40 düşüş olmuştur.  $10^{-6}$ M konsantrasyonda, 0. dakikadaki ölçümlere göre 30. dakikada %10, 60. dakikada %40, 90. dakikada %10, 120. dakikada %70 düşmüştür. Sinir-aksiyon potansiyeli alanındaki bu azalmalar  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonda 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda,  $1 \times 10^{-5}$ M konsantrasyonda 60, 90 ve 120. dakikalarda,  $1 \times 10^{-6}$ M konsantrasyonda 120. dakikada anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

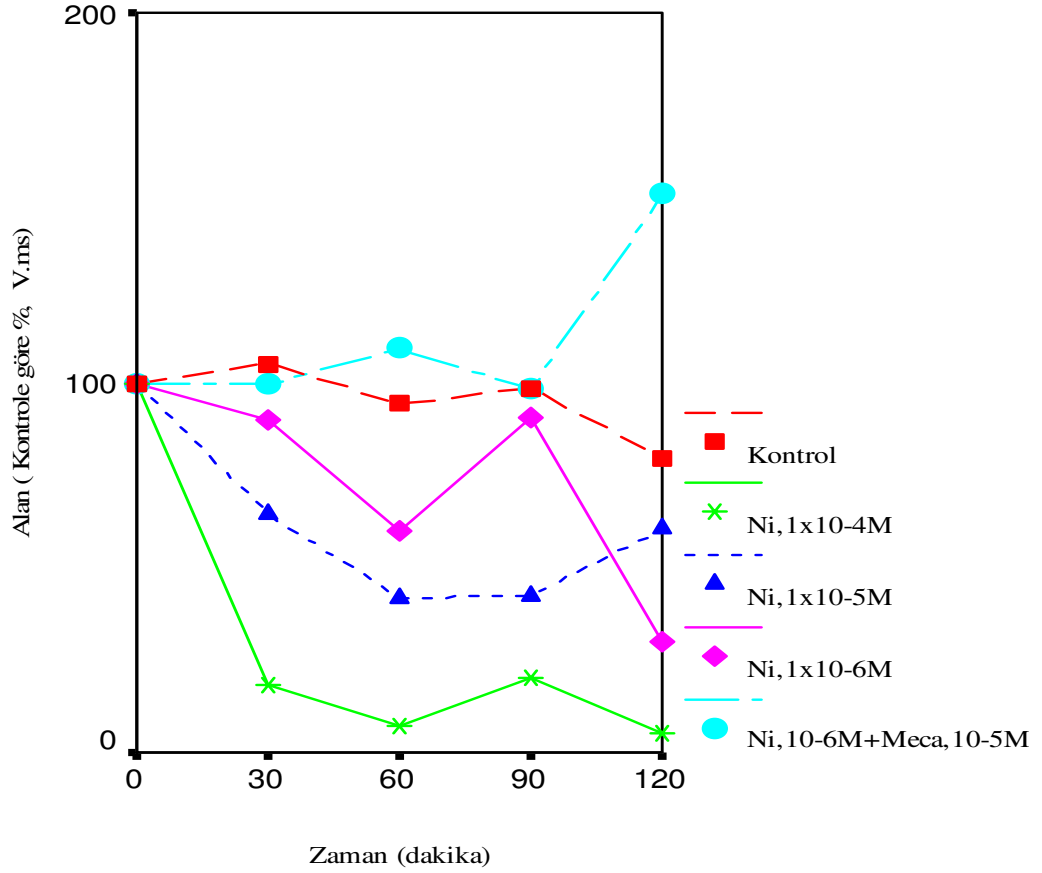
Doza bağı olarak ise 30, 60 ve 90 dakikalarda  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  konsantrasyon ve  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  konsantrasyon arasında, 120. dakikada ise her üç konsantrasyon arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmüştür ( $p < 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli alanında 0. dakikaya göre 30, 60 ve 90. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Sadece 120. dakikada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık mevcuttur ( $p < 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  mecamlamin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli alanında 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4.11. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.



Şekil 4.12. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli alanı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.

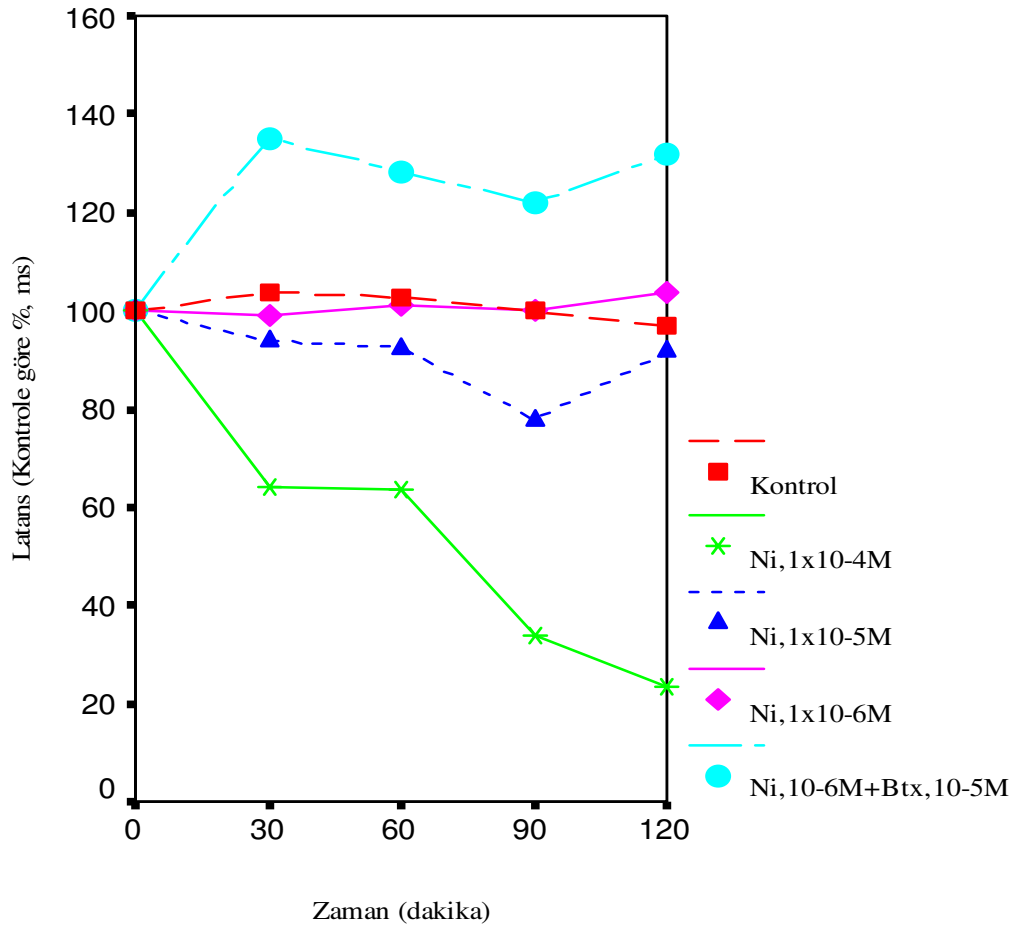
#### 4.1.2.3. Nikotinin aksiyon potansiyeli latansı üzerine etkileşimi

Nikotinin, sinir-aksiyon potansiyeli latansı zamana bağlı olarak 0. dakikayla karşılaştırıldığında  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  konsantrasyonda 30 ve 60. dakikalarda %40, 90. dakikada %64, 120. dakikada %77 düşmüştür.  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  konsantrasyonda 0. dakikadaki ölçümleriyle karşılaştırıldığında 30. dakikada %8, 60. dakikada %8, 90. dakikada %20 azalmıştır. Bu azalmalar  $10^{-4} \text{M}$  konsantrasyonda 90 ve 120. dakikalarda,  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  konsantrasyonda ise 120. dakikada anlamlı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  konsantrasyondaki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

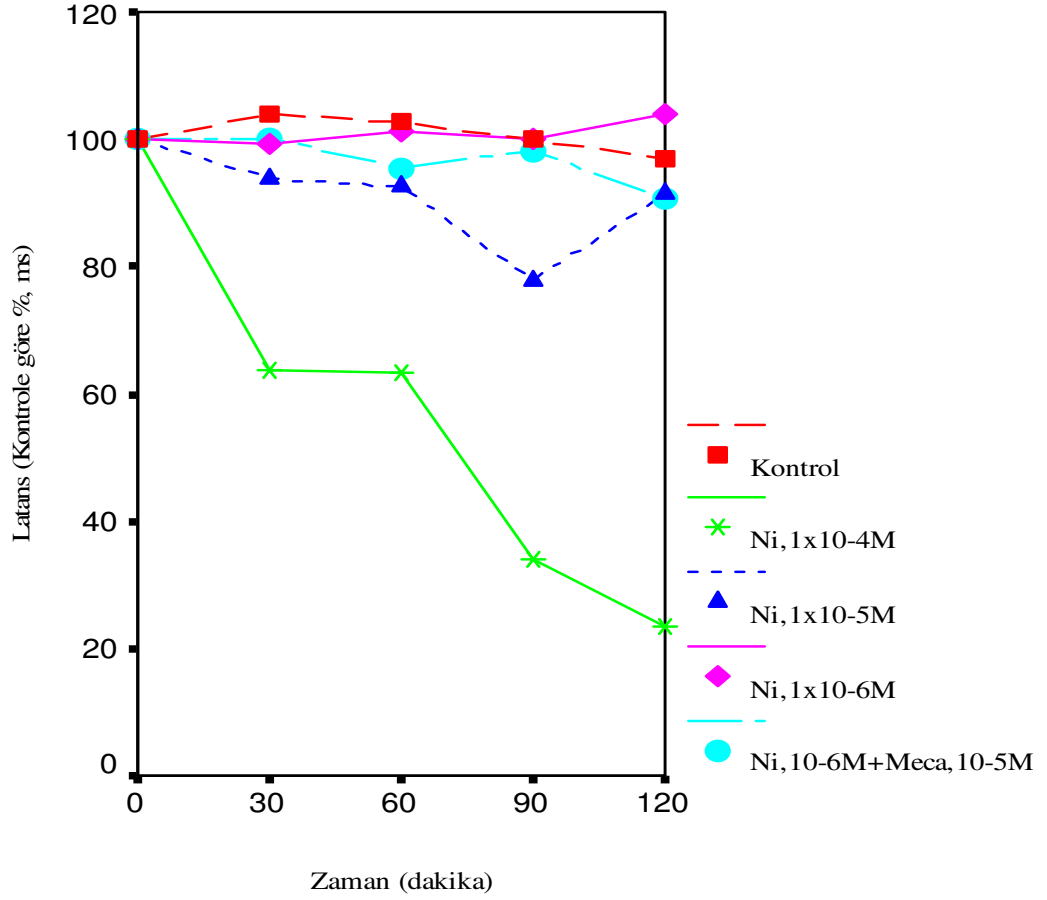
Doza bağılı olarak ise 0 ve 120. dakikalarda her üç konsantrasyon grubu arasında istatistiksel olarak bir anlamlı bir farklılık vardır ( $p < 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli latansında 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

$1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin +  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  mecamlamine kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli latansında 0. dakikaya göre 120. dakikada istatistiksel olarak anlamlılık varken ( $p < 0.05$ ), 30, 60 ve 90. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ( $p > 0.05$ ).



Şekil 4. 13. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.



Şekil 4. 14. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli latansı üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma ) olarak verilmiştir.

#### 4.1.2.4. Nikotinin aksiyon potansiyeli süresi üzerine etkileşimi

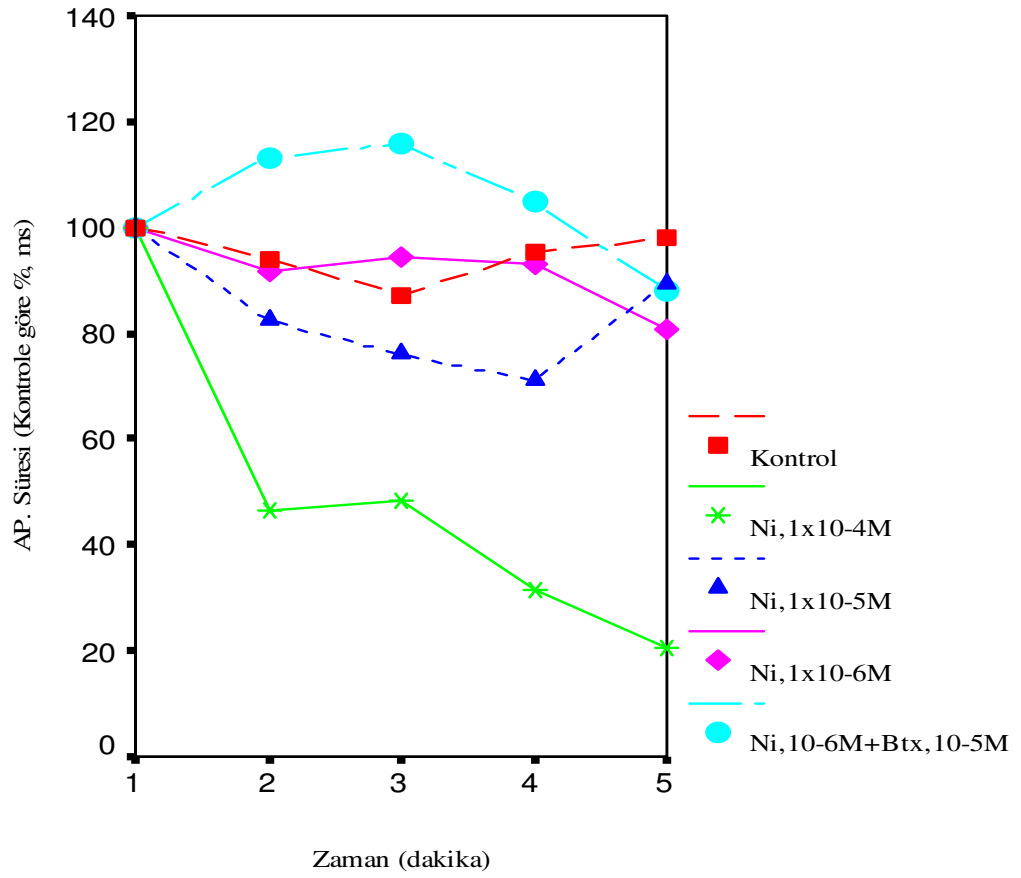
Nikotin, sinir-aksiyon potansiyeli süresini zamana bağlı olarak  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyonda 0. dakikaya göre 30. dakikada %50, 60. dakikada %49, 90. dakikada %65, 120. dakikada %80 azaltmıştır.  $1 \times 10^{-4}$ M konsantrasyondaki bu düşüşler 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlıdır ( $p < 0.05$ ).  $1 \times 10^{-5}$ M konsantrasyonda nikotin, aksiyon potansiyeli süresini 0. dakikaya göre 30. dakikada %18, 60. dakikada %22, 90. dakikada %30, 120. dakikada %10 düşürmüştür fakat bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).  $1 \times 10^{-6}$ M konsantrasyonda 0. dakikadaki ölçüleriyle karşılaştırıldığında 30, 60 ve 90. dakikada anlamlı bir değişim olmamıştır. Fakat 0. dakikadaki ölçümlerle

karşılaştırıldığında 120. dakikadaki % 18'lik azalama istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Doza bağılı olarak ise 30, 60 ve 90. dakikalardaki ölçümlerde  $1 \times 10^{-4}M$  ve  $1 \times 10^{-6}M$  nikotin konsantrasyonuyla yapılan deneyler arasında ve 120. dakikadaki ölçümlerde ise her üç konsantrasyon ile yapılan deneyler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardır ( $p<0.05$ ).

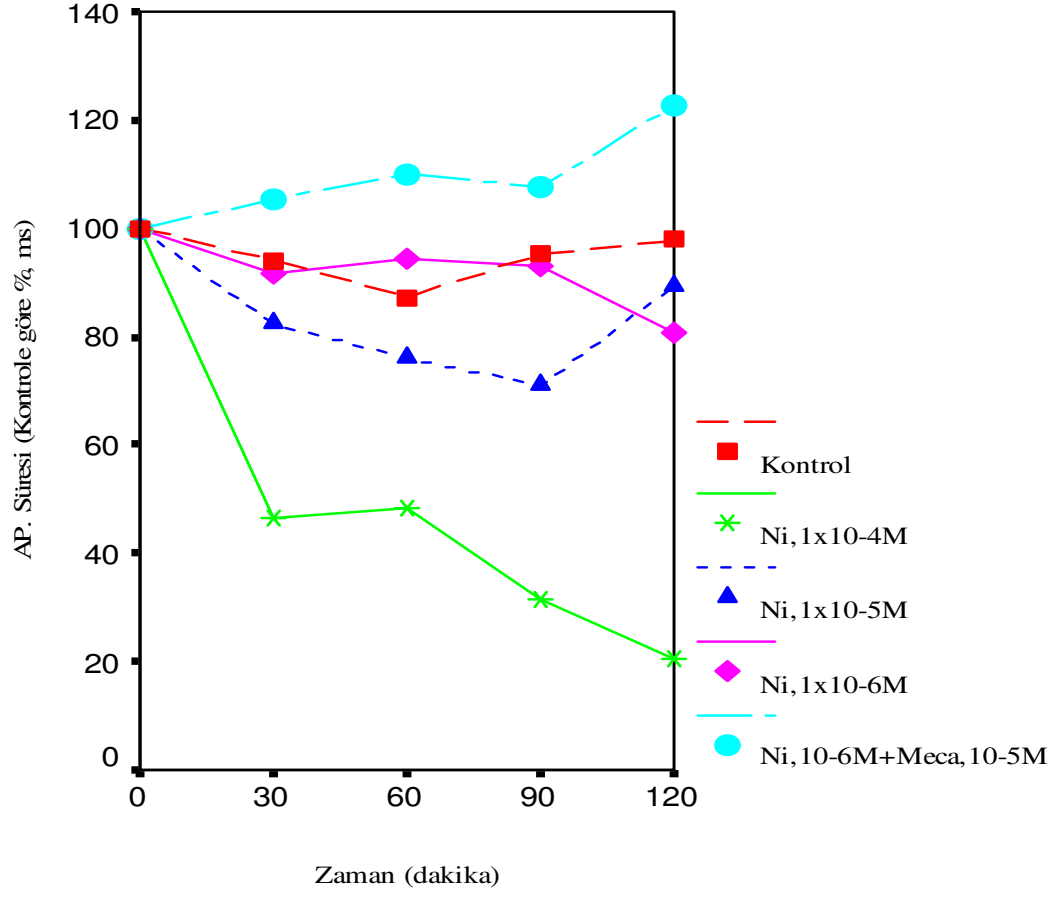
$1 \times 10^{-6}M$  nikotin+ $1 \times 10^{-5}M$   $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli süresinde 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0.05$ ).

$1 \times 10^{-6}M$  nikotin+ $1 \times 10^{-5}M$  mecamylamine kombinasyonunun uygulandığı deney grubunda sinir-aksiyon potansiyeli süresi 0. dakikaya göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda da istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemektedir ( $p>0.05$ ).



Şekil 4. 15. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma ) olarak verilmiştir.





Şekil 4. 16. Nikotinin tek başına veya kombinasyon halinde *R.ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli süresi üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin; Meca: mecamlamin. Veriler ortalama  $\pm$  SS (standart sapma) olarak verilmiştir.

## 4.2. TARTIŞMA

Organizmaların kas ve sinir gibi uyarılabilir hücrelerinde bilgi aktarımı aksiyon potansiyeli aracılığı ile meydana gelmektedir. Her hücre için karakteristik bir dinlenme zar potansiyeli değeri vardır. Sinir ve kas hücreleri, uygun bir uyarı ile uyarıldıklarında zar potansiyelinde geçici bir değişim olmaktadır. Böylece depolarize olan zar, zar potansiyeli negatif değerlerden daha pozitif değerlere doğru kayar. Belirli bir tepe noktasına ulaştıktan sonra potansiyel, dinlenme evresindeki değere geri döner. Bir nöronda bilgi, zar boyunca aksiyon potansiyeli ile yayılır ve nöron son ucuna iletilir. Nöronlar arasındaki aralıklar sinapslar olarak adlandırılır. Nöronun son ucuna ulaşan aksiyon potansiyeli, sinir sistemi boyunca sinapslardan nörotransmitter olarak adlandırılan kimyasal mesajcılar ile taşınırlar. Sinir-aksiyon potansiyeli parametreleri sinirsel iletim hakkında bilgi vermektedir [86,87].

Bu çalışmada farklı doz ve sürelerde bir neonikotinoid insektisit olan imidacloprid, nAChR agonisti olan nikotin ve antagonistleri olan  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamylaminin *Rana ridibunda* periferik sinir (siyatik sinir) aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine etkileşimleri incelenmiştir. Çalışma sonucunda bu maddelerin kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında farklı doz ve kombinasyonlarda kurbağa siyatik sinir aksiyon potansiyeli parametrelerini (genlik, alan, latans ve süre) etkilediği tespit edilmiştir (EK 1 ve EK 2).

Bulgular, *Rana ridibunda* sinir sistemi üzerine insektisitlerin etkileri hakkında yeni bilgiler sağlamaktadır. Nikotin  $1 \times 10^{-4} \text{M}$ - $1 \times 10^{-6} \text{M}$  aralığında genliği düşüren, alan küçülten, latans ve süreyi azaltan bir etki göstermiştir. Şekil 4.9-16'da görüldüğü gibi nikotin, her üç konsantrasyonda da genliği %10 ve %95 aralığında düşürmüştür, alanı %10-%90 aralığında küçültmüştür, latansı %8-%77 aralığında ve süreyi de %10-%80 aralığında kısaltmıştır. Aksiyon potansiyeli genlik, alan, latans ve süresinde meydana gelen bu etki, her üç konsantrasyon için de 30. dakikadan itibaren kendini göstermektedir. Yinede bu parametrelerdeki  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  nikotinin inhibisyon etkisi,  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  ve  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  nikotin dozlarının yarattığı etkiden çok daha güçlüdür.

Ancak birer nAChR antagonisti olan hem  $\alpha$ -bungarotoksin, hem de mecamlamin nikotinin inhibisyon etkisini baskılamıştır.  $\alpha$ -Bungarotoksin ve mecamlamine genlik, alan, latans ve süre üzerine baskılayıcı etkilerini 30. dakikadan itibaren göstermeye başlamıştır. Bu antagonistler nikotinin inhibisyon etkisini sırayla yaklaşık %95 ve %90 ortadan kaldırmıştır (EK 4.).

Diğer bir nAChR agonisti olan imidaclopridin her üç konsantrasyonu da aksiyon potansiyeli parametrelerini değiştirmiştir. Bu parametrelerdeki değişim, Şekil.4.1-8'de dört zaman diliminde sırasıyla görülmektedir. İmidacloprid, her üç konsantrasyonda genliği %10 ile %45 aralığında düşürürken, alanı %20 ile %33 aralığında küçülmüş, latansı da %4 ile %20 aralığında azaltmıştır. Aynı madde aksiyon potansiyeli süresini en fazla %5 azaltırken, en çok %25 arttırmıştır. İmidaclopridin bu parametrelerdeki  $1 \times 10^{-4} \text{M}$  inhibisyon etkisi,  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  ve  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  dozlarının yarattığı etkiden daha güçlüdür.  $1 \times 10^{-4} \text{M}$ ,  $1 \times 10^{-5} \text{M}$  ve  $1 \times 10^{-6} \text{M}$  dozlarında imidaclopridin genlik, alan latans üzerine etkisi 30. dakikadan itibaren, latans üzerine güçlü etki 60. dakikadan itibaren meydana gelmiştir. Fakat imidacloprid ve  $\alpha$ -bungarotoksin kombinasyonu ile yapılan deney grubunda, tüm bu etkilere ters yönde bir etki gözlenmiştir. Aynı şekilde imidacloprid ve mecamlaminin bulunduğu deney solüsyonu ile çalışılan gruptan elde edilen veriler de imidaclopridin etkisini mecamlamin tarafından ortadan kaldırdığını göstermektedir.  $\alpha$ -Bungarotoksinin, genlik, alan ve latans üzerine 60. dakikadan itibaren, süre üzerine de 30. dakikadan itibaren ters etkisi görülmektedir. Mecamlamin ise genlik üzerine 60. dakikadan itibaren, alan ve süre üzerine 30. dakikadan itibaren, latans üzerine de 90. dakikadan itibaren imidaclopride ters yönde bir etki sergilemiştir.  $\alpha$ -Bungarotoksin ve mecamlaminin her bir kombinasyonu aksiyon potansiyeline imidaclopridin her üç konsantrasyonunun etkisine ters yönde sırayla yaklaşık %80 ve %75 etki göstermiştir (EK 3.).

Elde edilen veriler imidaclopridin aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine nikotin gibi etki ettiğini göstermektedir. Farklı olarak nikotinin aksiyon potansiyeli parametreleri üzerindeki etkileri imidacloprid'ten daha güçlüdür. nAChR antagonisti olan  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamin; hem nikotin, hem de imidaclopridin aksiyon

potansiyeli üzerindeki etkilerini ortadan kaldırmaya yönelik bir davranış sergilemektedir. Antagonistlerin bu ters etkileri nikotin ile 30. dakikada meydana gelirken, imidacloprid ile özellikle genlik ve latansta 60. dakikan sonra ortaya çıkmıştır.

İmidaclopridin kısmen de olsa nikotin gibi etki göstermesi ve bu etkinin nAChR antagonistleri ( $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamine) tarafından ortadan kaldırılması, imidaclopridin nöronal nAChR agonisti olduğu yönünde güçlü deliller sağlamaktadır. Literatürde imidaclopridin kurbağa siyatik sinir aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle elde edilen bulguları doğrudan karşılaştırma olanağı olmamıştır.

Brown ve ark. [77] *Drosophila* larvalarının merkezi sinir sisteminden alınan kolinerjik sinir kültürlerinden patch-klamp kaydını kullanarak asetilkolin, nikotin, clothianidin, P-CH-clothianidin ve imidaclopridin etkilerini araştırmışlardır. 10 $\mu$ M imidacloprid ve 10 $\mu$ M nikotin doğal nAChR'lerine 100 $\mu$ M asetilkolinin oluşturduğunun %10-14'ü kadar akım genliği oluşturmuştur. 10 $\mu$ M clothianidin ve 10 $\mu$ M P-CH-clothianidin 100 $\mu$ M asetilkolin tarafından oluşturulandan %56 daha fazla akım genliği oluşturmuştur. Yaptıkları çalışmada oluşan bütün bu akımlar 10 $\mu$ M mecamlamin varlığında ortadan kalkmıştır. Bu çalışma ile nikotin ve imidaclopridin nAChR'lerine kısmen agonist etkisini, clothianidin, P-CH-clothianidin süper agonist etkisini göstermişlerdir. Çalışmalarında imidacloprid ve nikotinin etkilerinin mecamlaminin varlığında ortadan kalkması tez çalışmasında elde edilen sonuçlarla örtüşmektedir.

Zhang ve ark. [76] dört böcek türü (*Myzus persicae*, *Aphis craccivara*, *Drosophila melanogaster* ve *Musca domestica*) ile yaptıkları çalışmada [<sup>3</sup>H] izotop kullanarak imidaclopridin böcek sinir sisteminde bağlanma bölgelerinin sayısı ve yapı-aktivite ilişkisini türe göre karakterize etmişlerdir. Neonikotinoitlerin insektisit potansiyelinin türlere bağlı olmasının yanı sıra, dört böcek türünde nAChR bağlanma bölgesini tespit etmişlerdir.

Diğer bir çalışmada Zafeiridou ve Theophilidis [79] *Tenebrio molitor* böcek türünü kullanarak solunum merkezi sinapsları üzerine imidacloprid'in etkisini elektrofizyolojik olarak araştırmışlardır. 0.001 $\mu$ M ve 0.010 $\mu$ M konsantrasyonundaki imidacloprid çözeltileri ile yapılan deneylerde bir etki gözlenmezken, 0.10 $\mu$ M imidacloprid çözeltisi, solunum motor nöronlarında hipereksitasyon yaratmıştır. 1.0 $\mu$ M konsantrasyonundaki imidacloprid ise solunum motor nöronların aktivitesini aniden hızlandırmış, sonra tamamen inhibe etmiştir. Sonuç olarak, nöral ağa katılan her bir nöronda bulunan nAChR üzerindeki küçük bir değişimin nöral ağın çıktısında beklenmedik değişimlere yol açabileceğini rapor etmişlerdir. Karşılaştırma yapıldığında bu çalışmada da nöronal iletimde doza bağlı olarak artan imidacloprid nedenli bir inhibisyon meydana gelmiştir.

Bir başka çalışmada ise Matsuda ve ark. [17] nikotin, imidacloprid ve asetilkolinin *Drosophila* ve tavuk nAChR'leri üzerine etkilerini iki-elektrot voltaj-klamp elektrofizyolojik tekniği kullanılarak araştırmışlardır. İmidaclopridin  $\alpha 4\beta 2$  reseptörüne kısmen agonist etki gösterirken, epibatidin, nikotin ve asetilkolinin tam agonist olduğunu, *Drosophila*  $D\alpha 2/$  tavuk  $\beta 2$  reseptörüne ise hem imidacloprid hem de nikotinin kısmen agonist olduğunu, epibatidin ve asetilkolinin ise tam agonist olduğunu rapor etmişlerdir. Böylece asetilkolin ve imidacloprid'in nAChR'ünün aynı kanal molekülüne bağlandığı sonucuna varılmıştır.

Ihara ve ark. [18] *Xenopus laevis* oositlerinde tanımlanan tavuk  $\alpha 7$  ve  $\alpha 4\beta 2$  nAChR üzerine imidacloprid etkisini voltaj-klamp elektrofizyolojik tekniği kullanarak çalışmışlardır. İmidacloprid bu reseptörler üzerine kısmen agonist etki gösterirken, nitro grubu uzaklaştırılan imidacloprid (desnitroimidacloprid), reseptörlerin hepsinde tam agonist etki göstermiştir. İmidacloprid molekülündeki nitro grubunun, neonicotinoidlerin seçicilik ve etki çeşitliliğinde oldukça önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Nagata ve ark. [81] imidacloprid ve kartap'ın nAChR'üne etkilerini, klonlanmış sıçan PC12 (adrenal bezin merkezinde çıkan tümör hücreleri) hücrelerinde patch-klamp tekniğini kullanarak araştırmışlardır. 10 $\mu$ M

konsantrasyondaki asetilkolin nedenli akımlar ana iletim durumuna karşılık gelirken, 10µM konsantrasyondaki imidacloprid nedenli akımlar yarı iletim durumu göstermiştir. Farklı olarak 0.1-300 µM konsantrasyon aralığındaki kartab herhangi bir akım oluşturmamıştır. Bu çalışma, imidacloprid ve kartabın farklı etki mekanizmalarıyla nikotinic asetilkolin reseptörünü etkilediğini göstermektedir. Araştırmacılar, imidaclopridin yarı iletim durumundaki akımlar üretmek kısmen agonist etki gösterirken, kartabın nAChR'ü üzerine açık kanal blokeri olarak etki ettiğini göstermişlerdir. İmidaclopridin nAChR'ü üzerine kısmen agonist etkisi tez çalışmasında elde ettiğimiz bulguları desteklemektedir.

Bir başka çalışmada Seifert ve Stollberg [80], imidaclopridin nAChR'ü ile etkileşimini embriyonik kurbağa kas hücrelerinde araştırmışlardır. Çalışmalarında asetilkolin, nikotin ve imidacloprid kas hücrelerini kontraksiyona sevk etmiştir. Fakat uygulanan fizyolojik test sisteminde asetilkolinin nikotinden daha baskın olduğunu bulunmuştur (EC =5 x 10<sup>-8</sup>M karşı 6 x 10<sup>-7</sup>M). Asetilkolin ve imidacloprid tarafından oluşturulan kontraksiyonlar, α-bungarotoksin tarafından bloke edilmiştir (IC =9 x10<sup>-7</sup>M). Çalışmalarında, imidaclopridin böcek nöral reseptörlerindeki toksik etki gösterdikleri agonist rollerinden farklı olarak, kas hücrelerindeki nAChR'üne antagonist etki yaptığını göstermişlerdir. Yapılan tez çalışmasında imidaclopridin kurbağa siyatik sinir aksiyon potansiyeline nikotin gibi etki ettiği ve bu etkinin nAChR antagonistleri tarafından ortadan kaldırıldığı gözlenmiştir. Sonuçlar arasındaki bu farklılık hem kullanılan preparatların, hem de tekniğin farklı olmasından ileri geldiğini düşündürmektedir. Tez çalışmasında imidaclopridin etkisini göstermek için kurbağa (*Rana ridibunda*) siyatik siniri kullanılırken Seifert ve Stollberg kurbağa embriyonik kas hücrelerini kullanmışlardır. İmidacloprid nöronal nAChR'lerine agonist gibi etki ederken, kassal nAChR'lerine antagonist gibi etki gösterebilmektedir. Bu durum, hem nöronal, hem de kassal nAChR'lerinin alt ünite kompozisyonlarının farklılığından kaynaklanabildiğini düşündürmektedir. İmidacloprid, bu farklı alt ünitelere sahip nAChR'lerine farklı etki bölgeleri üzerinden tesir ediyor olabilir.

Nishiwaki ve ark. [78] neonikotinoidlerin insektisit etkilerini (4 $\mu$ M-30 $\mu$ M) *Xenopus laevis* oositlerinde tanımladıkları *Drosophila* D $\alpha$ 2 ve tavuk  $\beta$ 2 alt ünitelerine sahip rekombinant nAChR'leri üzerine elektrofizyolojik ve reseptöre bağlanma teknikleri kullanılarak araştırmışlardır. Çalışmalarında, 9 neonikotinoid benzil derivatının D $\alpha$ 2/ $\beta$ 2 rekombinant nAChR'lerinin tanımlandığı *Xenopus* oositlerinde içeri doğru iyon akım sağladığı ve böylece bileşiklerin hibrid reseptöre agonist olarak etki ettiği gözlenmiştir. Neonikotinoid derivatların rekombinant nAChR'lerine agonist etkileri ve [ $H^3$ ]imidaclopridin bağlanma aktivitesi arasındaki ilişki, tez çalışmasındaki bulguları desteklemekle beraber Nishiwaki ve arkadaşlarının çalışmalarında rekombinant nAChR'ü kullanmaları, tez çalışmasında ise doğal preparat kullanılmış olması nedeniyle farklılık göstermektedir.

Yapılan araştırmalarda imidaclopridin hedef olmayan canlılar üzerine etkilerini inceleyen elektrofizyolojik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Kullanılan preparatın doğal yada rekombinant olması, deney hayvanı türünün ve kullanılan elektrofizyolojik tekniklerin farklı olması gibi nedenlerden dolayı sonuçlar arasında benzerlikler olduğu gibi farklılıklar da görülebilmektedir. Burada sunulan çalışmalarla birlikte tez çalışması imidaclopridin hedef canlıların yanı sıra hedef olmayan hayvanların örneğin kurbağa sinirlerinin nikotinik asetilkolin reseptörünü de etkileyebileceği konusunda önemli bilgiler vermektedir.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda Mersin ili ve civarındaki tarım alanlarında yaygın ve etkili kullanıma sahip imidaclopridin *Rana ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileri incelenmiştir.

Çalışma sonucunda :

1. İmidacloprid ve nikotinin *R. ridibunda* siyatik sinir nAChR'lerini etkilediğine dair güçlü ipuçları elde edilmiştir.
2. Oluşan etkiler kullanılan dozun artmasıyla birlikte artmıştır.
3. İnsektisit uygulama süresinin artması etkisini değiştirmemektedir.
4. Nikotin, imidacloprid ile karşılaştırıldığında *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli parametrelerini kısmen de olsa daha çok etkilemiştir.
5. Mecamylamine ve  $\alpha$ -bungarotoksinin, kurbağa siyatik sinir-aksiyon potansiyeli üzerine imidacloprid ve nikotinin tersine bir etki gösterdiğine dair bulgular elde edilmiştir.

Çalışmamızda, neonikotinoid insektisitlerden imidaclopridin hedef olmayan canlıların sinir sistemi üzerine etkileri açığa kavuşturulmaya çalışılmıştır. Sonuçlar, eksternal yolla uygulanan insektisit sinir aksiyon potansiyelini üzerine önemli bir şekilde baskılayıcı bir rollü olduğunu göstermektedir. Nikotinin bu baskılayıcı etkisinin nikotin antagonistleri (mecamylamine ve  $\alpha$ -bungarotoksinin) tarafından ortadan kaldırılması ve nikotine benzer etki gösteren imidaclopridin de etkisinin aynı şekilde yine nikotinik asetilkolin reseptör antagonistleri tarafından ortadan kaldırılması imidaclopridin nikotin gibi nöronal nAChR'lerine agonist olarak etki ettiği yönündeki düşünceleri güçlendirmektedir. Ancak nAChR'lerinin neonikotinoid insektisit varlığındaki davranışının moleküler mekanizmasının anlaşılabilmesi için insektisitlerin internal olarak uygulanması ve özellikle patch-klamp tekniği kullanılarak çalışmalara devam edilmesi gerekmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] Vural, N. “Toksikoloji”, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 659 s., (2005).
- [2] Casida, J.E., Quistad, G.B. “Golden age of insecticide research: past, present, or future?”, *Annu. Rev. Entomol.*, **43**:1-16, (1998).
- [3] Tomizawa, M., ve Casida, J.E. “Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors”, *Annu. Rev. Entomol.*, **48**:339-64, (2003).
- [4] Shimomura, M., Yokota, M., Okumura, M., Matsuda, K., Akamatsu, M., Sattelle, D.B. ve Komai, K. “Combinatorial mutations in loops D and F strongly influence responses of the  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor to imidacloprid”, *Brain Research*, **991**:71-77, (2003).
- [5] Tomizawa, M. “Neonicotinoid insecticide receptors”, *Pesticide Outlook*, **6**:238-240, (2000).
- [6] Mullins, J.W. “Imidacloprid: a new nitroguanidine insecticide”, *Am. Chem. Soc. Symp. Ser.*, **524**:183-198, (1993).
- [7] Kagabu, S. “Chloronicotiny insecticides-discovery, application and future perspective”, *Reviews in Toxicology.*, **1**:75-129, (1997).
- [8] Kagabu, S. ve Akagi, T. “Quantum chemical consideration of photostability of imidacloprid and related compounds”, *Pesticide Science Society of Japan*, **22(2)**:84-89, (1997).
- [9] Kagabu, S. ve Medej, S. “Stability comparison of imidacloprid and related compounds under simulated sunlight, hydrolysis conditions and to oxygen”, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, **59(6)**:980-985, (1995).
- [10] Nauen, R. “Behaviour modifying effects of low systemic concentrations of imidacloprid on *Myzus persicae* with special reference to an antifeeding response”, *Pesticide Science*, **44(2)**:145-153, (1995).
- [11] Zwart, R., Oortgiesen, M. ve Vijverberg, H.P. “The nitromethylene heterocycle 1-(pyridin-3-yl-methyl)-2-nitromethylene-imidazolidine

- distinguishes mammalian from insect nicotinic receptor subtypes”, *European Journal of Pharmacology*, **228(2-3)**:165-169, (1992).
- [12] Zwart, R., Oortgiesen, M. ve Vijverberg, H.P. “Nitromethylene heterocycles: selective agonists of nicotinic receptors in locust neurons compared to mouse N1E-115 and BC3H1 cells”, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **48**:202-213, (1994).
- [13] Tomizawa, W. ve Yamamoto, I. “Structure-activity relationships of nicotinoids and imidacloprid analogs”, *J. Pestic. Sci.*, **18(1)**:91-98, (1993).
- [14] Matsuda, K., Buckingham, S.D., Kleier, D., Rauh, J.J., Grauso, M. ve Sattelle D.B. “Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors”, *Trends Pharmacol. Sci.*, **22(11)**:573-580, (2001).
- [15] Yamamoto, I. and Casida, J.E. “Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptors”, Springer-Verlag, Tokyo, 952 s. (1999).
- [16] Deglise, P., Grünewald, B. ve Gauthier, M. “The insecticide imidacloprid is a partial agonist of the nicotinic receptor of honeybee kenyon cells”, *Neuroscience Letters*, **321**:13-16, (2002).
- [17] Matsuda, K., Buckingham, S.D., Freeman, J.C., Squire, M.D., Baylis, H.A. ve Sattelle, D.B. “Effects of the  $\alpha$  subunit on imidacloprid sensitivity of recombinant nicotinic acetylcholine receptors”, *British Journal of Pharmacology*, **123(3)**:518-524, (1998).
- [18] Ihara, M., Matsuda, K., Otake, M., Kuwamura, M., Shimomura, M., Komai, K., Akamatsu, M., Raymond, V. ve Sattelle D.B. “Diverse actions of neonicotinoids on chicken  $\alpha 7$ ,  $\alpha 4\beta 2$  and *Drosophila*-chicken  $SAD\beta 2$  and  $ALS\beta 2$  hybrid nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus laevis* oocytes”, *Neuropharmacology*, **45(1)**:133-144, (2003).
- [19] Pimentel, D., Greiner, A. ve Bashore, T. “Economic and environmental costs of pesticide use”, J. Rose (ed), Environmental Toxicology: Current Developments, Gordon and Breach Science Publisher, UK, s.121-187, (1998).
- [20] Courjaret, R. Ve Lapied, B. “Complex intracellular messenger pathways regulate one type of neuronal  $\alpha$ -bungarotoxin resistant nicotinic acetylcholine receptors expressed in insect neurosecretory cells (dorsal unpaired median neurons)”, *Molecular pharmacology*, **60**:80-91, (2001).

- [21] Elbert, A., Nauren, R. ve Leicht, W. “Imidacloprid a novel chloronicotiny insecticide: biological activity and agricultural importance”, I. Ishaaya, D. Degheele (ed), Insecticides with novel modes of action, Springer, Berlin, Germany, s.50-73, (1998).
- [22] Feng, S., Kong, Z., Wang, X., Zhao, L., Peng, P. “Acute toxicity and genotoxicity of two novel pesticides on amphibian *Rana N. Hallowell*”, *Chemosphere*, **56**:457-463, (2004).
- [23] Pollet, I. ve Bendell-Young, L.I. “Amphibians as indicators of wetland quality”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **19**:2589-2597, (2000).
- [24] Schmeltz, I. “Nicotine and other tobacco alkaloids”, M. Jacobson, D.G. Crosby (ed), Naturally occurring insecticides, Marcel Dekker, New York, s.99-139, (1971).
- [25] Soloway, S.B. “Naturally occurring insecticides”, *Environmental Health Perspect*, **14**:109-117, (1976).
- [26] Copping L.G. ve Menn J.J. “Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy”, *Pest Management Science*, **56(8)**:651-676, (2000).
- [27] Gepner, J.I., Hall, L.M. ve Sattelle, D.B. “Insect acetylcholine receptors as a site of insecticide action”, *Nature*, **276**:188-190
- [28] Ujvary, I. “Nicotine and other insecticidal alkaloids”, I. Yamamoto, J.E. Casida (ed), Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor, Springer, Tokyo, s.29-69, (1999).
- [29] Millar, N.S. ve Denholm, I. “Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides”, *Invert Neuroscience*, **7(1)**:53-66, (2007).
- [30] Soloway, S.B., Henry A.C., Kollymeyer, W.D., Padgett, W.M., Powell, J.E., Roman, S.A., Tieman, C.H., Corey, R.A. ve Horne, C.A. “Nitromethylene heterocycles as insecticides”, D. Shankland (ed), Pesticide and venom neurotoxicity, Plenum Pres, New York, 153-158, (1978).
- [31] Bai, D., Lummis, S.C.R., Leicht, W., Breer H. ve Sattelle, D.B. “Actions of imidacloprid and a related nitromethylene on cholinergic receptors of an identified insect motor neurone”, *Pesticide Science*, **33**:197-204, (1991).

- [32] Zwart, R., Oortgiesen, M. ve Vijverberg, H.P.M. “The nitromethylene heterocycle 1-(pyridin-3-yl-methyl)-2-nitromethylene-imidazolidine distinguishes mammalian from insect nicotinic receptor subtypes”, *Eur. J. Pharmacol.*, **228**:165-169, (1992).
- [33] Zwart, R., Oortgiesen, M. ve Vijverberg, H.P.M. “The nitromethylene heterocycles: selective agonists of nicotinic receptors in locust neurons compared to mouse NE-115 and BC3H1 cells”, *Pestic. Biochem. Physiol.*, **48**:202-213, (1994).
- [34] Buckingham, S.D., Balk, M.L., Lumis, S.C.R., Jewess, P. and Sattelle, D.B. “Actions of nitromethylenes on an  $\alpha$ -bungarotoxin sensitive neuronal nicotinic acetylcholine receptor”, *Neuropharmacology*, **34**:591-597, (1995).
- [35] Kollmeyer, W.D., Flattum, R.F., Foster, J.P., Powell, J.E., Schroeder, M.E. ve Soloway, S.B. “Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides”, I. Yamamoto, J.E. Casida (ed), Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor, Springer, Tokyo, s.71-89, (1999).
- [36] Kagabu, S. “Discovery of chloronicotinyl insecticides”, I. Yamamoto, J.E. Casida (ed), Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor, Springer, Tokyo, s.91-106, (1999).
- [37] Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Elbert, A., Jeschke, P. ve Tietjen, K. “Acetylcholine receptors as sites for developing neonicotinoid insecticides”, I. Ishaaya (ed), Biochemical sites important in insecticide action and resistance, Springer, Berlin, s.77-105, (2001).
- [38] Maienfisch, P., Huerlimann, H., Rindlisbacher, A., Gsell, L., Dettwiler, H., Haettenschwiler, J., Sieger, E. ve Walti, M. “The discovery of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid”, *Pest Management Science*, **57**:165-176, (2001).
- [39] Wakita, T., Kinoshita, K., Yamada, E., Yasui, N., Kawahara, N., Naoi, A., Nakaya, M., Ebihara, K., Matsuno, H. ve Kodaka, K. “The discovery of dinotefuran: a novel neonicotinoid”, *Pest Management Science*, **59**:1016-1022, (2003).
- [40] Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., Steinemann, A. ve Widmer, H.

- “Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid”, Pest Management Science, **57**:906-913, (2001).
- [41] (02 Aralık 2005). Bayer Cropscience Güvenlik Bilgi Formu. Confidor Oil, Erişim:<http://www.bayercropscience.com.tr/download/msds/ConfidorOilSC4.pdf> [22 Ekim 2007].
- [42] (05 Ekim 2007). Imidacloprid, Erişim:<http://en.wikipedia.org/wiki/Imidacloprid> [30 Ekim 2007].
- [43] Cox, C. “Insecticide factsheet imidacloprid”, Journal of Pesticide Reform, **21(1)**:15-21, (2001).
- [44] Brunet, J.L., Maresca, M., Fantini, J. Ve Belzunces, L.P. “Human intestinal absorption of imidacloprid with Caco-2 cells enterocyte model”, Toxicology and Applied Pharmacology, **194**:1-9, (2004).
- [45] Tomizawa, M. “Neonicotinoids and derivatives: effects in mammalian cells and mice”, Journal of Pesticides Science, **29(3)**:177-183, (2004).
- [46] Wu, I.W., Lin, J.L. ve Cheng, E.T. “Acute poisoning with the neonicotinoid insecticide imidacloprid in *N*-methyl pyrrolidone”, Clinical Toxicology, **39(6)**: 617-621, (2001).
- [47] Arthur, C. ve Guyton, M.D. “Tıbbi Fizyoloji, Textbook of Medical Physiology”, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 1024 s., (2001).
- [48] Nauen, R., Ebbinghaus, U. ve Tietjen, K. “Ligands of the nicotinic acetylcholine receptors as insecticides”, Pesticide Science, **55**:608-610, (1999).
- [49] Breer, H., Sattelle, D.B. “Molecular properties and functions of insect acetylcholine receptors”, J. Insect Physiol., **33**: 771-790, (1987).
- [50] Karlin, A. ve Akabas, M.H. “Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins”, Neuron, **15**:1231-1244, (1995).
- [51] McGehee, D.B. and Role, L.W. “Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons”, Annu. Rev. Physiol., **57**: 521-546, (1995).

- [52] Elgoyhen, A.B., Johnson, D.S., Boulter, J., Vetter, D.E. ve Heinemann, S. “ $\alpha 9$ : an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells”, *Cell*, **79**: 705-715, (1994).
- [53] Elgoyhen, A.B., Vetter, D.E., Katz, E., Rothlin, C.V., Heinemann, S.V. ve Boulter, J. “ $\alpha 10$ : a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98(6)**: 3501-3506, (2001).
- [54] Wang, Y., Pereira, E.F.R., Maus, A.D.J., Ostlie, N.S., Navaneetham, D., Lei, S., Albuquerque ve Conti-Fine, B.M. “Human bronchial epithelial and endothelial cells express  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptors”, *Molecular Pharmacology*, **60(6)**:1201-1209, (2001).
- [55] Itier, V. ve Bertrand, D. “Neuronal nicotinic receptors: from protein structure to function”, *Federation of Biochemical Societies Letters*, **504**:118-125, (2001).
- [56] Samson, A. O. (Aralık 2000). NMR Structure of the Major Acetylcholine Receptor Domain Interacting with  $\alpha$ -Bungarotoxin. Erişim: <http://www.weizmann.ac.il/home/samson/master.htm> [23 Ekim 2007].
- [57] (15 Ekim 2007). Acetylcholine Receptor, Erişim: [http://en.wikipedia.org/wiki/Acetylcholine\\_receptor](http://en.wikipedia.org/wiki/Acetylcholine_receptor) [23 Ekim 2007].
- [58] Arias, H.R. “Topology of ligand binding sites on the nicotinic acetylcholine receptor”, *Brain Research Reviews*, **25(2)**:133-191, (1997).
- [59] Arias, H.R. “Localisation of agonist and competitive antagonist binding sites on nicotinic acetylcholine receptors”, *Neurochemistry International*, **36(7)**:595-645, (2000).
- [60] Corringer, J.P., Le Novere, N. ve Changeux, J.P. “Nicotinic receptors at the amino acid level”, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **40**:431-458, (2000).
- [61] Chamaon, K., Smalla, K.H., Thomas, U. ve Gundelfinger, E.D. “Nicotinic acetylcholine receptors of *Drosophila*: three subunits encoded by genomically linked genes can co-assemble into the same receptor complex”, *J. Neurochem.*, **80**:149-157, (2002).

- [62] (21 Ekim 2007). Nicotinic Acetylcholine receptor, Erişim: ([http://en.wikipedia.org/wiki/Nicotinic\\_receptors](http://en.wikipedia.org/wiki/Nicotinic_receptors) [23 Ekim 2007]).
- [63] Auerbach, A. ve Akk, G. “Desensitization of Mouse nicotinic acetylcholine receptor channels a two-gate mechanism”, *J. Gen. Physiol.*, **112**:181-197, (1998).
- [64] Graham, A., Court, J.A., Martin-Ruiz, C.M., Jaros, E., Perry, R., Volsen, S.G., Bose, S., Evans, N., Ince, P., Kuryatov, A., Lindstrom, J., Gotti, C., ve Perry E.K. “Immunohistochemical localisation of nicotinic acetylcholine receptor subunits in human cerebellum”, *Neuroscience*, **113(3)**:493-507, (2002).
- [65] Gotti, C., Carbonnelle, E., Moretti, M., Zwart, R. ve Clementi, F. “Drug selective for nicotinic receptor subtypes: a real possibility or a dream?”, *Behavioural Brain Research*, **113(1)**:183-192, (2000).
- [66] Gotti, C., Fornasari, D. ve Clementi F. “Human neuronal nicotinic receptors”, **53(2)**:199-237, (1997).
- [67] Paterson, D. ve Nordberg, A. “Neuronal nicotinic receptors in the human brain”, *Progress in Neurobiology*, **61(1)**:75-111, (2000).
- [68] Marubio, L., del Mar Arroyo-Jimenez, M., Erasquin, M.C., Le Novere, N., de Kerchove, D.A., Huchet, M., Damaj, M.I. ve Changeux, J.P. “Reduced antinociception in mice lacking neuronal nicotinic receptor subunits”, *Nature*, **398**:805-810, (1999).
- [69] Goldner, F.M., Dineley, K.T. ve Patrick, J.W. “Immunohistochemical localization of the nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha6 to dopaminergic neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area ”, *Neuroreport*, **8**:2739-2742, (1997).
- [70] Le Novere, N., Zoli, M. ve Changeux, J.P. “Neuronal nicotinic receptor alpha 6 subunit mRNA is selectively concentrated in catecholamine nuclei of the rat brain”, *Eur. J. Neurosci.*, **8**:2428-2439, (1996).
- [71] Wonnacott, S. “Presynaptic nicotinic ACh receptors”, *Trends in Neurosciences*, **20(2)**:92-98, (1997).

- [72] Guo, J.Z., Tredway, T.L., Chiappinelli, V.A. “Glutamate ve GABA release are enhanced by different subtypes of presynaptic nicotinic receptors in the lateral geniculate nucleus”, *J. Neuroscience*, **18**:1963-1969, (1998).
- [73] Radcliffe, K.A., Fisher, J.L., Gray, R. ve Dani, J.A. “Nicotinic modulation of glutamate and GABA synaptic transmission of hippocampal neurons”, *Ann., N.Y. Acad. Sci.*, **868**:591-610, (1999).
- [74] Tomizawa, M. ve Casida, J.E. “Structure and diversity of insect nicotinic acetylcholine receptors”, *Insect Toxicology*, **57**:914-922, (2001).
- [75] Buckingham, S.D., Lapied, B., Le Corrone, H., Grolleau, F. ve Sattelle, D.B. “Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors”, *The Journal of Experimental Biology*, **200**:2685-2692, (1997).
- [76] Zhang, A., Kayser, H., Maienfisch, P. Ve Casida, J.E. “Insect nicotinic acetylcholine receptor: conserved neonicotinoid specificity of [<sup>3</sup>H] imidacloprid binding site”, *Journal of Neurochemistry*, **75**:1294-1303, (2000).
- [77] Brown, L.A., Ihara, M., Buckingham, S.D., Matsuda, K. ve Sattelle, D.B. “Neonicotinoid insecticides display partial and super agonist actions on native insect nicotinic acetylcholine receptors”, *Journal of Neurochemistry*, **99**:608-615, (2006).
- [78] Nishiwaki, H., Nakagawa, Y., Kuwamura, M., Sato, K., Akamatsu, M., Matsuda, K., Komai, K. ve Miyagawa, H. “Correlations of the electrophysiological activity of neonicotinoids with their binding and insecticidal activities”, *Pest Management Science*, **59**:1023-1030, (2003).
- [79] Zafeiridou, G. ve Theophilidis, G. “The action of the insecticide imidacloprid on the respiratory rhythm of an insect: the beetle *Tenebrio molitor*”, *Neuroscience Letters*, **365**:205-209, (2004).
- [80] Seifert, J. ve Stollberg, J. “Antagonism of a neonicotinoid insecticide imidacloprid at neoromuscular receptors”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **20**:18-22, (2005).
- [81] Nagata, K., Iwanaga, Y., Shono, T. ve Narahashi, T. “Modulation of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor channel by imidacloprid and cartap”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **59**:119-128, (1997).



- [82] Nagata, K., Song, J.H., Shono, T. ve Narahashi T. “Modulation of the neuronal nicotinic acethylecholine receptor-channel by the nitromethylene heterocycle imidacloprid”, *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics*, **285(2)**:731-738, (1998).
- [83] Demirsoy, A. “Yaşamın Temel Kuralları-Omurgalılar-Anamniyota”, Cilt III, Kısım I, Meteksan A.Ş., Ankara, 684 s., (1993).
- [84] Özeti, N. ve Yılmaz, İ. “Türkiye Amfibileri”, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 221 s., (1994).
- [85] (01 Ekim 2007). Le Rana Verde Maggiore, *Rana ridibunda*. Erişim: [http://www.ittiofauna.org/webmuseum/anfibi/rana\\_ridibunda01.htm](http://www.ittiofauna.org/webmuseum/anfibi/rana_ridibunda01.htm) , [24 Ekim 2007].
- [86] Pehlivan, F. “Biyofizik”, Feryal Matbaası, Ankara, 412 s., (2004).
- [87] Scharf, M.E. “Neurological effects of insecticides”, D. Pimental (ed), Encyclopedia of Pest Management, Marcel-Dekker, New York, s.1-5, (2003).

EK 1. İmidaclopridin tek başına veya kombinasyon halinde siyatik sinir aksiyon potansiyel parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. İmi: imidacloprid; αBtx: α-bungarotoksin; Meca: mecamylamin.

Zaman (dk)	Değişken	Kontrol(n=8)	İmi,10 <sup>-6</sup> M (n=8)	İmi,10 <sup>-5</sup> M (n=8)	İmi,10 <sup>-4</sup> M(n=8)	İmi,10 <sup>-6</sup> M + αBtx,10 <sup>-5</sup> M (n=8)	İmi,10 <sup>-6</sup> M + Meca,10 <sup>-5</sup> M (n=8)
0	Genlik (mV)	9.08±0.49	9.89±0.16**	9.08±0.49	8.56±0.84**	8.41±0.71	7.39±1,37
	Alan (Vms.)	0.00339±0.0008	0.00399±0.0008**	0.00406±0.0003**	0.00264±0.0003**	0.00248±0.0005	0.00191±0.0003
	Latans (ms)	0.66±0.22	0.71±0.05**	0.55±0.12**	0.54±0.05**	0.65±0.15	0.65±0.07
	AP.süresi(ms)	2.40±0.29	2.58±0.16	2.47±0.24	2.29±0.29	2.54±0.47	2.50±0.15
30	Genlik (mV)	8.77±0.60	8.44±1.75	6.92±3.1	5.1±3.13*	7.24±2.81	6.47±2,62
	Alan (Vms.)	0.00314±0.0005	0.00377±0.0007**	0.00394±0.0018**	0.00183±0.0012**	0.00224±0.0009	0.00196±0.0004
	Latans (ms)	0.65±0.18	0.72±0.13**	0.54±0.12**	0.53±0.15**	0.64±0.17	0.62±0.11
	AP.süresi(ms)	2.48±0.38	2.98±0.52	2.88±0.62**	2.26±0.33**	2.55±0.68	2.46±0.13
60	Genlik (mV)	8.29±1.24	8.47±1.67*	8.04±2.95	5.94±2.61*	8.89±0.75*	6.77±1.51
	Alan (Vms.)	0.00358±0.0010	0.00407±0.00101**	0.00404±0.0018**	0.00173±0.0008**	0.00258±0.0004	0.00211±0.0009
	Latans (ms)	0.63±0.20	0.72±0.03**	0.48±0.12**	0.48±0.13**	0.62±0.17	0.56±0.13
	AP.süresi(ms)	2.75±0.67	3.05±0.58**	2.81±0.4**	2.11±0.15**	2.45±0.47	2.46±0.11
90	Genlik (mV)	8.32±0.73	8.19±1.85*	7.41±3.64	6.32±2.65	8.30±1.23	6.16±1.38
	Alan (Vms.)	0.00376±0.0014	0.00403±0.001	0.00483±0.0027**	0.0021±0.001**	0.00237±0.0008	0.00212±0.0003
	Latans (ms)	0.62±0.16	0.7±0.07**	0.48±0.09**	0.42±0.15**	0.59±0.13	0.62±0.09
	AP.süresi(ms)	2.72±0.55	3.21±1.28	2.85±0.48	2.33±0.6	2.47±0.58	2.43±0.09
120	Genlik (mV)	8.18±1.00	9.01±2.34	7.57±2.86	5.34±2.95*	8.22±1.49	5.57±1.21*
	Alan (Vms.)	0.00353±0.0012	0.00437±0.0013**	0.00454±0.0021**	0.00172±0.0008**	0.00249±0.0012	0.00180±0.0003
	Latans (ms)	0.65±0.21	0.7±0.06**	0.48±0.09**	0.43±0.12**	0.60±0.13*	0.58±0.15
	AP.süresi(ms)	2.11±0.15	2.90±0.87	2.84±0.59	2.13±0.32	2.37±0.47	2.36±0.11

\* p<0.05. Karşılaştırmalar zamana bağlı olarak 0. dakikaya göre yapılmıştır.

\*\* p<0.05. Karşılaştırmalar doza bağlı olarak İmi,10<sup>-4</sup>M grubuna göre yapılmıştır.

EK 2. Nikotin tek başına veya kombinasyon halinde siyatik sinir aksiyon potansiyel parametreleri üzerine doza ve zamana bağlı etkileşimi. Ni: nikotin;  $\alpha$ Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin; Meca: mecamylamin.

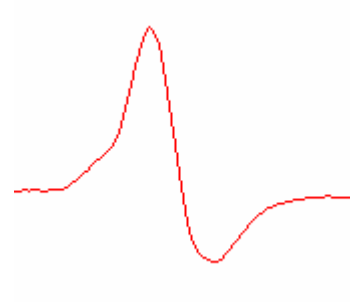
Zaman (dk)	Değişken	Kontrol(n=8)	Ni,10 <sup>-6</sup> M (n=8)	Ni,10 <sup>-5</sup> M (n=8)	Ni,10 <sup>-4</sup> M(n=8)	Ni,10 <sup>-6</sup> M + $\alpha$ Btx,10 <sup>-5</sup> M (n=8)	Ni,10 <sup>-6</sup> M + Meca,10 <sup>-5</sup> M (n=8)
0	Genlik (mV)	8.22±1.18	7.05±0.99	7.28±2.00	7.98±1.23	8.44±0.92	7.87±1.41
	Alan (Vms.)	0.00234±0.0006	0.00194±0.0003	0.00222±0.0005	0.00192±0.0003	0.00339±0.0008	0.00396±0.0014
	Latans (ms)	0.76±0.05	0.64±0.06*	0.73±0.04*	0.77±0.04*	0.66±0.22	0.82±0.12
	AP.süresi(ms)	2.38±0.25	2.45±0.36	2.39±0.25	2.24±0.27	2.40±0.29	2.41±0.40
30	Genlik (mV)	8.09±0.94	5.63±3.29**	4.13±2.92	1.66±1.70**	8.81±0.74	6.70±2.46
	Alan (Vms.)	0.00237±0.0004	0.00174±0.0012**	0.00129±0.0009	0.00036±0.0004**	0.00420±0.0018	0.00399±0.0020
	Latans (ms)	0.78±0.02	0.63±0.10	0.69±0.27	0.48±0.40	0.76±0.09	0.81±0.11
	AP.süresi(ms)	2.24±0.27	2.18±0.44**	1.90±0.80	1.04±0.88**	2.72±0.55	2.47±0.41
60	Genlik (mV)	7.93±0.89	3.77±2.88**	2.77±2.30*	0.80±0.83**	7.75±1.93	5.94±3.54
	Alan (Vms.)	0.00216±0.0004	0.00118±0.00126**	0.00084±0.0007*	0.00014±0.0001**	0.00343±0.0018	0.00394±0.00278
	Latans (ms)	0.77±0.04	0.65±0.11	0.68±0.27	0.48±0.40	0.75±0.08	0.77±0.09
	AP.süresi(ms)	2.07±0.37	2.27±1.01**	1.75±0.78	1.03±0.86**	2.75±0.67	2.60±0.62
90	Genlik (mV)	7.96±0.85	6.32±2.42**	2.90±3.35*	1.58±3.37**	8.11±1.62	6.31±3.09
	Alan (Vms.)	0.00231±0.0006	0.00176±0.0008**	0.00090±0.0009*	0.0004±0.0007**	0.00339±0.0014	0.00379±0.0019
	Latans (ms)	0.75±0.06	0.63±0.03	0.57±0.35	0.26±0.36*	0.70±0.07	0.80±0.11
	AP.süresi(ms)	2.25±0.31	2.26±0.31**	1.62±1.03	0.66±0.93**	2.48±0.38	2.51±0.37
120	Genlik (mV)	7.79±0.75	2.37±1.01**	3.91±2.30**	0.42±0.86**	6.54±3.46	7.92±2.85
	Alan (Vms.)	0.00177±0.0006	0.00059±0.0003**	0.00135±0.0006**	0.00010±0.0002**	0.00198±0.0012*	0.00510±0.0021
	Latans (ms)	0.73±0.01	0.66±0.05**	0.67±0.05**	0.18±0.34**	0.76±0.07	0.73±0.08*
	AP.süresi(ms)	2.33±0.32	1.94±1.16**	2.11±0.26**	0.45±0.85**	2.09±0.53	2.84±0.65

\* p<0.05. Karşılaştırmalar zamana bağlı olarak 0. dakikaya göre yapılmıştır.

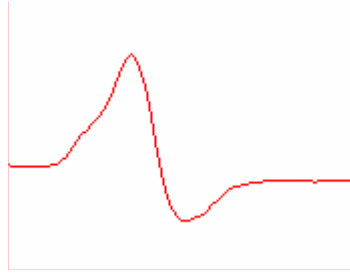
\*\* p<0.05. Karşılaştırmalar doza bağlı olarak Ni,10<sup>-4</sup>M grubuna göre yapılmıştır.

EK 3. İmidaclopridin tek başına veya  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamin ile *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli üzerine etkileşimi. İmi: imidacloprid;  $\alpha$ Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin; Meca: mecamlamin.

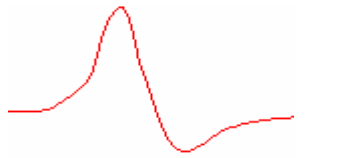
Kontrol



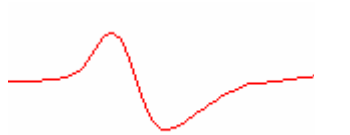
İmi,  $10^{-6}$ M



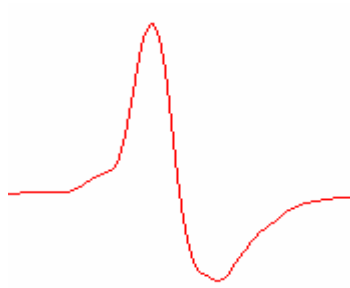
İmi,  $10^{-5}$ M



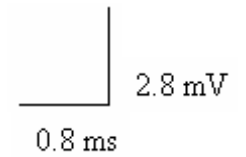
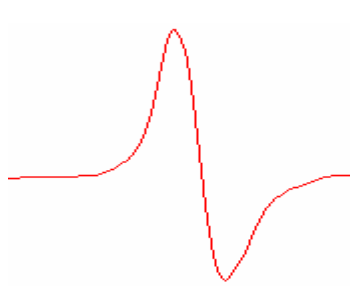
İmi,  $10^{-4}$ M



İmi,  $10^{-6}$ M +  $\alpha$ Btx,  $10^{-5}$ M

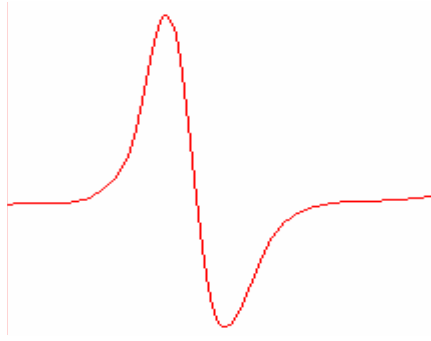


İmi,  $10^{-6}$ M + Meca,  $10^{-5}$ M

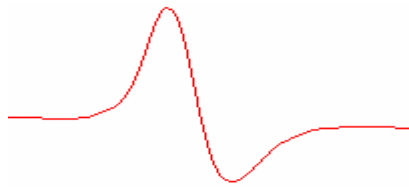


EK 4. Nikotinin tek başına veya  $\alpha$ -bungarotoksin ve mecamlamin ile *R. ridibunda* siyatik sinir aksiyon potansiyeli üzerine etkileşimi. Ni: nikotin;  $\alpha$ Btx:  $\alpha$ -bungarotoksin; Meca: mecamlamin.

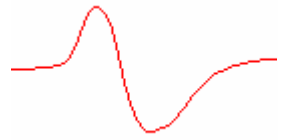
Kontrol



Ni,  $10^{-6}$ M



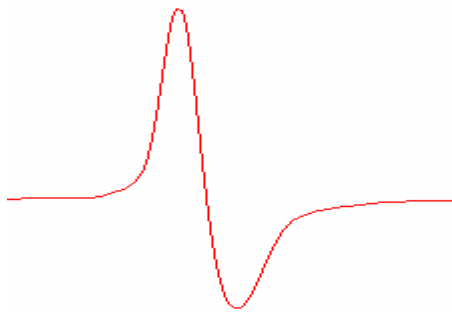
Ni,  $10^{-5}$ M



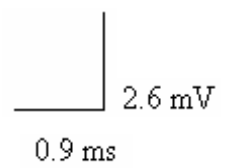
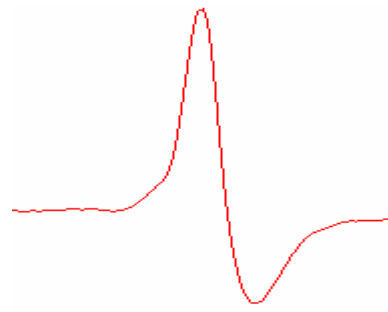
Ni,  $10^{-4}$ M



Ni,  $10^{-6}$ M +  $\alpha$ Btx,  $10^{-5}$ M



Ni,  $10^{-6}$ M + Meca,  $10^{-5}$ M



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Dilek KUMARGAL  
Adres :Yeni Mah. Kale Yolu Berlin Sit. B/Blok No: 1/1  
Mezitli MERSİN  
Doğum Yeri ve Tarihi : Pazarcık – 08.03.1983  
Eğitim : İlk ve orta öğrenimimi Mersinde tamamladım.  
2000 yılında Gazi Üniversitesi Kırşehir Fen-Edebiyat  
Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım.  
2004 Temmuz ayında Gazi Üniversitesi Kırşehir Fen-  
Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden mezun oldum.  
2004 Eylül ayında Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri  
Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında yüksek lisans  
eğitimime başladım.  
2006 Kasım ayında Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri  
Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalında araştırma  
görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı bölümde  
araştırma görevlisi olarak görev yapmaktayım.  
Medeni Durum : Bekar  
Yabancı Dil : İngilizce