

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**TARIMDA KULLANILAN BAZI PESTİSİTLERİN *CYPRINUS*
CARPIO CARPIO'DAKİ ANTİOKSİDAN ENZİMLERE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖMER FARUK KARASAKAL

BALIKESİR, AĞUSTOS - 2013

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



TARIMDA KULLANILAN BAZI PESTİSİTLERİN *CYPRINUS*
CARPIO CARPIO'DAKİ ANTİOKSİDAN ENZİMLERE
ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖMER FARUK KARASAKAL

BALIKESİR, AĞUSTOS - 2013

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ömer Faruk KARASAKAL tarafından hazırlanan “**TARIMDA KULLANILAN BAZI PESTİSİTLERİN *CYPRINUS CARPIO CARPIO*’DAKİ ANTİOKSİDAN ENZİMLERE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 20.08.2013 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman

Prof. Dr. Serap DOĞAN

Üye

Prof. Dr. Kemal ÇELİK

Üye

Yard. Doç. Dr. Selma ÇELEN



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Prof. Dr. Hilmi NAMLI

.....

**Bu tez çalışması Balıkesir Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma
Projeleri Birimtarafından BAP 2012/ 59 nolu proje ile desteklenmiştir.**

ÖZET

**TARIMDA KULLANILAN BAZI PESTİSİTLERİN *CYPRINUS CARPIO*
CARPIO'DAKİ ANTİOKSİDAN ENZİMLERE ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÖMER FARUK KARASAKAL
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF.DR.SERAP DOĞAN)

BALIKESİR, AĞUSTOS - 2013

Günümüzde gelişen sanayi ile birlikte tarımda, sentetik gübre uygulaması ve zararlılarla mücadele için bilinçsizce pestisit kullanımı akuatik faunayı olumsuz etkilemektedir. Pestisitler, su kaynaklarının kirlenmesine, içme ve sulama suyunun kalitesinin düşmesine neden olmaktadır. Doğal sucul çevrenin değişimleri tatlı su faunasını, özellikle de balıkları etkiler. Balıklar, çevresel kirlilikte bioindikatör olarak akuatik sistemlerin kalitesini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Bir balığın antioksidan kapasitesi akuatik kirlilikte faydalı biomarkerlar olarak gösterilmektedir.

Bu çalışmada tatlı su balığı olan *Cyprinus carpio carpio*'dan alınan kan örneklerinde bazı pestisitlerin(deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin, 2,4-D amin tuzu) antioksidan enzim aktiviteleri[süperoksit dismutaz(SOD), katalaz(CAT), glutatyon-s-transferaz(GST), glutatyon redüktaz(GR), glutatyon peroksidaz(GSH-Px) ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz(G6PD)] üzerine etkisi araştırılmıştır. Pestisitlerin antioksidan enzimler üzerindeki inhibisyon etkisi belirlenmiştir. I_{50} değerleri sırasıyla her bir enzim için SOD; $1,1 \times 10^{-6}$, $5,5 \times 10^{-4}$, $4,1 \times 10^{-6}$ ve $3,5 \times 10^{-5}$; CAT; $2,4 \times 10^{-6}$, $3,9 \times 10^{-6}$, $8,1 \times 10^{-6}$, 6×10^{-6} ve 4×10^{-5} M ; GST; $2,2 \times 10^{-6}$, $9,9 \times 10^{-5}$, $2,7 \times 10^{-5}$, 3×10^{-5} ve $1,9 \times 10^{-4}$ M ; GR; $1,7 \times 10^{-5}$, $8,7 \times 10^{-4}$, 1×10^{-3} , $8,3 \times 10^{-5}$ ve $4,6 \times 10^{-4}$ M ; GSH-Px; $1,2 \times 10^{-5}$, $2,05 \times 10^{-5}$, $1,3 \times 10^{-3}$, $3,1 \times 10^{-4}$ ve $4,7 \times 10^{-4}$ M; G6PD; $7,1 \times 10^{-5}$, $6,1 \times 10^{-6}$ ve $6,6 \times 10^{-5}$ M olarak bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELELER: antioksidan enzimler, pestisitler, oksidatif stress, *Cyprinus carpio carpio*

ABSTRACT

THE EVALUATION EFFECTS OF SOME PESTICIDES USING IN AGRICULTURE TO ANTIOXIDANT ENZYMES IN *CYPRINUS CARPIO* *CARPIO*

MSC THESIS

ÖMER FARUK KARASAKAL

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

BIOLOGY

(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOĞAN)

BALIKESİR, AUGUST 2013

In agriculture together with improved industry, unconscious pesticide used for application of synthetic fertilizer and pest control negatively effects to aquatic fauna. Pesticides give rise to contamination of water sources and reduced quality of drinking and irrigation water. Changing of natural aquatic environment effects freshwater fauna, also especially fish. Fish is used to evaluate quality of aquatic system as bioindicator in environment pollution. Antioxidant capacity of a fish is shown as a beneficial biomarker in aquatic pollution.

In this study, effects of some pesticides (delthamethrin, cypermethrin, fenpropathrin, lambda-cyhalothrin, 2,4-D amine salt) on antioxidant enzymes [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione-S-transferase (GST), glutathione reductase (GR), glutathione peroxidase (GSH-Px) ve glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PD)] activities are investigated in blood samples obtain from *Cyprinus carpio carpio* that is fish of fresh water. Inhibition effect of these pesticides on antioxidant enzymes were determined. I_{50} values for each of enzymes are found SOD; 1.1×10^{-6} , 5.5×10^{-4} , 4.1×10^{-6} and 3.5×10^{-5} ; CAT; 2.4×10^{-6} , 3.9×10^{-6} , 8.1×10^{-6} , 6×10^{-6} and 4×10^{-5} M; GST; 2.2×10^{-6} , 9.9×10^{-5} , 2.7×10^{-5} , 2.9×10^{-5} and 1.9×10^{-4} M; GR; 1.7×10^{-5} , 8.7×10^{-4} , 1×10^{-3} , 8.3×10^{-5} and 4.6×10^{-4} M; GSH-Px; 1.2×10^{-5} , 2.1×10^{-5} , 1.3×10^{-3} , 3.11×10^{-4} and 4.7×10^{-4} M; G6PD; 7.1×10^{-5} , 6.1×10^{-6} and 6.6×10^{-5} M, respectively.

KEYWORDS: antioxidant enzymes, pesticides, oxidative stress, *Cyprinus carpio carpio*

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
SEMBOL LİSTESİ.....	ix
ÖNSÖZ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Pestisitler	2
1.1.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	3
1.1.2 Çalışmada Kullanılan Pestisitler.....	5
1.1.2.1 Deltametrin.....	5
1.1.2.2 Sipermetrin.....	6
1.1.2.3 Fenpropatrin	6
1.1.2.4 Lamda kloatrin	7
1.1.2.5 2,4-D Amin tuzu	8
1.2 Serbest Radikaller.....	10
1.3 Antioksidanlar	11
1.3.1 Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemi.....	11
1.3.1.1 Süperoksit Dismutaz (SOD).....	12
1.3.1.2 Katalaz (CAT).....	12
1.3.1.3 Glutasyon s-Transferazlar (GST)	13
1.3.1.4 Glutasyon Redüktaz (GR)	14
1.3.1.5 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	14
1.3.1.6 Gukoz 6-fosfat Dehidrogenaz(G6PD).....	15
1.4 Literatür Özeti	15
1.5 Amaç ve Kapsam.....	19
2. MATERYAL VE METOT	20
2.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	20
2.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	21

2.3	Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları	21
2.4	Materyallerin Toplanması	23
2.5	Hemolizat Hazırlanışı	23
2.6	Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi	23
2.6.1	Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü	23
2.6.1	Katalaz Aktivitesinin Ölçümü	24
2.6.2	Glutasyon S-Transferaz Aktivitesinin Ölçümü	25
2.6.3	Glutasyon Redüktaz Aktivitesinin Ölçümü.....	25
2.6.4	Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü	26
2.6.5	Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz Aktivitesinin Ölçümü.....	26
2.7	Protein Tayini	27
3.	BULGULAR	28
3.1.1	SOD Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri	28
3.1.2	CAT Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri	34
3.1.3	GST Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri.....	40
3.1.4	GR Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri.....	46
3.1.5	GSH-Px Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri.....	52
3.1.6	G6PD Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri	58
3.2	Protein Tayini Hesaplanması.....	64
4.	SONUÇ TARTIŞMA	66
4.1	I ₅₀ Değerleri.....	71
4.1.1	SOD İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I ₅₀ Değerleri.....	72
4.1.2	CAT İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I ₅₀ Değerleri	72
4.1.3	GST İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I ₅₀ Değerleri.....	73
4.1.4	GR İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I ₅₀ Değerleri.....	74
4.1.5	GSH-Px İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I ₅₀ Değerleri.....	74
4.1.6	G6PD İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I ₅₀ Değerleri	75
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER	77
6.	KAYNAKLAR.....	79

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: Pestisitlerin kontaminasyon yolları	5
Şekil 1.2: Deltametrinin kimyasal yapısı.....	6
Şekil 1.3: Sipermetrin kimyasal yapısı	6
Şekil 1.4: Fenpropatrinin kimyasal yapısı	7
Şekil 1.5: Lamda kloatrinin kimyasal yapısı	8
Şekil 1.6: Amin tuzunu kimyasal yapısı	8
Şekil 3.1: SOD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi.....	30
Şekil 3.2: SOD aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi.....	30
Şekil 3.3: SOD aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi	32
Şekil 3.4: SOD aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi.....	32
Şekil 3.5: SOD aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi	34
Şekil 3.6: CAT aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi.....	36
Şekil 3.7: CAT aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi.....	36
Şekil 3.8: CAT aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi	38
Şekil 3.9: CAT aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi.....	38
Şekil 3.10: CAT aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi	40
Şekil 3.11: GST aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi	42
Şekil 3.12: GST aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi	42
Şekil 3.13: GST aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi	44
Şekil 3.14: GST aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi	44
Şekil 3.15: GST aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi	46
Şekil 3.16: Glutasyon redüktaz aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi.....	48
Şekil 3.17: Glutasyon redüktaz aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi.....	48
Şekil 3.18: GR aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi	50
Şekil 3.19: GR aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi	50
Şekil 3.20: GR aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi	52
Şekil 3.21: GSH-Px aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi	54
Şekil 3.22: GSH-Px aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi	54
Şekil 3.23: GSH-Px aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi	56
Şekil 3.24: GSH-Px aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi	56

Şekil 3.25: GSH-Px aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi	58
Şekil 3.26: G6PD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi	60
Şekil 3.27: G6PD aktivitesi üzerine sipmetrinin etkisi	60
Şekil 3.28: G6PD aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi	62
Şekil 3.29: G6PD aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi.....	62
Şekil 3.30: G6PD aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi	64
Şekil 3.31: Protein tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi	65

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: Pestisitlerin tipleri ve kullanım alanları	4
Tablo 1.2: Kullandığımız pestisitlerin özellikleri	9
Tablo 2.1: SOD aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	24
Tablo 2.2: CAT aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	24
Tablo 2.3: GST aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri.....	25
Tablo 2.4: GR aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri.....	25
Tablo 2.5: GSH-Px aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri.....	26
Tablo 2.6: G6PD aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri	27
Tablo 3.1: SOD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler.....	29
Tablo 3.2: SOD aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler.....	29
Tablo 3.3: SOD aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneysel veriler	31
Tablo 3.4: SOD aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneysel veriler.	31
Tablo 3.5: SOD aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneysel veriler	33
Tablo 3.6: CAT aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler.....	35
Tablo 3.7: CAT aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler.....	35
Tablo 3.8: CAT aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneysel veriler	37
Tablo 3.9: CAT aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneysel veriler.	37
Tablo 3.10: CAT aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneysel veriler ...	39
Tablo 3.11: GST aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler	41
Tablo 3.12: GST aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler	41
Tablo 3.13: GST aktivitesi üzerine fenpropatrine ait deneysel veriler	43
Tablo 3.14: GST aktivitesi üzerine lamda kloatrine ait deneysel veriler	43
Tablo 3.15: GST aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneysel veriler....	45
Tablo 3.16: GR aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler	47
Tablo 3.17: GR aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler	47
Tablo 3.18: GR aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneysel veriler.....	49
Tablo 3.19: GR aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneysel veriler .	49
Tablo 3.20: GR aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneysel verilir	51
Tablo 3.21: GSH-Px aktivitesi üzerine deltametrin etkisine ait deneysel veriler .	53
Tablo 3.22: GSH-Px aktivitesi üzerine sipermetrin etkisine ait deneysel veriler .	53

Tablo 3.23: GSH-Px aktivitesi üzerine fenpropatrin etkisine ait deneysel veriler	55
Tablo 3.24: GSH-Px aktivitesi üzerine lamda kloatrin etkisine ait veriler	55
Tablo 3.25: GSH-Px aktivitesi üzerine amin tuzu etkisine ait deneysel veriler....	57
Tablo 3.26: G6PD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler...	59
Tablo 3.27: G6PD aktivitesi üzerine sipermetrin etkisine ait deneysel veriler	59
Tablo 3.28: G6PD aktivitesi üzerine fenpropatrin etkisine ait deneysel veriler ...	61
Tablo 3.29: G6PD aktivitesi üzerine lamda kloatrin etkisine ait deneysel veriler	61
Tablo 3.30: G6PD aktivitesi üzerine amin tuzu etkisine ait deneysel veriler	63
Tablo 3.31: Protein tayini sonuçları	64
Tablo 4.1: SOD inhibisyonuna ait I_{50} değerleri	72
Tablo 4.2: CAT inhibisyonuna ait I_{50} değerleri	73
Tablo 4.3: GST inhibisyonuna ait I_{50} değerleri	73
Tablo 4.4: GR inhibisyonuna ait I_{50} değerleri	74
Tablo 4.5: GSH-Px inhibisyonuna ait I_{50} değerleri	75
Tablo 4.6: G6PD inhibisyonuna ait I_{50} değerleri	76

SEMBOL LİSTESİ

E.C :	Enzim kod numarası
EDTA:	Etilen Diamin Tetra Asetat
H₂O₂:	Hidrojen Peroksit
CDNB	1-kloro-2,4-dinitrobenzen
CAT:	Katalaz
SOD:	Süperoksit dizmutaz
GST:	Glutasyon -s-transferaz
GR:	Glutasyon redüktaz
GSH-Px:	Glutasyon peroksidaz
G6PD:	Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
ROT:	Reaktif oksijen türleri
NADP⁺:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, yükseltgenmiş hal
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, indirgenmiş hal
GSH:	Redükte glutasyon
GSSG:	Okside glutasyon
INT:	2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazoliyum klorid
G6P:	Glukoz 6-fosfat
MgCl₂:	Magnezyum klorür
KCl₂:	Potasyum klorür
I₅₀:	%50 inhibisyonuna sebep olan inhibitör konsantrasyonu

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans Tez çalışmalarım süresince her zaman bilgisinden, tecrübesinden yararlandığım, benden yardımlarını hiç esirgemeyen ve her zaman özveriyle yaklaşım gösteren çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Serap DOĞAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan Dr. Ümran Alan ve Uzm. Mehmet Emin Diken'e; çalışmam süresince gerek fiziksel gerekse manevi yardımlarını esirgemeyen çok değerli laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca sabır ve desteğini benden esirgemeyen, her türlü durumda yanıbaşımdaya olup, beni hiç yalnız bırakmayan canım annem Nigar KARASAKAL ile canım babam Mehmet KARASAKAL'a hayatım boyunca minnettarım, onlara gönülden teşekkürlerimi arz ediyorum.

1. GİRİŞ

Geçtiğimiz yüzyılda sanayileşme hızının artması, teknolojiadaki ilerlemeler, dünya nüfusunun hızlı bir şekilde artması, çevre kirlenmesini de beraberinde getirmiştir. Meydana gelen kirliliğin boyutlarının hızla artması dünyadaki dengeleri bozarken, çevreye bağımlı olan canlıların da bu durumdan olumsuz etkilenmelerine neden olmuştur. Su kirliliği, çevre kirliliğinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır. Su kirliliğinin en önemli nedenleri arasında hızlı sanayileşme ile beraber gelen endüstriyel atıklar, hızlı nüfus artışı ile birlikte gelen evsel atıklar, plansız kentleşme ve bununla beraber yetersiz alt yapı ve pestisitler verilebilir. Suların fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak kirlenmesi nedeniyle suyun kalitesinde ve özelliklerinde değişimler meydana gelmektedir. Bu değişimler suda yaşayan canlıları etkilemektedir. Bu nedenle su kirlenmesi sucul ekosistemlerin zarar görmesine ve suların sahip olduğu kendi kendini temizleme kapasitesinin yok olmasına neden olmaktadır [1].

Organizmaların fizyolojik fonksiyonlarını ve ekosistemin bütünlüğünü etkileyen, çok çeşitli organik ve inorganik kirleticilerle akuatik sistemlerin kontamine edilmesi herkes tarafından bilinmektedir. Sucul sistemlere atılan bu zararlı maddeler biyotik komuniteler için bir stres kaynağı olarak düşünülmektedir. Birçok çevresel atık, balıkları da içine alan akuatik hayvanlarda oksidatif stresi tetikleme kabiliyetine sahiptir [2]. Özellikle son zamanlarda reaktif oksijen türlerinin(ROT) üretimi ile ortaya çıkan oksidatif stres, ekotoksikoloji alanında fazlaca araştırmalara sebep olmuştur. Çeşitli akuatik organizmalardaki biotransformasyon enzimleri üzerinde yapılan çalışmalar hızlı bir şekilde artmaktadır. Bunun en önemli sebeplerinden birisi de bu oksidatif stres enzimlerinin kimyasal kirliliğin önemli işaretlerinden birisi olarak kabul edilmesidir. Çünkü organizmaların antioksidan içeriklerinin kontaminasyona maruz kaldıklarında değişebileceği belirtilmektedir. Canlılar iç ve dış çevrede süregelen olumsuz etkileri bünyelerinde bulundurdıkları antioksidan enzimler ve non-enzimatik moleküllerle en aza indirmeye çalışırlar. Aerobik organizmalarda bulunan süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon s-transferaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidazve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz gibi oksidatif stres enzimlerinin çalışılması özellikle ekolojik,

toksikolojik ve evölüsyonal açılardan oldukça önemlidir[3]. Son yıllarda üretimi arttırmak üzere tarımda yoğun ve bilişsiz pestisit kullanımının sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir. Balıklar solungaçları vasıtasıyla su ortamından bunları absorbe ederek ya da bulaşık materyalleri besin olarak tüketimi sonucu pestisitle bulaşabilir ya da zehirlenebilir.

Kirlilikte organizmalarda meydana gelen ROT'un lipid peroksidasyonuna, farelerde DNA zararlarına, balıklarda peroksizomal değişimlere yol açtığı literatürde belirtilmektedir. Hücre membranlarını oluşturan doymamış yağ asitleri balıkların gelişimi ve optimal büyümeleri için esastır. Oksijen radikallerinin sebep olduğu lipid peroksidasyonu, membranlara zarar vermekle kalmaz, bunun yanında balıklarda sarılık, beslenme yetersizliği ve hemoliz gibi hastalıkların başlıca sebebinin oluşturmaktadır. Bunun yanında bazı hastalıklar oksidatif stresle ilgilidir[3]. Çeşitli klinik, epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar reaktif oksijen türleri, lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile karsinogenez arasında ilişki olduğunu göstermektedir. Serbest oksijen radikallerinin etkisiyle DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkogenlerde aktivasyon meydana gelmektedir [4].

Balıklar insanlar için çok değerli canlı protein kaynağını oluşturmaktadırlar. Türkiye tatlı sularında yaşayan balıkların oksidatif stres enzimleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada bir tatlı su balığı olan *Cyprinus carpio carpio*'nun kanından elde edilensüperoksit dismutaz(SOD), katalaz(CAT), glutatyon s-transferaz(GST), glutatyon peroksidaz(GSH-Px), glutatyon redüktaz(GR) ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz(G6PD) antioksidan enzimlerinin aktiviteleri belirlenmiş vedeltametrin, sipermetrin, fenpropathrin, lamda kloatrin ve amin tuzupestisitlerinin bu enzim aktiviteleri üzerine inhibisyon etkisi araştırılmıştır.

1.1 Pestisitler

Tarımsal ürünlerin verim ve kalitesini artırmak için modern tarım tekniklerinin ve girdilerinin kullanılması gerekmektedir. Bitki koruma ürünleri içerisinde yer alan pestisit kullanımı da bu girdilerden biridir ve modern tarımın tamamlayıcı bir bileşenidir. Pestisit kullanımı, tarımsal ürünü hastalık, zararlı ve yabancıotlara karşı koruyabilmek, kaliteli üretimi güvence altına alabilmek için

kullanılan bir tarımsal mücadeledir. Ancak, pestisitlerin kullanımı insan sağılığı ve çevreye olumsuz etkileri gibi birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir [5]. Bu kalıntılar ekolojik dengenin bozulmasına neden olarak ticari önemi bulunan balıklar ve birçok hedef dışı organizmaya zarar vermektedir [6]. Tarımsal sistemin ayrılmaz bir parçası olan pestisit kullanımı, ürünlerdeki kalıntı riski ve çevrede bıraktığı olumsuz etkileri yönüyle üzerinde durulması gereken bir konudur [5].

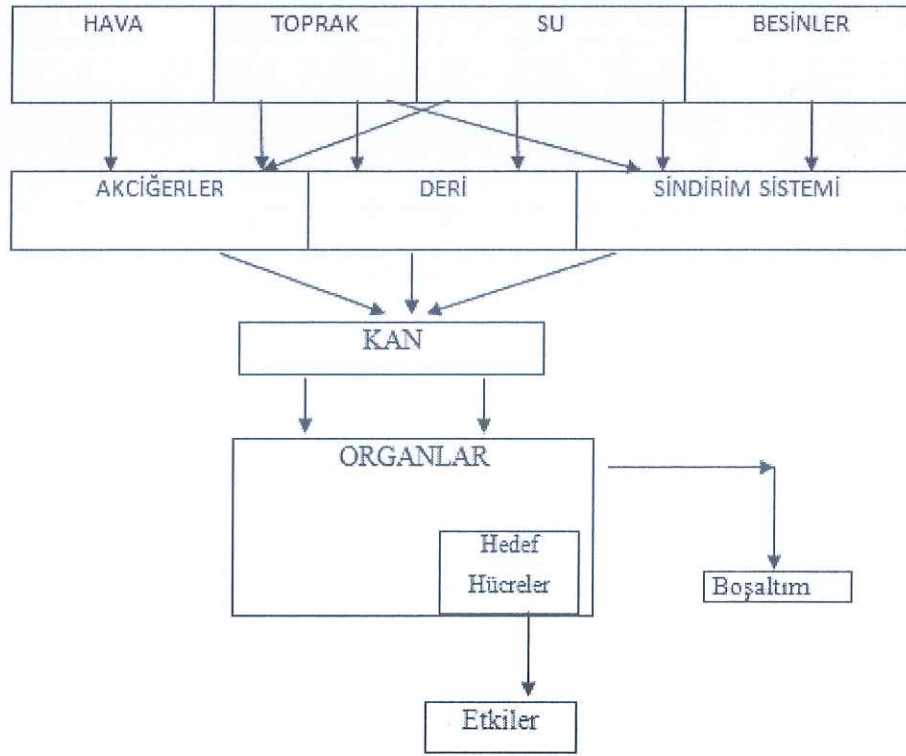
1.1.1 Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler, görünüş, fiziksel yapı, formülasyon, etkiledikleri zararlılar ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif maddenin cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre değişik şekillerde sınıflandırılırlar. Bunlardan en çok kullanılan sınıflandırma şekilleri ise kullanıldıkları zararlı gruplarına ve yapısındaki aktif madde grubuna göre yapılan sınıflandırmalardır. Kullanıldıkları zararlı gruplarına ya da hedef alınan organizmaya göre yapılan sınıflandırmada; en önemli üç büyük pestisit grubu, insektisit, fungusit ve herbisitlerdir. Tablo 1.1'de pestisitlerin hedef alınan organizmalara göre sınıflandırılması şematize edilmiştir. Pestisitlerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmalarında en önemlileri, organik klorlu pestisitler, fosforlular, karbamatlar, doğal ve sentetik pretroidlerdir [5,7,8]. Ayrıca pestisitler, çevrede kalıcılıklarına göre de genel olarak organofosforlu(OP) ve organoklorlu(OC) olarak iki grupta incelenirler. Günümüzde çevreye uygulanan pestisitlerin büyük çoğunluğu OP pestisitlerdir [9]. OC pestisitlerin çevredeki kalıcılıkları uzun olmasına karşılık, OP ve piretroidler, su ve güneş ışığının etkisiyle kolayca degradasyona uğradıkları için çevredeki kalıcılıkları oldukça kısadır. Biyoakümülyasyonları (canlılardaki birikim) düşüktür ve vücutta kısa süre içerisinde metabolize edilerek ekskresyona (boşaltım) uğratılırlar [10,11]. Özellikle tarım sektöründe çalışanlar için önemli bir sağılık tehlikesi oluşturan pestisitler kullanım amaçlarına göre Tablo 1.1'de bazı gruplara ayrılırlar:

Tablo 1.1: Pestisitlerin tipleri ve kullanım alanları

Pestisit Tipleri	Kullanım Alanları
Algisitler (Algicides)	Göller, kanallar, yüzme havuzları, su tankları gibi alanlarda yosunlarla mücadele için kullanılır.
Kirlenme Önleyici Ajanlar (Antifouling Agents)	Su altı yüzeylere yapışan midye ve havuzyosunlarına karşı etkilidir.
Antimikrobiyaller (Antimicrobials)	Virüs ve bakteri gibi mikroorganizmaları yok ederler.
Tuzaklar (Attractants)	Sahip oldukları çekici unsurlarla haşereleri tuzağa çekerler (örn. Fare kapanları).
Biyopestisitler (Biopesticides)	Doğada bulunan hayvanlar, bitkiler, bakterilerden ve minerallerden elde edilen pestisitlerdir.
Biyositler (Biocides)	Mikroorganizmaları yok etmede kullanılırlar.
Herbisitler (Herbicides)	Yabani otlar ve diğer istenmeyen bitkilerle mücadelede kullanılırlar.
İnsektisitler (Insecticides)	Böcekler ve diğer eklembacaklılar üzerinde etkilidirler.
Mitisitler (Miticides)	Akarları yok etmede etkilidirler.
Mikrobiyal pestisitler (Microbial Pesticides)	Haşereleri öldüren ya da çoğalmalarını engelleyen mikroorganizmalar ya da böceklerdir.
Mollusitler (Molluscides)	Sümüklü böcekleri yok etmede kullanılırlar.
Nematisitler (Nematicides)	Nematodları yok ederler.
Ovisitler (Ovicides)	Böcek ve akarların yumurtalarını öldürürler.
Feromonlar (Pheromones)	Böceklerin üreme sistemlerini etkileyerek etki gösteren biyokimyasallardır.
Uzaklaştırıcılar (Repellents)	Haşereleri erişmek istedikleri noktadan uzak tutmakta faydalıdır (örn. Sivrisinekleri uzaklaştıran spreiler).
Rodentisidler (Rodenticides)	Fareler ve diğer kemirgenlerle mücadelede kullanılırlar.

Bu gruplar arasında en çok kullanılanlar insektisitler olup en yaygın bilinen örnek organik fosforlu bileşiklerdir. Aşırı gübre ve tarım ilacı kullanımı nedeniyle tarım da majör kirlenme sektörleri arasına katılmıştır. Bu yolla sadece yüzey ve yeraltı suları kirlenmekle kalmamakla birlikte, besinler de kirlilik taşıyıcısı olmaktadır (bkz Şekil 1.1)[12].

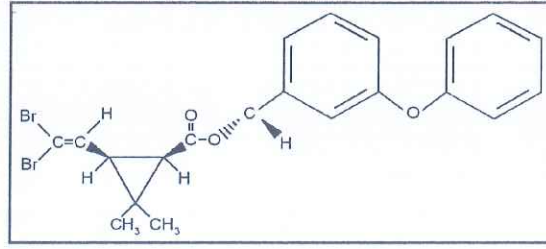


Şekil 1.1:Pestisitlerin Kontaminasyon Yolları

1.1.2 Çalışmada Kullanılan Pestisitler

1.1.2.1 Deltametrin

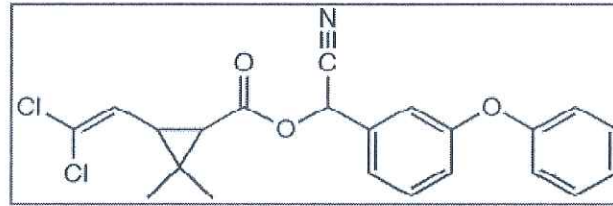
Deltametrin yaygın olarak kullanılan piretroit sınıfında yer alan bir pestisittir. Kimyasal olarak stabil bir yapıya ve düşük buharlaşma basıncına sahiptir. Lipofilik yapıda olması nedeniyle organik çözücülerde kolaylıkla çözünür, suda ise hemen hemen hiç çözünmediğinden ticari olarak genellikle süspansiyon şeklinde hazırlanmaktadır [13]. Deltametrin diğer piretroitler gibi, oral ve dermal yolla kolaylıkla absorbe edilir [14]. Kanatlılarda zehirliliği düşük, balıklar için ise yüksek olduğu rapor edilmiştir. Gökkuşluğu alabalıklarında LD_{50} değeri (96 saat) $0.91 \mu\text{g/L}$ 'dir. Çevrede uzun süre kalmamakla birlikte toprakta 1-2 hafta içinde parçalandığı bildirilmiştir [15,16].



Şekil 1.2:Deltametrinin Kimyasal Yapısı

1.1.2.2 Sipermetrin

Sipermetrin sentetik piretroit grubunda yer alır. Sentetik piretroitler, kontakt ve mide zehiri etkisi göstermektedirler. İnsektisit etkileri yüksek, sıcak kanlılara etkileri ise düşüktür. Sipermetrinin etkili maddesi sarımsı kahverengi renkte ve sıvı haldedir. EPA(Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Ajansı), sipermetrini insanlarda kansere yol açabilecek maddeler sınıfına dahil etmiştir. Balıklar için zehirli, kuşlar için ise zehirsiz olduğu rapor edilmiştir. Zehirlilik sınıfı 3 olup LD₅₀(%50'sini öldüren doz) ağızdan 25 mg/kg, deriden 1600 mg/kg, günlük alınabilir zararsız miktar(ADI) 0.05 mg/kg olarak bildirilmiştir. Sipermetrin içeren çoğu ürün, sipermetrinin balıklara olan toksisitesi nedeniyle A.B.D'de EPA tarafından sınırlı kullanılan pestisitler sınıfına dahil edilmiştir [7,17].

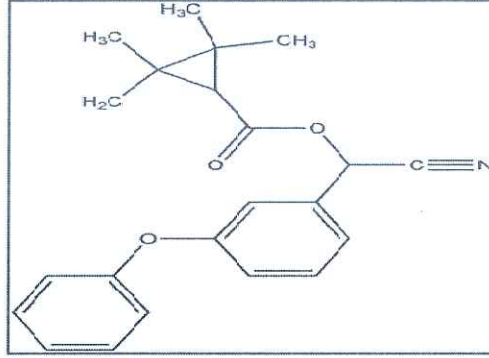


Şekil 1.3:Sipermetrin Kimyasal Yapısı

1.1.2.3 Fenpropatrin

Fenpropatrinin organofosfatlı sentetik piretroitlerden olduğu ve tarım zararlarının kontrolünde yaygın bir şekilde kullanıldığı bilinmektedir [18]. Genellikle pamuk, sera ürünleri, çay ve çeşitli sebzelere zarar veren beyaz sinek ve kırmızı örümceklerin kontrolünde kullanılmaktadır [19]. Fenpropatrin toprakta kalıcı olmamasına rağmen, balıklara, akuatik türlere ve bal arılarına karşı oldukça toksik

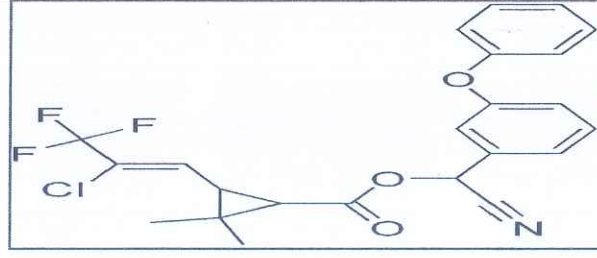
etki göstermektedir [19,20]. Özellikle sebze ve meyvelerde birikim gösterdiğinde insan sağlığı üzerine olumsuz etkiler ortaya çıkarabilmektedir [21]. Fenpropatrin rezidüleri, hedef dışı organizmalarda, tekrarlayan nöronal boşaltıma ve kanalın görevinde değişiklikler oluşmasına neden olarak sodyum potasyum kanalını bloke etmede kuvvetli etki göstermektedir [22]. Sudaki çözünürlüğü 14.1 mg/L (25°C) olan fenpropatrinin LD₅₀ değeri erkek ratlar için 70,6 mg/kg, dişi ratlar için 66,7 mg/kg, aybalığı için 1,95mg/L olduğu belirtilmiştir [23].



Şekil 1.4:Fenpropatrinin Kimyasal Yapısı

1.1.2.4 Lamda kloatrin

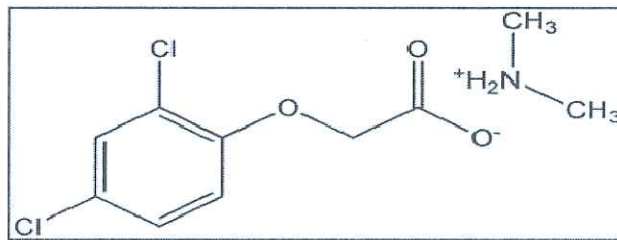
Lamda kloatrin piretroit sınıfına ait pestisitler arasında yer almaktadır. Lamda kloatrin sarı renkli, oda sıcaklığında katı, düşük buhar basıncına sahip ve kolay buharlaşmayan bir bileşiktir. LD₅₀ değeri 56mg/kg olan lamda kloatrin oldukça lipofilik bir bileşiktir. Su içerisindeki kile ve askıda bulunan katı maddeye (organik madde içeren) adsorbe olma eğilimindedir [24]. Isı ve ışığa karşı stabil olmasının yanı sıra alkali koşullarda hızla hidrolize olurken asidik ve nötr ortamlarda hidrolize olmamaktadır. Lamda kloatrin gibi bileşikler biyolojik membranları geçerek dokulara kolayca absorbe olabilir ve canlılarda birikme eğilimi gösterirler. Lamda kloatrinin su toprak organik karbon dağılım katsayısı (K_{oc}) yüksek olduğu için organik maddelere kolay bağlanır. Ayrıca yer altı sularına süzülme riski düşük olduğu belirtilmiştir. [25,26]. Lamda kloatrin diğer piretroitler gibi memelilerde genetik materyali etkileyerek toksik etki oluşturmaktadır [27].



Şekil 1.5:Lamda kloatrinin Kimyasal Yapısı

1.1.2.5 2,4-D Amin Tuzu

Toprakta ve sucul uygulama alanlarında kullanılan bir çeşit herbisit ürününün aktif bileşenidir. Bitki içerisinde aktif bölgelere taşınan seçici bitkisel hormon tipinde bir üründür ve oksin ya da diğer bitki gelişim düzenleyiciler gibi etki göstermektedir. Çevrede bu herbisitinin birçok formülasyonu, suda çözünabilen ve yüksek hareket potansiyeline sahip anyonik formlara indirgenmektedir. Ester formülasyonları, sucul omurgasızlara ve balıklara toksiktir fakat tuz formülasyonları sucul zararlı otlarına karşı kullanılmaktadır. Sıçanlarda akut oral LD₅₀ değeri $\geq 639-764$ mg/kg olarak bildirilmiştir. Çevredeki yarı ömrü ortalama, toprakta 10 gün suda ise daha azdır, fakat soğuk ve kuru topraklarda daha uzundur [28]. Amin tuzunun doğrudan uygulanmasında akıntı ya da işlenmiş bölgelerde birikimi nedeniyle yüzey sularına karışabildiği tespit edilmiştir. Bu herbisit, suda biyolojik aşınmayave yüzeye yakın kısımlarda ise fotolitik olarak aşınmaya uğramaktadır. Parçalanması sonucunda oluşan ürün ise 2,4 Diklorofenol'dür [29-30].



Şekil 1.6:Amin tuzunu Kimyasal Yapısı

Tablo 1.2:Kullandığımız Pestisitlerin Özellikleri

Adı	IUPAC Adı	Kapalı Formülü	Molekül Ağırlığı	Şekli
Deltamethrin (Deltametrin)	[(S)-cyano-(3-phenoxyphenyl)-methyl] (1R,3R)-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate	$C_{22}H_{19}Br_2NO$	505.21	
Cypermethrin (Sipermetrin)	(RS)-α-cyano-3-phenoxybenzyl (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$	416.3	
Fenpropathrin (Fenpropatrin)	(RS)-α-cyano-3-phenoxybenzyl, 2,3,3-tetramethylcyclopropanecarboxylate	$C_{22}H_{23}NO_3$	349.43	
Lambda-cyhalothrin (Lamda kloatrin)	(S)-α-cyano-3-phenoxybenzyl(Z)-(1R,3R)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate	$C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$	449.9	
2,4-D, dimethylamine salt (2,4-D amin tuzu)	dimethylamine (2,4-dichlorophenoxy)acetate(2,4-dichlorophenoxy) acetic acid, dimethylamine salt	$C_{10}H_{13}Cl_2NO_3$	266.12	

1.2 Serbest Radikaller

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir [31]. Yaşam süreleri çok kısa ve oldukça reaktif yapıya sahip olan serbest radikaller, pozitif ya da negatif yüklü, elektriksel olarak nötral, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler [32,33]. Diğer serbest radikallerde olduğu gibi ortaklanmamış elektronların varlığından dolayı serbest oksijen radikalleri de yüksek bir indirgenme potansiyeline sahiptir. Bu moleküller güçlü oksidanlardır ve kolaylıkla başka radikallerle reaksiyona girebilir. Oksijendeki iki tane çiftlenmemiş elektronun paralel spinlerine sahip olmalarından dolayı, oksijenin aktivasyonu için enerjiye ihtiyaç vardır. Moleküler oksijenin bazı değişimlere uğraması sonucunda serbest oksijen radikalleri oluşmaktadır. Moleküler oksijenin elektron konfigürasyonunda bir spin değiştiğinde singlet oksijen (1O_2), oksijene bir elektron ilavesiyle süperoksit (O_2^-), iki elektron ilavesiyle hidrojen peroksit (H_2O_2) ve üç elektron ilavesiyle de hidroksil radikalleri (OH^-) oluşmaktadır. Bu reaktif oksijen türlerinin en belirli etkileri *in vivo* makromoleküllerde kalıcı hasar oluşturmalarıdır. Normal koşullarda ROT'ların üretimi ve uzaklaştırılması arasında denge vardır. Ancak, olumsuz çevre koşullarında bu denge bozulur ve ROT miktarının artması sonucu oksidatif stres meydana gelir [34]. Ayrıca, ultraviyole ışınlar, çevresel kirlilikler, sigara dumanı, stres, pestisitler, toksinler gibi fiziksel ve kimyasal ajanlar da oksidatif stres oluşturarak dokularda hasara sebep olmaktadır [31]. Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak arttığında başta membran fosfolipitleri olmak üzere hücresel bileşiklerin tümüne (karbonhidrat, lipid, protein, DNA) zarar vermekte, membranlar depolarize olmakta, parçalayıcı enzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının permeabilitesi ve elektrik yük dengesi değişmektedir [35,36,37].

Biyolojik sistemlerde oksidatif stres sonucu oluşan ROT'in meydana getirdiği hasarı önlemek için, vücutta birçok savunma sistemi gelişmiştir. Bunlar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak bilinirler. Antioksidanlar, belirli düzeyi aşmış oksidan moleküllere doğrudan etki ederek onları etkisiz hale getiren moleküllerdir. Antioksidan terimi, serbest radikal oluşumunu geciktiren veya ortadan kaldıran tüm işlemleri kapsar [32,38].

1.3 Antioksidanlar

Aerobik organizmalar değişik tipte antioksidan savunma sistemlerigeliştirerek kendilerini oksijenin toksik etkilerinden korumaktadırlar. Antioksidan bir madde, hedef moleküldeki oksidatif hasarıerteleyen veya inhibe eden maddedir [39]. Antioksidan koruma sistemi, serbest radikallerin reaksiyonlarının azaltılması ve olumsuz etkilerinin ortadan kaldırılmasında etki göstermektedir. Antioksidanlar dört farkı yolla serbest radikallerin etkilerini ortadan kaldırırılar. 1)Toplayıcı etki: Serbest oksijen radikallerini tutma veya onları daha zayıf yenimoleküle çevirme. 2)Bastırıcı Etki: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararakaktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme. 3)Zincir Kırıcı Etki: Serbest oksijen radikallerini kendine bağlayarak reaksiyon zincirini durdurulması 4)Onarıcı Etki: Serbest radikallerin oluşturdıkları hasarın onarılması onarıcı etkidir [40].

Antioksidan savunmasistemleri, antioksidan enzimler ve non-enzimatik moleküller olarak ikiye ayrılmaktadır. Non-enzimatik antioksidan moleküller glutatyon, E vitamini, C vitamini, A vitamini, flavonoidler, ürik asit, albümin, haptoglobülin, sistein, seruloplazmin, transferrin ve laktoferrin, ferritin, bilirubin, ubikinon gibi maddelerdir. Enzimatik olanlar ise SOD, CAT, GST, GR, GSH-Px, G6PD'dır [39,41,42].

1.3.1 Enzimatik Antioksidan Savunma Sistemi

Aerobik organizmalarda, aerobik solunum ve substrat oksidasyonu sonucu oluşan ROT, antioksidan enzim sistemleri ile detoksifiye edilirler. Hidroksi radikalleri ($HO\cdot$), süperoksit anyonları ($O_2^{\cdot-}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'in dahil olduğu ROT'un küçük miktarları aerobik organizmalarda iç ve dış stimuluslara karşı sabit olarak üretilirler. Düşük konsantrasyonlarda ROT, hücre farklılaşmasında rol oynayan hücre içi sinyal iletimi, hücre büyümesinin durması, apoptozis, bağışıklık sistemi ve mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkiler gibi birçok biyokimyasal işlemde rol oynamasına rağmen, yüksek konsantrasyonlarda ya da yetersiz detoksifikasyonlarında ciddi metabolik fonksiyon bozukluğuna ve biyolojik makromoleküllerin hasarına yol açan oksidatif strese neden olur [43].

1.3.1.1 Süperoksit dismutaz (SOD)

Oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunan süperoksit dismutaz[(SOD) superoksit oksidoredüktaz, EC 1.15.1.1], süperoksidin hidrojen peroksitide dismutasyonunu katalizleyen bir metalloenzimdir[43]. Hidrojen peroksit daha sonra glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimi aracılığı ile etkisiz hale getirilmektedir [44].



İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD, sitozolde bulunur; Cu ve Zn içerir; dimerik yapıdadır ve siyanidle inhibe edilir. Mn SOD, mitokondride bulunur; Mn içerir, tetramerik yapıdadır ve siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır. SOD'ın fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($\text{O}_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosit edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar [43].

1.3.1.2 Katalaz (CAT)

Katalaz (EC 1.11.1.6) bitki, hayvan ve aerobik bakterilerde bulunan ve hidrojen peroksitin (H_2O_2), su ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen bir enzimdir[43]. Katalaz, her biri yaklaşık 60 kDa ağırlığındaki dört alt ünitenin tetrahedraldüzenlenmesiyle oluşan, tetramerik bir enzimdir. Dolayısıyla, dört protoporfirin grubu içeren enzimin moleküler ağırlığı, 240 kDa civarındadır [11]. CAT, H_2O_2 'nin hiçbir konsantrasyonu ile doyumluğa ulaştırılamayan tek enzimdir ve yapısında 4 adet hem molekül bulunan bir hemoproteindir [45]. Her alt ünite aynı zamanda bir molekül NADPH içerir ki, bu molekül enzimi stabilize etmektedir

[46]. Hücrelerde, H_2O_2 üretiminden sorumlu oksidazların birçoğu peroksizomlara yerleştiği için; CAT'ın büyük bir kısmı sitozol ve mitokondriye oranla peroksizomlarda bulunur [47]. Katalaz daha çok peroksizomlarda, glutatyon peroksidaz ise sitozol ve mitokondride lokalize olarak birbirlerini tamamlayıcı etki göstermektedirler. Böylece hücre içindeki H_2O_2 'in konsantrasyonu kontrol altına alınmaktadır [40].

Katalaz, hayvanların tüm vücut organlarında bulunur. Ancak özellikle karaciğer ve eritrositlerde aktivitesi yüksektir. Beyin, kalp ve iskelet kasında az miktarda bulunmaktadır [46]. Katalaz, hücreyi respiratuvar patlamalarına karşı koruyucu olarak hizmet eder. Katalazın indirgeyici aktivitesi, hidrojen peroksinin yanı sıra metil-etil-hidroksiperoksitler gibi küçük moleküllü lipid hidroperoksitlerini de içine almaktadır [43,48].



1.3.1.3 Glutatyon s-Transferazlar (GST)

Glutatyon s-transferazlar (GST), EC 2.5.1.18 kodlu ve her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. GST, glutatyon ile endojen ve ekzojen hidrofobik elektrofillerin konjugasyonunu katalizleyerek homeostasisi sağlayan çok fonksiyonlu bir enzimdir.

GST, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri glutatyon (GSH)'daki sisteine ait $-SH$ grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar [49]. Ayrıca, GST'lar katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyona sahiptirler. Bu enzimler, hem detoksifikasyondaki görev alırlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rollerinin olduğu bilinmektedir. GST'lar, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü de katalizlemektedirler. GST'nin reaksiyon basamağı aşağıda gösterilmektedir [43].



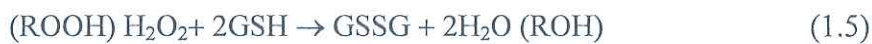
1.3.1.4 Glutasyon Redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz(E.C. 1.6.4.2), GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesisonucu oluşan okside glutasyonun(GSSG) tekrar indirgenmişglutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder [43]. Glutasyon peroksidaz ile benzer doku dağılımı gösterir. Glutasyonredüktaz, flavin adenin dinükleotid(FAD) içerir; NADPH'tan bir elektronunGSSG'nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler. Normal hücrelerde GSH/GSSG oranıson derece yüksektir ve bu durumda GSSG'ninyeniden GSH'a indirgenmesi gerekir. Enzimin katalizlediği reaksiyon sırasındaFAD, NADPH tarafından indirgenirken açığa çıkan elektronlar, aktif merkezdekidisülfid bağına taşınır ve bu şekilde GSSG, iki GSH molekülüne indirgenmişolur[50].Serbest radikal hasarına karşı gerekliolan NADPH pentoz fosfat yolunda üretilerekokside glutasyonun(GSSG) indirgenmesi sırasında kullanılır [11,43].



1.3.1.5 Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidazın, selenyum (Se)-bağımlı (GSH-Px, EC 1.11.1.19) ve Se-bağımsız (glutasyon-S-transferaz, GST, EC 2.5.1.18) olmak üzere iki izoformu vardır. Bu iki enzimin alt ünite sayıları ve katalitik mekanizmaları farklıdır. Glutasyon mekanizması çok önemli antioksidatif savunma mekanizmalarından biridir. GSH-Px karaciğerde yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta ise düşük düzeyde aktivite gösterir. Aşırı düzeylerde H_2O_2 varlığında redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG, glutasyon disülfid) dönüşümünü katalize eder. Bu arada H_2O_2 (hidrojen peroksit) de suya dönüştürülerek detoksifiye olur.GSH-Px'in reaksiyon basamakları aşağıda gösterilmektedir [43,48,51].





1.3.1.6 Glukoz 6-fosfat Dehidrogenaz(G6PD)

Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz(D-glucose 6-phosphate: NADP+ oxidoreductase, EC 1.1.1.49; G6PD), heksoz mono fosfat yolunun ilk basamağını katalizleyen kilit bir enzimdir. G6PD'nin iki alt monomeri olup, her biri 515 aminoasit içerir. Her bir monomerin molekül ağırlığı yaklaşık olarak 59 000 daltondur. Aktif enzim, dimer şeklinde olup NADP'ye sıkıca bağlıdır. NADP'ye bağlı tetramer veya hekzamer yapıların da olduğu ve tetramer yapıdakilerin de enzimatik olarak aktif olduğu görülmüştür.

Normal eritrositte, sürekli olarak glukozun %90'ı aerobik glikolizle yıkılırken, %10'u heksoz monofosfat (HMP) yolu ile metabolize edilir ve NADPH elde edilmiştir. HMP yolunun aktivitesi oksidatif stres durumunda belirgin bir şekilde artmaktadır. Eritrositlerde NADPH oluşumu için tek kaynak heksoz monofosfat metabolik yolu olup, G6PD eksikliğinde NADPH üretimi önemli ölçüde azalır. NADPH'nın eritrositlerdeki en önemli rolü oksitlenmiş glutatyonu(GSSG) indirgenmişglutasyon(GSH) haline dönüştürmektir. Bu reaksiyon glutasyon redüktaz tarafından katalizlenir. GSH, serbest tiol grubu içeren bir tripeptittir (γ-glutamil sisteinil glisin) ve serbest tiol grubu, hemoglobin ve eritrosit proteinlerini indirgenmişhalde tutarak sülfhidril tamponu görevi görür. Aynı zamanda H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek detoksifikasyon olaylarında rol alır [43,52]. G6PD enziminin reaksiyonu aşağıda gösterilmektedir.



1.4 Literatür Özeti

Pektaş yapmış olduğu çalışmada, bitki gelişim düzenleyiciler olan mepiquat klorür, β-naftalooksiasetik asit ve giberellik asitin, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon redüktaz, glutasyon s-transferaz, katalaz ve

süperoksit dismutaz aktiviteleri üzerine etkilerini incelemiştir. Bitki gelişim maddelerin antioksidan enzimler için inhibitör olarak iş gördüğü ve her birinin inhibisyon gücünün enzimler üzerinde farklılık gösterdiğini tespit etmiştir [43]. Sevgiler ve arkadaşları *Cyprinus carpio* L.'nin kas dokusunda N-asetilsistein, lipoiik asit, tausin ve kurkuminin, kadmiyuma maruz kaldığındaki antioksidatif etkilerini incelemişler ve sonucunda kadmiyumun sadece oksidatif etkiye değil aynı zamanda doku içeriğinin azalmasına da sebep olduğunu ortaya çıkarmışlardır [53]. Oruçve arkadaşları, *Cyprinus carpio*'un farklı dokularındaki diazinonun oksidatif strese yanıtını ve nörotoksik potansiyelinin değerlendirilmesini incelemişler ve çalışmalarının sonucunda farklı dokuların tümünde asetilkolin estera ve $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPaz aktivitesini azalttığını, özellikle SOD'un aktivitesinin arttığını gözlemlemişlerdir [54]. Hu ve arkadaşları genç *Cyprinus carpio* var. *Jian*'da antioksidatif parametreler üzerinde pridoksinin etkilerini incelemişlerdir ve bu çalışmanın sonucunda pridoksinin balıklarda lipid peroksidasyonu ve protein oksidasyonunu azalttığını ve bunlardan dolayı kısmen antioksidan enzim aktiviteleri ve GSH seviyesinin iyileştirildiğini rapor etmişlerdir [55]. Suvetha ve arkadaşları tatlı su balıklarından *Cyprinus carpio*'da cypermetrin toksisitesinin iyonik düzenleme ve sodyum potasyum aktivitesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmanın sonucunda $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPaz'ın bronşiyal iyon taşınımında, osmotik ve iyonik dengede önemli rol oynadığını, yapılan ölçümlerde cypermetrinin $\text{Na}^+ \text{K}^+$ ATPaz aktivitesini düşürdüğünü tespit etmişlerdir [56]. Yılmaz ve arkadaşları Karakaya Baraj Gölü'nde (Malatya) meydana gelen kirliliğin, ekonomik öneme sahip *Cyprinus carpio*'nun karaciğer katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitelerine etkisi incelemişlerdir [57]. Toni ve arkadaşları *Cyprinus carpio*'nun farklı konsantrasyonlarda tebuconazol fungusitine maruz kalmasını, pirinç tarlası ve laboratuvar koşullarında test etmişler ve sonucunda tarla ve laboratuvar koşullarında balığın doğrudan zarar gördüğünü, oksidatif stresin meydana geldiğini belirlemişlerdir [58]. Dongyun ve arkadaşları, balıkta (*Cyprinus carpio*) organofosfor (OP) pestisitlerinin, kantitatif yapı ve toksik ilişkilerini incelemişlerdir ve çalışmanın sonucunda kimyasal ve yapısal parametreler kullanılarak balıklarda farklı seviyelerde toksisite ile ilişkili OP bileşiklerinin homolog serisi içinde kimyasal reaktivite modelleyerek önemli mekanizmalara açıklık getirebileceğini önermişlerdir [59]. Yonar ve arkadaşları *Cyprinus carpio*'nun pyrethroid deltamethrine maruz kaldığı esnada, likopeninin antioksidan durumda iyileştirilebilir

etkisini incelemişlerdir ve araştırmanın sonucunda licopeninin, deltametrinin etkisini azaltabileceğini tespit etmişlerdir [60]. Moraes ve arkadaşları ticari olarak kullanılan imazetapyr ve imazapici kapsayan bitki öldürücülere maruz kaldıktan sonra *Cyprinus carpio* 'nun toksik yanıtlarını incelemişlerdir ve çalışmanın sonucunda uzun dönemde balık metabolizmasında herbisitlerin toksik etki yarattığını belirlemişlerdir [61]. Franco ve arkadaşları, glutatyon reduktazı hedef alan ve çinkoya maruz kalan genç *Cyprinus carpio* 'ların biyokimyasal değişikliklerini incelemişlerdir. Çalışmada *Cyprinus carpio* 'dan elde edilen glutatyon redüktazın engellendiğini ve çinko toksisitesinin önemli bir mekanizmaya sahip olduğunu rapor etmişlerdir [62]. Trambo ve arkadaşları tatlı su balıklarından *Cyprinus carpio* 'da butaklorun meydana getirdiği oksidatif stresi incelemişlerdir ve çalışmanın sonucunda butaklorun antioksidan savunma sistemini zayıflattığını ve oksidatif strese sebep olduğunu tespit etmişlerdir [63]. Sevgiler ve arkadaşları fenthiona maruz kalan *Cyprinus carpio* 'nun karaciğerinde, oksidatif yanıtlar üzerinde N-asetilsisteinin etkilerini araştırmışlardır. Bir organofosfat olan fenthionun kullanımının toksik etki yarattığı, aynı zamanda düşük dozda N-asetil sistein kullanımı, yüksek dozda fenthionun toksik etkisini önlediğini rapor etmişlerdir [64]. Mikula ve arkadaşları *Cyprinus carpio* 'da genel karaciğer biyomarkırları ve biyometrik parametreler üzerine, Lasso Mtx herbisidinin etkilerini incelemişlerdir. Herbisite maruz kalma sonucunda biyometrik parametrelerin etkilenmediğini, GST aktivitesinin karaciğer dokusunda değişmediğini, buna karşın yine karaciğer dokusunda sitokrom P450, ethoxyresorufin-O-deethylase(EROD) aktivitesi ve glutatyon seviyesinin yükseldiğini belirtmişlerdir [65]. Şentürk ve arkadaşları, *Oncorhynchus mykiss* 'de bazı pesitisitlerin glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi üzerine olan etkisini *in vivo* ve *in vitro* şartlarda incelemişler ve sonucunda *in vitro* olarak cypermethrin ve propoxurun, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesini inhibe ettiğini, deltametrinin ise *in vivo* ve *in vitro* şartlarda bu enzimi inhibe ettiğini tespit etmişlerdir [66]. Li ve arkadaşları, fungusit propiconazole tarafından balıklarda kronik olarak işlem görmüş antioksidan savunma sisteminin glutatyonla ilgili zamana bağlı değişimini incelemişlerdir ve kronik olarak propiconazole maruz kalan balıkların solungaçlarında, duyarlı dokularında ve çeşitli organlarında farklı yanıtlar olduğunu rapor etmişlerdir [67]. Oruç ve arkadaşları 2,4-D ve azinfosfometile maruz kalan *Cyprinus carpio* 'nun spesifik dokularının oksidatif strese yanıtlarını araştırmışlar ve oksidatif stresin 2,4-D ve azinfosfometil ile ilişkili olabileceğini, aynı zamanda

Cyprinus carpio'nın pestisitlere duyarlı dokulara sahip olduğunu, SOD aktivitesinin solungaçlarında, GST aktivitesinin ise böbreklerde kirlilik biyomarkırları olarak izlendiğini belirtmişlerdir [68]. Alzbeta Stara ve arkadaşları, *Cyprinus carpio*L.'nin kronik simazine maruz kaldığında oksidatif stres ve antioksidan yanıt üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda uzun süre simazine maruz kalındığında aşırı ROT üretimine ve ardından lipidler ve proteinler için oksidatif zarara bunların yanında da *Cyprinus carpio* L. dokularında antioksidan kapasiteyi inhibe ettiğini tespit etmişlerdir [69]. Güngördü ve arkadaşlarının çalışmasında, Meriç Deltası için *Cyprinus carpio* L.'de ki biomarker yanıtlarında mekansal ve geçici değişikliklerin değerlendirilmesini araştırmışlardır. Araştırmanın sonucunda, Meriç-Ergene birleşme bölgesinden alınan balıklarda GST aktivitelerinde artış, Enez bölgesinden alınan balıkların GST aktivitesinde ise düşüş olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca bu çalışmanın GST ve CaE(karboksilesteraz) biomarkerlarının mekansal ve geçici değişikliklerinin Meriç Deltasında ki çevre kirliliğini değerlendirmek için faydalı biomarkerlar olabileceğini bildirmişlerdir [70]. Xing ve arkadaşları chlorpyrifos ve atrazine 40 gün maruz kalan yaygın sazan balıklarının böbrek ve beyininde, histopatolojik ve oksidatif stres etkilerini araştırmışlardır. Araştırmanın sonuçlarında sub-kronik maruziyet olan balıklarda histopatolojik ve oksidatif stresi olumsuz yönde etkilediğini ve elde edilen bulguların ATR, CPF ve ATR/CPF bileşiminin balıklar üzerinde oksidatif stresi indükleme mekanizmasını anlamamıza yardımcı olacağını rapor etmişlerdir [71].

1.5 Amaç ve Kapsam

Son yıllarda pestisitlerin, tarımda yoğun bir şekilde kullanılmaları nedeniyle çevredeki kimyasal kirlilik hızlı bir şekilde artmaktadır. Doğal sucul çevrenin kompozisyonundaki değişimler tatlı su faunasını özellikle de balıkları etkilemektedir. Birçok pestisit ve pestisit türevlerinin oksidatif stres enzimleri üzerinde toksik etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir. Balıklar çevresel kirlenme için bioindikatörler olarak akuatik sistemlerin kalitesini değerlendirmek üzere geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Bir balığın antioksidan kapasitesi akuatik kirlenmeye maruz kalan ekosistemlerde faydalı biomarkerlar olarak gösterilmektedir. Birçok pestisit balıkları da içine alan akuatik hayvanlarda oksidatif stresi tetikleme kabiliyetine sahiptir. Özellikle son zamanlarda reaktif oksijen türlerinin üretimi ile ortaya çıkan oksidatif stres, ekotoksikoloji alanında fazlaca araştırmalara sebep olmuştur. Çeşitli akuatik organizmalardaki biotransformasyon enzimleri üzerinde yapılan çalışmalar hızlı bir şekilde artmaktadır. Bunun en önemli sebeplerinden birisi de bu oksidatif stres enzimlerinin kimyasal kirliliğin önemli işaretlerinden birisi olarak kabul edilmesidir. Çünkü organizmaların antioksidan içeriklerinin kontaminasyona maruz kaldıklarında değişebileceği belirtilmektedir. Aerobik organizmalarda bulunan süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon s-transferaz glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz gibi oksidatif stres enzimlerinin çalışılması özellikle ekolojik, toksikolojik ve evolüsyonel açılardan oldukça önemlidir.

Türkiye sularında yaşayan balıkların oksidatif stres enzimleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bu çalışmada, *Cyprinus carpio carpio*'dan elde edilen kan örneklerinde antioksidan enzimlerin aktiviteleri belirlenmiş ve *in vitro* şartlarda pestisit uygulaması yapılan kan örneklerindeki antioksidan enzim aktiviteleri detespit edilmiştir. Böylece, pestisitlerin antioksidan enzimler üzerindeki inhibisyon etkisi ve inhibitör gücü ortaya konulmuştur.

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)
2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)
3. Deltamethrin
4. Cypermethrin
5. Fenpropathrin
6. Lambda-cyhalothrin
7. 2,4-D, dimethylamine salt (amin tuzu)
8. Ksantin
9. Ksantin oksidaz
10. Tris base
11. Etilendiamin tetraasetikasit (EDTA)
12. INT (2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenil]-5-feniltetrazolyum klorür)
13. Okside glutatyon (GSSG)
14. Redükte glutatyon (GSH)
15. Nikotinamidadenindinükleotidfosfat (NADPH)
16. Nikotinamidadenindinükleotidfosfat (NADP^+)
17. Glukoz-6 fosfat
18. Magnezyum klorür (MgCl_2)
19. Glutatyon redüktaz
20. t- bütıl hidroperoksit
21. 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB)

2.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

1. Lamda 35 UV-Visible :	Perkin Elmer
2. pH-metre :	Orian 920A
3. Otomatik pipetler :	Eppendorf
4. Terazî :	Denver
5. Etüv :	Memmert
6. Soğutmalı santrifüj :	Sigma 3K 30
7. Manyetik karıştırıcı :	Heildolp

2.3 Çalışmada Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanışları

1. 0,05 M fosfat tamponu (pH:7.0): 3,549 gr potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4) alınarak bir miktar saf suda çözülür ve pH 7'ye ayarlandıktan sonra toplam hacim saf su ile 500 mL'ye tamamlanır.
2. 0,019 M H_2O_2 : 0,1 mL hidrojen peroksit (H_2O_2) alınır bir miktar saf suda çözülür ve toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
3. 1.10^{-4} M ksantin stok çözeltisi: 0,0015 gr ksantin bir miktar saf suda çözözüldükten sonra toplam hacim 100 mL'ye tamamlanır.
4. Ksantin oksidaz: 10 mg ksantin oksidaz 10 mL fosfat tamponunda çözözüldür.
5. 1.10^{-4} INT: 0,0025 gr INT alınır, bir miktar saf suda çözözüldükten sonratoplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
6. 1 M Tris-EDTA/5mM EDTA (pH:8): 6,05 gr Tris ve 0,073 gr EDTA bir miktar saf suda çözözüldükten sonra pH 8'e ayarlanır ve daha sonra toplam hacim 50 mL'ye tamamlanır.
7. 0,033 M okside glutatyon (GSSG): 0,2 gr GSSG alınır, bir miktar saf suda çözözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
8. 2 mM NADPH (nikotinamid adenin dinökleotidfosfat, indirgenmiş hal): 0,167 gr NADPH alınır, bir miktar saf suda çözözüldükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.

9. 2 mM NADP (nikodinamid adenin dinükleotidfosfat, yükseltgenmiş hal): 0,0513 gr NADP⁺ alınır, bir miktar saf suda çözündükten sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
10. 6 mM G6P (glukoz-6-fosfat): 0,055 gr G6P alınır, bir miktar saf suda çözündükten sonra toplam hacim 30 mL'ye tamamlanır.
11. 0,1 M MgCl₂ (magnezyum klorür): 0,285 gr MgCl₂ alınır, bir miktar saf suda çözündükten sonra toplam hacim 30 mL'ye tamamlanır.
12. 0,1 M redükte glutatyon (GSH): 0,155 gr GSH alınır, bir miktar saf suda çözündükten sonra toplam hacim 5 mL'ye tamamlanır.
13. 0,01 M glutatyon redüktaz: 0,1 gr glutatyon redüktaz alınır, bir miktar Tris- EDTA içerisinde çözülüp sonra toplam hacim 10 mL'ye tamamlanır.
14. 7 mM t-bütül hidroperoksit: 1 mL t-bütül hidroperoksit alınır ve 1143 mL saf su ile karıştırılır.
15. 30 mM CDNB: 0,03 gr CDNB (1-kloro-2,4- dinitrobenzen) tartıldıktan sonra 5 mL saf etanolde çözülür.
16. Deltametrin çözeltisi; 0,49 M'lık deltametrin stok çözeltisinden 1:5-1:10 arasında seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.
17. Sipermetrin çözeltisi; 6,005 M'lık sipermetrin stok çözeltisinden 1:5-1:10 arasında seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.
18. Fenpropatrin çözeltisi; 5,309 M'lık fenpropatrin stok çözeltisinden 1:5-1:10 arasında seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.
19. Lamda kloatrin çözeltisi; 1,11 M'lık lamda kloatrin stok çözeltisinden 1:5-1:10 arasında seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.
20. Amin tuzu çözeltisi; 1,87 M'lık amin tuzu stok çözeltisinden 1:5-1:10 arasında seyreltme yapılarak hazırlanmıştır.

2.4 Materyallerin Toplanması

Bu çalışmada, Selimiye Baraj Gölü'ndeki (Balıkesir/Türkiye) *Cyprinus carpio* balık türünden elde edilen kan numuneleri sitratlı tüplere her deney öncesi taze olarak alınmıştır. Kan örnekleri, anestezi uygulanmadan kalpten punksiyonla alınmıştır. Bu amaçla sol taraf üzerine yatırılan balığın solungaç kapağı kaldırıldıktan sonra kleitrum kemiğinin oluşturduğu pektoral kemerin hemen önünden alt üçte bir mesafeden 5 mL'lik steril ve tek kullanımlık enjektörler ile 40-45⁰'lık bir açı yapacak şekilde kalbe girilerek kan çekilmiştir.

2.5 Hemolizat Hazırlanışı

Alınan kan örnekleri eppendorf tüplere aktarıldıktan sonra +4⁰ C'de 15 dk 2500 rpm'de santrifüj edilmiştir. Ardından üst kısımda kalan plazma atılıp eritrositlerde 0,16 M'lık KCl ile +4⁰C'de 5dk 2500 rpm'de 3 kez yıkandıktan sonra soğuk saf su ile 1/5 oranında seyreltilerek +4⁰C'de 10000 rpm'de 30 dk santrifüj edilerek eritrositler parçalanmıştır [72].

2.6 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesi

Antioksidan enzim aktiviteleri UV-Visible spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir.

2.6.1 Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Ölçümü

Süperoksit dismutaz enzimi, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve moleküler oksijene (O₂) dismutasyonunu hızlandırır. Yöntemde ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorür (INT) ile tepkimeye giren ve kırmızı renkli formazon boyası oluşturan süperoksit radikalleri üretilmektedir. Enzim aktivitesi ölçümü ise reaksiyonun 505 nm'de ortamda bulunan

SOD enzimi ile inhibisyonuna dayanır. SOD aktivitesi Tablo 2.1' de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür [43,73].

Tablo 2.1:SOD aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µL)	Kör (µL)
Fosfat tamponu	1525	1650
Ksantin oksidaz	250	250
Ksantin	500	500
INT	600	600
Hemolizat	125	-----

2.6.1 Katalaz Aktivitesinin Ölçümü

Katalaz, H_2O_2 'nin su ve moleküler oksijene yıkımını katalizler. H_2O_2 'nin ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak 240 nm'de enzimin yıkım hızı spektrofotometrik olarak ölçülür. Katalaz aktivitesi Tablo 2.2'de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür.

Tablo 2.2:CAT aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µL)	Kör (µL)
Fosfat tamponu	2400	2500
H_2O_2	500	500
Hemolizat	100	----

Köre ve numune küvetine yukarıdaki kimyasallar eklendikten sonra 240 nm'de 5 dk boyunca köre karşı aktivite ölçülmüşve absorbanstaki düşüşbirer dakika aralıklarla kaydedilmiştir. [43,74,75]

2.6.2 Glutasyon S-Transferaz Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon s-transferaz, 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun –SH grubu arasındaki tepkimeyi katalizler. Enzim aktivitesi 340 nm’de 37 °C’de GSH ve CDNB kullanılarak dakikada oluşan S-2,4-dinitrofenilglutasyonun 1 mikro molünü katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenir. Glutasyon s-transferaz aktivitesi Tablo 2.3’ de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür [43,76,77].

Tablo 2.3:GST aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µL)	Kör (µL)
Fosfat tamponu	2650	2800
CDNB	60	60
GSH	150	150
Hemolizat	150	----

2.6.3 Glutasyon Redüktaz Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon redüktaz, GSSG’nin NADPH tarafından GSH’a indirgenmesini katalize eder. Enzim aktivitesi, tepkime sırasında yükseltgenen NAD(P)H’nin 37 °C’de 340 nm dalga boyunda absorbans farkı ölçülerek belirlenir. Glutasyon redüktaz aktivitesi Tablo 2.4’ de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür [43,76].

Tablo 2.4:GR aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µL)	Kör (µL)
Distile su	2370	2400
Tris-EDTA	150	150
NADPH	150	150
GSSG	300	300
Hemolizat	30	-----

2.6.4 Glutasyon Peroksidaz Aktivitesinin Ölçümü

GSH-Px ile t-bütil hidroperoksit varlığında GSH'nin GSSG'ye oksidasyonu gerçekleşir. Yöntem, bu oksidasyon sonucu oluşan GSSG'nin glutasyon redüktaz enzimi ile tekrar GSH'ye indirgenmesi tepkimesinde NADP'ye oksitlenen NADPH'nin 340 nm dalga boyundaki absorbans değeri farkının zamana karşı okunması prensibine dayanır. Glutasyon peroksidaz aktivitesi Tablo 2.5'de verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür.

Köre ve küvete yukarıdaki kimyasallar eklendikten sonra 37° C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Ardından numune küvetine t-bütilhidroperoksit ilave edilmişve köre karşı aktivite ölçülmüştür [43,76].

Tablo 2.5:GSH-Px aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µL)	Kör (µL)
Tris-EDTA	300	300
GSH	60	60
Glutasyon redüktaz	300	300
NADPH	300	300
Hemolizat	30	-----
Distile su	1980	2010
t-butilhidroperoksit	30	30

2.6.5 Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz Aktivitesinin Ölçümü

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda reaksiyon sonunda oluşan NADPH'ın absorpsiyon artışı sonucu ölçülmüştür. G6P hariç yukarıdaki kimyasallar küvete konduktan sonra 37° C'de 10 dk inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra numune ve köre 300 µL G6P ilave edilmişve ardından 340 nm'de 2 dk süreyle absorbans kaydedilmiştir. Glukoz 6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi Tablo 2.6'da verilen içerik kullanılarak ölçülmüştür [43,76].

Tablo 2.6:G6PD aktivite ölçümü için kullanılan maddelerin hacimleri

Küvet içeriği	Numune (µL)	Kör (µL)
Distile su	1650	1800
Tris-EDTA	300	300
MgCl ₂	300	300
NADP+	300	300
Hemolizat	150	-----
G6P	300	300

2.7 Protein Tayini

Bu yöntem; fosforik asitli ortamda proteinlerin coomassie brilliant-blue G-250 reaktifi ile kompleks oluşturması, oluşan kompleksin 595 nm'de maksimum absorbens göstermesi esasına dayanır. Yöntemin diğer protein tayin yöntemlerinden üstün tarafı, çok kısa sürede uygulanması, bozucu faktörlerin pek söz konusu olmaması, protein-boya kompleksinin çözeltilerde uzun süre kalmasıdır [78,79].

Ölçüm şu şekilde gerçekleştirilmiştir; 1 mL'sinde 1 mg protein ihtiva eden standart albumin çözeltisinden tüplere 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µl alınmıştır. Albumin çözeltisi bulunan tüplerin hacimleri 5 mM pH'sı 6,5 olan fosfat tamponuyla 0,1 mL'ye tamamlanmıştır. 5 mL coomassie brilliant blue G-250 reaktifi tüplere ilave edilmiş ve vortex mikser ile karıştırılmıştır. 30 dakika karanlık ortamda beklemeye bırakılan çözeltinin absorbensı 595 nm'de belirlenmiştir. Kör olarak hazırlanan tüp 0,1 mL fosfat tamponu ve 5 mL Coomassie Brilliant-Bule G-250 reaktifini içermektedir. Hazırlanan enzim ekstraktından 3 ayrı tüpe 0,2'şer mL alınarak üzerine 5'er mL Coomassie Brilliant- Blue G-250 reaktifi eklenip vortekste karıştırıldıktan sonra 595 nm'de absorbens değerleri ölçülmüştür. Üç ölçümün ortalaması alındıktan sonra absorbens değerlerine karşılık gelen protein miktarı standart grafik yardımıyla hesaplanmıştır [80,81,82].

3. BULGULAR

Çalışmamızda *Cyprinus carpio carpio*’ dan elde edilen kan örneklerindesüperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon-s transferaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glukoz 6 fosfat dehidrogenaz antioksidan enzimleri üzerine tarımda kullanılan deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin, 2-4 D amin tuzu pestisitlerinin etkisi incelenmiştir. Deneylerden sonra elde edilen veriler aşağıdaki Tablo 3.1-3.30 ve Şekil 3.1-3.30’da gösterilmektedir.

3.1.1 SOD Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri

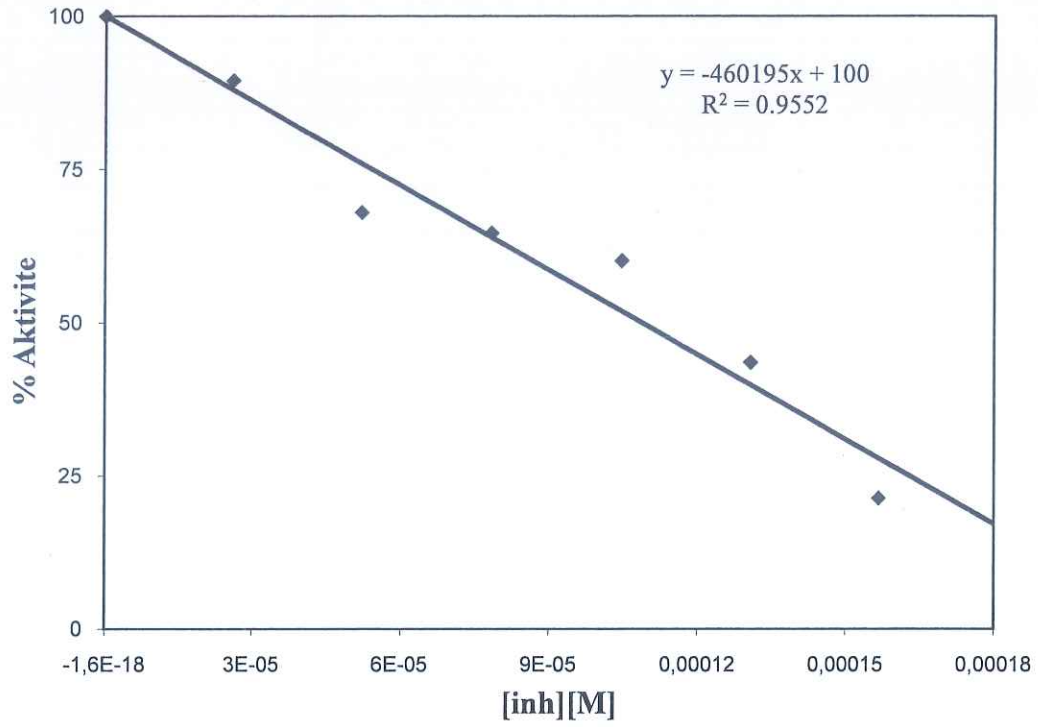
Çalışmada kullanılan pestisitlerin SOD aktivitesi üzerine etki düzeyleri araştırılmıştır. Balık kanında farklı pestisitlerin antioksidan enzimlere etkilerini kıyasladığımız bu çalışmada; deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda-kloatrin ve amin tuzunun SOD üzerine etkileri belirlenmeye çalışılmıştır. Tablo 3.1-3.5 ve Şekil 3.1-3.5 ’de SOD aktivitesi üzerine pestisitlerin etkisi gösterilmektedir.

Tablo 3.1:SOD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler ([İnh]=0,000784 M; [Tampon]=0,05 M;[INT]=1x10⁻⁴ M; [Ksantin]=1x10⁻⁴M)

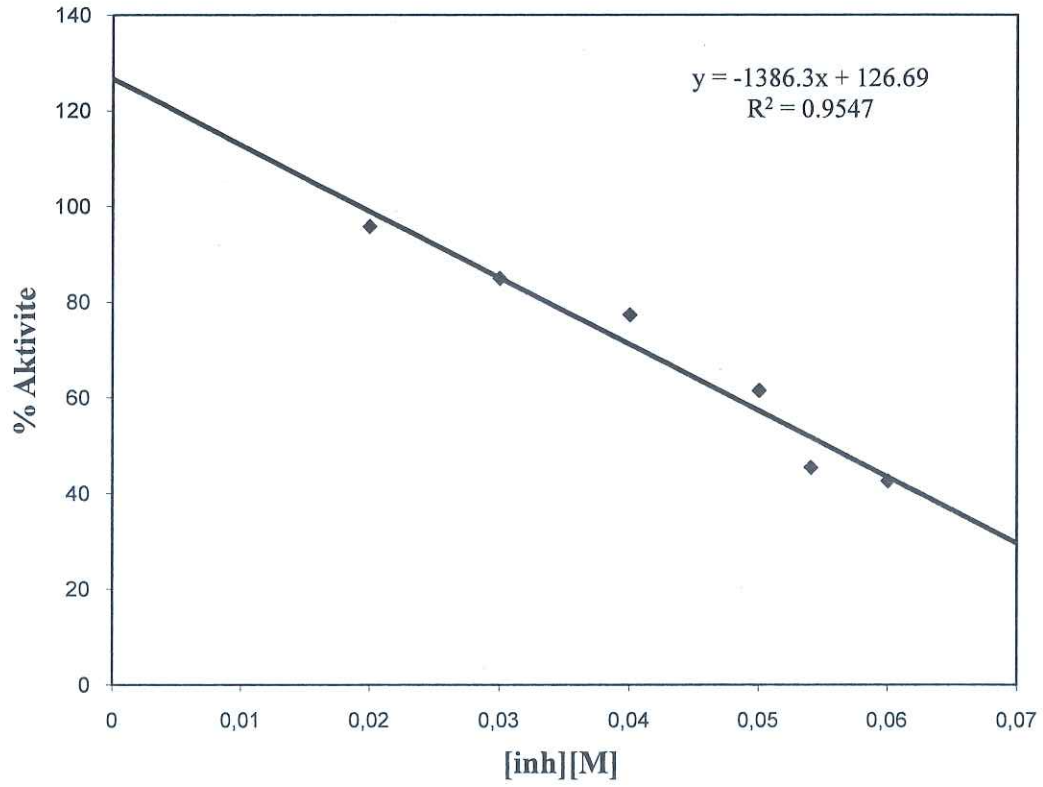
Deney no	Fosfat Tamponu (µL)	INT (µL)	Ksantin oksidaz (µL)	Ksantin (µL)	Hemolizat (µL)	İnhibitör (µL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁵
1	1500	600	250	500	125	0	0,4933	100	0
2	1400	600	250	500	125	100	0,4417	89,53983	2,6
3	1300	600	250	500	125	200	0,3355	68,01135	5,2
4	1200	600	250	500	125	300	0,3187	64,60572	7,84
5	1100	600	250	500	125	400	0,2966	60,12568	10,4
6	1000	600	250	500	125	500	0,2146	43,50294	13,1
7	900	600	250	500	125	600	0,1054	21,36631	15,7

Tablo 3.2:SOD aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler ([İnh]=6,005 M; [Tampon]=0,05 M;[INT]=1x10⁻⁴ M; [Ksantin]=1x10⁻⁴M)

Deney no	Fosfat Tamponu (µL)	INT (µL)	Ksantin oksidaz (µL)	Ksantin (µL)	Hemolizat (µL)	İnhibitör(µL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁵
1	1500	600	250	500	125	0	0,4372	100	0
2	1490	600	250	500	125	10	0,419	95,83715	1,6
3	1485	600	250	500	125	15	0,3714	84,94968	2,5
4	1480	600	250	500	125	20	0,3383	77,37877	3,3
5	1475	600	250	500	125	25	0,2688	61,48216	4,1
6	1473	600	250	500	125	27	0,1986	45,42543	4,5
7	1470	600	250	500	125	30	0,1864	42,63495	5



Şekil 3.1:SODaktivitesi üzerine deltametrinin etkisi



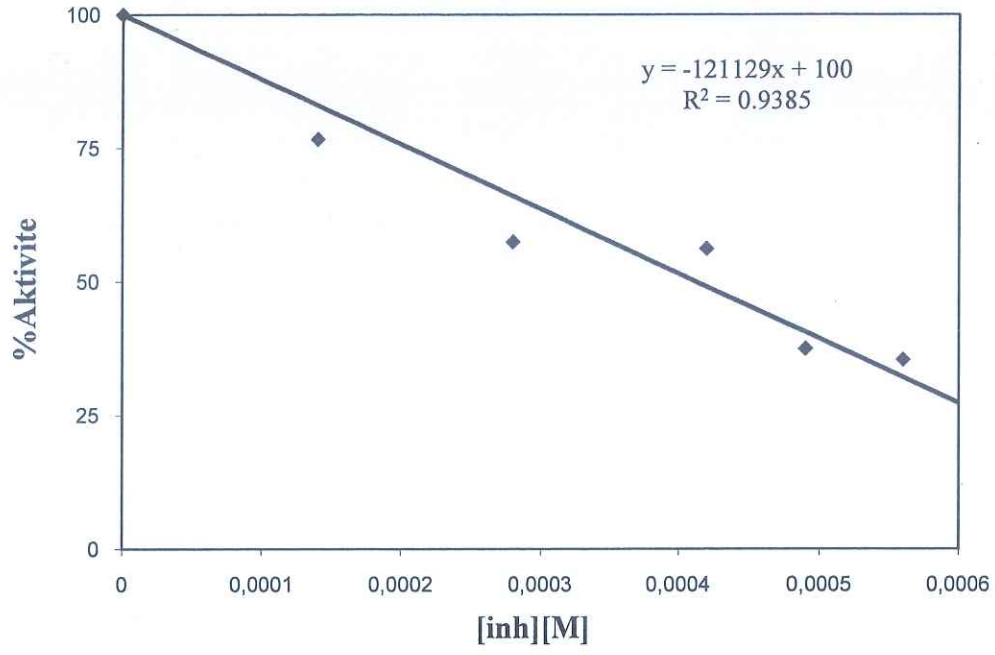
Şekil 3.2:SODaktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi

Tablo 3.3:SOD aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneysel veriler([İnh]= 0,042 M; [Tampon]=0,05 M; [INT]= 1×10^{-4} M; [Ksantin]= 1×10^{-4} M)

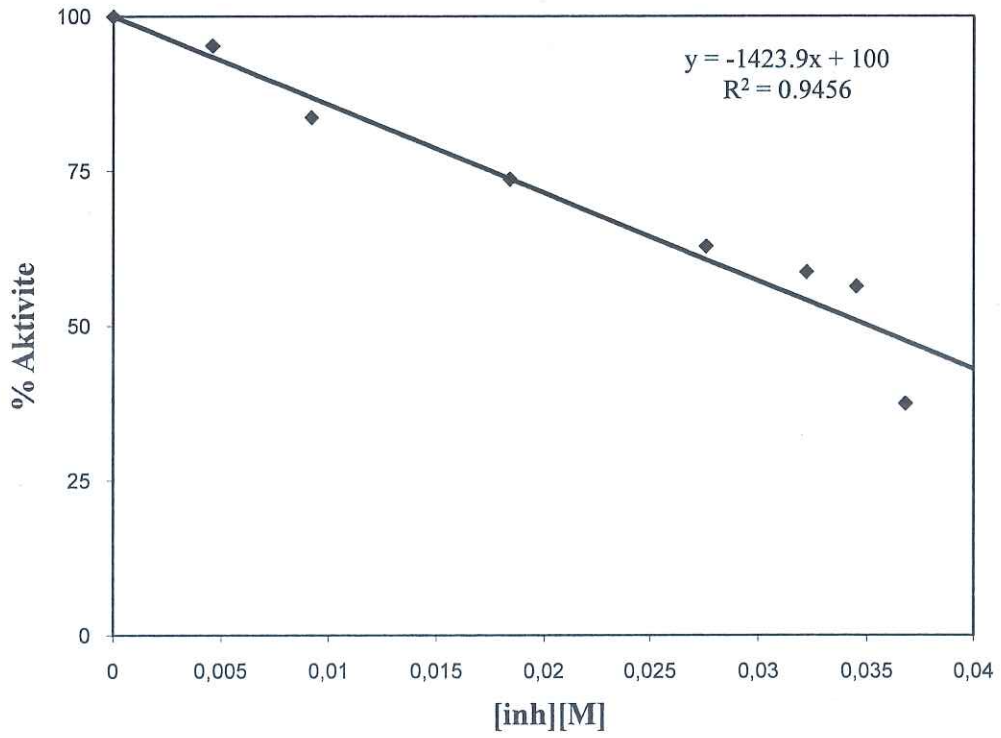
Deney no	Fosfat Tamponu (μ L)	INT (μ L)	Ksantin oksidaz (μ L)	Ksantin (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[İnh] $\times 10^{-4}$
1	1500	600	250	500	125	0	0,4117	100	0
2	1490	600	250	500	125	10	0,3159	76,73063	1,4
3	1480	600	250	500	125	20	0,2367	57,49332	2,8
4	1470	600	250	500	125	30	0,1934	56,23026	4,2
5	1465	600	250	500	125	35	0,1544	37,50304	4,9
6	1460	600	250	500	125	40	0,146	35,46272	5,6

Tablo 3.4:SOD aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneysel veriler([İnh]=0,138 M; [Tampon]=0,05 M; [INT]= 1×10^{-4} M; [Ksantin]= 1×10^{-4} M)

Deney no	Fosfat Tamponu (μ L)	INT (μ L)	Ksantin oksidaz (μ L)	Ksantin (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[İnh] $\times 10^{-3}$
1	1500	600	250	500	125	0	0,3779	100	0
2	1400	600	250	500	125	100	0,36	95,2633	4,6
3	1300	600	250	500	125	200	0,3163	83,6994	9,2
4	1100	600	250	500	125	400	0,2787	73,7497	18,4
5	900	600	250	500	125	600	0,2375	62,8473	27,6
6	800	600	250	500	125	700	0,2218	58,6928	32,2
7	750	600	250	500	125	750	0,213	56,3641	34,5
8	700	600	250	500	125	800	0,1416	37,4702	36,8



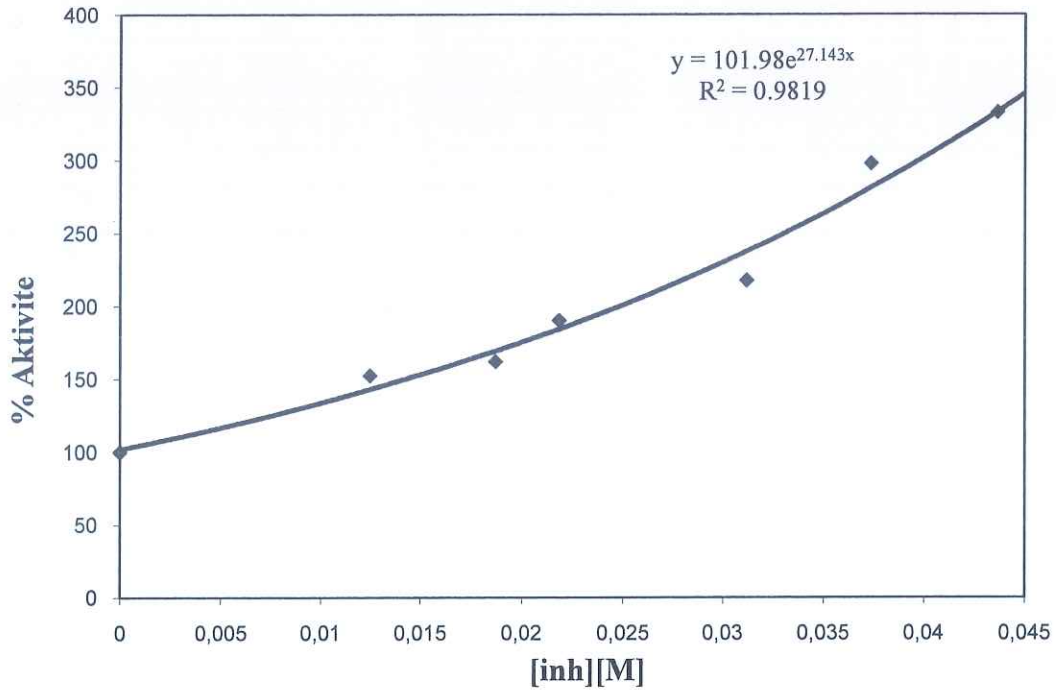
Şekil 3.3:SOD aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi



Şekil 3.4:SOD aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi

Tablo 3.5:SOD aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneysel veriler([Inh]=1,87 M; [Tampon]=0,05 M;[INT]=1x10⁻⁴ M; [Ksantin]=1x10⁻⁴M)

Deney no	Fosfat Tamponu (μL)	INT (μL)	Ksantin oksidaz (μL)	Ksantin (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[Inh]x10 ⁺³
1	1500	600	250	500	125	0	0,2553	100	0
2	1480	600	250	500	125	20	0,3895	152,5656	12,4
3	1470	600	250	500	125	30	0,4138	162,0838	18,7
4	1465	600	250	500	125	35	0,4858	190,2859	21,8
5	1450	600	250	500	125	50	0,5556	217,6263	31,1
6	1440	600	250	500	125	60	0,7603	297,8065	37,4
7	1430	600	250	500	125	70	0,8501	332,9808	43,6



Şekil 3.5:SOD aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi

3.1.2 CAT Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri

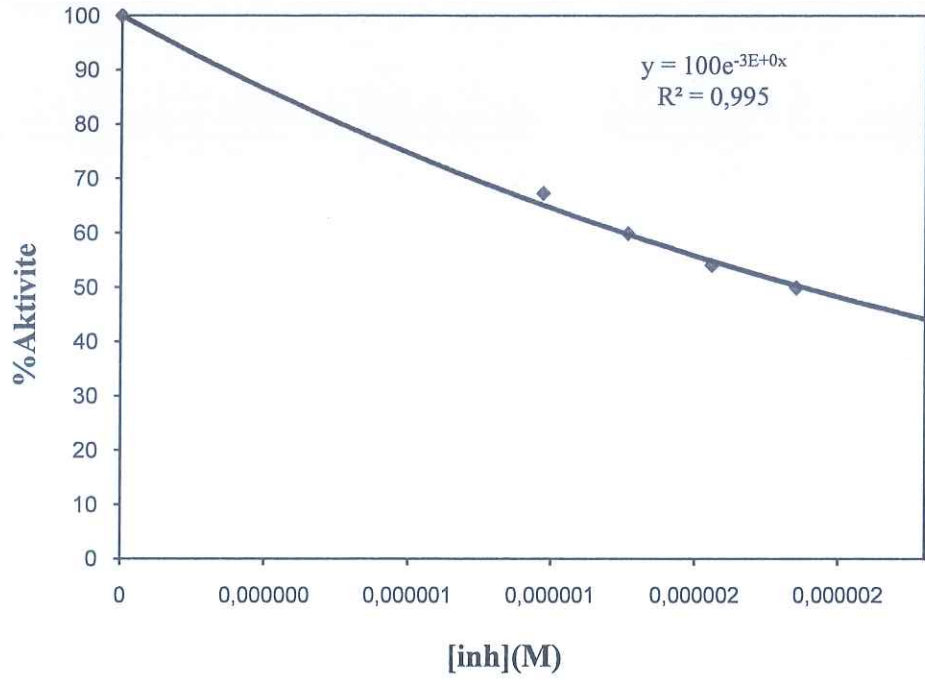
Deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun katalaz aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve elde edilen deneysel veriler Tablo 3.6-3.10 ve Şekil 3.6-3.10' da gösterilmektedir. Şekillerden görüldüğü gibi pestisitlerin konsantrasyonlarının artırılması ile enzim aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur.

Tablo 3.6: CAT aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler ([Inh]=0,0000882M; [fosfattamponu]=0,05M; [H_2O_2]=0,019 M)

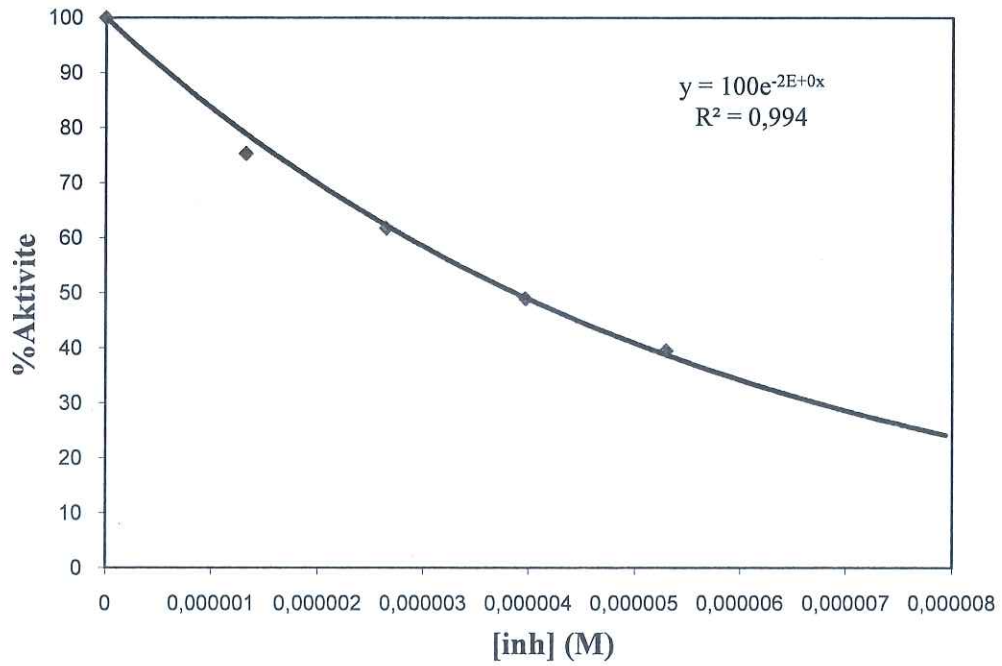
Deney no	Fosfat Tamponu (μL)	H_2O_2	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-6}$
1	2350	500	150	0	0,0991	100	0
2	2310	500	150	40	0,0838	84,5601	1,17
3	2300	500	150	50	0,0667	67,30575	1,47
4	2290	500	150	60	0,0594	59,93946	1,76
5	2280	500	150	70	0,0536	54,08678	2,05
6	2270	500	150	80	0,0495	49,94955	2,35
7	2260	500	150	90	0,0346	43,34006	2,64
8	2250	500	150	100	0,0142	37,54793	2,94

Tablo 3.7: CAT aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler ([Inh]=0,0007941M; [fosfat tamponu]=0,05 M; [H_2O_2]=0,019 M)

Deney no	Fosfat Tamponu (μL)	H_2O_2	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-6}$
1	2350	500	150	0	0,0965	100	0
2	2345	500	150	5	0,0726	75,30404	1,32
3	2340	500	150	10	0,0595	61,74931	2,64
4	2335	500	150	15	0,0473	48,94763	3,97
5	2330	500	150	20	0,0382	39,53462	5,29
6	2325	500	150	25	0,0367	20,92097	6,61
7	2320	500	150	30	0,0335	6,192251	7,94



Şekil 3.6:CAT aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi



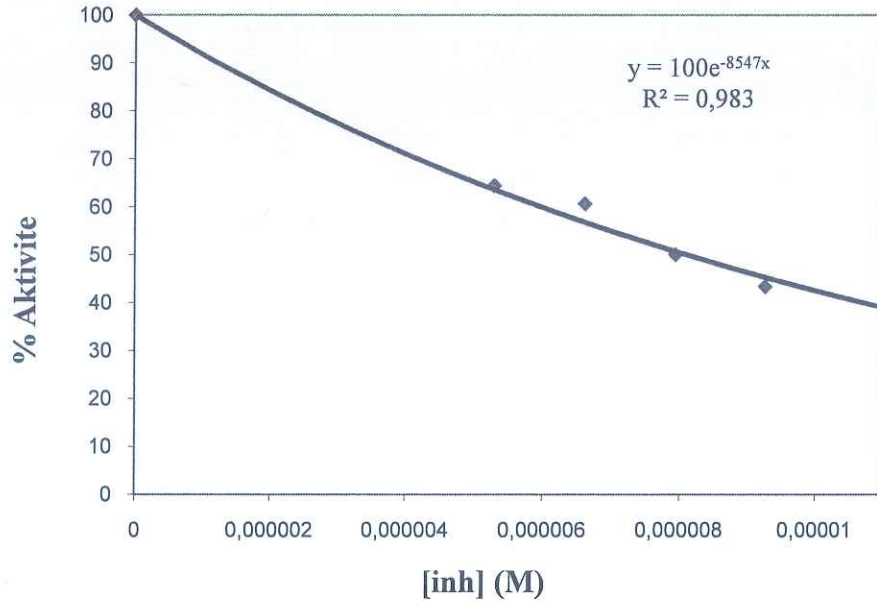
Şekil 3.7:CAT aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi

Tablo 3.8: CAT aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneysel veriler([Inh]=0,0007941 M; [fosfattamponu]=0,05 M; [H_2O_2]=0,019 M)

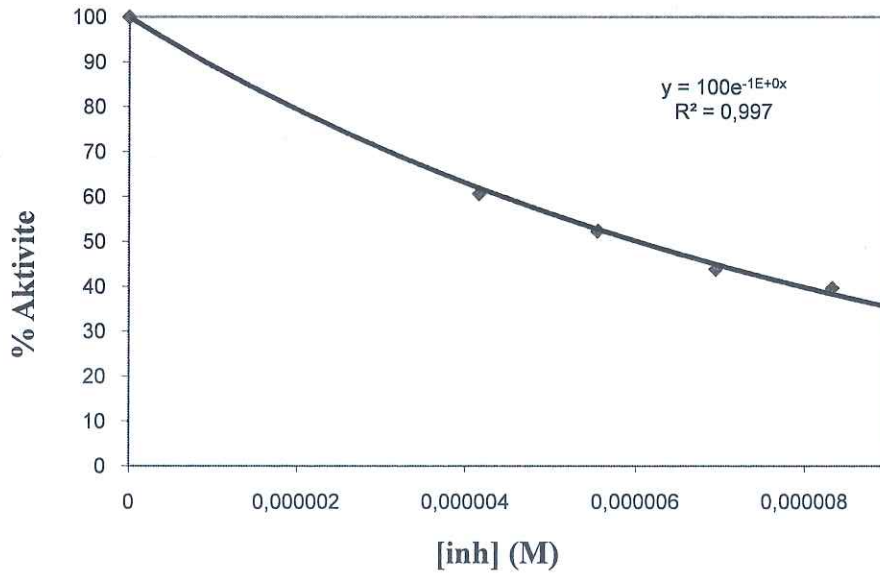
Deney no	Fosfat Tamponu (μL)	H_2O_2	Hemolizat (μL)	Inhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-6}$
1	2350	500	150	0	0,1251	100	0
2	2330	500	150	20	0,0806	64,42846	5,3
3	2325	500	150	25	0,0759	60,67146	6,6
4	2320	500	150	30	0,0626	50,03997	7,9
5	2315	500	150	35	0,0543	43,40528	9,2
6	2310	500	150	40	0,0416	25,43565	10,5
7	2300	500	150	50	0,0399	12,67786	13,2

Tablo 3.9: CAT aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneysel veriler([Inh]=0,0000833M; [fosfattamponu]=0,05 M; [H_2O_2]=0,019 M)

Deney no	Fosfat Tamponu (μL)	H_2O_2	Hemolizat (μL)	Inhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-6}$
1	2350	500	150	0	0,101	100	0
2	2300	500	150	50	0,072	0,713267	1,4
3	2250	500	150	100	0,0644	0,637624	2,8
4	2200	500	150	150	0,0613	60,69306	4,1
5	2150	500	150	200	0,0529	52,37622	5,5
6	2100	500	150	250	0,0443	43,86138	6,9
7	2050	500	150	300	0,0401	39,70297	8,3
8	2000	500	150	350	0,0331	32,77227	9,7



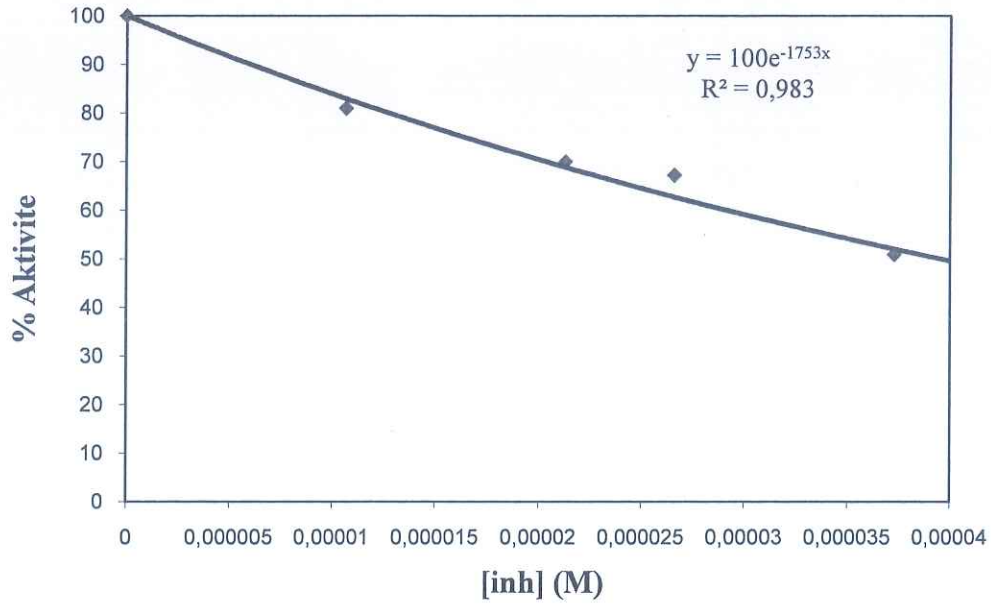
Şekil 3.8:CAT aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi



Şekil 3.9:CAT aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi

Tablo 3.10: CAT aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneyler veriler ([Inh]=0,00031943M; [fosfattamponu]=0,05M; [H₂O₂]=0,019 M)

Deney no	Fosfat Tamponu (μ L)	H ₂ O ₂	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-5}$
1	2350	500	150	0	0,1077	100	0
2	2340	500	150	100	0,0872	80,96565	1,06
3	2330	500	150	200	0,0754	70,00929	2,12
4	2325	500	150	250	0,0724	67,22377	2,66
5	2320	500	150	300	0,0684	52,22841	3,19
6	2315	500	150	350	0,0548	50,88208	3,72
7	2310	500	150	400	0,0497	46,1467	4,25



Şekil 3.10: CAT aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi

3.1.3 GST Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri

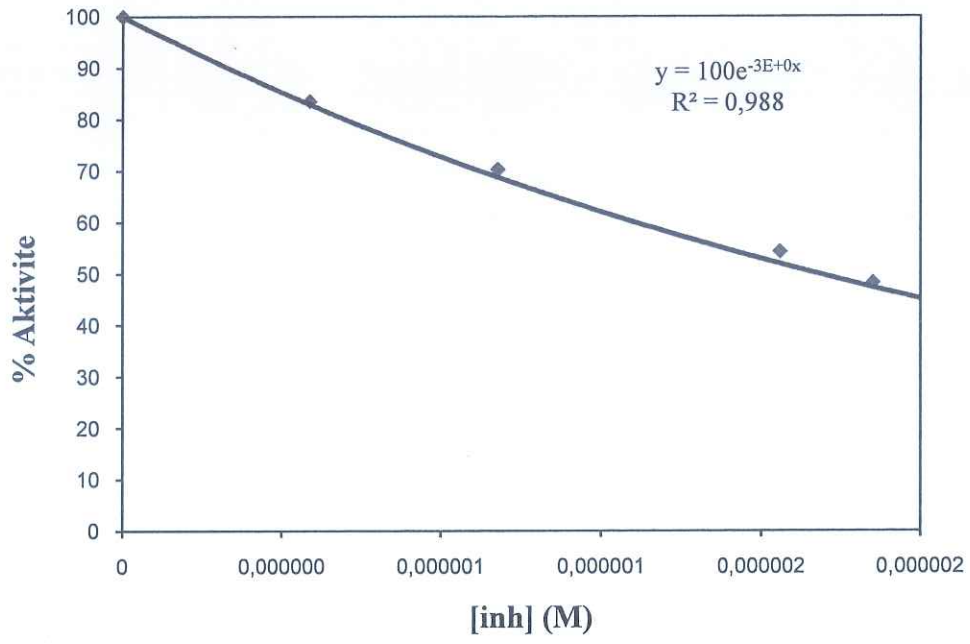
Deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun glutatyon s-transferaz aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve elde edilen deneysel veriler Tablo 3.11-3.15 ve Şekil 3.11-3.15' de gösterilmektedir. Şekillerden görüldüğü üzere pestisitlerin konsantrasyonlarının artırılması ile enzim aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur.

Tablo 3.11:GST aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler([İnh]=0,0000882 M; [fosfat tamponu]=0,05 M; [GSH]=0,1 M; [CDNB]=30 mM)

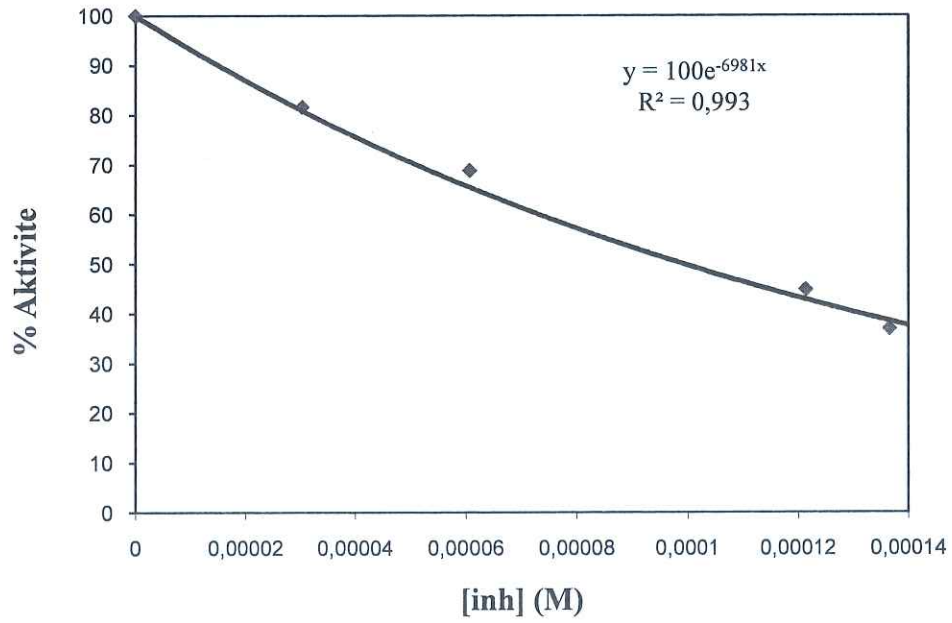
Deney no	Fosfat Tamponu (µL)	CDNB (µL)	GSH (µL)	Hemolizat (µL)	İnhibitör (µL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁷
1	2640	60	150	150	0	0,1501	100	0
2	2440	60	150	150	200	0,1254	83,5443	5,88
3	2240	60	150	150	400	0,1055	70,28648	11,76
4	2040	60	150	150	600	0,089	59,78	17,64
5	1940	60	150	150	700	0,0815	54,29714	20,58
6	1840	60	150	150	800	0,0724	48,23451	23,52
7	1740	60	150	150	900	0,0673	44,8368	26,46
8	1640	60	150	150	1000	0,0607	40,43971	29,40

Tablo 3.12:GST aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler([İnh]=0,00091M; [fosfattamponu]=0,05 M; [GSH]=0,1 M; [CDNB]=30 mM)

Deney no	Fosfat Tamponu (µL)	CDNB (µL)	GSH (µL)	Hemolizat (µL)	İnhibitör (µL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁶
1	2640	60	150	150	0	0,1656	100	0
2	2540	60	150	150	100	0,1351	93,23671	2,77
3	2440	60	150	150	200	0,1141	83,50587	5,55
4	2340	60	150	150	300	0,1062	74,60317	8,33
5	2290	60	150	150	350	0,0989	65,21739	9,71
6	2240	60	150	150	400	0,0743	56,93582	11,10
7	2190	60	150	150	450	0,0612	39,4755	12,49
8	2140	60	150	150	500	0,0563	38,85438	13,88



Şekil 3.11:GST aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi



Şekil 3.12:GST aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi

Tablo 3.13:GST aktivitesi üzerine fenpropatrine ait deneysel veriler([Inh]=0,0007941 M; [fosfattamponu]=0,05 M;

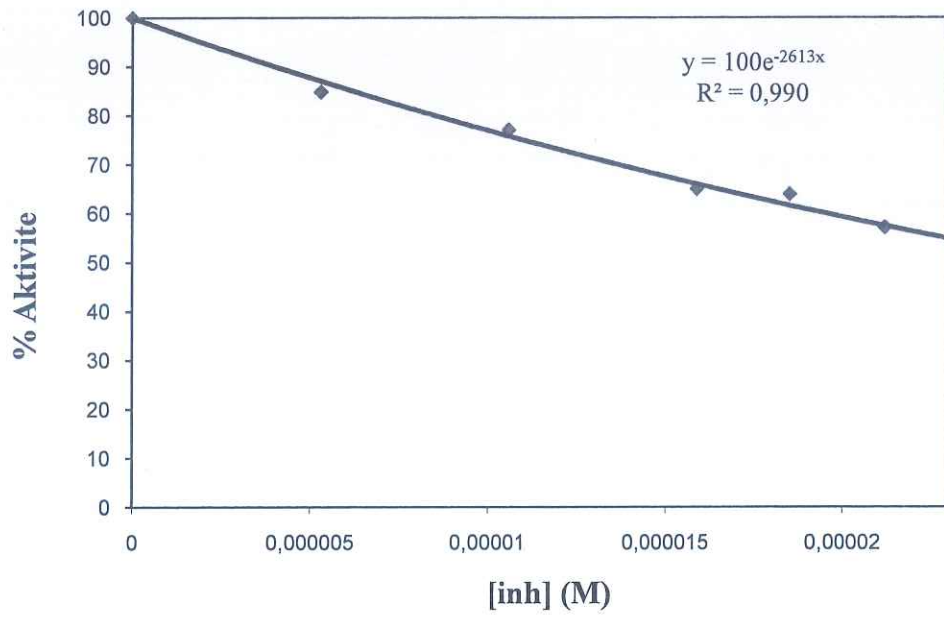
[GSH]=0,1 M; [CDNB]=30 mM)

Deney no	Fosfat Tamponu (μ L)	CDNB (μ L)	GSH (μ L)	Hemolizat (μ L)	Inhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-6}$
1	2640	60	150	150	0	0,1501	100	0
2	2620	60	150	150	20	0,1274	84,87675	5,29
3	2600	60	150	150	40	0,1158	77,14857	10,58
4	2580	60	150	150	60	0,0976	65,02332	15,88
5	2570	60	150	150	70	0,096	63,95736	18,52
6	2560	60	150	150	80	0,0859	57,22851	21,17
7	2550	60	150	150	90	0,0792	52,76482	23,82

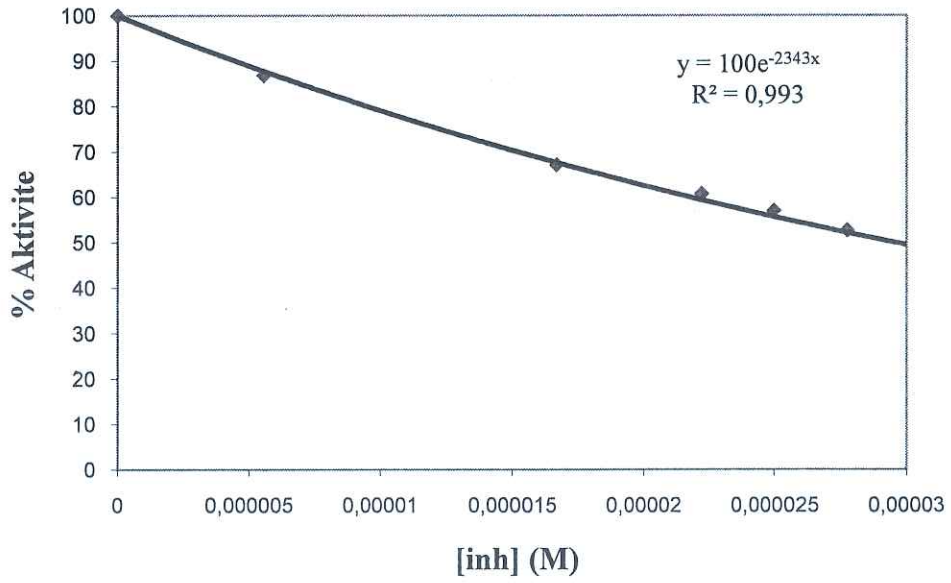
Tablo 3.14:GST aktivitesi üzerine lamda kloatrine ait deneysel veriler([Inh]=0,0000833 M; [fosfattamponu]=0,05 M;

[GSH]=0,1 M; [CDNB]=30 mM)

Deney no	Fosfat Tamponu (μ L)	CDNB (μ L)	GSH (μ L)	Hemolizat (μ L)	Inhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-5}$
1	2640	60	150	150	0	0,1727	100	0
2	2440	60	150	150	200	0,1542	94,86842	0,55
3	2240	60	150	150	400	0,1279	84,14474	1,11
4	2040	60	150	150	600	0,116	76,31579	1,67
5	1840	60	150	150	800	0,0924	60,78947	2,22
6	1740	60	150	150	900	0,0866	56,97368	2,50
7	1640	60	150	150	1000	0,0801	52,69737	2,78
8	1540	60	150	150	1100	0,0715	47,03947	3,05



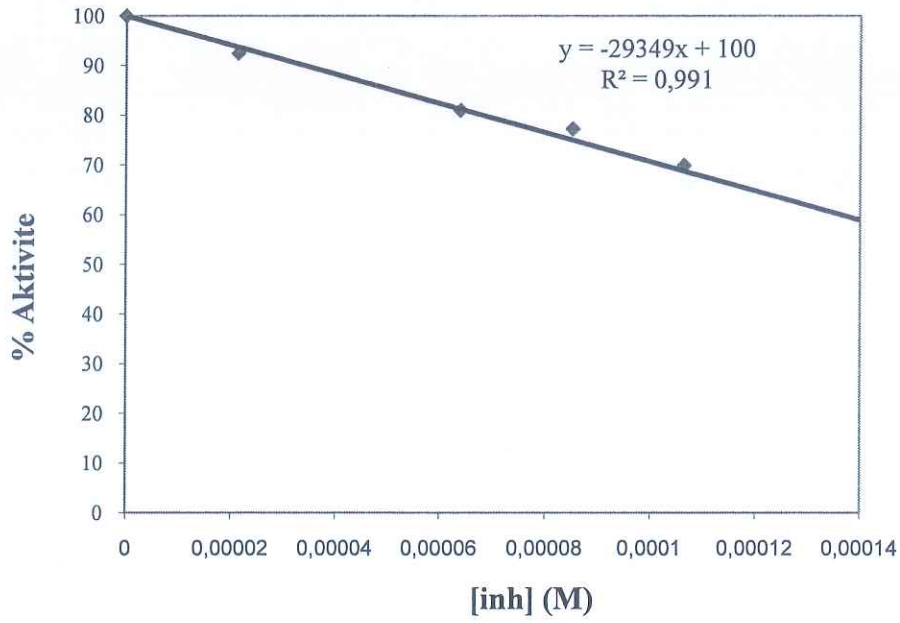
Şekil 3.13:GST aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi



Şekil 3.14:GST aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi

Tablo 3.15:GST aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneyler veriler([*inh*]=0,00031943 M; [fosfattamponu]=0,05 M; [GSH]=0,1 M; [CDNB]=30 mM)

Deney no	Fosfat Tamponu (μ L)	CDNB (μ L)	GSH (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[<i>inh</i>] $\times 10^{-3}$
1	2640	60	150	150	0	0,1733	100	0
2	2440	60	150	150	200	0,16028	92,48698	2,13
3	2240	60	150	150	400	0,147	84,82398	11,1
4	2040	60	150	150	600	0,14036	80,99247	16,7
5	1840	60	150	150	800	0,1339	77,26483	22,2
6	1640	60	150	150	1000	0,12116	69,91342	27,8
7	1440	60	150	150	1200	0,11574	66,7859	33,3
8	1240	60	150	150	1400	0,0943	49,41429	38,9



Şekil 3.15:GST aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi

3.1.4 GR Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri

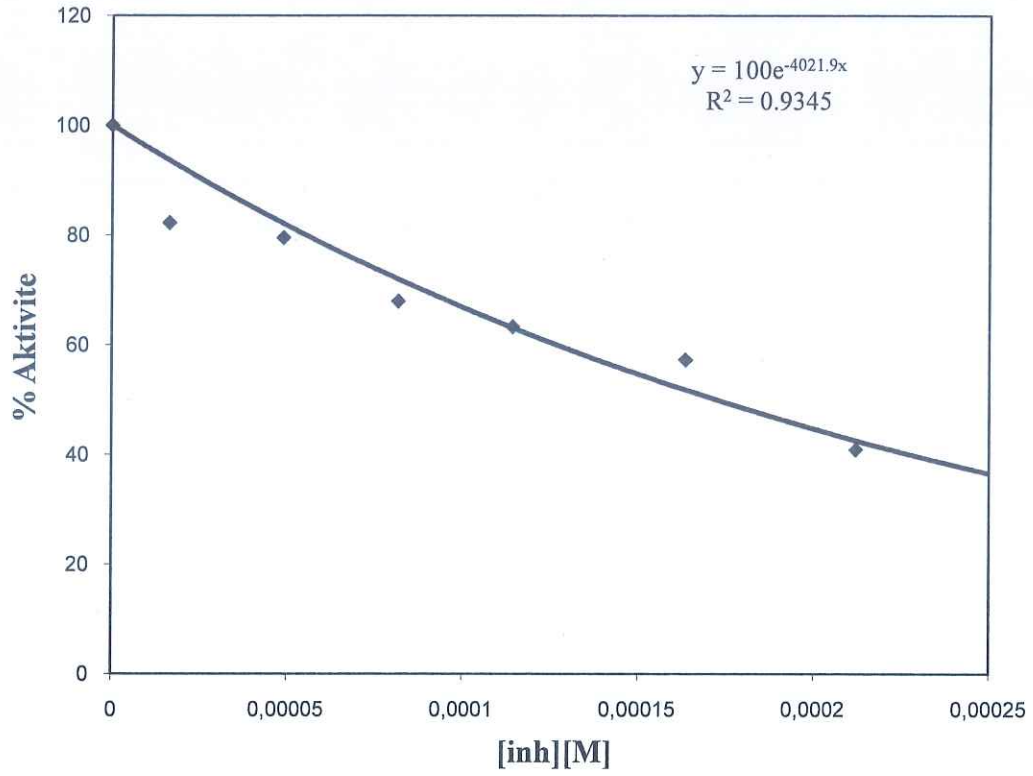
Deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve elde edilen deneysel veriler Tablo 3.16-3.20 ve Şekil 3.16-3.20’de gösterilmektedir. Şekillerden görüldüğü gibi pestisitlerin konsantrasyonlarının arttırılması ile enzim aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur.

Tablo 3.16:GR aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler ([Inh]=0,0049 M; [Tris-EDTA]=1 M;[NADPH]=2 mM; [GSSH]=0,033 M)

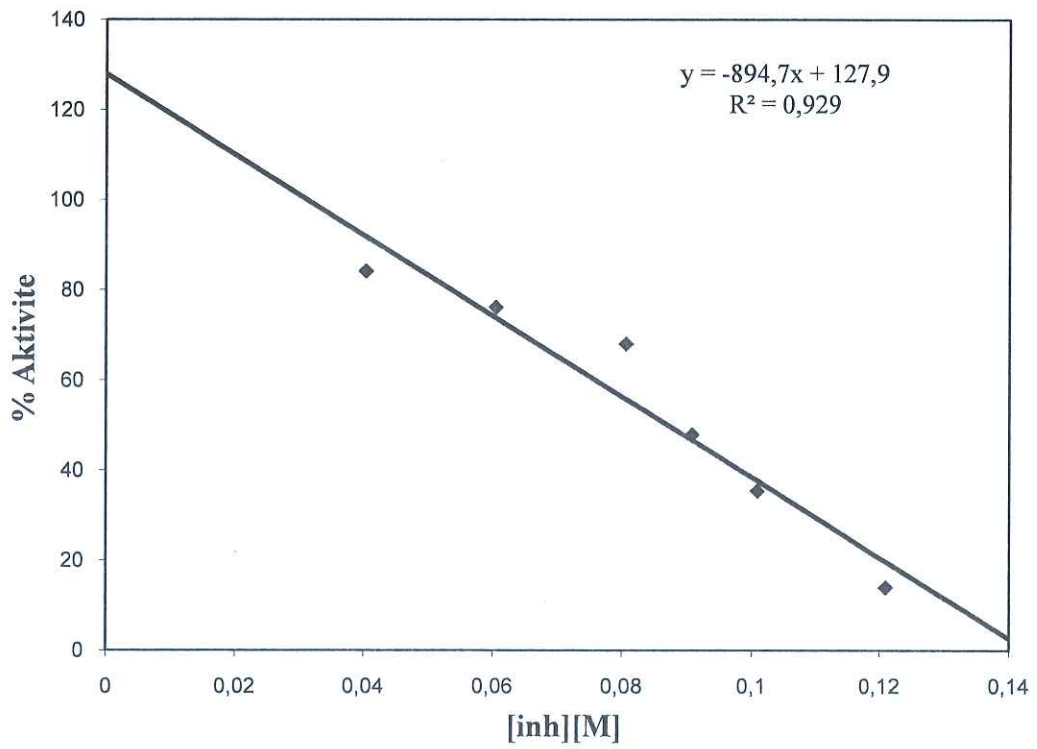
Dency no	Tris-EDTA (μ L)	NADPH (μ L)	GSSG (μ L)	Su (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-3}$
1	150	150	300	2250	150	0	0,3384	100	0
2	150	150	300	2240	150	10	0,2782	82,2104	1,6
3	150	150	300	2220	150	30	0,2691	79,52128	4,9
4	150	150	300	2200	150	50	0,2301	67,99645	8,1
5	150	150	300	2180	150	70	0,2144	63,35697	11,4
6	150	150	300	2150	150	100	0,1939	57,27905	16,3
7	150	150	300	2120	150	130	0,1385	40,9279	21,2

Tablo 3.17:GR aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel veriler ([Inh]=6,05 M; [Tris-EDTA]=1 M;[NADPH]=2 mM; [GSSH]=0,033 M)

Dency no	Tris-EDTA (μ L)	NADPH (μ L)	GSSG (μ L)	Su (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-4}$
1	150	150	300	2250	150	0	0,3838	100	0
2	150	150	300	2230	150	20	0,3229	84,13236	3,3
3	150	150	300	2220	150	30	0,2922	76,1334	5
4	150	150	300	2210	150	40	0,261	68,00417	6,6
5	150	150	300	2205	150	45	0,1838	47,88953	7,5
6	150	150	300	2200	150	50	0,1359	35,40907	8,33
7	150	150	300	2190	150	60	0,0537	13,99166	10



Şekil 3.16: Glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi



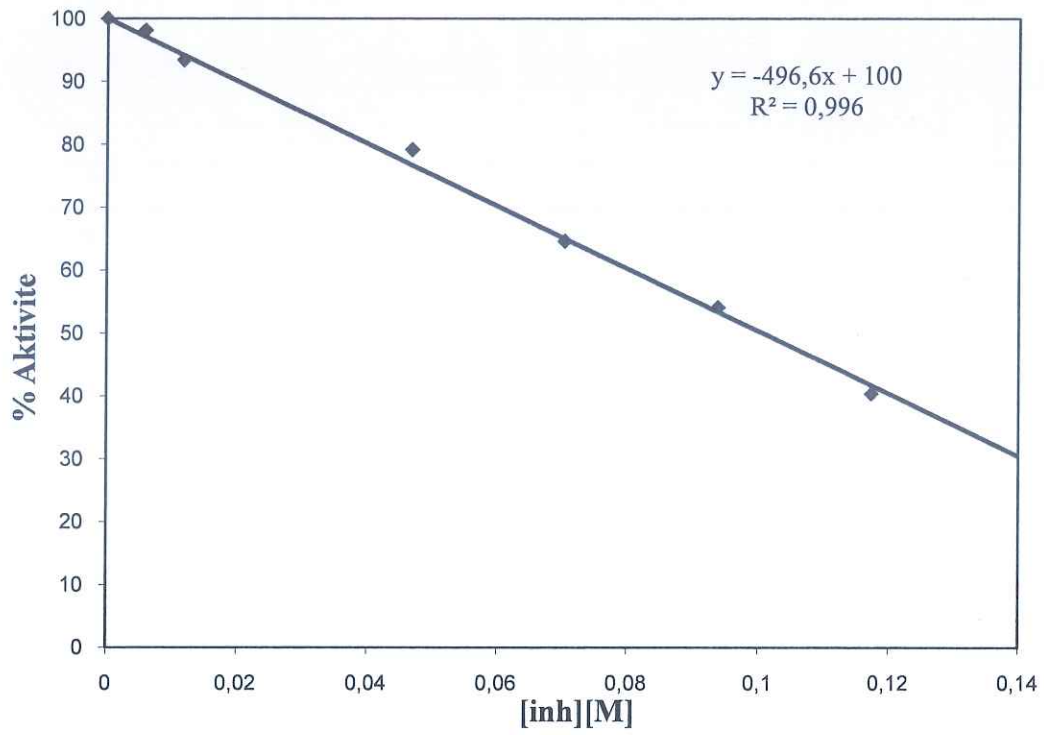
Şekil 3.17: Glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi

Tablo 3.18:GR aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneyset veriler([*inh*]=1,76 M; [Tris-EDTA]=1 M;[NADPH]=2 mM; [GSSH]=0,033 M)

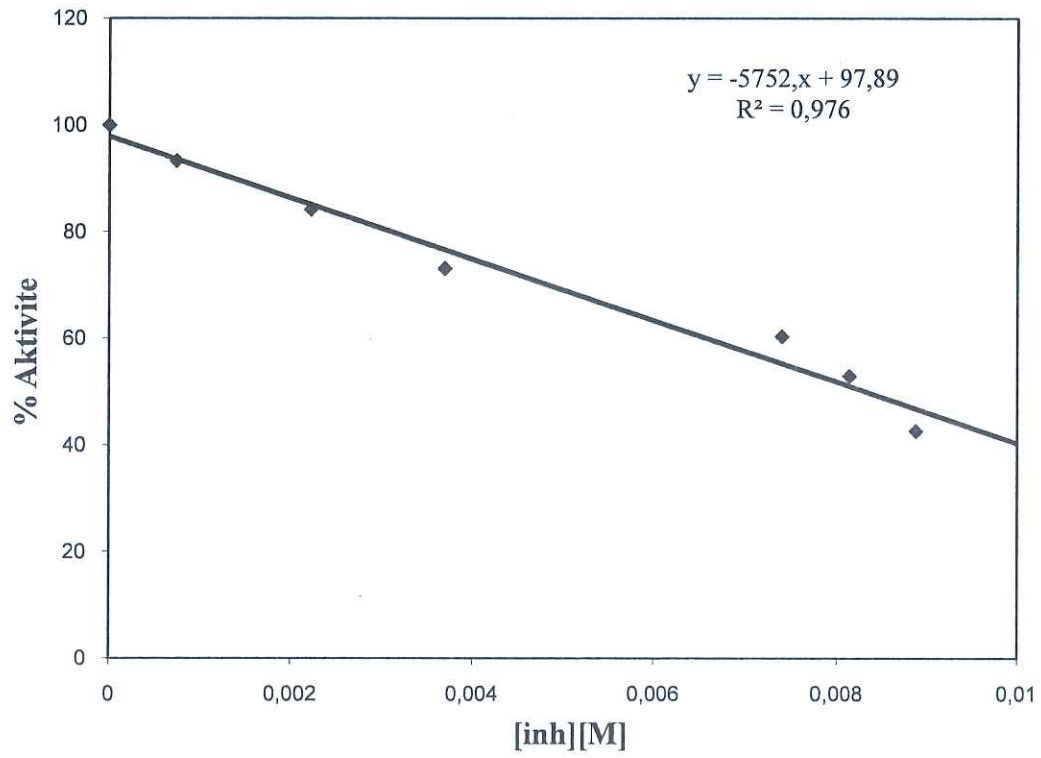
Deney no	Tris-EDTA (μ L)	NADPH (μ L)	GSSG (μ L)	Su (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[<i>inh</i>] $\times 10^{-2}$
1	150	150	300	2250	150	0	0,3838	100	0
2	150	150	300	2240	150	10	0,3767	98,15008	0,5
3	150	150	300	2220	150	20	0,3585	93,40803	1,1
4	150	150	300	2170	150	80	0,3039	79,18187	4,6
5	150	150	300	2130	150	120	0,2482	64,6691	7,0
6	150	150	300	2090	150	160	0,2076	54,09067	9,3
7	150	150	300	2050	150	200	0,1551	40,41167	11,7

Tablo 3.19:GR aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneyset veriler([*inh*]=0,222 M; [Tris-EDTA]=1 M;[NADPH]=2 mM; [GSSH]=0,033 M)

Deney no	Tris-EDTA (μ L)	NADPH (μ L)	GSSG (μ L)	Su (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[<i>inh</i>] $\times 10^{-3}$
1	150	150	300	2250	150	0	0,5101	100	0
2	150	150	300	2240	150	10	0,4759	93,29543	0,74
3	150	150	300	2220	150	30	0,4294	84,17957	2,22
4	150	150	300	2200	150	50	0,3727	73,06411	3,7
5	150	150	300	2150	150	100	0,2873	60,36983	7,4
6	150	150	300	2140	150	110	0,2702	52,97001	8,14
7	150	150	300	2130	150	120	0,2174	42,61909	8,88



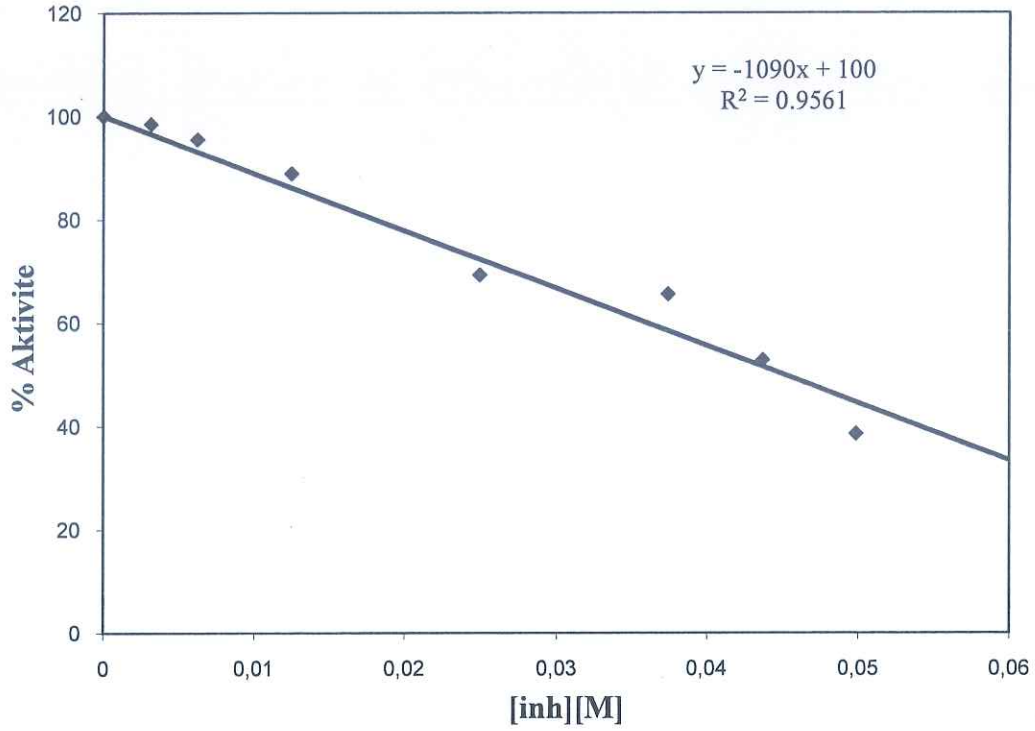
Şekil 3.18:GR aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi



Şekil 3.19:GR aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi

Tablo 3.20:GR aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneysel verilir([Inh]=1,87 M; [Tris-EDTA]=1 M;[NADPH]=2 mM; [GSSH]=0,033 M)

Deney no	Tris-EDTA (μ L)	NADPH (μ L)	GSSG (μ L)	Su (μ L)	Hemolizat (μ L)	İnhibitör (μ L)	Absorbans	% Aktivite	[Inh] $\times 10^{-3}$
1	150	150	300	2250	150	0	0,4396	100	0
2	150	150	300	2245	150	5	0,4327	98,52004	3,11
3	150	150	300	2240	150	10	0,4195	95,51457	6,23
4	150	150	300	2230	150	20	0,3905	88,91166	12,46
5	150	150	300	2220	150	30	0,3805	86,63479	18,7
6	150	150	300	2210	150	40	0,3044	69,30783	24,93
7	150	150	300	2190	150	60	0,2882	65,61931	37,4
8	150	150	300	2180	150	70	0,2321	52,84608	43,63
9	150	150	300	2170	150	80	0,1695	38,5929	49,86



Şekil 3.20:GR aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi

3.1.5 GSH-Px Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri

Deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda-cyhalothrin ve amin tuzunun glutatyon redüktaz aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve elde edilen deneysel veriler Tablo 3.21-3.25 ve Şekil 3.21-3.25’de verilmiştir. Şekillerden görüldüğü üzere pestisitlerin konsantrasyonlarının artırılması ile enzim aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur.

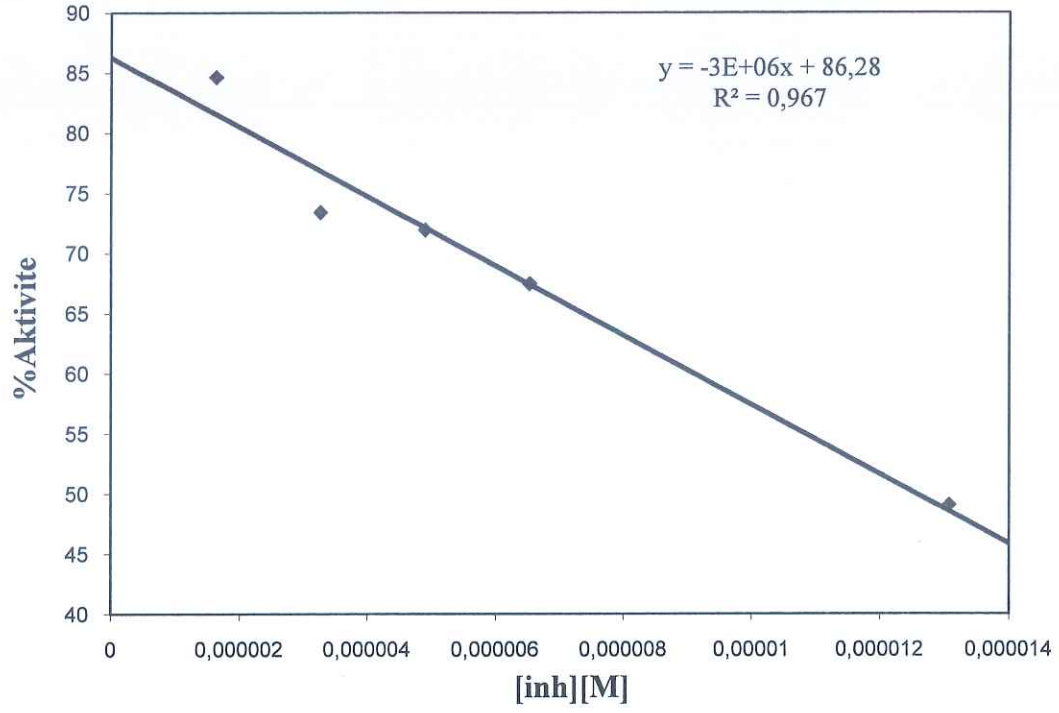
Tablo 3.21:GSH-Px aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler([inh]=0,0049 M; [GR]=0,01 M; [Tris-EDTA]=1 M;[NADPH]=2 mM; [GSH]=0,1M; [t-bütöl hidroperoksit]=7 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADPH (μL)	t-bütöl (μL)	GSH (μL)	GR (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[inh] $\times 10^{-6}$
1	300	300	30	300	60	1860	150	0	0,2669	100	0
2	300	300	30	300	60	1850	150	10	0,2259	84,63844	1,6
3	300	300	30	300	60	1840	150	20	0,1959	73,39828	3,2
4	300	300	30	300	60	1830	150	30	0,192	71,93706	4,9
5	300	300	30	300	60	1820	150	40	0,1801	67,47846	6,5
6	300	300	30	300	60	1780	150	80	0,131	49,08205	13,0

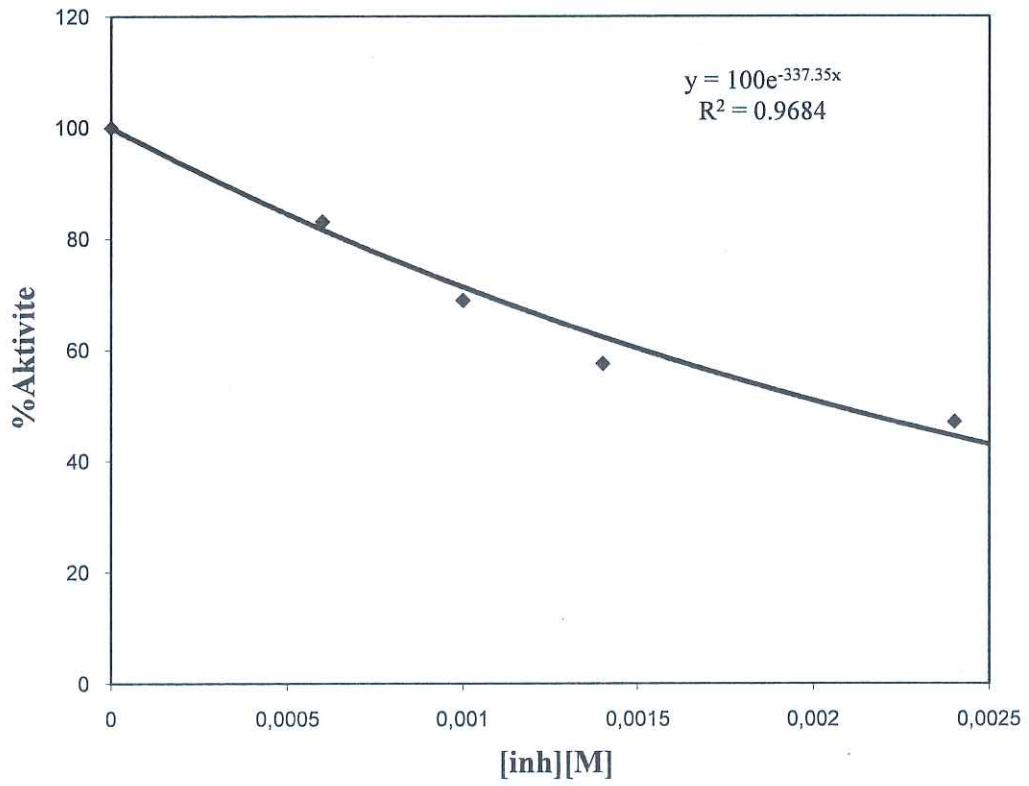
53

Tablo 3.22:GSH-Px aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisine ait deneysel verilir([inh]=0,06 M; [GR]=0,01 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADPH]=2 mM; [GSH]=0,1M; [t-bütöl hidroperoksit]=7 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADPH (μL)	t-bütöl (μL)	GSH (μL)	GR (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[inh] $\times 10^{-3}$
1	300	300	30	300	60	1860	150	0	0,2669	100	0
2	300	300	30	300	60	1830	150	30	0,2218	83,10229	0,6
3	300	300	30	300	60	2250	150	50	0,1841	68,97714	1
4	300	300	30	300	60	2200	150	70	0,1536	57,54964	1,4
5	300	300	30	300	60	2150	150	120	0,1257	47,09629	2,4



Şekil 3.21:GSH-Px aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi



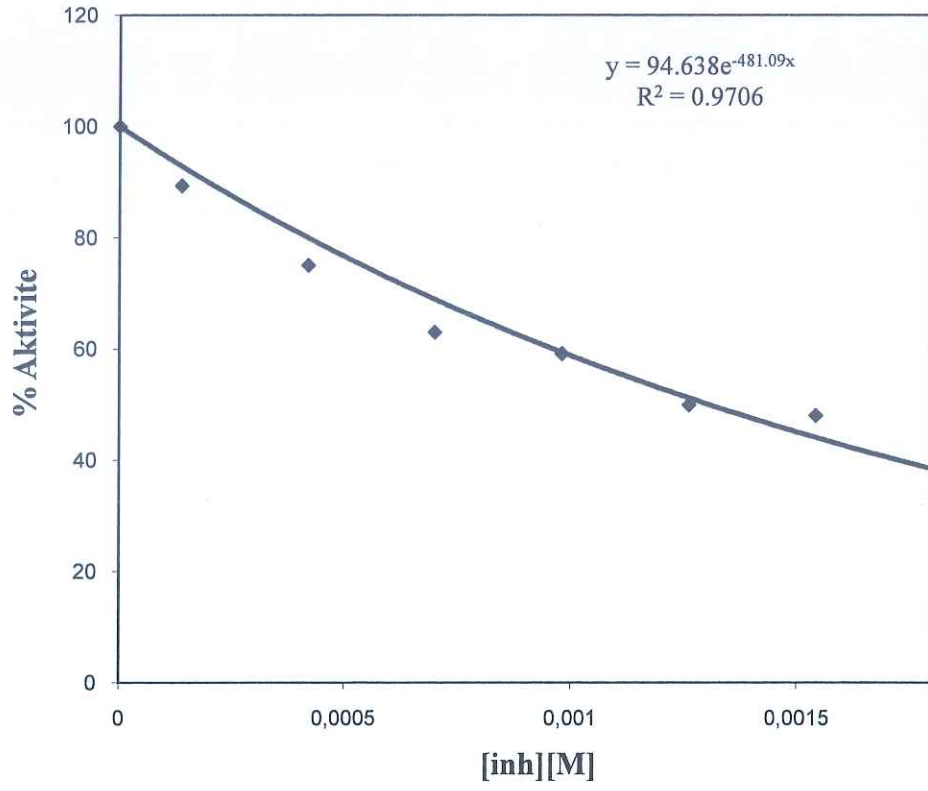
Şekil 3.22:GSH-Px aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi

Tablo 3.23:GSH-Px aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisine ait deneysel veriler([İnh]=0,042 M; [GR]=0,01 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADPH]=2 mM; [GSH]=0,1M; [t-bütül hidroperoksit]=7 mM)

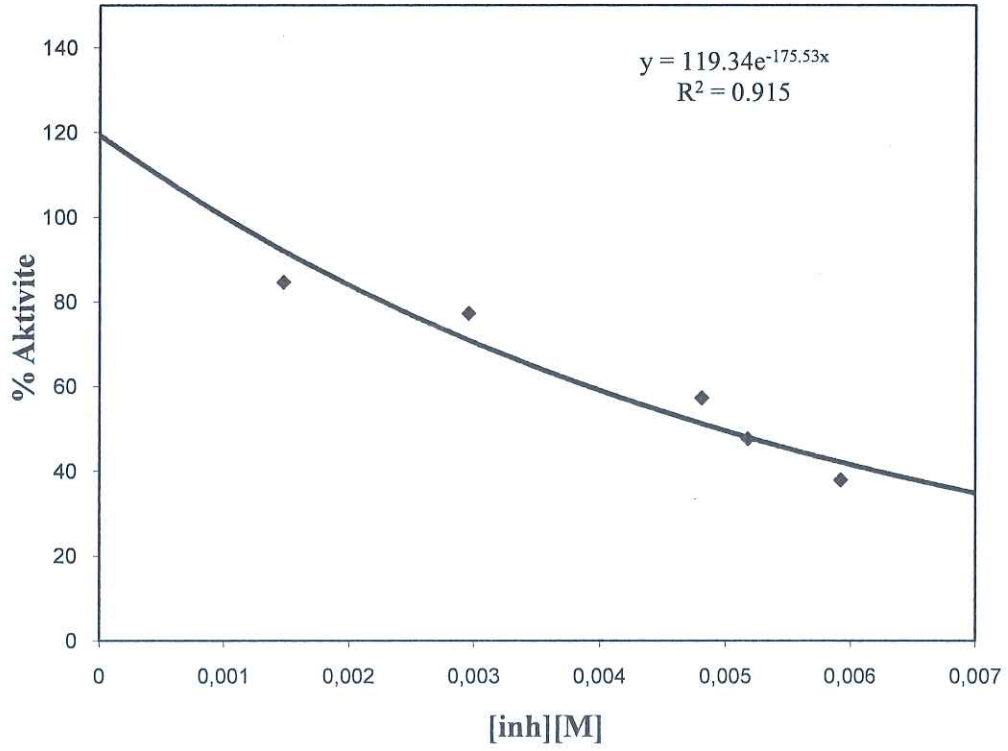
Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADPH (μL)	t-bütül (μL)	GSH (μL)	GR (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁴
1	300	300	30	300	60	1860	150	0	0,2669	100	0
2	300	300	30	300	60	1850	150	10	0,2385	89,35931	1,4
3	300	300	30	300	60	1830	150	30	0,2004	75,0843	4,2
4	300	300	30	300	60	1810	150	50	0,1683	63,05732	7,0
5	300	300	30	300	60	1790	150	70	0,158	59,1982	9,8
6	300	300	30	300	60	1770	150	90	0,1334	49,98127	12,6
7	300	300	30	300	60	1750	150	110	0,1283	48,07044	15,4

Tablo 3.24:GSH-Px aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisine ait deneysel veriler([İnh]=0,222 M; [GR]=0,01 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADPH]=2 mM; [GSH]=0,1M; [t-bütül hidroperoksit]=7 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADPH (μL)	t-bütül (μL)	GSH (μL)	GR (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻³
1	300	300	30	300	60	1860	150	0	0,2861	100	0
2	300	300	30	300	60	1840	150	20	0,2423	84,69067	1,48
3	300	300	30	300	60	1820	150	40	0,2211	77,28067	2,96
4	300	300	30	300	60	1800	150	60	0,1915	66,93464	4,44
5	300	300	30	300	60	1795	150	65	0,164	57,32261	4,81
6	300	300	30	300	60	1790	150	70	0,1365	47,71059	5,18
7	300	300	30	300	60	1780	150	80	0,1087	37,9972	5,92



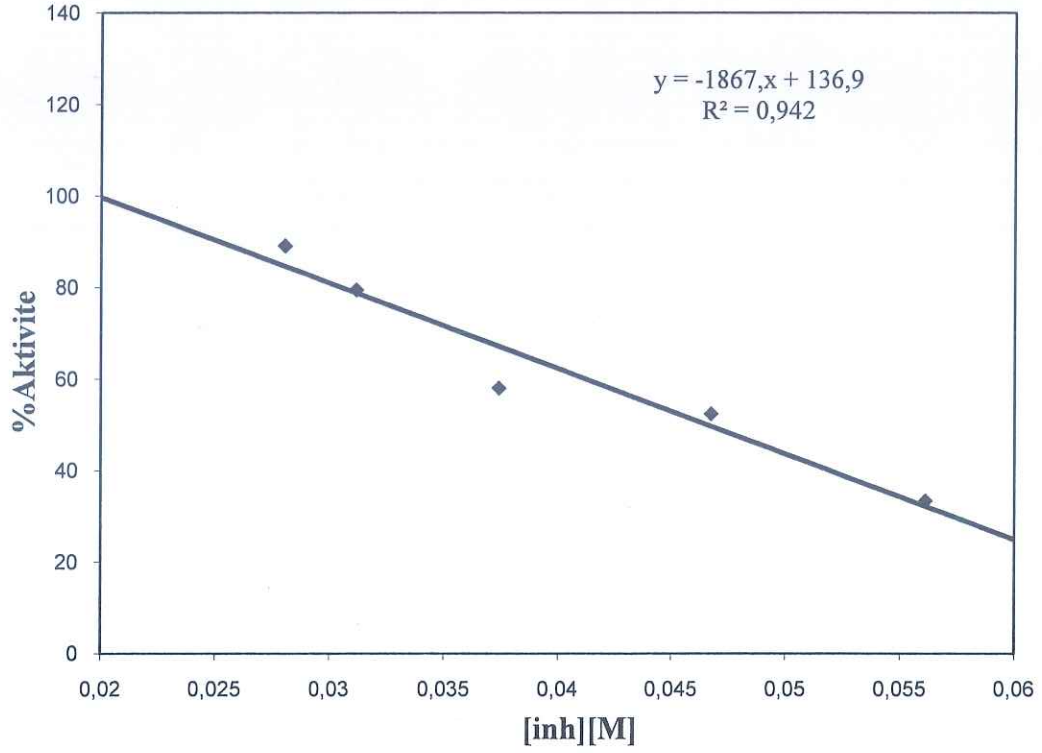
Şekil 3.23:GSH-Px aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi



Şekil 3.24:GSH-Px aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi

Tablo 3.25:GSH-Px aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisine ait deneyler veriler([İnh]=1,87 M; [GR]=0,01 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADPH]=2 mM; [GSH]=0,1M; [t-bütıl hidroperoksit]=7 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADPH (μL)	t-bütıl (μL)	GSH (μL)	GR (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁺²
1	300	300	30	300	60	1860	150	0	0,3309	100	0
2	300	300	30	300	60	1855	150	5	0,3041	91,90008	0,3
3	300	300	30	300	60	1815	150	45	0,295	89,1508	2,8
4	300	300	30	300	60	1810	150	50	0,263	79,48021	3,1
5	300	300	30	300	60	1800	150	60	0,1921	58,05379	3,7
6	300	300	30	300	60	1790	150	70	0,1735	52,43276	4,6
7	300	300	30	300	60	1770	150	90	0,1104	33,36355	5,6



Şekil 3.25:GSH-Px aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi

3.1.6 G6PD Aktivitesi Üzerine Pestisitlerin Etkileri

Deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi üzerine etkileri spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve elde edilen deneysel veriler Tablo 3.26-3.30 ve Şekil 3.26-3.30'da gösterilmiştir. Fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun enzimi inhibe ettiği, fakat deltametrin ve sipermetrinin ise aktive ettiği gözlemlenmiştir.

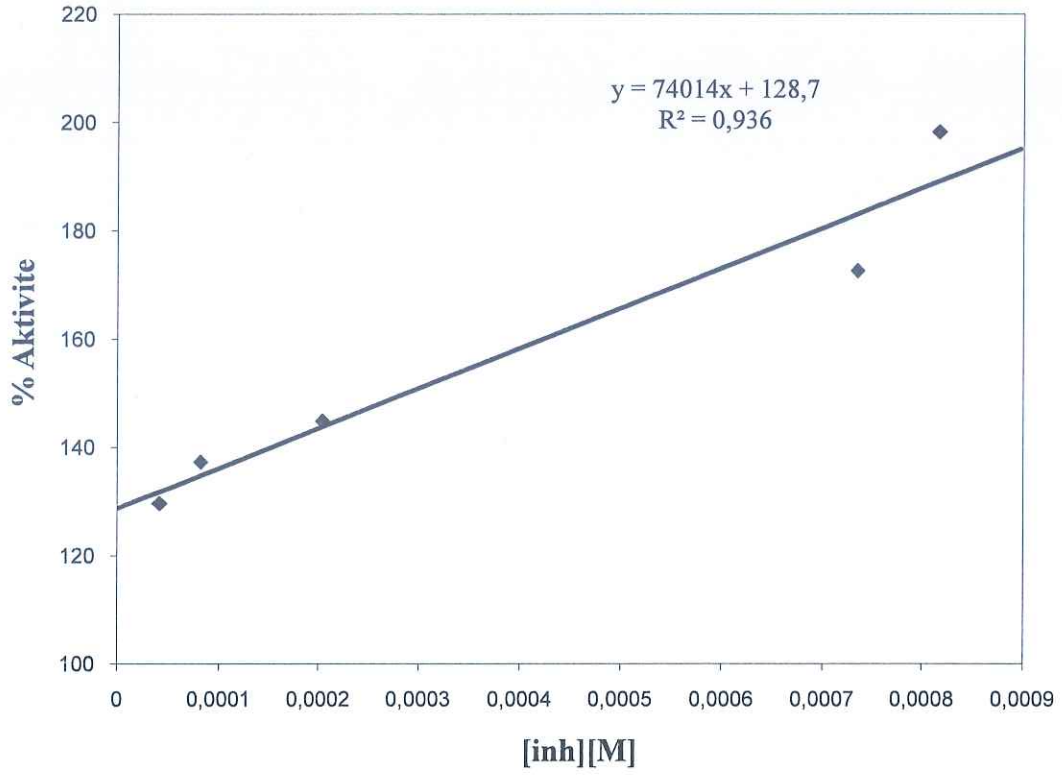
Tablo 3.26:G6PD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisine ait deneysel veriler ([İnh]=0,00245 M; [MgCl₂]=0,1 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADP]=2 mM; [G6P]=6 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADP (μL)	MgCl ₂ (μL)	G6P (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁵
1	300	300	300	300	1800	0	0	0,139	100	0
2	300	300	300	300	1600	150	50	0,1803	129,7122	4,0
3	300	300	300	300	1550	150	100	0,1909	137,3381	8,1
4	300	300	300	300	1400	150	250	0,2014	144,8921	20,4
5	300	300	300	300	750	150	900	0,24	172,6619	73,5
6	300	300	300	300	650	150	1000	0,2756	198,2734	81,6

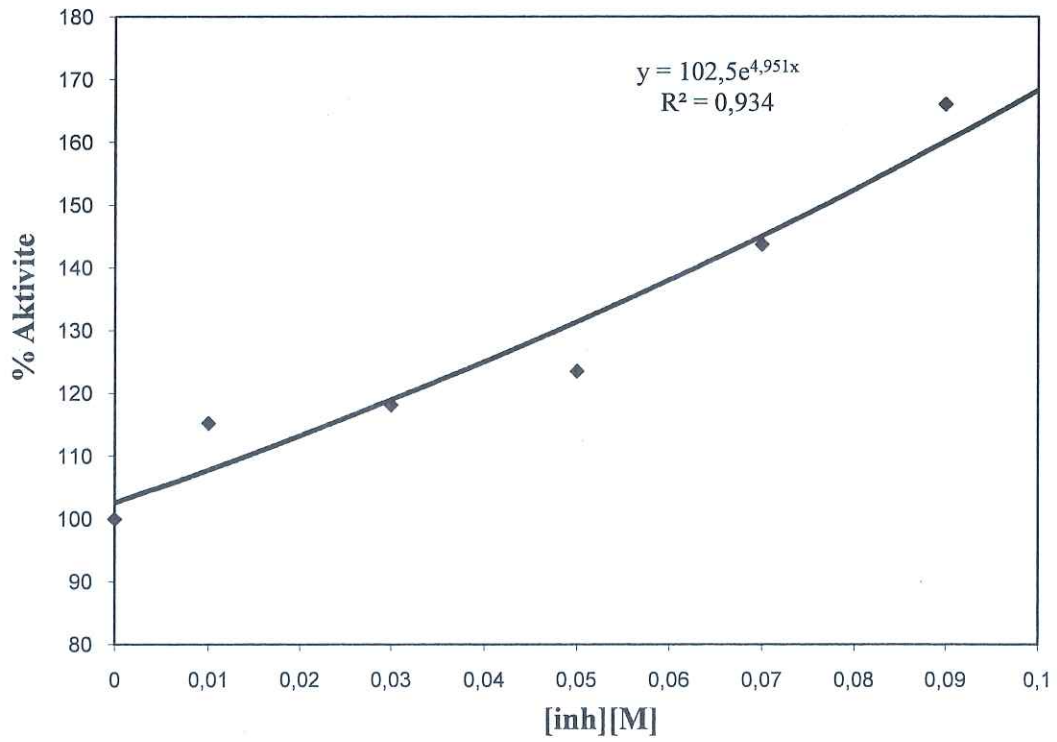
59

Tablo 3.27:G6PD aktivitesi üzerine sipermetrin etkisine ait deneysel veriler([İnh]=0,6005 M; [MgCl₂]=0,1 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADP]=2 mM; [G6P]=6 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADP (μL)	MgCl ₂ (μL)	G6P (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻³
1	300	300	300	300	1800	0	0	0,2436	100	0
2	300	300	300	300	1600	150	50	0,2808	115,2709	10
3	300	300	300	300	1500	150	150	0,2879	118,1856	30
4	300	300	300	300	1400	150	250	0,301	123,5632	50
5	300	300	300	300	1300	150	350	0,3502	143,7603	70
6	300	300	300	300	1200	150	450	0,4046	166,092	90



Şekil 3.26:G6PD aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi



Şekil 3.27:G6PD aktivitesi üzerine sipermetrinin etkisi

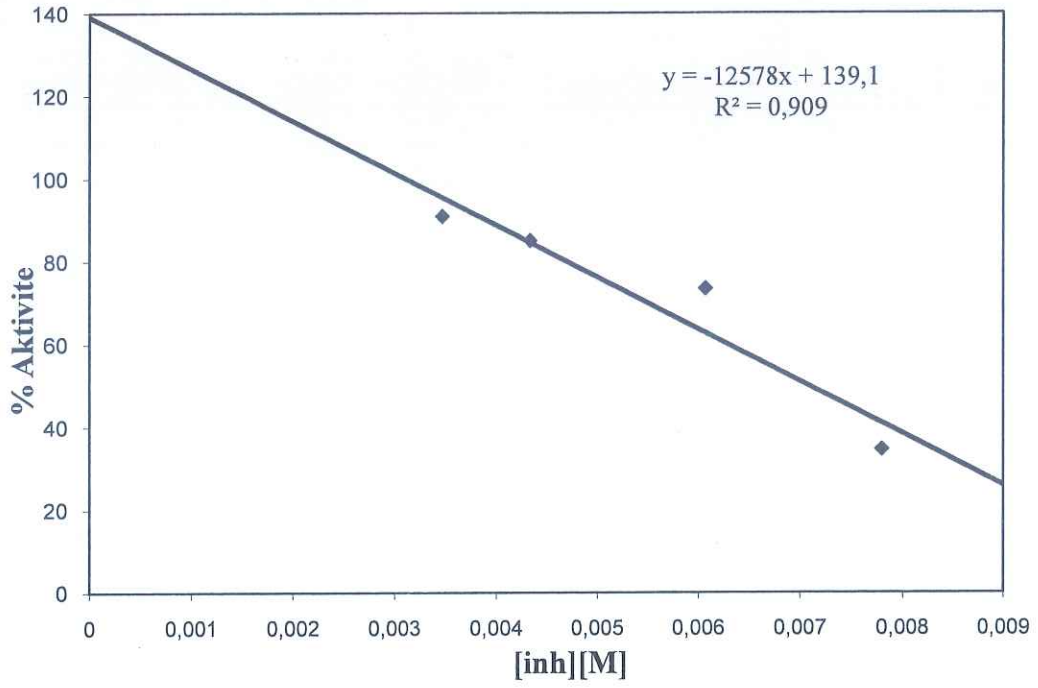
Tablo 3.28:G6PD aktivitesi üzerine fenpropatrin etkisine ait deneyset veriler([İnh]=0,026 M; [MgCl₂]=0,1 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADP]=2 mM; [G6P]=6 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADP (μL)	MgCl ₂ (μL)	G6P (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻³
1	300	300	300	300	1800	0	0	0,2089	100	0
2	300	300	300	300	1550	150	100	0,1913	91,57492	0,8
3	300	300	300	300	1250	150	400	0,1901	91,00048	3,4
4	300	300	300	300	1150	150	500	0,1777	85,06462	4,3
5	300	300	300	300	950	150	700	0,1535	73,48013	6,0
6	300	300	300	300	750	150	900	0,0723	34,60986	7,8

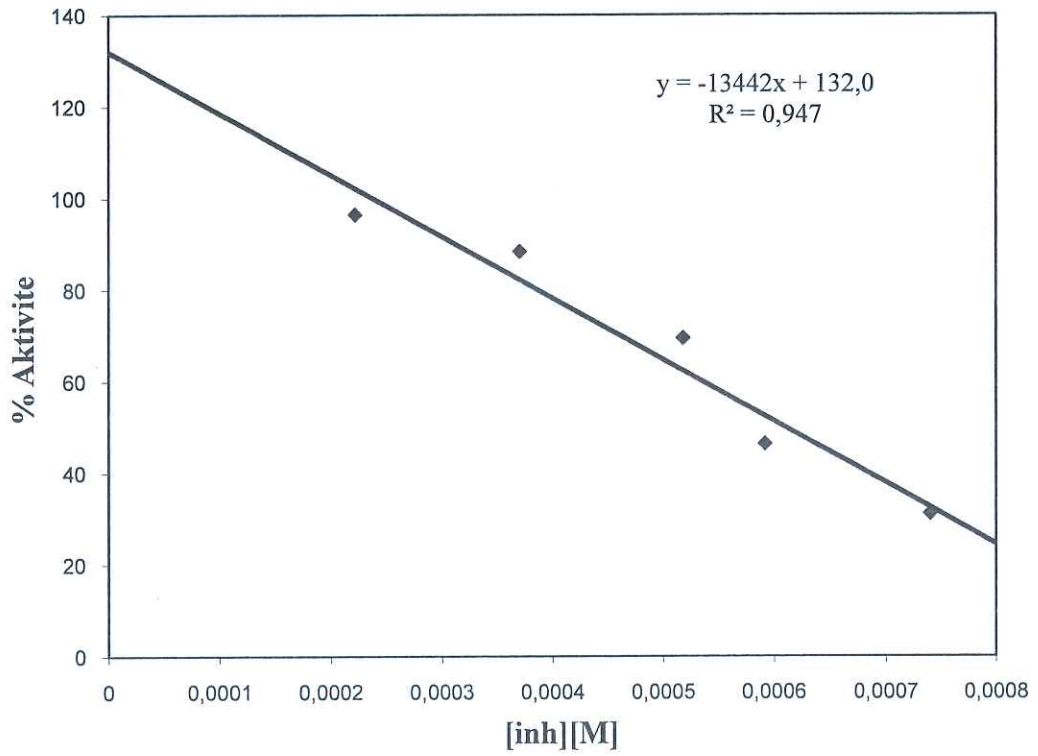
61

Tablo 3.29:G6PD aktivitesi üzerine lamda kloatrin etkisine ait deneyset veriler([İnh]=0,222 M; [MgCl₂]=0,1 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADP]=2 mM; [G6P]=6 mM)

Deney no	Tris-EDTA (μL)	NADP (μL)	MgCl ₂ (μL)	G6P (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	İnhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[İnh]x10 ⁻⁴
1	300	300	300	300	1800	0	0	0,3265	100	0
2	300	300	300	300	1620	150	30	0,3151	96,50842	2,2
3	300	300	300	300	1600	150	50	0,2888	88,45329	3,7
4	300	300	300	300	1580	150	70	0,2269	69,49464	5,2
5	300	300	300	300	1570	150	80	0,1516	46,43185	5,9
6	300	300	300	300	1550	150	100	0,1015	31,08729	7,4



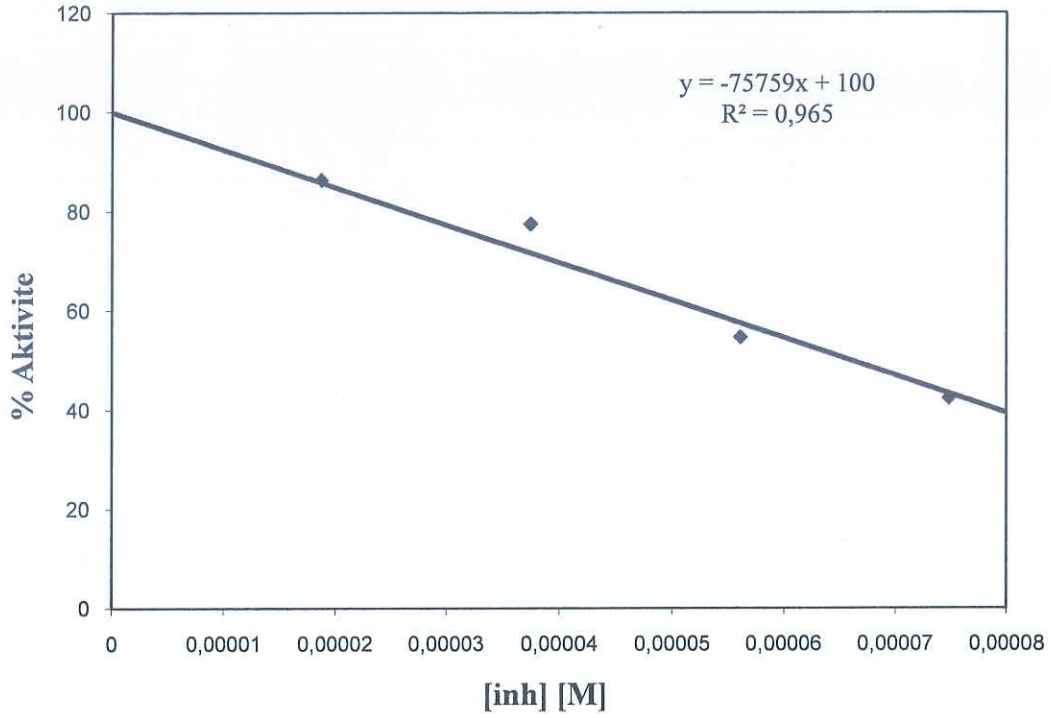
Şekil 3.28:G6PD aktivitesi üzerine fenpropatrinin etkisi



Şekil 3.29:G6PD aktivitesi üzerine lamda kloatrinin etkisi

Tablo 3.30:G6PD aktivitesi üzerine amin tuzu etkisine ait deneyssel veriler([Inh]=1,87 M; [MgCl_2]=0,1 M; [Tris-EDTA]=1 M; [NADP]=2 mM; [G6P]=6 mM)

Dency no	Tris-EDTA (μL)	NADP (μL)	MgCl ₂ (μL)	G6P (μL)	Su (μL)	Hemolizat (μL)	Inhibitör (μL)	Absorbans	% Aktivite	[inh] $\times 10^{-3}$
1	300	300	300	300	1800	0	0	0,2603	100	0
2	300	300	300	300	1645	150	5	0,243	93,35382	0,9
3	300	300	300	300	1640	150	10	0,2248	86,36189	1,87
4	300	300	300	300	1630	150	20	0,2017	77,48751	3,74
5	300	300	300	300	1425	150	25	0,1507	57,89474	4,67
6	300	300	300	300	1620	150	30	0,1423	54,66769	5,61
7	300	300	300	300	1610	150	40	0,1104	42,4126	7,48



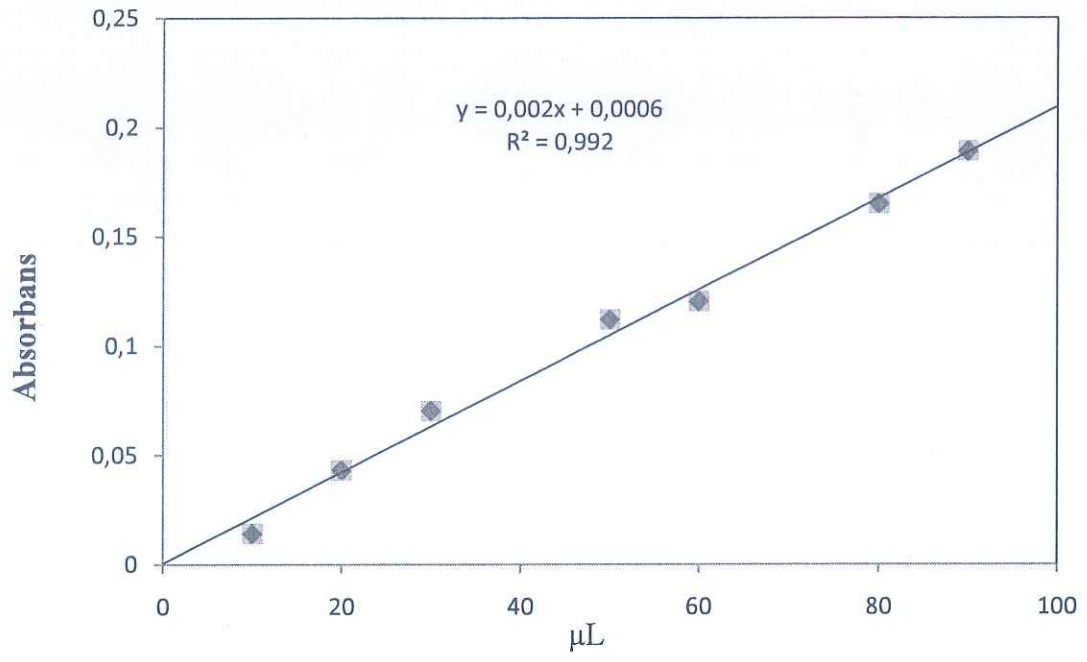
Şekil 3.30:G6PD aktivitesi üzerine amin tuzunun etkisi

3.2 Protein Tayini Hesaplanması

Şekil 3.31’de eğri kullanılarak örneklerin 595 nm’de dansiteleri okunmuştur. Protein tayinleri hem tam kanda hem de serumda bakılmıştır. Örneklerin her birinden 30 µL alınarak dalga boyları ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar standart eğriye karşı hesaplanmıştır. Sonuçlar aşağıdaki Tablo 3.31’de gösterilmiştir.

Tablo 3.31: Protein tayini sonuçları

Örnek	Sonuç (µg /mL)
Tam Kan	50
Serum	12



Şekil 3.31: Protein tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi

4. SONUÇ TARTIŞMA

Bu çalışmada, tarımda kullanılan bazı pestisitlerin *in vitro* şartlarda *Cyprinus carpio carpio* eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır.

Deltametrin oral ve dermal yolla kolaylıkla absorbe olabilen ve aynı zamanda bağırsaklarda kolaylıkla emilebilen bir insektisittir [14].Canlılara kolayca enjekte olmasının yanısıra balıklarda oksidatif stresi indükleyici potansiyel bir ajan olduğu bilinen deltametrinin süperoksit dismutaz,katalaz, glutatyon-s-transferaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzimleri üzerine etkileri belirlenmiştir [83]. Elde edilen sonuçlara göre deltamethrin SOD, CAT, GST, GR ve GSH-Px enzim aktivitelerinde inhibisyon etkisi göstermiştir. Tablo 3.1-3.6-3.11-3.16-3.21 ve Şekil 3.1-3.6-3.11-3.16-3.21’de görüldüğü gibi deltametrin konsantrasyonunun artışına paralel olarak antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığı göze çarpmaktadır. Ancak, Tablo 3.26 ve Şekil 3.26’da görüldüğü gibideltamethrin, G6PD aktivitesinde artışa neden olmuştur. Kontrol aktivitesi ile kıyaslandığında deltametrin, G6PD aktivitesini 4, 8,1, 20,4, 73,5 ve 81,6M ([inh]x10⁺⁵) konsantrasyonları için sırasıyla %129, %137, %144, %172 ve %198 oranında arttırmıştır. 1997 yılında Lodovici ve arkadaşları, klorprifos ve deltamethrini de içeren 15 pestisitkarışımının ratlarda oksidatif hasar, karaciğer DNA’sında8-OH-2DG düzeylerini ve benzo (a) pirenhidroksilaz, N-demetilaz, GSH-Px, GR, GST ve tiol transferaz üzerine etkisini araştırmışlardır. 0,75, 1, 2,5, 5, 10 mg/kg’lık dozlarda, karaciğerde benzo(a) pirenhidroksilaz, N-demetilaz, GST, GR, GSH-Px,ve tiol transferaz aktivitelerinde dozabağımlı olarak azalma olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmanın sonucunda pestisit karışımlarının düşük dozlarının oksidatif DNA hasarını oluşturduğunu, daha yüksek dozların ise oksidatif hasarın ileri ekspresyonu inhibe ettiğini ve hücrel metabolizma depresyonu oluşturduğunu belirtmişlerdir[84]. 2003 yılında Sayeed ve arkadaşları, yeşil yılanbaş (*Channa punctatus*) balıkları ile yaptıkları çalışmalarında 48 saat boyunca 0,75 µg/L konsantrasyonlu deltametrin uygulamasının ardından karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Deltametrinin her iki dokuda da CAT aktivitesini artırdığını, LPO’nu indüklediğini bildirmişlerdir [85].

Rehman ve arkadaşları 2006 yılında fareler üzerinde yaptıkları çalışmada deltametrin etkisiyle fare karaciğer, böbrek dokularında CAT, GST ve GSH-Px aktivitesi ve GSH seviyesinde önemli bir düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan glutatyon (GSH); memeli hücrelerinde multipl metabolik fonksiyonları olan bir tripeptittir [32]. İntrasellüler GSH, selenyum içeren glutatyon peroksidaz tarafından GSSH'a dönüştürülür. GSH-Px, glutatyon ile H_2O_2 veya lipid peroksidlerin indirgenmesinde, GR ise glutatyonla oluşan disülfid bağının tekrar sülfidril yapısına indirgenmesinde görev yapmaktadır [32,86]. Literatürdeki bulgulara dayanarak GSH seviyesindeki düşme miktarı ile GSH bağımlı enzimler olan GST, GR ve GSH-Px aktivitelerinde de azalmaya sebep olabileceği düşünülebilir. Yine aynı şekilde Rehmanların yaptığı çalışmada 5,6 ve 18mg/kg deltametrin konsantrasyonunun her ikisinde de LPO'yu anlamlı bir şekilde arttırdığı bildirilmiştir [83]. Yarsan ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada deltametrin etkisiyle plazmada LPO'nun indüklendiğini, eritrosit GSH-Px ve Cu-Zn-SOD'un aktivitelerinde azalma olduğunu rapor etmişlerdir [87]. Gökkuşluğu alabalıkları üzerinde yapılan bir çalışmada balık eritrositlerinden saflaştırılan G6PD enzim aktivitesi üzerine deltametrinin etkisi araştırılmıştır. Araştırmanın sonucunda deltametrinin G6PD aktivitesinde inhibisyona sebep olduğu bildirilmiştir. Deltametrinin G6PD için I_{50} değeri 0,63 mM olarak tespit edilmiştir. Buna karşın literatürde insan eritrosit G6PD aktivitesini deltamethrin 0,152 mM konsantrasyon ile %56'ya düşürdüğü, gökkuşluğu alabalığının G6PD enziminin aktivitesi ise deltamethrin 0,63mM'la %50'ye indirdiği rapor edilmiştir [88]. Bu çalışmanın sonuçları bizim sonuçlarımızdan biraz farklılık göstermektedir.

Sipermetrin, siyofenoksibenzil piretroit türü bir insektisittir ve balıklar için yüksek toksisite gösterdiğinden dolayı EPA tarafından kullanımı sınırlı insektisit grupları arasında yer almaktadır [89]. Çalışmamızda sipermetrinin *Cyprinus carpio* eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisi incelenmiştir. Tablo 3.2-3.7-3.12-3.17-3.22 ve Şekil 3.2-3.7-3.12-3.17-3.22'de SOD, CAT, GST, GR, GSH-Px ve G6PD üzerine sipermetrinin etkisi görülmektedir. Sipermetrinin SOD, CAT, GST, GR, GSH-Px aktivitelerinde inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Ancak Tablo 3.27 ve Şekil 3.27'den de görüldüğü gibi sipermetrin G6PD üzerine aktivatör olarak rol almaktadır. Kontrol aktivitesi ile kıyaslandığında sipermetrin G6PD aktivitesini 10, 30, 50, 70 ve 90 M ($[inh] \times 10^{+3}$) konsantrasyonları için sırasıyla %

115, % 118, % 123, % 143 ve % 166 oranında arttırmıştır. Tablo ve Şekiller incelendiğinde sipermetrinin her bir antioksidan enzim üzerine inhibisyon etkisinin farklı olduğu görülmektedir. Uner ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları çalışmada *C. carpio* ve *Oreochromis niloticus*'un böbrek dokularından elde ettikleri SOD ve GSH-Px üzerine sipermethrinin etkisini araştırmışlardır. Çalışmada sipermetrin etkisine bağlı olarak SOD ve GSH-Px aktivitelerinde önemli derecede artış olduğu bildirilmiştir [90]. Ancak bizim çalışmamızda ise sipermetrin SOD ve GSH-Px aktivitelerinde inhibitör olarak rol oynamış, fakat G6PD aktivitesinde aktivatör özelliği göstermiştir. Gowland ve arkadaşları Som balığı kültürlerinde sentetik bir piretroit insektisit olan sipermetrinin *Carcinus maenas*'dan elde edilen GST aktivitesi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Sipermetrin etkisi ile GST aktivitesinde artış olduğu ve GST indüksiyonunun sipermetrin kontaminasyonu için olası bir biyomarkör olduğu bildirilmiştir [91]. Önceki yıllarda yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre sipermetrin etkisiyle *Bombina variegata* ve *Rana arvalis* iribaşlarında sitozolik ve mikrozomal GST aktivitesinin süreye ve derişime bağlı olarak arttığı belirlenmiştir [26,92]. Kale ve arkadaşlarının ratlara oral olarak uygulanan sentetik piretroit insektisitlerden olan sipermetrin ve fenvaleratenin etkileri araştırılmıştır. Uygulanan insektisitlerin etkisi ile rat eritrositlerde lipid peroksidasyonu, SOD, CAT aktivitesi ile GSH miktarının arttığı belirlenmiştir. Sipermetrin ve fenvaleratenin oksidatif strese neden olarak antioksidan sistemi etkilediği bildirilmiştir [26,93].

Araştırmamızda fenpropatrinin antioksidan enzim aktivitelerine üzerine etkilerine ait deneysel veriler Tablo 3.3-3.8-3.13-3.18-3.23-3.28 ve Şekil 3.3-3.8-3.13-3.18-3.23-3.28'de görülmektedir. Tablo ve Şekillerden görüldüğü gibi fenpropatrinin SOD, CAT, GST, GR, GSH-Px ve G6PD üzerine inhibitör olarak etki gösterdiği tespit edilmiştir. SOD, CAT, GST, GR, GSH-Px ve G6PD'a ait I_{50} değerleri Tablo 4.1-4.6'da verilmiştir. I_{50} değerlerinden görüldüğü gibi fenpropatrin tüm antioksidan enzimler için güçlü bir inhibitör olarak bulunmuştur. Yapılan literatür araştırmasında piretroit sınıfından bir insektisit olan fenpropatrine ait bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak fenpropatrinin organofosfat grubuna ait sentetik bir piretroit olduğu bilinmektedir. Organofosfat insektisitleri antioksidan sistemde değişimlere ve ROT üretimine neden olan oksidatif stresi indükleyebilen bileşiklerdir. Patel ve Bhatt 2013 yılında civciv embriyoları üzerinde yaptıkları çalışmada organofosfat grubu insektisitlerinden olan chlorpyrifosun embriyo

kalp,beyin ve karaciğer SOD, CAT ve GSH-Px üzerine etkisini incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda embriyo karaciğer ağırlığında azalmanın yanı sıra kontrol grubuna göre CAT ve GSH-Px aktivitesinin arttığını rapor etmişlerdir. SOD aktivitesinin ise beyin ve karaciğer dokularında azaldığını tespit etmişlerdir [94]. 1999 yılında Bagchi ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, organofosfatların *in vivo* ve *in vitro* şartlarda; SOD ve GSH-Px aktivitelerinde azalmaya ancak MDA seviyesinde artışa yol açtığını ve hepatositlerde oksidatif hasar oluşturduğunu bildirmişlerdir[84]. 2008 yılında yapılan bir başka çalışmada Yu ve arkadaşları, organofosfat grubunda yer alan chlorpyrifosun gavaj(burundan mideye) yoluyla farelere uygulandığı zaman fare retinasında apoptozis, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı artışı SOD, CAT, GSH-Px aktivitelerinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir [26,95]. Altuntaş ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bir organofosfat insektisit olan fosalonun *in vitro* şartlarda lipid peroksidasyonu (LPO) ve eritrosit SOD, CAT ve GSH-Px aktiviteleri üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Fosalonun doz artışıyla malondialdehid (MDA) düzeyinde artış, SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde ise azalma olduğunu belirlemişlerdir [31,96]. Pena-Llopis ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada organofosfat grubunda olan dichlorvos etkisiyle *A. anguilla*'nın karaciğer dokusunda kaspaz-3 ve GST enzim aktivitelerinin 96 saatlik etki süresi sonunda azaldığı tespit edilmiştir [26,97]. Literatürde sözü edilen çalışmaların bulguları ile çalışmamızda elde edilen fenpropatrinin antioksidan enzimler üzerine gösterdiği etki son derece benzerlik göstermektedir.

Yapılan literatür araştırmasında, lamda kloatrinin balıklarda ve memelilerde lipid peroksidasyonunu ve antioksidan sistemi etkileyerek oksidatif strese neden olduğu belirtilmektedir [26,83,98,99,100]. Çalışmamızın bu bölümünde kullandığımız lamda-kloatrin antioksidan enzimler olan SOD, CAT, GST, GR, GSH-Px ve G6PD aktivitesi üzerine inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Lamda kloatrinin antioksidan enzimler üzerine olan etkisi Tablo 3.4-3.9-3.14-3.19-3.24-3.29 ve Şekil 3.4-3.9-3.14-3.19-3.24-3.29'da gösterilmiştir. Tablolar ve Şekiller incelendiğinde lamda-kloatrinin her bir enzim için farklı oranlarda inhibisyon etkisine sahip olduğu görülmektedir. El-Demerdash ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada lamda kloatrinin beş farklı derişiminin tavşan eritrositlerinde LPO ve SOD, CAT GST üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Lamda kloatrin etkisiyle LPO'nun arttığını, sülfidril gruplarının ve SOD, CAT, GST enzim

aktivitelerinin önemli düzeyde azaldığını, antioksidan sistemin etkilenecek oksidatif stresin meydana geldiğini rapor etmişlerdir [99]. Fetoui ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları araştırmada sıçanlara oral yolla uygulanan lambda kloatrin etkisinde beyinde GSH miktarının ve SOD, GST, GR, GSH-Px aktivitelerinin azaldığını, LPO seviyesinin ve CAT enzim aktivitesinin arttığını tespit etmişlerdir. Ayrıca eritrositlerde GSH seviyesi ve SOD, GST, GR, GSH-Px aktivitelerinin azaldığını, LPO'nun arttığı rapor etmişlerdir [100]. Ayrıca yapılan çalışmalarda *O. niloticus*'un karaciğer dokusunda lambda kloatrinin oksidatif strese neden olduğu lipid peroksidasyonundaki artışla gösterilmiştir [26]. Yapılan literatür çalışmasından da açıkça görülmektedir ki lambda-kloatrinin özellikle eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri üzerine olan etkisi ile bizim çalışmamızın bulguları benzerlik taşımaktadır.

Yabancı otlara karşı tarım bölgelerinde kullanılan bir herbisit olan 2,4-D'nin amin tuzu ve ester şeklinde formülasyonları bulunmaktadır [101]. Ester formülasyonları, sucul omurgasızlara ve balıklara toksiktir, fakat tuz formülasyonları sucul zararlı otlarına karşı kullanılmaktadır [102]. Bu çalışmada, amin tuzunun antioksidan enzimler üzerine farklı konsantrasyonlardaki etkisi araştırılmıştır. Tablo 3.10-3.15-3.20-3.25-3.30 ve Şekil 3.10-3.15-3.20-3.25-3.30'da görüldüğü gibi CAT, GST, GR, GSH-Px ve G6PD aktivitelerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Ancak, Tablo 3.5 ve Şekil 3.5 incelendiğinde amin tuzunun SOD üzerine aktivatör olarak etki gösterdiği belirlenmiştir ve kontrol aktivitesi ile kıyaslandığında amin tuzu SOD aktivitesini 12,4, 18,7, 21,8, 31,1, 37,4 ve 43,6 M ($[inh] \times 10^{+3}$) konsantrasyonları için sırasıyla % 152, % 162, % 190, % 217, % 297 ve % 332 oranında arttırmıştır. 1998 yılında Oruç, *Tilapia nilotica* balık türünü 24, 48, 72, 96 saat süreyle 27 ppm 2,4-diamin ve 0,03 ppm azinfosmetil kimyasallarına maruz bırakmış ve antioksidan enzim aktivite değişimlerini incelemiştir. Çalışma sonunda 2,4-diamin etkisi ile SOD, CAT ve GST aktivitelerinde önemli bir değişme meydana gelmediğini, buna karşılık G6PD ve GR enzim aktivitelerinde sadece 24. saatte, GSH-Px aktivitesinde ise 96. saatte artış oluşturduğunu belirlemiştir. Azinfosmetil uygulanan grupta ise CAT ve GST aktivitelerinde kontrol grubuna nazaran önemli değişiklikler olmazken, G6PD ve SOD aktivitelerinde 96. saatte, GR aktivitesinde ise 24., 72. ve 96. saatte önemli artışlar olduğunu tespit etmiştir [76,103]. Oruç ve arkadaşları 2000 yılında, *O. Niloticus* ile yaptıkları çalışmada, 27 ppm 2,4-D+ 0,003

ppm azinphos metilinin LPO, hepatik G6PD ve GR üzerine etkisini araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan kimyasalları 24, 48, 72 ve 96 saatlik peryotlarla uygulayarak G6PD ve GR aktivitelerinin kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğunu, MDA seviyesinin ise değişmediğini bildirmişlerdir [104]. Yine Oruç ve arkadaşları 2004 yılında tatlısu çipurasında (*Oreochromis niloticus*) ve sazanlarla (*Cyprinus carpio*) yaptıkları çalışmada her iki balık türüne 96 saat boyunca 2,4-D ve azinphosmethyl uygulayarak farklı dokulardaki enzim aktivitelerini araştırmışlardır. Sazanların solungaçlarında SOD aktivitesinin, böbrek dokularında ise CAT ve GSH-Px aktivitelerinin artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Tatlısu çipurasında ise beyin dokularında CAT aktivitesinin değişmediğini fakat GSH-Px aktivitesinde artış olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca GST aktivitesinin çipura ve sazan balıklarının her ikisinde detüm dokularda arttığını, molondialdehit(MDA) seviyelerinde değişim olmadığını tespit etmişlerdir [105]. Oruç ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptıkları çalışmada SOD aktivitesinde görülen artış ile bizim çalışmamızda *Cyprinus carpio* eritrosit SOD aktivitesinin artışı oldukça benzerlik göstermektedir. Bukowska ve arkadaşları insan eritrositlerine, 2,4-diklorofenoksi asetik asit (2,4-D) ve 2,4-diklorofenolün (2,4-DCP) farklı konsantrasyonlarının etkisini *in vitro* koşullarda incelemişlerdir. SOD ile GSH-Px aktivitesini ve indirgenmiş glutatyonun (GSH) düzeyini belirlemişlerdir. Kullanılan 2,4-D ve 2,4-DCP derişiminin artması ile eritrosit SOD aktivitesinde azalma olduğu, buna karşın GSH-Px aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir. 500 ppm 2,4-D'nin eritrositlerdeki GSH seviyesini % 18 azalttığını ve 250 ppm 2,4-DCP'nin ise GSH seviyesini % 32 azalttığını belirtmişlerdir [31,106].

4.1 I₅₀ Değerleri

I₅₀, bir enzimin aktivitesini yarıya düşürmek veya % 50 azaltmak için ortama ilave edilmesi gereken inhibitör konsantrasyonu olarak tanımlanır. Bu değer enzimin türüne ve inhibitörlere bağlı olarak farklılıklar gösterir [43]. Bir inhibitörün inhibe etme gücü değerlendirilirken I₅₀ değerinden yararlanılmaktadır çünkü bilindiği gibi I₅₀ değeri küçük olan inhibitörün inhibisyon etkisi daha yüksektir [107]. Bu çalışmada kullanılan enzimler üzerine bazı pestisitlerin etkisi için hesaplanmış I₅₀ değerleri aşağıda tablolarda gösterilmektedir.

4.1.1 SOD İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I_{50} Değerleri

Çalışmada kullandığımız pestisitlerden deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun SOD aktivitesi inhibisyonu için hesaplanmış I_{50} değerleri Tablo 4.1’ de gösterilmektedir. Çalışmamızda en etkili inhibitör özellik gösteren pestisit deltametrin ve ardından fenpropatrin olduğutespit edilmiştir. Tablo 4.1’de gösterilen I_{50} değerleri incelendiğinde her bir maddenin farklı inhibisyon gücüne sahip olduğu açıkça görülmektedir.

Tablo 4.1:SOD inhibisyonuna ait I_{50} değerleri

İnhibitörler	I_{50} (M)	Kaynak
Deltametrin	1.1×10^{-6}	Çalışmada
Sipermetrin	5.5×10^{-4}	Çalışmada
Fenpropatrin	4.1×10^{-6}	Çalışmada
Lamda Kloatrin	3.5×10^{-5}	Çalışmada

4.1.2 CAT İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I_{50} Değerleri

Deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzu pestisitleri CAT üzerine inhibisyon etkisi göstermektedir. Bu pestisitlerin hesaplanmış inhibisyon değerleri Tablo 4.2’de verilmektedir. Tablodan görüldüğü gibi incelenen pestisitler arasında en yüksek inhibisyon gücüne sahip pestisit deltametrin olduğu sonucuna varılmaktadır.

Tablo 4.2:CAT inhibisyonuna ait I₅₀ değerleri

İnhibitörler	I₅₀ (M)	Kaynak
Deltametrin	2.4x10 ⁻⁶	Çalışmada
Sipermetrin	3.9x10 ⁻⁶	Çalışmada
Fenpropatrin	8.1x10 ⁻⁶	Çalışmada
Lamda kloatrin	6x10 ⁻⁶	Çalışmada
Amin tuzu	4x10 ⁻⁵	Çalışmada

4.1.3 GST İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I₅₀ Değerleri

GST aktivitesi üzerine deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzunun inhibisyonu için hesaplanmış I₅₀ değerleri Tablo 4.3’de verilmektedir. Tabloda belirtildiği gibi bu çalışmadaki pestisitler içerisinde GST aktivitesi üzerine en güçlü inhibitörün deltametrin olduğu açıkça görölmektedir. Literatür taraması sonucu GST aktivitesi üzerinde inhibitör etkisi gösteren maddeler için hesaplanmış bazı I₅₀ değerleri de Tablo 4.3’ de verilmektedir. Bu değerler içerisinde de güçlü inhibitörün deltametrin olduğu ve ardından sipermetrinin geldiği görölmektedir.

Tablo 4.3:GST inhibisyonuna ait I₅₀ değerleri

İnhibitörler	I₅₀ (M)	Kaynak
Deltametrin	2.2x10 ⁻⁶	Çalışmada
Sipermetrin	9.9x10 ⁻⁵	Çalışmada
Fenpropatrin	2.7x10 ⁻⁵	Çalışmada
Lamda kloatrin	3x10 ⁻⁵	Çalışmada
Amin tuzu	1.9x10 ⁻⁴	Çalışmada

4.1.4 GR İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I₅₀ Değerleri

Tablo 4.4'de GR aktivitesi üzerinde inhibisyon etkisi gösteren deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzu pestisitlerine ait I₅₀ değerleri gösterilmektedir. Tablo incelediğinde farklı maddelerin GR aktivitesi üzerindeki inhibisyon güçlerinin farklı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda kullanılan pestisitlerin inhibisyon güçleri kıyaslandığında, GR aktivitesi üzerine en yüksek inhibitör özelliği gösteren pestisit deltametrin olduğu bulunmuştur.

Tablo 4.4:GR inhibisyonuna ait I₅₀ değerleri

İnhibitörler	I ₅₀ (M)	Kaynak
Deltametrin	1.7x10 ⁻⁵	Çalışmada
Sipermetrin	8.7x10 ⁻⁴	Çalışmada
Fenpropatrin	1x10 ⁻³	Çalışmada
Lamda kloatrin	8.3x10 ⁻⁵	Çalışmada
Amin tuzu	4.6x10 ⁻⁴	Çalışmada

4.1.5 GSH-Px İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I₅₀ Değerleri

Tablo 4.5'de görüldüğü gibi çalışmamızda kullanılan pestisitlerin yanı sıra literatürde GSH-Px aktivitesi üzerine organik ve inorganik bileşiklerin etkisi için I₅₀ tespit edilmiş sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatür taramaları sonucunda elde edilen I₅₀ değeriyle çalışmamızda tespit edilen I₅₀ değerleri karşılaştırıldığında GSH-Px aktivitesi için en etkili inhibitörün deltametrin olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.5:GSH-Px inhibisyonuna ait I₅₀ değerleri

İnhibitörler	I₅₀ (M)	Kaynak
Deltametrin	1.2x10 ⁻⁵	Çalışmada
Sipermetrin	2.05x10 ⁻⁵	Çalışmada
Fenpropatrin	1.3x10 ⁻³	Çalışmada
Lamda kloatrin	3.1x10 ⁻⁴	Çalışmada
Amintuzu	4.7x10 ⁻⁴	Çalışmada

4.1.6 G6PD İnhibisyonu İçin Hesaplanmış I₅₀ Değerleri

İnhibisyon çalışmalarında inhibitörün inhibe edici gücünün yüksek olabilmesi için çok düşük konsantrasyonlarda enzim aktivitesi üzerinde önemli değişimler meydana getirmesi gereklidir. Tablo 4.6’da ifade edilen I₅₀ değerlerine bakıldığında çalışmada kullanılan pestisitler arasında en düşük I₅₀ değeri lamda kloatrine ait olduğu tespit edilmiştir. Lamda kloatrinin, G6PD aktivitesini en fazla inhibe ettiğini, bunu takiben amin tuzu ve fenpropatrin olduğu görülmektedir. Deltametrin ve sipermetrin ise diğer pestisitlerin aksine aktivite olarak etki göstermektedir. Literatürde G6PD üzerine bazı pestisitlerin etkisi incelenmiş ve bu pestisitlerin G6PD aktivitesini inhibe ettiği rapor edilmiştir. Literatüre ait veriler ve çalışmamızda kullanılan pestisitlerde dahil olmak üzere (RS)-5-etil-2-(4-izopropil-4-metil-5-okso-2-(N-(imidazolin-2-yl) nikotinik asit) G6PD aktivitesini en fazla inhibe eden madde olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.6:G6PD inhibisyonuna ait I₅₀ değerleri

İnhibitörler	I₅₀ (M)	Kaynak
Fenpropatrin	7.1x10 ⁻⁵	Çalışmada
Lamda kloatrin	6.1x10 ⁻⁶	Çalışmada
Amin tuzu	6.6x10 ⁻⁵	Çalışmada
(Propil3-(dimetilamino) propilkarbomat	4.9x 10 ⁻⁶	[107]
Hidroklorit)		
(RS)-5-etil-2-(4-izopropil-4-metil-5-okzo-2-(N-	4.5x 10 ⁻⁷	[107]
(imidazolin-2-yl) nikotinik asit)		
Fosfonometil) glisin)	2.8x 10 ⁻⁶	[107]
(2,4-Diklorofenoksiasetik asit dimetilamin)	1.8x 10 ⁻⁶	[107]

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hızlı nüfus artışı ve buna paralel olarak tarımda ulaşılmak istenen maksimum ürün eldesi için yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı yaygın hale gelmiştir. Bunun sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir. Balıklar çevresel kirlenme için bioindikatörler olarak akuatik sistemlerin kalitesini değerlendirmek üzere geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışma ile tatlı su balıklarının *in vitro* antioksidan enzim aktiviteleri değerlendirilmiş ve tarımda kullanılan pestisitlerin bu enzimler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Böylece;

1. Pestisit kullanımının bıraktığı olumsuz etkiler *Cyprinus carpio carpio* eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri üzerinde araştırılmıştır.

2. Çalışmada kullanılan pestisitlerden SOD için; deltamethrin, sipermetrin, fenprothrin, lamda kloatrin inhibitör olduğu bulunmuştur. Fakat, amin tuzunun SOD üzerine aktivatör olarak etki gösterdiği tespit edilmiştir. Kontrol aktivitesi ile kıyaslandığında amin tuzu SOD aktivitesini 12,4, 18,7, 21,8, 31,1, 37,4 ve 43,6 M ($[inh] \times 10^3$) konsantrasyonları için sırasıyla % 152, % 162, % 190, % 217, % 297 ve % 332 oranında arttırmıştır. CAT, GST, GR, GSH-Px için; kullanılan tüm pestisitlerin inhibitör etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. G6PD için ise fenprothrin, lamda kloatrin ve amin tuzu inhibitör olduğu belirlenmiştir. Ancak, deltametrin G6PD aktivitesinde artışa neden olmuştur. Kontrol aktivitesi ile kıyaslandığında deltametrin, G6PD aktivitesini 4, 8,1, 20,4, 73,5 ve 81,6 M ($[inh] \times 10^5$) konsantrasyonları için sırasıyla %129, %137, %144, %172 ve %198 oranında arttırmıştır. Sipermetrininde G6PD üzerine aktivatör olduğu tespit edilmiştir. Kontrol aktivitesi ile kıyaslandığında sipermetrin G6PD aktivitesini 10, 30, 50, 70 ve 90 M ($[inh] \times 10^3$) konsantrasyonları için sırasıyla % 115, % 118, % 123, % 143 ve % 166 oranında arttırmıştır.

3. İnhibisyon etkisi gösteren pestisit türevleri için bulunan I_{50} değerleri sırasıyla her bir enzim için SOD; $1,1 \times 10^{-6}$, $5,5 \times 10^{-4}$, $4,1 \times 10^{-6}$ ve $3,5 \times 10^{-5}$; CAT; $2,4 \times 10^{-6}$, $3,9 \times 10^{-6}$, $8,1 \times 10^{-6}$, 6×10^{-6} ve 4×10^{-5} M ; GST; $2,2 \times 10^{-6}$, $9,9 \times 10^{-5}$, $2,7 \times 10^{-5}$, 3×10^{-5} ve $1,9 \times 10^{-4}$ M ; GR; $1,7 \times 10^{-5}$, $8,7 \times 10^{-4}$, 1×10^{-3} , $8,3 \times 10^{-5}$ ve $4,6 \times 10^{-4}$ M ; GSH-Px; $1,2 \times 10^{-5}$,

$2,05 \times 10^{-5}$, $1,3 \times 10^{-3}$, $3,1 \times 10^{-4}$ ve $4,7 \times 10^{-4}$ M; G6PD; $7,1 \times 10^{-5}$, $6,1 \times 10^{-6}$ ve $6,6 \times 10^{-5}$ M olduğu belirlenmiştir.

4. I_{50} değeri belirlenen pestisitlerin, I_{50} değerleri kıyaslanarak en çok zarar gösteren pestisit hangisi olduğu ortaya konulmuştur. I_{50} değerleri kıyaslandığında SOD, CAT, GST, GR ve GSH-Px için en güçlü inhibitörün deltamethrin, G6PD için ise lamda kloatrinin, en güçlü inhibitör olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak tarımda yaygın olarak kullanılan pestisitlerden deltametrin, sipermetrin, fenpropatrin, lamda kloatrin ve amin tuzu gibi maddeler ilaçlamanın yapıldığı bölgede yaşayan ya da toprakta birikim göstermesinden ve aquatik ortamlara karışmasından dolayı buralarda yaşayan canlıların süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon S-transferaz, glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz gibi antioksidan enzim aktiviteleri üzerinde olumsuz etkiler göstermektedir. Tarımda ve seracılıkta yaygın bir şekilde kullanılan bu pestisitler çeşitli yollarla sucul ortamlara geçtiğinde balıklarda kalıntılara neden olmaktadır. Önemli bir besin kaynağı olan balıklar insanlar tarafından tüketildiğinde pestisit kalıntıları insan dokularına da geçmektedir. Bu veya benzer şekillerde vücuda alınan pestisitler, vücutta farklı yollarla oluşan serbest radikallere karşı antioksidan savunmanın azalmasına neden olmaktadır. Canlılarda meydana gelen olumsuz etkileri ortadan kaldırabilmek için pestisitlerin kullanımında bilinçli olarak hareket edilmelidir. Ekolojik dengenin devamını sağlayan, kirlilik oluşturmeyen ve bitkisel kökenli olan ilaçlar tercih edilmelidir. Pestisit bileşiklerinin LD_{50} dozu bilinmeli ve bu doza göre kullanımı gerçekleştirilmelidir. Olanaklar ölçüsünde geniş spektrumlu olmayan, toprak ve suda çabuk parçalanan pestisitler seçilmeli ve ruhsatı bulunan pestisitler risk gruplarına göre ayrılmalı, seçici tarımsal ilaçlar kullanılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Suvetha, L., Ramesh, M. and Saravanan, M., "Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*", *Environmental Toxicology and Pharmacology* 29, 44-49, (2010).
- [2] Banerjee, B.D., Seth, V. and Bhattacharya, A., "Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers", *Toxicol. Lett.* 107, 33-47, (1999).
- [3] Li, W., Yin, D., Zhou, Y., Hu, S. and Wang, L., "3,4-Dichloroaniline-induced oxidative stress in liver of crucian carp (*Carassius auratus*)", *Ecotoxicology and Environmental Safety* 56, 251-255, (2003).
- [4] Djordjevic, V.B., "Free radicals in cell biology", *Internal Review of Cytology*, 237: 57-89, (2004).
- [5] Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 'Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri', *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26 (2), 154-169, (2010).
- [6] Oruc, E.O. and Uner, N., "Effects of 2,4-Diamin on some parameters of protein and carbohydrate metabolisms in the serum, muscle and liver of *Cyprinus carpio*", *Environmental Pollution*, 105, 267-272, (1999).
- [7] Öncüer C., 'Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları', *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, İzmir, (1995).
- [8] Toros, S., et. al., "Tarımsal Savaş Yöntemi ve İlaçları", Ankara, (1999).
- [9] Aydın, R., and Koprucu, K., 'Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae', *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82, 220-225, (2005).
- [10] Barr, D.B. and Needham, L.L., "Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review", *Journal of Chromatography B*, 778, 5-29, (2002).

- [11] Çinkılığlu, E., "Cyprinus Carpio'da Beyin Dokusunda Fenthionun Antioksidant Savunma Sistemi, Lipid Peroksidasyonu ve Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesine N-Asetilsistein Modülatörlüğünde Etkileri", Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2007).
- [12] Tarakçı, Ü., "Halk Sağlığı Amaçlı Kullanılan Pestisitlerin (Biyosidal) Güvenilirlik Standartlarının Karşılaştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Van, (2006).
- [13] Barlow, S.M., Sullivan, F.M. and Lines, J. 'Risk assessment of the use of Deltamethrin on bednets for the prevention of malaria', *Food and Chemical Toxicology*, 39, 407-422, (2001).
- [14] Şekeroğlu, V., "Thiacloprid ve Deltamethrin İnsektisitlerinin Tek Başlarına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman Sıçan Kemik İliği Hücrelerinde İnVivo (*Rattus Norvegicus* Berkenhout, 1769) Genotoksik Etkileri", Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, (2010).
- [15] Tomlin, C.D.S. "The e-Pesticide Manual", Twelfth ed., *Version 2.2 British Crop Protection Council*, (2003).
- [16] Güvenç, D., "Samsun Yöresinden Toplanan Çiğ Süt Örneklerinde Bazı Pestisit Kalıntılarının Araştırılması", Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakoloji-Toksikoloji (Veteriner) Anabilim Dalı, Samsun, (2008).
- [17] Atamanalp, M., "Bir Sentetik Piretroit İnsektisit (Cypermethrin) Subletal Dozlarının Gökkuşaklı Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na Makroskobik, Histopatolojik, Hematolojik ve Biyokimyasal Etkileri", Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Erzurum, (2000).

- [18] Li, Z., Zhang, Z., Zhang, L. and Leng, L., "Isomer- and enantioselective degradation and chiral stability of fenpropathrin and fenvalerate in soils", *Chemosphere*, 76, 509–516, (2009).
- [19] Sarkar, S., Satheshkumar, A., Jayanthi, R. and Premkumar, R., "Biodegradation of fenpropathrin by *Pseudomonas Sp.* isolated from tea rhizosphere microflora", *Advanced Biotech.* 10(12), 16-19, (2011).
- [20] Ray, D.E., Hayesand, W.J. and Laws, E.R., "Hand book of pesticides toxicology", *Classes of Pesticides. Academic pres: London*, Vol.2, P.585, (1991).
- [21] Zhaoa, P., Yua J., Liu, S., Yana M., Zanga D. and Gaoa L., "One novel chemiluminescence sensor for determination of fenpropathrin based on molecularly imprinted porous hollow microspheres", *Sensors and Actuators*, B 162, 166–172, (2012).
- [22] Soderlund, D.M. and Knipple, D.C., "The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides", *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33, 563-577, (2002).
- [23] <http://www.hdcchem.com/Fenpropathrin.html>, (09.07.2013).
- [24] He, L.M., Troiano, J., Wang, A. and Goh, K., "Environmental chemistry, ecotoxicity, and fate of lambda-cyhalothrin". *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 195, 71-91, (2008).
- [25] World Health Organization(WHO)., "International programme on chemical safety", *Environmental Health Criteria*, 99, Cyhalothrin, (1990).
- [26] Piner, P., "Lambda-Cyhalothrinin *Oreochromis Niloticus*'da Karaciğerde Piperonil Bütoksit Modülatörlüğünde Oksidatif Stres Potansiyelinin Belirlenmesi, Stres Proteinleri ve Apoptozis Üzerine Etkileri", Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2009).

- [27] Mazmancı, B., "Lambda Cyhalothrinin Swiss Albino Ratlarda Biyokimyasal ve Hematolojik Etkileri", Doktora Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin, (2003).
- [28] Tu, M., Hurd, C., Randoll, J.M., "Weed control methots: Tools and techniques for use in natural areas", *Chapter 7(A)*, 1-10, (2001).
- [29] CCREM, Canadian Council of Resource and Environment Minister., "Canadian Water Quality Guidelines". *Inland Waters Directorate*, Enviroment Canada, (1987).
- [30] Öztürkmen, Ö., "Pestisitlerin *Alcaligenes denitrificans* ve *Alcaligenes xylosoxidans* ile Mikrobiyal Bozulmasının Spektrofotometrik Tespiti", Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (2005).
- [31] Karadağ, H., "Süperoksit Dismutaz Enziminin İnsan Eritrositlerinden Saflaştırılması ve Bazı Pestisitlerin Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin İncelenmesi", Doktora Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Adana, (2007).
- [32] Alan, Ü., "Bor Bileşik ve Minerallerinin Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri", Doktora Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2013).
- [33] Alp, H. H., "Hiper ve Hiporoidili Hastalarda Homosistein S-Adenozil Metiyonin ve Antioksidan Düzeyleri", Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Biyokimya Anabilim Dalı,Erzurum,(2005).
- [34] Durmuş, N., "Büyümeyi Düzenleyici Maddelerin Oksidatif Stres Üzerine Etkileri", Doktora Tezi, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Trabzon, (2003).
- [35] Kavas, G.Ö., "Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri", *Türkiye Klinikleri*, 9, 1-8, (1989).

- [36] Sinclair, A.J., Barnett, A.H. and Junec, J., "Free radicals and antioxidant systems in health and disease". *Brit. J. Hos. Med.*, 43, 334-344, (1990).
- [37] İşnas, M., "Pestisitlerden Omethoate'ın Su Kurbağası'nın (*Rana Ridibunda*) Çeşitli Dokularındaki Antioksidan Savunma Sistemleri ve Lipit Peroksidasyon Seviyeleri Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Van, (2010).
- [38] Kızıl, M., "Benzo(A)piren Verilen Ratlarda E Vitaminive Selenyumun Kan ve Dokularda Lipit Peroksidasyonu ve Bazı Antioksidan Enzimler Üzerine Etkileri", Doktora Tezi, *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Elazığ, (2007).
- [39] Kılıçgün, H., "Kuşburnu İnfüzyonlarının Antioksidan Potansiyeli", Doktora Tezi, *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, (2008).
- [40] Taş, M., "Futbolcularda Sürat Egzersizlerinin Serum Süperoksit Dismutaz, Katalaz ve Malondialdehit Düzeylerine Etkisi", Yüksek Lisans Tezi, *Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı, Erzurum, (2006).
- [41] Gutteridge, J.M.C. and Halliwell, B., 'Antioxidants in nutrition, health and disease', *Oxford University Press*, New York, (1994).
- [42] Fridovich, I., "The biology of oxygen radicals", *Science*, 201, 875-880, (1978).
- [43] Pektaş, İ., "Bitki Gelişim Düzenleyicilerinin Antioksidan Enzimler Üzerindeki Etkisinin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2009).
- [44] Yalçın, M.S., "Hepatitli Hastalarda Antioksidan Enzimlerinin Süperoksit Dismutaz(SOD), Glutatyon Peroksidaz(GSH-Px) ve Katalaz(CAT) Aktivite Düzeylerinin İncelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Adana, (2007).

- [45] Lledias, F., Rangel, P. and Hansberg, W., "Oxidation of catalase by singlet oxygen", *The Journal of Biological Chemistry*, 273, 10630-10637, (1998).
- [46] Yılmaz, Y., "Antioksidan Enzim Aktivitelerinin (Cat ve Gsh-Px) Koroner Anjiyoplasti Sırasında ve Sonrasındaki Değişimi ve Bu Enzim Aktivitelerine Anjiyoplasti Sırasında Verilen Nazal Oksijenin Etkisinin Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun, (2006).
- [47] Kelly, F.J., "Glutathione: in defense of the lung", *Food Chem. Toxicol.*, 37, 963-966, (1999).
- [48] Rencüzoğulları, N., "Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kadmiyum toksikasyonu üzerine likopenin etkilerinin araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya (vet) Anabilim Dalı, Hatay (2006).
- [49] Tülüce, Y., "Bazı Bitki Büyüme Düzenleyicilerinin Subakut ve Subkronik Uygulamalarının Ratların Eritrosit ve Çeşitli Dokularındaki Antioksidan Enzim Aktiviteleri, Glutasyon ve Lipid Peroksidasyon Seviyeleri Üzerine Etkileri", Doktora Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Biyoloji Anabilim Dalı, Van, (2005).
- [50] Halliwell, B., Gutteridge, J.M., "Free radicals in biology and medicine", *Oxford University Press*, London, s. 36-245, (1999).
- [51] Fadıllıoğlu, E., Kaya, B., Erdoğan, H., Emre, M.H., Ünal, S., "Depresyonda plazma ksantin oksidaz, glutasyon peroksidaz aktiviteleri ve plazma nitrik oksit seviyesi üzerine egzersizin etkisi", *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 2(2), 99- 105 (2001).
- [52] Büyükkuroğlu, M.E. ve Süleyman, H., "Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz eksikliği", *T Klin Tıp Bilimleri*, 21, 415-419, (2001).
- [53] Sevgiler, Y., Karaytuğ, S. and Karayakar, F., "Antioxidative effects of n-acetylcysteine, lipoic acid, taurine, and curcumin in the muscle of *cyprinus carpio* l. exposed to cadmium", *Arh Hig Rada Toksikol (Article)*, 62,1-9, (2011).

- [54] Oruç, E.Ö. and Usta, D., "Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of *Cyprinus carpio*", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 23, 48–55, (2007).
- [55] Hu, K., He, W., Feng, L., Jiang, J., Liu, Y., Jiang, W.D., Li S.H. and Zhou, X.Q., "Effects of pyridoxine on antioxidative parameters in juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)", *Aquaculture Nutrition*, 17, 226–232, (2011).
- [56] Suvetha, L., Ramesh, M. and Saravanan, M., "Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 29, 44–49, (2010).
- [57] Yilmaz, H.R., Turkoz, Y., Yuksel, E. and Orun, İ., "An Investigation of Antioxidant Enzymes Activities in Liver of *Cyprinus carpio* Taken from Different Stations in the Karakaya Dam Lake", *International Journal of Science & Technology Volume 1*, (1), 1–6, (2006).
- [58] Toni, C., Loro, V.L., Santi, A., Menezes, C.C., Cattaneo, R., Clasen, B.E. and Zanella R., "Exposure to tebuconazol in rice field and laboratory conditions induces oxidative stress in carp (*Cyprinus carpio*)", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 153, 128–132, (2011).
- [59] Dongyun, Y. and et al., "Quantitative structure–toxicity relationships of organophosphorous pesticides to fish (*Cyprinus carpio*)", *Chemosphere*, 63, 744–750, (2006).
- [60] Yonar, M.E. and Sakin, F., "Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 226–231, (2011).
- [61] Moraes, B.S. and et al., "Toxicological responses of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 328–335, (2011).
- [62] Franco, J. L. and et al., "Biochemical alterations in juvenile carp (*Cyprinus carpio*) exposed to zinc: *Glutathione reductase as a target*", *Marine Environmental Research*, 66, 88–89, (2008).
- [63] Tramboo, S.M., Yousuf, A.R. and Akbar, S., "Oxidative stress-inducing potential of butachlor in a freshwater fish, *Cyprinus carpio* (L)", *Toxicological & Environmental Chemistry* Vol, 93 (2), 285–295, (2011).

- [64] Sevgiler, Y., Piner, P., Durmaz, H. and Üner, N., "Effects of N-acetylcysteine on oxidative responses in the liver of fenthion exposed *Cyprinus carpio*", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 87,248–254, (2007).
- [65] Mikula, P., Blahova, J. and et all., "Effects of the herbicide LASSO MTX (alachlor 42% W/V) on biometric parameters and liver biomarkers in the common carp (*Cyprinus carpio*)", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93, 13–17, (2009).
- [66] Şentürk, M., Ceyhun, S.B., Erdoğan, O. and Küfrevioğlu, Ö.İ., "In vitro and in vivo effects of some pesticides on glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme activity from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) erythrocytes", *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95,95–99, (2009).
- [67] Li, Z.H., Zlabek, V., Grabic, R., Li, P. and Randak, T., "Modulation of glutathione-related antioxidant defense system of fish chronically treated by the fungicide propiconazole", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 152, 392–398, (2010).
- [68] Oruç, E.Ö., Sevgiler, Y. and Uner, N., "Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl", *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 137, 43–51, (2004).
- [69] Stara, A., Machova, J. and Velisek, J., "Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp(*Cyprinus carpio* L.)", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 334-343, (2011).
- [70] Güngördü, A., Erkmen, B. and Kolankaya, D., "Evaluation of spatial and temporal changes in biomarker responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) for biomonitoring the Meriç Delta, Turkey", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33, 431-439, (2012).
- [71] Xing, H., Li, S., Wang, Z., Gao, X., Xu, S. and Wang, X., "Histopathological changes and antioxidant response in brain and kidney of common carp exposed to atrazine and chlorpyrifos", *Chemosphere*, 88, 377-383. (2012)
- [72] Doğan, S., "The in vitro effects of some pesticides on carbonic anhydrase activity of *Oncorhynchus mykiss* and *Cyprinus carpio carpio* fish", *Journal of Hazardous Materials*, A132, 171–176, (2006).
- [73] Habdous, M., Herbeth, B., Vincent-Viry, M., Lamont, J.V., Fitzgerald, P. S., Visvikis, S. and Siest, G., "Serum total antioxidant status, erythrocyte superoxide dismutase and whole-blood glutathione peroxidase activities in the

- stanislas cohort: influencing factors and reference”, *Clin. Chem. Lab. Med.*, 41(2), 209-215 (2003).
- [74] Çuvaç, M., “Apoplastik antioksidatif enzim aktiviteleri Üzerine B, Cu, Zn, Al, Pb ve Cd’nin etkilerinin incelenmesi”, Yüksek lisans tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Erzurum, (2007).
- [75] Karabulut, B A., Özerol, E., Temel, İ., Gözükar, E M. ve Akyol, Ö., “Yaş ve Sigara İçiminin Eritrosit Katalaz Aktivitesi ve Bazı Hematolojik Parametreler Üzerine Etkisi”, *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2), 85-88, (2002).
- [76] Bayır, A., “Hınıs Çayı (Murat havzası)’ nda Yaşayan Siraz Balığı (*Capoeta capoeta umbla*)’nın Antioksidan Enzim Aktiviteleri, Serum Lipitleri, Lipoproteinleri ve Hematolojik Parametrelerin Mevsimsel Değişimlerinin İncelenmesi”, Doktora Tezi, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Su Ürünleri Anabilim Dalı, Erzurum, (2005).
- [77] Habig, W., Pabst, M. J and Jakoby, W. B., “Glutathione S- Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation”, *The Journal of Biological Chemistry*, 249 (22), 7130-7139, (1974).
- [78] Bradford, M.M., “A rapid and Sensitive Method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding”, *Analytical Biochemistry* 72, 248-254, (1976).
- [79] Doğan, S., Diken, M.E. and Doğan, M.”Antioxidant, phenolic and protein contents of some medicinal plants”, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 4(23), pp. 2566-2573,(2010).
- [80] Doğan, S., Diken, M.E., Turhan, Y., Alan, Ü., Doğan, M. and Alkan, M. (2010). Characterization and inhibition of *Rosmarinus officinalis* L. Polyphenoloxidase. *European Food Research and Technology*, 233(2), 293-301.
- [81] Akman, E., “Van Gölü Balığının (*Chalcalburnus Tarichi P.1811*) Beyin ve Karaciğerinden Asetilkolin esterase (E.C.3.1.1.7) Enziminin Afinitite Kromatografisi Yöntemi İle Saflaştırılması ve Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, (2007).
- [82] Turan, P., “*Ocimum basilicum* L. Polifenol Oksidazının Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir, (2005).

- [83] Rehman, H., Ali, M., Atif, F., Kaur, M., Bhatia, K. and Raisuddin, S., "The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice", *Clinica Chimica Acta*, 369, 61 – 65, (2006).
- [84] Kaya, E., "Klorprifos ve Deltamethrin'in Kan ve Beyin Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Isparta, (2005).
- [85] Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. and Raisuddin, S., "Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, 295–301, (2003).
- [86] Türkez, H., Geyikoglu, F., Tatar, A., Keles, S., and Özkanc, A., "Effects of some boron compounds on peripheral human blood", *Z Naturforsch*, 62, 889–96, (2007).
- [87] Yarsan, E., Bilgili, A., Kanbur, M. and Celik S., "Effects of deltamethrin on lipid peroxidation in mice", *Vet Hum Toxicol*; 44, 73–5, (2002).
- [88] Hopa, E., "İnsan Eritrositlerinden Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz Enziminin Saflaştırılması, Bazı Kumarin ve Pestisitlerin Etkilerinin Araştırılması", Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2010).
- [89] Saha, S. and Kaviraj, A., "Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater cat fish *Heteropneustes fossilis*", *Chemosphere*, 74, 1254–1259, (2009).
- [90] Üner, N., Özcan Oruç, E., Canlı, M., Sevgiler, Y., "Effects of cypermethrin on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver and kidney of the freshwater fish, *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* (L.)", *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67, 657-664, (2001).
- [91] Gowland, B.T.G., Moffat, C.F., Stagg, R.M., Houlihan, D.F., Davies, I.M., "Cypermethrin induces glutathione S-transferase activity in the shore crab, *Carcinus maenas*", *Marine Environmental Research*, 54, 169-177, (2002).
- [92] Greulich, K., Pflugmacher, S., "Uptake and effects on detoxication enzymes of cypermethrin in embryos and tadpoles of amphibians", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 47, 489-495, (2004).

- [93] Kale, M., Rathore, N., John, S. and Bhatnagar, D., "Lipid peroxidative damage on pyrethroid exposure and alterations in antioxidant status in rat erythrocytes: a possible involvement of reactive oxygen species", *Toxicology Letters*, 105, 197-205,(1999).
- [94] Patel1, L. and Bhatt1, R., 'Effect of commercially available insecticide on antioxidant enzymes during chick embryonic development'. *Int. J. Lifesc. Bt& Pharm. Res. Vol. 2, No. 2*, (2013).
- [95] Yu, F., Wang, Z., Ju, B., Wang, Y., Wang, J. and Bai, D., "Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on Mouse retina *in vivo* via oxidative stress and protection of combination of vitamins C and E", *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59, 415-423,(2008).
- [96] Altuntas, I., Delibas, N., Doguc, D.K., Ozmen, S. and Gultekin, F., "Role of reactive oxygen species in organophosphate insecticide phosalone toxicity in erythrocytes *in vitro*". *Toxicology in vitro*, 17, 153–157, (2003).
- [97] Pena-Llopis, S., Ferrando, M.D. and Pena, J.B., "Fish tolerance to organophosphate-induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by *N*-acetylcysteine", *Aquatic Toxicology*, 65, 337-360,(2003).
- [98] Atif, F., Parvez, S., Pandey, S., Ali, M., Kaur, M., Rehman, H., Khan, H.A., Raisuddin, S., "Modulatory effect of cadmium exposure on deltamethrin-induced oxidative stress in *Channa punctata* Bloch", *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 49, 371-377.(2005).
- [99] El-Demerdash, F.M., "Lambda-cyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effects of some antioxidants", *Toxicology in Vitro*, 21, 392-397,(2007).
- [100] Fetoui, H., Garoui, M., Makni-Ayadi, F. and Zeghal, N., "Oxidative stress induced by lambda-cyhalothrin (LTC) in rat erythrocytes and brain: Attenuation by vitamin C", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 26, 225-231,(2008).
- [101] Kalıpcı, E., Özdemir, C. and Öztas, H., "Investigation of ecotoxicological effects of 2,4-D acid herbicide on the ecosystem", *Special Issue of Food and Environment*, 126-135, (2011).
- [102] Öztürkmen, Ö., "Pestisitlerin *Alcaligenes denitrificans* ve *Alcaligenes xylosoxidans* İle Mikrobiyal Bozulmasının Spektrofotometrik Tespiti",

Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı,
Yüksek Lisans Tezi, Adana, (2005).

- [103] Özcan, O., “E. 2,4-diamin ve Azinfosmetilin *Tilapia nilotica*’da Karaciğerde Antioksidant Enzim Aktiviteleri ve Lipit Peroksidasyonuna Etkileri”, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana, (1998).
- [104] Oruç, E.Ö. and Üner, N., “Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus*”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 127, 291-296, (2000).
- [105] Oruç, E.Ö., Sevgiler, Y. and Uner, N., “Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 137, 43–51, (2004).
- [106] Bukowska, B., “Effects of 2,4-D and its metabolite 2,4-Dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes”, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 135, 435–441, (2003).
- [107] Cici, D., “İnsan Eritrositlerinden Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı Pestisitlerin Enzim Üzerindeki Etkisinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir, (2007).