



**FARKLI RENK LED IŞIKLARININ VE ARTAN
SICAKLIĞIN ZEBRA BALIKLARI LARVALARI
(*Danio rerio*) ÜZERİNDEKİ ORTAK MARUZİYET
ETKİSİ: İMMÜNOHİSTOKİMYASAL,
METABOLOMİK, MOLEKÜLER VE DAVRANIŞSAL
YAKLAŞIMLAR**

Rabia PİR

Danışman: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Yüksek Lisans Tezi

Nanobilim ve Nanomühendislik Ana Bilim Dalı

2024

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
NANOBİLİM VE NANOMÜHENDİSLİK ANA BİLİM DALI

**FARKLI RENK LED IŞIKLARININ VE ARTAN SICAKLIĞIN ZEBRA BALIKLARI
LARVALARI (*Danio rerio*) ÜZERİNDEKİ ORTAK MARUZİYET ETKİSİ:
İMMÜNOHİSTOKİMYASAL, METABOLOMİK, MOLEKÜLER VE
DAVRANIŞSAL YAKLAŞIMLAR**

(Co-exposure Effect of Different Colour of LED Lights and Increasing Temperature on Zebra
Balığı Larvae (*Daniorerio*): Immunohistochemical, Metabolomics, Molecular and Behaviour
Approaches)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Rabia PİR

Danışman: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Erzurum
Eylül, 2024

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Rabia PİR tarafından hazırlanan “*Farklı Renk Led Işıklarının ve Artan Sıcaklığın Zebra Balıkları Larvaları (Danio Rerio) Üzerindeki Ortak Maruziyet Etkisi: İmmünohistokimyasal, Metabolomik, Moleküler Ve Davranışsal Yaklaşımlar*” başlıklı çalışması 27 / 08 / 2024 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Nanobilim ve Nanomühendislik Ana Bilim Dalı, Nanobilim ve Nanomühendislik Bilim Dalında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Robyn L. TANGUAY <i>Oregon Devlet Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Hayrunnisa NADAROĞLU <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Michael SİMONİCH <i>Oregon Devlet Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Ekrem SULUKAN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı ıslak imzalıdır

Enstitü Yönetim Kurulunun
.../.../.... tarih ve sayılı
kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü
Aslı ıslak imzalıdır

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Danışman Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN danışmanlığında sunulan ““Farklı Renk Led Işıklarının ve Artan Sıcaklığın Zebra Balıkları Larvaları (Danio Rerio) Üzerindeki Ortak Maruziyet Etkisi: İmmünohistokimyasal, Metabolomik, Moleküler ve Davranışsal Yaklaşımlar” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	4	30
Kuramsal Temeller	0	30
Materyal ve Yöntem	2	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	12	20
Sonuç ve Öneriler	0	20
Tezin Geneli	4	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Rabia PİR	Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
27.8.2024	27.8.2024
İmza: Aslı ıslak imzalıdır	İmza: Aslı ıslak imzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her türlü imkânı sağlayan, engin tecrübesi ve derin bilgisiyle bana rehberlik eden, ilgi ve anlayış gösteren, akademik gelişimimde ufkumu genişleten ve daha ileriye gitmem için bana rehberlik eden çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN'a,

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam zamanını ayırıp sabırla bana faydalı olan ve her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Ekrem SULUKAN'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak bana yol gösteren sayın Doç. Dr. Alper BARAN'a,

Histopatoloji analizlerinin laboratuvar aşamasında çalışılmasında emeği geçen hocalarım Sayın Prof. Dr. Serkan YILDIRIM ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi İsmail BOLAT'a,

Güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli hocam sayın Dr. Şeyda Tacer TANAS'a,

Tez çalışmamda laboratuvarda yapılan çalışmalarda destek ve yardımlarını gördüğüm değerli zamanını ve emeğini esirgemeyen sayın doktora öğrencisi Meryem KANKAYNAR'a, yüksek lisans öğrencisi Emriye YILDIZ'a, yüksek lisans öğrencisi Elvina Cahan'a, yüksek lisans öğrencisi Emine Nur ERDEM'e ve yüksek lisans öğrencisi Meltem ÖZER'e,

Yüksek lisansımı tamamlama sürecinde desteklerini esirgemeyen ve uzakta olsalarda aslında yakın olan sevgili babam Ahmet PİR'e, annem Emine PİR'e, kardeşlerim Hatice ÖKSÜZ'e ve Nisa Nur PİR'e,

Yüksek lisansım boyunca ihtiyacım olduğunda her daim yanımda olan, gerektiğinde yeniden başlamam için bana destek olan, tezimin bütün aşamalarında beni dinleyen ve benimle mutlu olan yüksek lisans öğrencisi Muhammed Berat ÖZGÜNGÖRDÜ'ye teşekkürü bir borç bilirim.

Tez dönemim boyunca ilgi ve alakalarını esirgemeyen arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Rabia PİR

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARKLI RENK LED IŞIKLARININ VE ARTAN SICAKLIĞIN ZEBRA BALIĞI LARVALARI (*Danio rerio*) ÜZERİNDEKİ ORTAK MARUZİYET ETKİSİ: İMMÜNOHİSTOKİMYASAL, METABOLOMİK, MOLEKÜLER VE DAVRANIŞSAL YAKLAŞIMLAR

Rabia PİR

Danışman: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Amaç: Bu çalışma, farklı ışık renkleri (kırmızı, beyaz, mavi, yeşil) ve sıcaklık koşullarının (28°C, 29°C, 30°C) zebra balığı (*Danio rerio*) embriyolarının gelişimi, hayatta kalma oranları ve morfolojik değişiklikleri üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamıştır. Ayrıca çevresel stres faktörlerinin oksidatif stres, apoptoz ve lipid birikimi gibi biyokimyasal ve fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Yöntem: Zebra balığı embriyoları, 5 ışık grubu (karanlık kontrol, mavi, yeşil, kırmızı, beyaz) ve 3 sıcaklık grubuna (28°C, 29°C, 30°C) maruz bırakılmıştır. LED ışık yoğunluğu sabit tutulmuş ve deney her grupta 300 embriyo ile 3 tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Gelişim aşamaları, morfolojik değişiklikler ve hayatta kalma oranları izlenmiş, ROS, apoptoz ve lipid birikimi immün boyama ve metabolomik analizlerle değerlendirilmiştir.

Bulgular: Işık ve sıcaklık koşullarının zebra balığı larvaları üzerinde önemli etkiler yarattığı, özellikle kırmızı ve beyaz LED ışıklarının yüksek sıcaklıklarla birleştiğinde en yüksek ölüm oranlarına yol açtığı gözlemlenmiştir. Perikardiyal ödem, göz küçülmesi, vücut uzunluğunda azalma gibi morfolojik bozuklukların yanı sıra, ROS üretimi, apoptoz ve lipid birikiminde artış tespit edilmiştir. Melatonin seviyeleri azalırken, glutatyon seviyelerinde artış gözlenmiştir.

Sonuç: Farklı LED ışık renkleri ve artan sıcaklıkların zebra balığı embriyolarında önemli biyolojik etkiler yarattığı tespit edilmiştir. Kırmızı ve beyaz LED ışıkları ile yüksek sıcaklıkların birleşimi en ciddi olumsuz etkileri göstermiştir. Bu bulgular, çevresel stres faktörlerinin sucul ekosistemler üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için daha fazla araştırma yapılması gerektiğini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Işık spektrumu, küresel ısınma, metabolomik, davranış, zebra balığı

Eylül 2024, 84 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

COMBINED EXPOSURE EFFECTS OF DIFFERENT COLORED LED LIGHTS AND INCREASED TEMPERATURE ON ZEBRAFISH LARVAE (*Danio rerio*) IMMUNOHISTOCHEMICAL, METABOLOMIC, MOLECULAR, AND BEHAVIORAL APPROACHES

Rabia PİR

Supervisor: Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Purpose: This study aims to investigate the effects of different light colors (red, white, blue, green) and temperature conditions (28°C, 29°C, 30°C) on the development, survival rates, and morphological changes of zebrafish (*Danio rerio*) embryos. Additionally, the effects of environmental stress factors on biochemical and physiological parameters, such as oxidative stress, apoptosis, and lipid accumulation, were examined.

Method: Zebrafish embryos were exposed to 5 light groups (dark control, blue, green, red, white) and 3 temperature groups (28°C, 29°C, 30°C). LED light intensity was kept constant, and the experiment was conducted with 300 embryos per group, in 3 replicates. Developmental stages, morphological changes, and survival rates were monitored, and ROS, apoptosis, and lipid accumulation were assessed through immunostaining and metabolomic analyses.

Findings: Light and temperature conditions had significant effects on zebrafish larvae, with red and white LED lights combined with high temperatures leading to the highest mortality rates. In addition to morphological abnormalities such as pericardial edema, reduced eye size, and shorter body length, increases in ROS production, apoptosis, and lipid accumulation were observed. Melatonin levels decreased, while glutathione levels increased.

Results: Different LED light colors and increased temperatures were found to have significant biological effects on zebrafish embryos. The combination of red and white LED lights with high temperatures showed the most severe adverse effects. These findings highlight the need for further research to better understand the impacts of environmental stress factors on aquatic ecosystems.

Keywords: Light spectrum, global warming, metabolomics, behavior, zebrafish

September 2024, 84 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xi
GİRİŞ.....	1
KAYNAK ÖZETİ	7
MATERYAL VE METOT.....	9
Balık Materyali.....	9
Zebra balığının embriyonik gelişimi.....	9
Zebra balığının model organizma olarak kullanılmasının avantajları.....	10
Deneysel Tasarım.....	11
Deneysel ortamın hazırlanması	12
LM317 transistörlü devre tasarımı ve ışık yoğunluğu kontrolü.....	13
Karanlık kontrol grubu ve embriyo hazırlığı	14
Veri toplama ve analiz	14
Etik standartlar ve yönergeler	15
Histopatolojik ve İmmünofloresans Analizleri	20
Metabolom Analizleri	21
İstatistiksel Analiz.....	23
ARAŞTIRMA BULGULARI	25
Morfolojik Gözlem Sonuçları	25
Gelişimsel etkiler	25
Ölüm oranları	25
Fizyolojik anormallikler.....	26
Malformasyon oranları.....	26
Vücut uzunluğu ve yumurtadan çıkış oranları	27
Göz çapı ve perikardiyal alan.....	28

Tam Vücut Boyama	29
Reaktif oksijen türleri (ROS) tespiti	30
Apoptotik hücre tespiti.....	31
Lipid birikimi	31
Histopatolojik ve İmmüno Floresans Gözlem Sonuçları	32
Histopatolojik bulgular	32
İmmüno Floresans bulgular	34
8-OHdG ekspresyonu.....	35
Hücre sel hasar ve kantifikasyon.....	37
Davranışsal ve Fizyolojik Gözlemler.....	37
Davranışsal analiz	37
Fizyolojik gözlemler	39
Metabolom Sonuçları.....	41
SONUÇ ve TARTIŞMA	44
Sonuç ve Öneriler.....	54
KAYNAKLAR.....	57
EKLER	70
EK-1. Tezden Elde Edilen Makale.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Zebra balığı embriyosunun gelişim süreci	10
Şekil 2. Deneysel özet	12
Şekil 3. Deneysel tasarım	13
Şekil 4. LM317 devre tasarımı	14
Şekil 5. Morfolojik ölçümlerin yapılışı	15
Şekil 6. ROS ölçümlerinin yapılışı.....	16
Şekil 7. AO ölçümlerinin yapılışı.....	17
Şekil 8. Nile Red ölçümlerinin yapılışı	18
Şekil 9. 24 Kuyucuklu plaka	19
Şekil 10. Davranış analiz cihazı DanioVision	19
Şekil 12. Zebra balığı larvalarının ölüm oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	25
Şekil 13. Farklı dalga boylarına sahip LED ışıklara ve artan sıcaklık koşullarına maruz bırakılan zebra balığı larvalarının mikroskopik görüntüleri.....	26
Şekil 14. Zebra balığı larvalarının toplam malformasyon oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	27
Şekil 15. Zebra balığı larvalarının vücut uzunluğu oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	27
Şekil 16. Zebra balığı larvalarının yumurtadan çıkış oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	28
Şekil 17. Zebra balığı larvalarının göz çapı oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	28
Şekil 18. Zebra balığı larvalarının perikardiyal alan oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	28

Şekil 19. Zebra balığı larvalarının flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak görüntülenen CM-H ₂ DCFDA fotoğrafları	29
Şekil 20. Zebra balığı larvalarının flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak görüntülenen Akridin Orange (AO) fotoğrafları	30
Şekil 21. Zebra balığı larvalarının flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak görüntülenen Nile-Red fotoğrafları	30
Şekil 22. Zebra balığı larvalarının ROS oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	31
Şekil 23. Zebra balığı larvalarının Akridin Orange (AO) oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	31
Şekil 24. Zebra balığı larvalarının Nile Red oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	32
Şekil 25. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular, 28 derece sıcaklıkta alınan enine kesitlerin mikroskopik görüntüleri.....	33
Şekil 26. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular; 29 derece sıcaklıkta alınan enine kesitlerin mikroskopik görüntüleri.....	33
Şekil 27. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular; 30 derece sıcaklıkta alınan enine kesitlerin mikroskopik görüntüleri.....	34
Şekil 28. Beyin nörofillerinde görülen histopatolojik hasar seviyeleri ve biyomarkerlerin floresan yoğunluğu. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	35
Şekil 29. Göz gangliyonlarındaki histopatolojik hasar düzeyleri ve biyomarkerlerden elde edilen floresan sinyali yoğunluğu. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	36
Şekil 30. Retina hasarı. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	37
Şekil 31. Zebra balığı larvalarının lokomotor aktivitesi. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	38

Şekil 32. Zebra balığı larvalarının aydınlık/ karanlık oranı. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	39
Şekil 33. Zebra balığı larvalarının tigmotaksis sonuçları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	39
Şekil 34. Zebra balığı larvalarının kalp atış hızı ve kan akış aktivitesine ilişkin bulgular. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir	40
Şekil 35. Tüm LED maruziyet gruplarını (kontrol (karanlık), mavi, yeşil, kırmızı ve beyaz) sınıflandıran gizli değişkenlerin skor grafiği (solda) ve önemli ölçüde farklılık gösteren LED maruziyet gruplarının kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığı skor grafiği	42
Şekil 36. Z-skora göre önemli ölçüde değişen anotlanmış metabolitlere ait ısı haritası (a). Kırmızı ve beyaz LED'ler için p-değeri ve zenginleştirme oranını içeren, önemli ölçüde değişen metabolitler arasında en çok etkilenen yollar; en zengin 25 yolun izlenmesi	43

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

8-OHdG	8-hidroksi-2'-deoksiguanozin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AO	Akridin Orange
ATP	Adenozin Trifosfat
BM	Vücut Malformasyonları
C20-H18-N2-O2	9-dietilamino-5H-benzo (a) fenoksazin-5-o
CBA	Eğri Vücut Ekseni
CM-H₂DCFDA	5-krometil-2', 7'-diklorodihidrofloresan diasetat asetil ester
DNA	Deoksiribonükleik Asit H ₂
EA	Göz Anomalileri
HE	Hematoksilen-eozin
HMDB	İnsan Metabolomu Veritabanı
HSP70	Isı Şok Proteini-70
KEGG	Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi
LED	Işık Yayan Diyot
LM317	Ayarlanabilir Pozitif Voltaj Regülatörü
MATLAB	Matris Laboratuvarı
MS	Kütle Spektrometrisi
MS-DIAL	Kütle Spektrometrisi Verisi Bağımsız Analiz
OECD	Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
OPLS-DA	Ortogonal Projeksiyonlara Dayalı Ayrımcı Analiz
PBS	Phosphate-Buffered Saline
PE	Perikardiyal Ödem
QC	Kalite Kontrol Örnekleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SD	Standart Sapma
YSE	Yolk Sac Ödemi
ZIRC	Uluslararası Zebra balığı Merkezi

GİRİŞ

Son yirmi yılda güvenli ve verimli enerji cihazlarına yönelik artan talep, elektronik teknolojilerde büyük ilerlemelere yol açmıştır. Bu bağlamda, ışık yayan diyotlar (LED'ler), enerji tasarrufu ve uzun ömür avantajlarıyla hızla yaygınlaşmıştır (Hong ve Rahmat 2022). Özellikle enerji tüketimini azaltma yönündeki küresel baskılar, LED kullanımının artmasına ve bu teknolojiadaki araştırma ve geliştirme çalışmalarının hızlanmasına neden olmuştur. Enerji tasarruflu çözümlere olan talebin artması, LED teknolojisinde araştırma ve geliştirme çalışmalarını hızlandırmış ve modern enerji altyapılarında kritik bir rol oynamalarını sağlamıştır. Yapılan son çalışmalar, yarı iletken teknolojilerin, özellikle LED entegrasyonunun binalardaki elektrik tüketimini 2030 yılına kadar %50 oranında azaltacağı öngörülmektedir; LED'ler gelecekteki enerji stratejilerinde kilit bir rol oynayacaklarını göstermektedir (Papa 2012). Bu ngrler, LED teknolojisinin yalnızca enerji tasarrufu açısından değil, çevresel sürdürülebilirlik açısından da önemini vurgulamaktadır. Bu teknolojik değişim, yalnızca enerji verimliliğini artırmakla kalmamış, aynı zamanda sera gazı emisyonlarını da önemli ölçüde azaltarak LED'leri sürdürülebilir kalkınma stratejilerinin temel taşlarından biri haline getirmiştir (Hung vd 2012). LED'lerin geniş çapta kullanılması, fosil yakıtlara olan bağımlılığı azaltmada da küresel çabalara katkıda bulunarak, iklim değişikliğinin etkilerini hafifletmiştir. LED teknolojisine geçiş, karbon ayak izinin azaltılmasında önemli bir adım olarak öne çıkmıştır (Janda vd 2016). Küresel aydınlatma sektöründe LED'lerin artan pazar payı, bu teknolojiye olan talebin giderek yükselmesine yol açmaktadır.

2020 yılında binalarda LED kullanımı, dünya genelindeki aydınlatma sistemleri satışlarının %50'den fazlasını oluşturmuştur. Sıfır emisyon hedeflerine ulaşma doğrultusunda, bu oranın 2025 yılına kadar %100'e çıkması beklenmektedir. Bu durum, insanların LED ışığına maruz kalma düzeylerinde önemli bir artışa yol açacaktır. (Hong ve Rahmat 2022). LED teknolojisinin hızla benimsenmesi, küresel enerji taleplerini karşılamada önemli bir adım olsa da, çevresel etkileri en aza indirmek için daha fazla yeniliğe ihtiyaç duyulmaktadır.

Yüksek verimli LED aydınlatma sistemlerinin geliştirilmesi, artan enerji taleplerini karşılayanın yanı sıra, küresel sürdürülebilirlik hedeflerine ulaşmak için hayati önem taşıyan sera gazı emisyonlarını en aza indirmek için de çözümler sunmaktadır (İnan ve Arik 2014). LED teknolojisi gelişmeye devam ederken, uygulama alanlarının geleneksel aydınlatmanın ötesine geçerek, akıllı şehirler ve gelişmiş ulaşım sistemleri dahil olmak üzere modern

altyapının çeşitli yönlerine nüfuz etmesi beklenmektedir. Bu eğilim, LED'lere büyük ölçüde bağımlı olan akıllı aydınlatma sistemlerinin, akıllı şehirlerin enerji verimliliğini ve güvenliğini artırmada kritik olduğunu belirten araştırmalarla desteklenmektedir (Strielkowski vd 2020).

LED'ler günlük kullanımlarının yanı sıra belirli dalga boylarını yayabilme kapasiteleri sayesinde çevresel izleme ve yönetimde giderek artan bir kullanıma sahiptir. Bu kullanım alanı çeşitli organizmaların büyüme, gelişim ve metabolik aktiviteleri üzerinde önemli etkiler yaratmaktadır. (Moreira vd 2021). LED'lerin belirli dalga boylarını yayabilme özelliği, tarımsal verimlilikten ekosistem yönetimine kadar geniş bir yelpazede LED kullanımını mümkün kılarak kontrollü tarımsal ortamlarda, bitki büyümesini optimize etmede ve enerji verimliliğini artırmada önemli bir rol oynamış ve sürdürülebilir tarım uygulamalarının yolunu açmıştır (Bantis vd 2018). Örneğin, tarımda, LED'ler, belirli mahsullere en uygun ışık spektrumunu sağlayarak bitki büyümesini optimize etmek için kullanılmaktadır. Bu uygulama, geleneksel aydınlatma yöntemlerine kıyasla mahsul verimini artırma ve enerji tüketimini azaltma potansiyeline sahiptir (Moreira vd 2021). Ayrıca, LED'lerin su ürünleri yetiştiriciliğindeki uygulamaları, sucul ekosistemler üzerinde önemli etkiler yaratarak, sucul türlerin büyüme oranlarından çevrenin genel sağlığına kadar her şeyi etkilemiştir (Olimov ve Yusupov 2021).

LED'ler, özellikle dermatoloji ve ağrı yönetiminde, daha hedefe yönelik ve etkili tedaviler sunan tıbbi fototerapide büyük bir etkiye sahiptir (Christian vd 2013). Örneğin, belirli dalga boyları cilt rahatsızlıkları ve diğer tıbbi bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır (Calderhead 2007). Fototerapiye olan ilginin artması ve minimal invaziv tedavilere yönelik talebin yükselmesiyle birlikte, LED'ler dermatolojik tedavilerde de yaygınlaşmıştır (Carmello vd 2023). LED'ler, özellikle non-invaziv tanı ve tedavi yöntemlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu alanda, mikroskopik LED'lere entegre edilmiş optoelektronik cihazlar biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere geliştirilmektedir. (Zhang vd 2022). LED uygulamalarındaki bu çok yönlülük yalnızca enerji tüketimini değil aynı zamanda sağlık hizmetleri ve çevresel yönetim uygulamalarını da dönüştürme kapasitesini ortaya koymaktadır. Bu genişleyen uygulamalar, hem insan sağlığı hem de çevre üzerindeki LED maruziyetinin daha geniş sonuçlarını anlamının önemini işaret etmektedir (Ablon 2018).

LED'lerin farklı spektrumlarının insan vücudu üzerinde hem olumlu hem de olumsuz fizyolojik etkileri olduğu belirlenmiştir. Bu etkiler, beyin hasarı ve otizm spektrum bozukluklarından cilt iyileşmesine kadar geniş bir yelpazede değişiklikler gösterebilmektedir (Opel vd 2015; Heiskanen ve Hamblin 2018). LED etkilerinin bu ikili doğası, faydaların en üst düzeye çıkarılması ve potansiyel risklerin en aza indirilmesi için dengeli bir yaklaşım gerektirmektedir. Özellikle kırmızı ve yakın kızılötesi LED'ler, dokuların derin katmanlarına

ulaşarak yara iyileşmesini desteklemek ve iltihaplanmayı azaltmak amacıyla terapötik kullanımlar için incelenmiştir. Mavi LED ışığı ise antimikrobiyal özellikleri sayesinde mikroorganizmaları etkili bir şekilde inaktive edebilmekte ve bu nedenle çeşitli tıbbi ve çevresel uygulamalarda kullanılmaktadır (Hasenleitner ve Plaetzer 2019). LED teknolojisinin tıbbi tedavilerdeki yenilikçi kullanımları, hastaya özel olarak özelleştirilebilen non-invaziv seçenekler sunarak sağlık sektörüne önemli katkılar sağlamaktadır (Martinez-Vega vd 2020).

LED'ler, çeşitli renklerde ışık yayabilen yarı iletken elemanlardır. LED'in rengini, yarı iletken malzemenin enerji bandı aralığı ve yaydığı ışığın dalga boyu belirler. Beyaz ışık, farklı renkteki LED'lerin bir araya getirilmesiyle oluşturulur. Mavi LED'ler yaklaşık 450-495 nm, yeşil LED'ler 495-570 nm, ve kırmızı LED'ler 620-750 nm dalga boylarına sahiptir. Araştırmalar, mavi LED ışığının artan beslenme faaliyetlerini desteklediğini, beslenme süresini kısalttığını ve mekânsal dağılımının daha etkin gerçekleşmesine katkıda bulunduğunu; turuncu LED'in ise gelişime olumlu etkiler sağladığının ortaya koymaktadır. Ayrıca, mavi ışığın hapishane stresli Nil tilapyasında kortizol tepkisini önlediği ve beyaz ile kırmızı LED maruziyetinin zebra balığı larvalarında çeşitli morfolojik anormallikler ve renk pigmentasyonu kaybına neden olduğu belirlenmiştir (Volpato ve Barreto 2001; Villamizar vd 2013; Wu vd 2021).

LED'lerin dalga boylarının hassas bir şekilde düzenlenebilmesi, bu teknolojinin farklı uygulamalarda kullanılmasına olanak tanımaktadır. Ayrıca, LED emisyonlarının hassas bir şekilde kontrol edilebilmesi, çevredeki dokulara zarar vermeden biyolojik etkilerin hedeflenmesini mümkün kılarak, geleneksel tedavi yöntemlerinin sınırlı kaldığı alanlarda etkili bir çözüm sunmaktadır (Hung vd 2012; Habenicht vd 2013). LED'ler, sucul organizmalar üzerinde beslenme, büyüme hızı ve üreme döngüsü gibi davranışları etkileyerek çeşitli değişikliklere yol açaabilmektedir. Farklı LED ışık spektrumlarının sucul türlerde büyüme ve hormonal düzenleme üzerindeki etkilerini inceleyen araştırmalar bu durumu doğrulamaktadır (Xu vd 2023). Ayrıca, LED'lerin farklı dalga boylarının sucul bitkilerin fotosentetik aktivitesini etkileyerek su ekosistemlerindeki birincil üretimi önemli ölçüde değiştirdiği gösterilmiştir (Grubisic vd 2018). LED teknolojisinin hassas kontrolü, tarımsal uygulamalarda ışık koşullarını optimize ederek bitki büyümesini artırmıştır. Bahçecilikte LED kullanımıyla ışık spektrumları, farklı bitki türlerinin özel ihtiyaçlarına uygun şekilde ayarlanarak bitki gelişimini önemli ölçüde iyileştirmektedir (Bantis vd 2018). Bu bulgular, LED dalga boylarının biyolojik etkilerinin çeşitliliğini vurgulamakta ve hem tıbbi hem de çevresel uygulamalarda ışık parametrelerinin dikkatli bir şekilde seçilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır (Xu vd 2019).

Son yüzyılda, sanayi devrimiyle birlikte fosil yakıtların yoğun kullanımı, atmosfere büyük miktarlarda sera gazı salınmasına yol açmış, bu da küresel ısınmanın en önemli sebeplerinden biri haline gelmiştir. Karbondioksit (CO₂) ve metan (CH₄) gibi gazların atmosferde birikmesi, güneşten gelen enerjinin tutulmasına neden olarak Dünya'nın sıcaklığını artırmaktadır (Shakoor vd 2020). Bu süreç, iklim dengelerini bozmakla kalmayıp deniz seviyelerinin yükselmesi ve buzulların erimesi gibi çevresel değişimlere de neden olmaktadır (Tian vd 2016). Küresel ısınmanın bu etkileri, yalnızca iklim ve doğa üzerinde değil, aynı zamanda çevresel faktörlerin insan sağlığı ve biyolojik süreçler üzerindeki etkileri konusunda da önemli sonuçlar doğurmaktadır.

Çevresel faktörler, özellikle sıcaklık ve ışık, hem insanlarda hem de hayvanlar ve mikroorganizmalarda gelişimsel ve fizyolojik süreçleri önemli ölçüde etkiler (Rehman ve Dixit 2020). İklim değişikliği ile birlikte çevresel koşulların değişmesi, sirkadiyen ritimler ve bağışıklık tepkileri gibi birçok biyolojik mekanizma üzerinde etkili olabilir (Calderhead 2007). Küresel ısınma, bu değişimlerin belirgin bir sonucudur ve günümüzün en büyük sorunlarından biri olarak kabul edilmektedir (Romm 2022). Yapılan araştırmalar, önümüzdeki 20 yıl içinde her on yılda ortalama sıcaklıkların 0.2°C artmasının beklendiğini ve 2100 yılına kadar sıcaklıkların 1.8°C ile 4°C arasında yükselme olasılığının bulunduğunu öngörmektedir (Gobo vd 2022). Bu artış, buzulların erimesiyle su sıcaklıklarında değişikliklere neden olabilir ve bu durum sucul organizmaların biyolojik çeşitliliği ve ekolojik dengesi üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir.

Küresel sıcaklıkların kademeli olarak yükselmesi, mevcut çevresel stres faktörlerinin daha da şiddetlenmesine ve birçok türün fizyolojik ve davranışsal tepkilerinin değişmesine neden olabilir (Hung vd 2012). Bu stres faktörleri, ekosistem üzerinde beklenmedik sonuçlar doğurabilir ve biyolojik çeşitliliği korumak amacıyla adaptasyon stratejilerinin hayata geçirilmesini gerekli kılabilir. Ortaya çıkan araştırmalar, çevresel bozulma ve sıcaklık dalgalanmaları arasındaki etkileşimin, türlerin tepkilerini şiddetlendirebileceğini, biyolojik çeşitlilik kaybını hızlandırma potansiyeline sahip olduğunu ve proaktif koruma stratejilerine ihtiyaç duyulduğu vurgulamaktadır (Mugabo vd 2019). Küresel ısınma şiddetlendikçe, artan sıcaklıklar ve ışık kirliliği arasındaki sinerji, biyolojik çeşitliliğin korunması ve ekosistem dengesi konusunda eşi benzeri görülmemiş zorluklara yol açabilmektedir. İklim değişikliği, fenolojik değişimlere yol açarak ekolojik dengeleri bozma potansiyeline sahiptir (Visser ve Both 2005). Artan sıcaklıkların, yalnızca sucul türlerin anlık yaşam alanlarını etkilemekle kalmayıp aynı zamanda uzun vadede fizyolojileri ve üreme başarıları üzerinde de etkileri olduğu gösterilmiştir (Zhang vd 2019).

Küresel ısınmanın neden olduğu sucul ortamların yapısındaki değişiklikler habitat kaybına, türlerin dağılımında değişikliklere ve hatta yerel yok oluşlara neden olabilir, bu da biyolojik çeşitliliği daha fazla tehdit edebilir (Visser ve Both 2005). Çevresel sıcaklık değişiklikleri, balıkların büyüme, üreme ve metabolizmalarını ciddi şekilde etkileyebilir (Yasuhara ve Danovaro 2016; Knouft ve Ficklin 2017; Sulukan vd 2022). Örneğin, sıcaklıkların artması, organizmaların metabolizmasını hızlandırarak enerji gereksinimlerini artırabilir ve bu durum beslenme alışkanlıkları ile büyüme kalıplarını etkileyebilir (Kang vd 2015). Termal stres, sucul organizmaların metabolik ve fizyolojik performansını ciddi şekilde etkileyebilir (Pörtner 2010). Ayrıca, söz konusu değişikliklerin balıkların nörokimyasal dengesi ve davranışları üzerinde de etkili olabileceği ifade edilmektedir. Araştırmalar, sıcaklık kaynaklı stresin kortizol gibi stres hormonlarının seviyelerini artırabileceğini ve bu durumun balık popülasyonlarının genel sağlığı ve üreme başarılarını olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir (Angiulli vd 2020). Aşırı sıcaklık dalgalanmaları, balıkçılık baskısı ve patojen enfeksiyonları gibi çevresel stres faktörleriyle birleştiğinde, balık popülasyonlarında artan ölüm oranlarına yol açabilir (Teffe vd 2019).

Balıklar genellikle, kendileri için uygun sıcaklık şartlarına sahip olan bölgelere doğru göç etmektedirler. Ancak, doğal ya da insan kaynaklı çeşitli faktörler nedeniyle ideal sıcaklığa sahip bir habitat bulamazlarsa, balıklarda stres ve kaygı oluşabilir. (Angiulli vd 2020; Şenol vd 2023). Ayrıca, sıcaklık değişimlerinin sucul organizmaların gelecek nesilleri üzerinde etkili olabileceği öne sürülmüştür (Donelson ve Munday 2015; Donelson vd 2016). Sıcaklık stresi nedeniyle oluşan epigenetik değişiklikler yavrulara aktarılabilir ve potansiyel olarak onların gelişimlerini ve hayatta kalma oranlarını etkileyebilir (Donelson ve Munday 2015). Epigenetik değişiklikler, iklim değişikliğinin geniş kapsamlı sonuçlarını vurgulamakla birlikte yalnızca mevcut popülasyonları değil aynı zamanda gelecekteki nesillerin de dayanıklılığını etkileyebileceğini göstermektedir.. Önemli bir çalışma, sıcaklık da dahil olmak üzere çevresel stres faktörlerinin, uzun vadeli türlerin hayatta kalmasını etkileyen epigenetik değişiklikleri nasıl tetikleyebileceğini göstermektedir (Ryu vd 2018).

Küresel ısınmanın popülasyonlar üzerindeki etkilerini değerlendirebilmek için düşük sıcaklık artışlarına karşı organizmaların fizyolojik ve davranışsal tepkilerini anlamak, önemli bir adım olarak kabul edilmektedir (Visser ve Both, 2005). Elde edilen sonuçlar, türlerin değişen çevresel koşullara karşı dayanıklılığını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu vurgulamaktadır. Türlerin iklim değişikliği ve ışık kirliliğinin birleşik etkilerine nasıl uyum sağlayacaklarını anlamak, gelecekteki koruma çabalarını şekillendirmek ve ekosistemlerin uzun vadeli sağlığını desteklemek için hayati öneme sahiptir (Mir vd 2020). Işık,

sıcaklık, yoğunluk, spektrum ve fotoperiyot gibi özelliklerle karakterize edilir ve ekosistemlerde organizmaların fizyolojik durumu, büyümesi, biyolojisi ve davranışlarının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar (Martín ve Lopez 2013; Paital vd 2016; Simensen vd 2000; Wu vd 2021; Kamimura ve Shoji 2024). Işık ve sıcaklık arasındaki etkileşim, ekosistemlerin devam eden iklim değişikliğine nasıl tepki vereceğini öngörmeye özellikle önemlidir. Işık kirliliği ve iklim değişikliği, doğal ışık ve sıcaklık döngülerini değiştirerek ekosistemleri ortaklaşa etkileyebilir (Dominoni vd 2013). Bu durum sucul ortamlarda özellikle belirgin olup, ışık koşullarındaki dalgalanmalar yalnızca organizmaların büyüme ve gelişmelerini değil, aynı zamanda üreme ve hayatta kalma stratejilerini de etkileyebilir (Xu vd 2019). Özellikle LED gibi yapay kaynaklardan yayılan ışık kirliliğinin, hem karasal hem de sucul ekosistemler üzerindeki etkileri konusundaki endişeler artmaktadır (Parkinson ve Tiegs 2023). Ayrıca, yapılan çalışmalar, gece yapay ışığın (ALAN), çeşitli türlerin davranışsal ve fizyolojik kalıplarını önemli ölçüde değiştirebileceğini, bu durumun potansiyel olarak tüm ekosistemleri bozabileceğini göstermektedir (Touzot vd 2020). Bu bulgular, ışık kirliliği ile diğer çevresel stres faktörleri arasındaki karmaşık etkileşimleri öne çıkarırken, ekosistem sağlığının korunmasında bütüncül yaklaşımlara duyulan ihtiyacı da vurgulamaktadır. Işık kirliliği ve iklim değişikliğinin birleşik etkileri üzerindeki araştırmaların artması, birbirine bağlı çevresel zorluklarla başa çıkmak için entegre yönetim uygulamalarının gerekliliğini ortaya koymaktadır (Strielkowski vd 2020).

Gerçekleştirilen çalışmada, zebra balığı embriyoları ve larvaları, çeşitli su sıcaklıkları ve ışık dalga boylarına maruz bırakılarak bu faktörlerin organizmadaki morfolojik, fizyolojik, davranışsal ve metabolik değişiklikler üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu tepkilerin anlaşılması, yalnızca sucul türlerin çevresel değişikliklere karşı dayanıklılığını değerlendirmeye yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda iklim değişikliğinin olumsuz etkilerini hafifletmeye yönelik koruma stratejilerinin geliştirilmesini sağlar. Zebra balığı, çevresel stres faktörlerine duyarlılığı nedeniyle çevresel izleme için değerli bir model organizma olup, ekolojik araştırmalarda önemli bir rol oynamaktadır (Zhang 2011). Bu tür deneysel çalışmalar, özellikle iklim değişikliği ve ışık kirliliği gibi küresel sorunların sucul ekosistemler üzerindeki potansiyel etkilerini anlamada kritik bir rol oynar. Araştırmalardan elde edilen bulgular, gelecekte uygulanacak koruma stratejilerinin belirlenmesi ve ekosistemlerin uzun vadeli sürdürülebilirliği için büyük önem taşır (Nicholson vd 2020). Organizmaların çevresel stres faktörlerine verdikleri yanıtları inceleyerek, gelecekteki değişimlerin olası sonuçlarını daha iyi kavrayabilir ve bu etkilerin önüne geçmek için gerekli stratejileri geliştirebiliriz.

KAYNAK ÖZETİ

Işık spektrumlarının biyolojik etkileri ve küresel ısınmanın sucul ekosistemler üzerindeki etkileri, ekolojik ve çevresel açıdan büyük bir öneme sahiptir. Bu bölümde farklı LED ışıklarının (özellikle kırmızı) ve küresel ısınmanın sucul organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri, mevcut literatürden çeşitli çalışmalarla detaylı bir şekilde sunulmaktadır.

Zebra balıklarının kırmızı LED ışığına maruz kalması, perikardiyal ödem gibi morfolojik deformasyonlara yol açmıştır (Üstündag vd 2019) Benzer şekilde, kırmızı ışığın barfin pisi balığı ve diğer sucul türler üzerindeki olumsuz etkileri rapor edilmiştir; bu ışık spektrumu, bu türlerin büyüme oranlarında azalmaya neden olmuştur (Yamanome vd 2009). Ayrıca, kırmızı LED ışığının sucul ekosistemlerde biyokütle üretimini ve birincil üreticilerin verimliliğini önemli ölçüde azaltabileceği, bu durumun ekosistem işlevlerini olumsuz etkileyebileceği gösterilmiştir (Grubisic vd 2018).

Beyaz LED ışığı da benzer şekilde zararlı etkilere sahiptir. Sürekli beyaz ışığa maruz kalan zebra balığı larvalarında, büyüme oranlarının düşük olduğu ve bu durumun deney boyunca devam ettiği kaydedilmiştir (Villamizar vd 2013). Ayrıca, beyaz LED ışığının, tatlı su ekosistemlerinde birincil üreticiler üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği ve biyokütle düşüşlerine yol açabileceği belirtilmiştir (Grubisic vd 2018). Beyaz LED ışığının, sucul ekosistemlerde yaprak döküntülerinin parçalanması sürecini hızlandırarak bu ekosistemlerin dengesi üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği, ancak bu hızlanmanın makroomurgasızlar üzerindeki büyüme oranlarını olumsuz yönde etkileyebileceği de gözlemlenmiştir (Czarnecka vd 2021). Ek olarak, beyaz LED ışıklarının fotosentetik bakteriler üzerindeki etkileri incelendiğinde, bu ışıkların biyokütle üretimini azalttığı ve bazı sucul bitki türlerinin gelişimini olumsuz yönde etkilediği bulunmuştur (Zhou vd 2015).

Buna karşılık, mavi ve yeşil LED ışıklarının sucul organizmalar üzerinde daha olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Mavi ışığın, Nil tilapia balıklarında stres kaynaklarına karşı kortizol tepkisini engelleyebileceği görülmüştür (Volpato ve Barreto 2001). Buna karşılık, mavi LED ışıklarının sucul organizmalar üzerinde daha olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Mavi ışığın, balıklar üzerindeki büyüme performansını, davranışlarını ve bağışıklık tepkilerini iyileştirdiği bulunmuştur (Noureldin vd 2021). Ayrıca, mavi ve yeşil ışık spektrumlarının, Atlantik morinası ve barfin pisi balığı gibi türlerde somatik büyümeyi artırdığı rapor edilmiştir (Sierra-Flores ve ark 2016). Yeşil LED ışığı ise, sucul organizmalarda oksidatif stres ve

apoptozu azaltarak termal strese karşı koruma sağlamaktadır. Yeşil ışık, yüksek sıcaklıklara maruz kalan balıklarda, hücresel hasarı azaltmak ve bağışıklık sistemini güçlendirmek için etkili bir yol olarak önerilmektedir. Bu ışıklar ayrıca, oksidatif stresle savaşılan antioksidan bileşiklerin miktarını artırarak sucul organizmaların stresle başa çıkmasına yardımcı olmaktadır. (Kim vd 2016). Mavi LED ışığının ayrıca balıklardaki viral enfeksiyonlara karşı koruma sağladığı ve bu nedenle su ürünleri yetiştiriciliğinde hastalık kontrolü için potansiyel bir araç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (Roh vd 2020).

Küresel ısınmanın sucul ekosistemler üzerindeki etkileri de endişe vericidir. Artan su sıcaklıkları, balıkların metabolizma, büyüme, sağ kalım, bağışıklık ve üreme gibi hayati fizyolojik süreçlerini olumsuz etkileyebilir ve sonuç olarak türlerin dağılımını ve ekosistemlerin genel işleyişini ciddi şekilde tehdit edebilir (Deutsch vd 2015). Özellikle hassas ekosistemlerde biyolojik çeşitliliğin azalmasına ve ekosistem işlevlerinin bozulmasına neden olma potansiyeli yüksektir. Ayrıca, küresel ısınma sucul ekosistemlerde biyolojik çeşitlilik ve ekosistem hizmetleri üzerinde önemli tehditler oluşturarak, sistemlerin işlevini ve sağlığını tehlikeye atmaktadır (Pech vd 2017). Ortaya çıkan bu değişiklikler, besin zincirinin üst kademelerindeki türleri de etkileyebilir, avcı ve av ilişkilerini bozarak ekosistem dengesini ciddi biçimde sarsabilir (Rall vd 2009). Küresel iklim değişikliği, UV radyasyonu ile birleştiğinde, sucul ekosistemlerde organizmaların biyokimyasal süreçlerini etkileyerek dengeyi daha da bozma riski taşır (Häder vd 2014).

Sonuç olarak, ışık spektrumlarının sucul organizmalar üzerindeki biyolojik etkileri ve küresel ısınmanın neden olduğu çevresel stres, bu organizmaların yaşamlarını ve ekosistem dengelerini derinden etkilemektedir. Ancak, yeni teknolojiler ve dar bant genişliğine sahip ışık kaynakları, bu etkileri minimize etme potansiyeline sahiptir ve balık yetiştiriciliği gibi sektörlerde daha etkili çözümler sunabilir. Örneğin, mavi LED ışıkları, balıkların stres düzeylerini ve bağışıklık tepkilerini iyileştirerek sucul ortamlarda daha sağlıklı bir yaşam sağlayabilir (Migaud vd 2007). Ayrıca, belirli dalga boylarına sahip dar bant ışık kaynaklarının kullanımı, balıkların büyüme performansını artırabilir ve oksidatif stresi azaltarak çevresel etkileri en aza indirebilir (Kim vd 2016). Bu yenilikçi yaklaşımlar, balık yetiştiriciliğinde verimliliği artırma ve çevresel sürdürülebilirliği sağlama açısından büyük bir potansiyel taşımaktadır.

MATERYAL VE METOT

Balık Materyali

Zebra balığı (*Danio rerio*), doğal olarak Hindistan, Pakistan, Bangladeş gibi Güney Asya ülkelerinin tatlı su nehirleri ve akarsularında yaşamaktadır (Kimmel vd 1995). Zebra balıkları, genellikle 4-5 cm uzunluğunda, ince ve gümüşü renkte olup vücutlarında siyah-beyaz çizgiler taşıyan omurgalı canlılardır. Çizgiler, balıkların "zebra balığı" olarak adlandırılmasına neden olmuştur.

Yapılan bu tez çalışmasında, özellikle son 20 yılda yaygın olarak kullanılan AB genotipli zebra balıklarının (*Danio rerio*) embriyoları kullanılmıştır. Araştırmada zebra balıklarının kullanılmasının birçok nedeni vardır. Zebra balıkları, biyomedikal ve genetik araştırmalarda önemli bir model organizma olarak kabul edilir çünkü insan genomunun %70'ten fazlasıyla benzerlik gösterirler (Choi vd 2021). Diğer avantajları arasında laboratuvar ortamında düşük maliyetli bakım, hızlı üreme döngüsü ve yılda binlerce embriyo üretme yeteneği bulunmaktadır. Zebra balığı embriyolarının şeffaf olması, araştırmacılara canlı embriyoları gelişim evrelerinde mikroskop altında inceleme fırsatı sunar (Veldman ve Lin 2008). Özellikle embriyonik gelişimlerinin dış ortamda gerçekleşmesi ve kolay gözlemlenebilir olmaları, gelişim biyolojisi araştırmalarında büyük bir avantaj sağlar.

Zebra balığının embriyonik gelişimi

Zebra balığının embriyonik gelişimi oldukça hızlıdır ve genellikle döllenmeden 3 gün sonra tamamlanır. Şekil 1'de gösterilen bu süreç birkaç temel evreye ayrılarak incelenir:

Zigot Evresi: Döllenmeden hemen sonra zigot oluşur. İlk hücre bölünmeleri hızla gerçekleşir.

Cleavage Evresi: Zigotun bölünmesi sonucu embriyo çok hücreli bir yapı kazanır.

Blastula Evresi: Bölünmeler devam ettikçe hücreler bir araya gelerek blastula adını verdiğimiz küresel yapıyı oluşturur. Blastula evresi, embriyonun gelişimi açısından kritik öneme sahiptir.

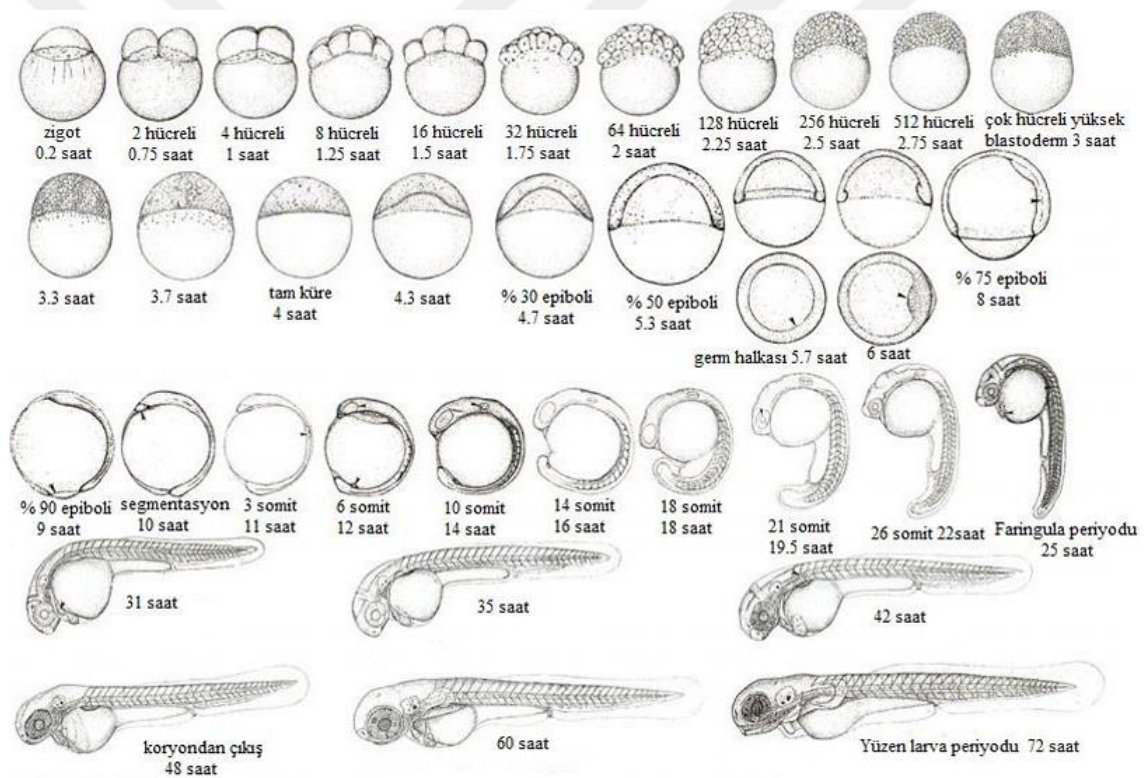
Gastrula Evresi: Gastrula evresinde embriyo üç ana hücre tabakasına ayrılır: ektoderm (sinir sistemi ve deri), mezoderm (kaslar, kemikler ve dolaşım sistemi) ve endoderm (iç organlar).

Segmentasyon Evresi: Kas ve iskelet sisteminin temeli olan somitler oluşur. Embriyo içinde bulunduğu evrede hızla şekil almaya başlar (Kimmel vd 1995).

Farinks Evresi: Organ sistemlerinin gelişimi hızlanır ve embriyo gözle görülebilir organlar oluşturmaya başlar.

Çıkış (Hatching) Evresi: Yaklaşık 48-72 saat sonra embriyo, yumurtasından çıkarak yüzme yeteneği kazanan bir larva haline gelir.

Gelişim süreci, zebra balıklarının genetik ve biyolojik süreçlerin incelenmesi için ideal bir model organizma olmasını sağlar. Embriyolarının dışarıda gelişmesi ve saydam yapısı, araştırmacıların gelişim süreçlerini canlı olarak gözlemlemelerine olanak tanır (Abrams ve Mullins 2009). Ayrıca, embriyo gelişiminde maternal genlerin büyük rol oynadığı ve bu genlerin embriyonun erken gelişim süreçlerini yönlendirdiği gösterilmiştir.



Şekil 1. Zebra balığı embriyosunun gelişim süreci (Kimmel vd 1995)

Zebra balığının model organizma olarak kullanılmasının avantajları

Zebra balığı, biyomedikal araştırmalarda özellikle genetik ve gelişimsel süreçlerin incelenmesinde yaygın olarak kullanılan bir model organizmadır. Zebra balığının model organizma olarak tercih edilmesinin birkaç temel avantajı bulunmaktadır:

- Zebra balığının genomu insan genomuna oldukça benzerdir. Bu benzerlik, zebra balığını genetik manipülasyon ve genetik ekranlamalar için uygun bir model organizma haline getirmiştir. CRISPR gibi gen düzenleme teknolojilerinin

kullanımı, zebra balıkları üzerinde yapılan çalışmalarla hız kazanmıştır (Choi vd 2021). Zebra balığı genetik ekranları, genlerin fonksiyonlarının ve insan hastalıkları ile olan ilişkilerinin belirlenmesinde büyük rol oynamaktadır (Veldman ve Lin 2008).

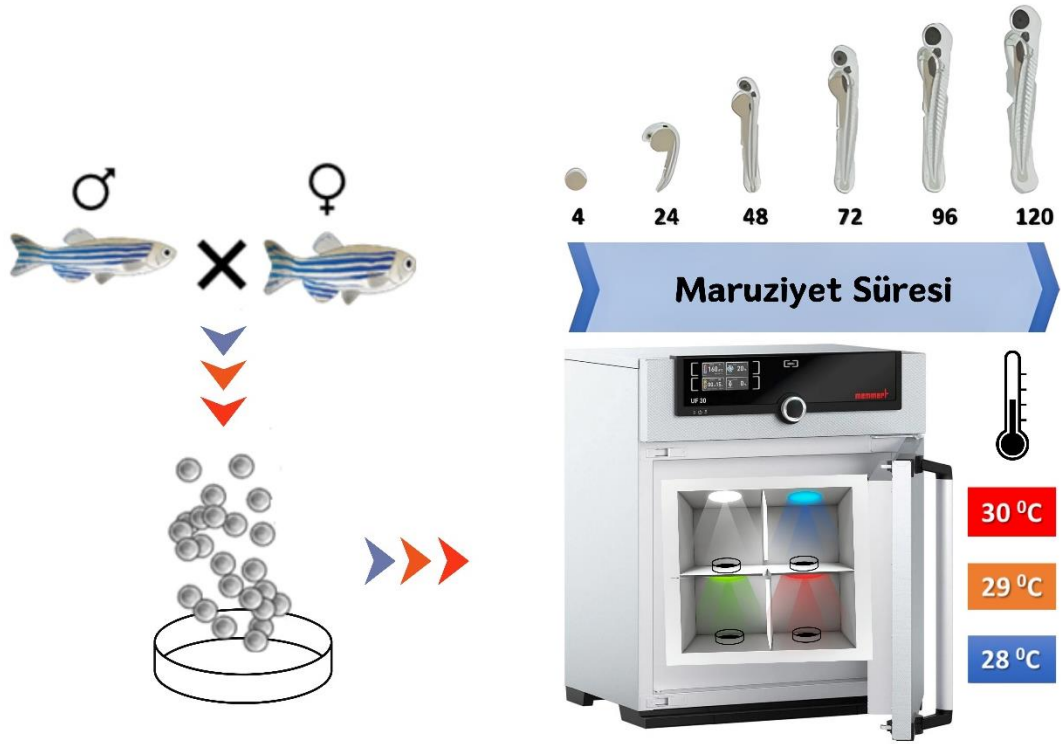
- Zebra balığı kanser araştırmalarında önemli bir model olarak kabul edilmektedir. Zebra balıkları üzerinde yapılan çalışmalar, tümörlerin gelişim süreçlerini canlı olarak gözlemlene imkanı sunmuştur. Kanser araştırmalarında, zebra balıkları kullanarak tümör baskılayıcı genlerin fonksiyonları incelenmiş ve çeşitli kimyasal bileşiklerin tümör baskılama potansiyeli araştırılmıştır (Feitsma ve Cuppen 2008).
- Zebra balıkları, ilaç taramaları için de son derece kullanışlıdır, zira ilaçların embriyolar üzerindeki toksik etkileri hızlı bir şekilde gözlemlenebilir. Kalp ve damar hastalıklarının tedavisi için yeni ilaçların keşfinde zebra balığı modelleri geniş bir şekilde kullanılmaktadır (Chico vd 2008). Zebra balıkları, kalp ve damar hastalıklarının patofizyolojisinin anlaşılmasına önemli katkılarda bulunarak klinik araştırmalara değerli katkılar sağlamıştır.
- Zebra balıkları özellikle son yıllarda nörobilim araştırmalarında da yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Zebra balıkları üzerinde gerçekleştirilen çalışmalar, depresyon, otizm ve nörodejeneratif hastalıklar gibi karmaşık beyin bozukluklarının daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır (Kalueff vd 2014). Genetik ve farmakolojik müdahalelerle beyin işlevlerinin incelenmesi, zebra balıklarını nörobilim alanında kritik bir model organizma haline getirmiştir. Ayrıca, immünoloji ve enfeksiyon hastalıkları araştırmalarında da model organizma olarak kullanılmaktadır. Zebra balıkları, patojenlerin vücut üzerindeki etkilerini ve immün yanıtların nasıl geliştiğini incelemek için ideal bir araçtır (Sullivan ve Kim 2008).

Sonuç olarak, zebra balığı, biyomedikal araştırmalarda model organizma olarak kullanılmasının sağladığı geniş avantajlar ile bilim dünyasına büyük katkılar sağlamıştır. Düşük maliyetli olması, genetik manipülasyonlara uygunluğu ve geniş çaplı genetik ve farmakolojik araştırmalara olanak sağlaması, zebra balığının biyomedikal araştırmalarda kilit bir rol oynamasına neden olmuştur (Tavares ve Santos Lopes 2013).

Deneysel Tasarım

Bu çalışma, farklı ışık renkleri ve sıcaklık koşullarının zebra balığı (*Danio rerio*) embriyolarının gelişimi, hayatta kalma oranları ve morfolojik değişiklikleri üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Deney düzeneği, beş farklı ışık grubu (karanlık kontrol, mavi, yeşil, kırmızı ve beyaz) ve üç farklı sıcaklık grubu (28°C, 29°C ve 30°C) içermektedir

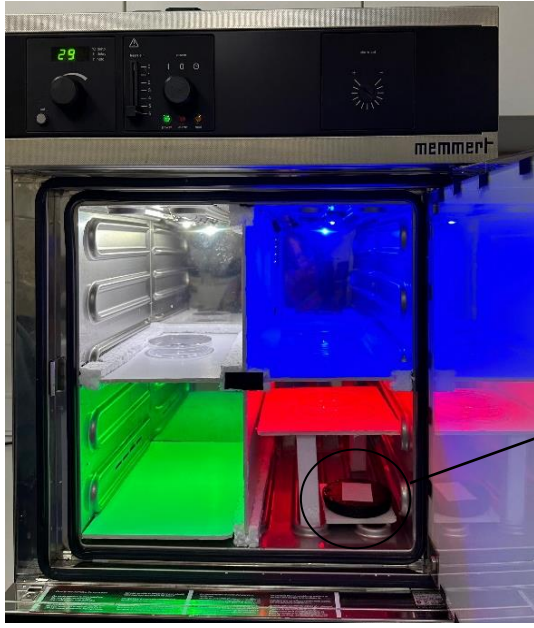
(Şekil 2). Her grup için, Zebra balığı Uluslararası Kaynak Merkezi'nden (ZIRC, ABD) temin edilen AB hattından en az 300 zebra balığı embriyosu kullanılmıştır. Deneyler, gruplar arasında tutarlılığı sağlamak amacıyla üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2. Deneysel özet

Deneysel ortamın hazırlanması

Deneysel ortam, sıcaklık kontrolü olan özel tasarım bir inkübatör içerisine yerleştirilen fotobloklar kullanılarak dört eşit bölüme ayrılmıştır. Bu tasarım, farklı ışık renklerinin karışmasını önlemek ve zebra balığı embriyolarının, belirgin ve müdahalesiz bir şekilde mavi, yeşil, kırmızı veya beyaz ışıklara eşit şekilde maruz kalmalarını sağlamak amacıyla uygulanmıştır (Şekil 3). Her renk için yüksek güçlü LED'ler kullanılmış ve embriyoların maruz kaldığı ışık yoğunluğunun tutarlı ve eşit olmasını sağlamak amacıyla tüm maruz kalma süresi boyunca ışık yoğunluğu 400 lüks olarak sabit tutulmuştur.



**Karanlık Grup
Petrisi**

Şekil 3. Deneysel tasarım

LM317 transistörlü devre tasarımı ve ışık yoğunluğu kontrolü

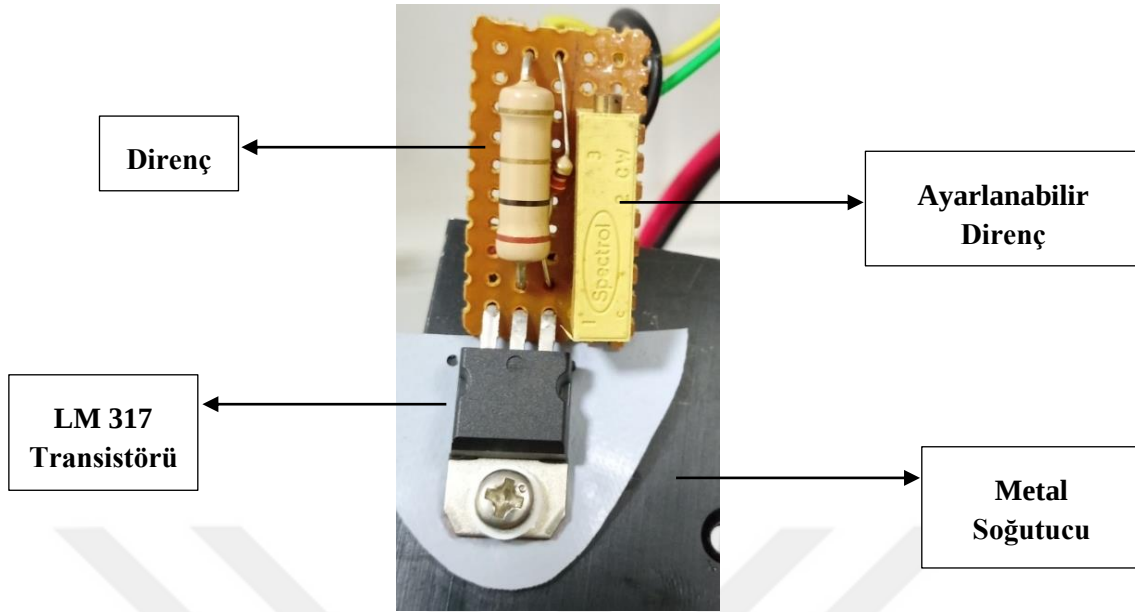
Deneyde kullanılan LED'lerin voltaj seviyelerini hassas bir şekilde kontrol etmek amacıyla, LM317 transistörleri kullanılarak özel bir devre tasarlanmıştır. Bu devre, her bir LED için ayrı ayrı düzenlenmiş olup, voltaj düzenlemesi sağlamak üzere optimize edilmiştir. LM317, pozitif bir voltaj düzenleyici olarak işlev görerek, LED'lere sabit bir voltaj sunar ve bu sayede istenen ışık yoğunluğunun korunmasına katkıda bulunur.

Devrede, LM317 düzenleyicileri LED'lerin voltaj girişine bağlanmıştır. Her LM317, belirli bir voltaj seviyesinde çalışacak şekilde ayarlanmış olup, bu voltaj devredeki bir direnç aracılığıyla hassas bir şekilde kontrol edilmektedir. Bu direnç, LED'lerden geçen akımı ve dolayısıyla üretilen ışık yoğunluğunu belirlemektedir.

Işık yoğunluğunu korumak amacıyla, LM317'nin çıkış voltajı bu ayar direnci üzerinden düzenlenmekte olup, her LED'in sabit bir ışık seviyesinde çalışmasını sağlamaktadır. (Haddouk vd 2020). Isı dağılımını artırmak ve devrenin uzun vadeli güvenilirliğini sağlamak amacıyla, LM317 düzenleyicilerinin montajında metal soğutucular kullanılmıştır. Bu soğutucular, LM317'nin aşırı ısınmasını önleyerek, devrenin istikrarlı performansına katkıda bulunmaktadır (Şekil 4).

LED'lerin ışık yoğunluğunu korumak için gerekli voltaj ölçümleri, dijital multimetre kullanılarak hassas bir şekilde yapılmıştır. Dijital multimetre kullanılarak her LED'in ışık yoğunluğu 400 lüks seviyesinde sabitlenmiş, böylece embriyoların farklı ışık renklerine maruz kaldığı koşullarda homojen ve sürekli ışıklandırma sağlanmıştır. Bu yaklaşım, deneysel gruplar

arasındaki ışık maruziyetinin tutarlılığını garanti etmek ve embriyoların farklı spektral koşullarda eşit ışık şiddeti altında tutulması açısından kritik öneme sahiptir.



Şekil 4. LM317 devre tasarımı

Karanlık kontrol grubu ve embriyo hazırlığı

Karanlık kontrol grubu, ışığa maruz kalmanın etkilerini değerlendirmek amacıyla oluşturulmuş ve petri kapları ışık geçirmez malzemeyle kaplanarak embriyoların tamamen karanlıkta kalması sağlanmıştır. Bu grup, zebra balığı embriyolarının ışığa maruz kalmasının etkilerini karşılaştırmak için temel alınmıştır. Sağlıklı ve döllenmiş embriyolar, üreme sürecinin ardından seçilerek, gelişimleri için gerekli besinleri sağlayan E3 ortamı içeren petri kaplarına yerleştirilmiştir. Petri kapları, sıcaklık kontrollü inkübatörlerde muhafaza edilmiş ve her kap, ilgili ışık grubuna maruz bırakılmıştır. Embriyoların sağlığını ve deneyin güvenilirliğini korumak amacıyla, E3 ortamı her 24 saatte bir yenilenmiştir. Yapılan işlem, çevresel koşulların tutarlılığını ve besin ortamının tazeliğini sağlamak açısından kritik öneme sahiptir.

Veri toplama ve analiz

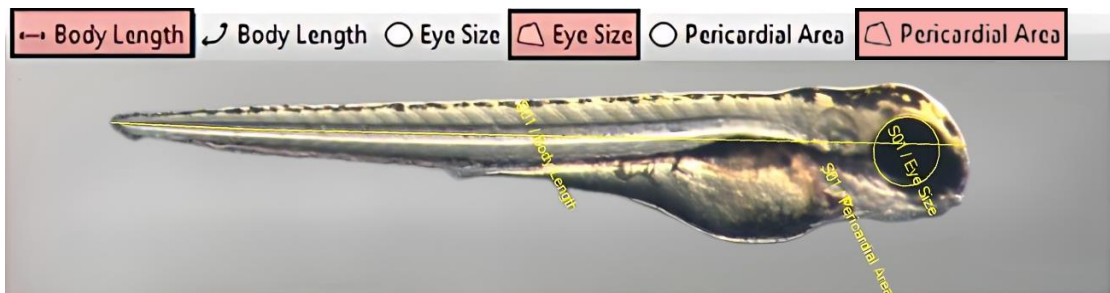
Deney süresince, embriyoların hayatta kalma oranları, kuluçka oranları ve morfolojik değişiklikleri her 24 saatte bir titizlikle kaydedilmiştir. Özellikle döllenmeden 4 saat sonrası (hpf) ile 120 hpf arasındaki embriyoların gelişim aşamaları izlenmiş ve bu süre zarfında tüm gelişimsel değişiklikler ayrıntılı bir şekilde belgelenmiştir. Veri toplama sırasında, embriyolar çevresel koşullarından 2.5 dakikadan fazla uzak tutulmamıştır. Bu zaman sınırı, stres seviyelerini en aza indirmek ve embriyoların çevresel değişikliklerden etkilenmemelerini sağlamak amacıyla belirlenmiştir.

Etik standartlar ve yönergeler

Deneyler, Atatürk Üniversitesi'nin (2024-07-193) onaylı Kurumsal Etik Kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm deneysel prosedürler, çevresel ve hayvan refahına ilişkin OECD yönergelerine tam uyum içinde yürütülmüştür. Bu etik standartlar ve yönergeler, embriyoların refahını ve çalışmanın bilimsel geçerliliğini sağlamak için titizlikle takip edilmiştir.

Morfolojik ve fizyolojik gözlemler

Farklı ışık renkleri ve sıcaklık koşullarına maruz bırakıldıktan sonra, zebra balığı (*Danio rerio*) larvaları üzerindeki morfolojik ve fizyolojik etkiler titizlikle değerlendirilmiştir. Deney gruplarındaki en az 45 larvadan alınan vücut uzunluğu, perikardiyal ödem (PE) ve göz çapı gibi temel parametreler ölçülmüştür. Ölçümler, maruz kalma süresinin sonunda Danio Scope (Noldus) yazılımı ile yapılmıştır (Şekil 5). Bu yazılım, zebra balığı larvalarının morfolojik analizinde yaygın olarak kullanılan güvenilir bir araç olarak bilinmektedir. Vücut uzunluğu, larval gelişimin genel sağlığını ve büyümesini yansıtan kritik bir göstergedir (Kamata ve Igarashi 1995). Perikardiyal ödem, özellikle çevresel stres faktörleriyle ilişkili bir gelişimsel anomali olarak tanımlanmakta olup, kardiyak fonksiyonda potansiyel bozulmaların bir göstergesi olabilir (Sulukun vd 2022). Göz çapı, nörogelişimsel süreçlerin önemli bir göstergesi olup, hem ışık maruziyetine hem de sıcaklık değişikliklerine duyarlıdır (van der Meijden vd 2015). Ölçümlere ek olarak, larvaların gelişim süreçlerini ve olası anormalliklerini daha kapsamlı bir şekilde değerlendirmek amacıyla vitellus kesesi alanı ve yüzme kesesi şişmesi de incelenmiştir.



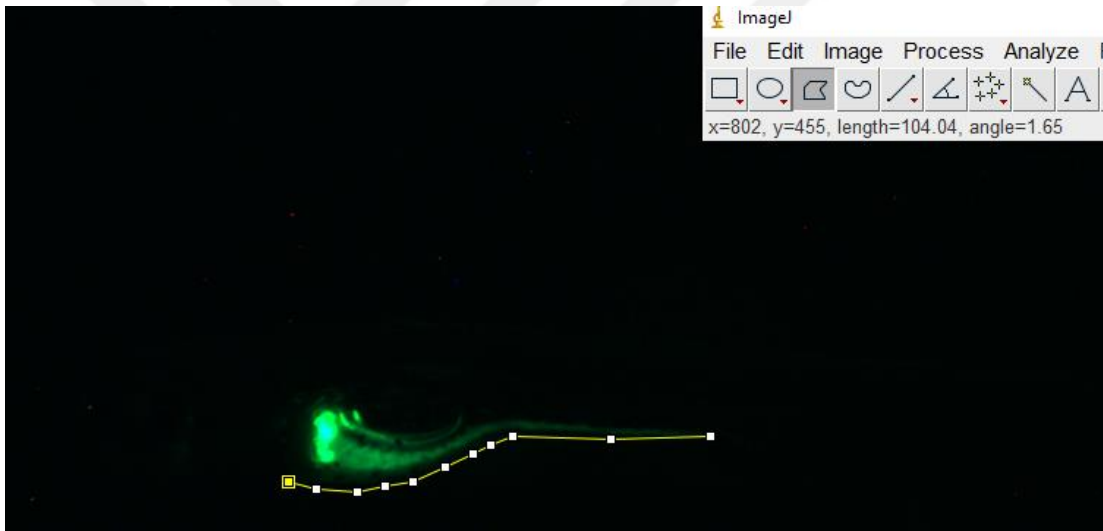
Şekil 5. Morfolojik ölçümlerin yapılışı

Tam vücut larva immün boyama

Yapılan çalışmada, zebra balığı (*Danio rerio*) larvalarında reaktif oksijen türleri (ROS), apoptotik hücreler ve lipid birikiminin tespiti için kapsamlı bir immün boyama yöntemi kullanılmıştır. Deney sonunda, her gruptan 15 larva olmak üzere toplamda 45 larva (3 tekrarlı) analiz edilmiştir. ROS birikimi, oksidatif stresin bir göstergesi olan klorometil-2',7'-diklorodihidrofluoressein diasetat (CM-H2DCFDA, Calbiochem) kullanılarak belirlenmiştir.

(Sulukan vd 2022). CM-H2DCFDA'nın buradaki rolü reaktif oksijen türleriyle etkileşime girerek floresan DCF'nin oluşumuna yol açarak oksidatif stres düzeylerini doğrudan ölçmeye olanak tanınmasıdır.

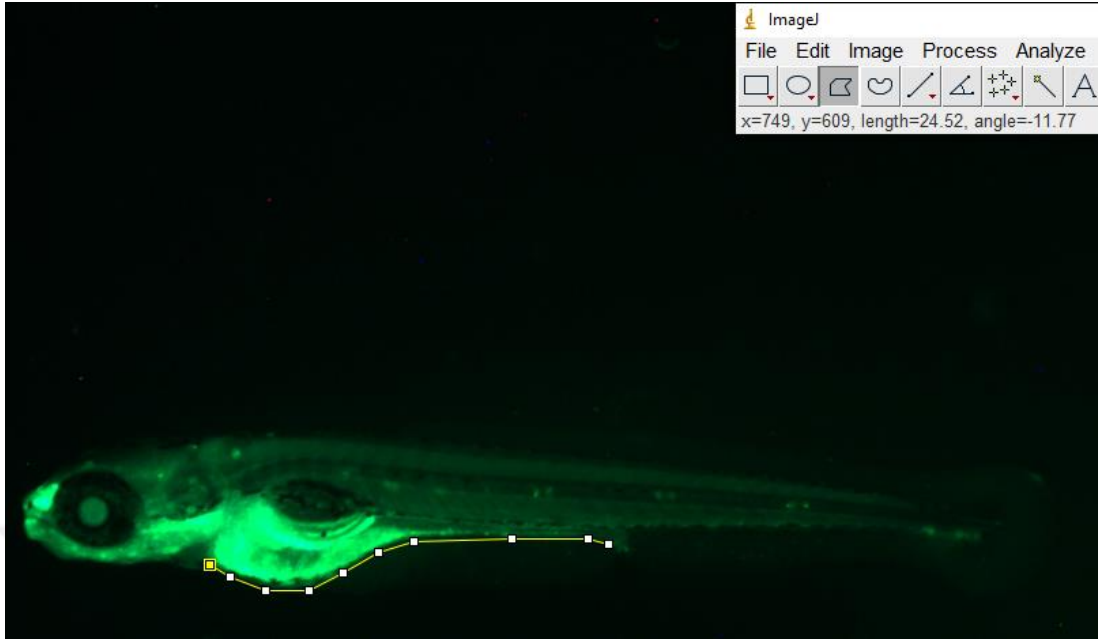
Her gruptan seçilen 15 larva, 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarına, her bir kuyucuğa beşer larva gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Analiz için hazırlanan zebra balığı larvaları, üç kez ultra saf H₂O ile durulanmış ve ardından fazla suyu almak için nazikçe kurulanmıştır. Larvalar daha sonra 1 µg/mL konsantrasyonunda CM-H2DCFDA içeren bir çözeltiye batırılmıştır. Işık kaynaklı oksidasyondan kaçınmak amacıyla, larvalar karanlık bir ortamda bu çözelti içinde 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında, larvalar yeniden ultra saf su ile üç kez durulanmış ve hareketsiz kalmaları için %3 metilselüloz çözeltisi ile sabitlenmiştir. Sabitleme işlemi tamamlandıktan sonra, canlı örnekler floresan bir stereomikroskop (Discovery V12, Zeiss, Almanya) ile görüntülenmiş ve kayıt altına alınmıştır. Kayıt altına alınan görüntüler, ImageJ yazılımı kullanılarak analiz edilmiş ve sayısal verilere çevrilmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. ROS ölçümlerinin yapılışı

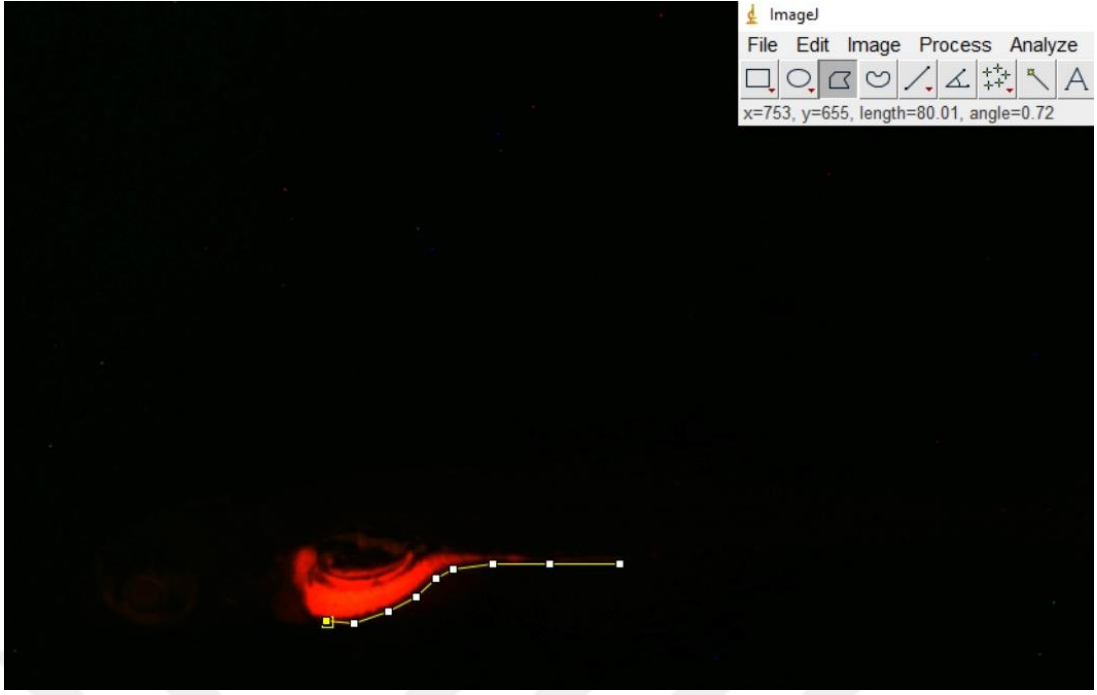
ROS tespitine ek olarak, her gruptan seçilen 15 larva üzerinde apoptotik hücreleri tanımlamak için ileri analizler yapılmıştır. Apoptotik hücrelerin varlığı, nükleotidlerle bağlanan ve hücre ölümünün bir göstergesi olan floresan bir boya olan akridin turuncusu kullanılarak tespit edilmiştir (Kızıltan vd 2022). ROS analizinde olduğu gibi, her gruptan 15 larva seçilmiş ve 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarına, her bir kuyucuğa beşer larva gelecek şekilde yerleştirilmiştir. Larvalar PBS ile 3-5 kez yıkanmış ve son yıkamanın ardından tüm PBS dikkatlice uzaklaştırılmıştır. Daha sonra, larvalar karanlık bir ortamda ve 28,5°C sıcaklıkta 30 dakika boyunca etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında larvalar yeniden PBS ile yıkanmış ve %3'lük metilselüloz çözeltisi ile lam üzerine yerleştirilmiştir. Görüntüleme işlemi ise flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

(Sulukun vd 2023). Kayıt altına alınan görüntüler, ImageJ yazılımı kullanılarak analiz edilmiş ve sayısal verilere çevrilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. AO ölçümlerinin yapılışı

Lipid birikimini tespit etmek amacıyla, lipid damlacıkları ile spesifik olarak etkileşime girerek floresan sinyal üreten bir boya olan Nile-Red (C20-H18-N2-O2) kullanılmıştır. Bu boya, hücre içi lipid damlacıklarını boyayarak lipid yoğunluğunu gösterir. Her gruptan 15 larva alınmış ve 10 ng/mL C20-H18-N2-O2 çözeltisinde, karanlık bir ortamda bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra, larvalar %3'lük metilselüloz ile lam üzerine yerleştirilmiş ve yüksek çözünürlüklü bir floresan mikroskop altında incelenmiştir. Floresans yoğunluğu, ZenBlue yazılımı (Zeiss) kullanılarak nicel olarak analiz edilmiştir (Bruzzzone vd 2021). Kayıt altına alınan görüntüler, ImageJ yazılımı kullanılarak analiz edilmiş ve sayısal verilere çevrilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8. Nile Red ölçümlerinin yapılışı

Tespit edilen bulgular, larvaların biyolojik tepkileri üzerinde çevresel stres faktörlerinin etkilerini anlamak açısından kritik bilgiler sağlamıştır. Floresans yoğunluğu ölçümleri, oksidatif stres, hücre ölüm oranları ve lipid birikiminin ayrıntılı bir şekilde incelenmesine olanak tanıyarak, zebra balığı larvalarının çevresel değişikliklere verdiği biyolojik tepkilerin kapsamlı bir değerlendirmesini sunmuştur (Türkoğlu vd 2021). Analiz edilen veriler, sucul organizmaların çevresel stres faktörlerine nasıl tepki verdiklerini anlamak açısından önemli veriler sağlamaktadır.

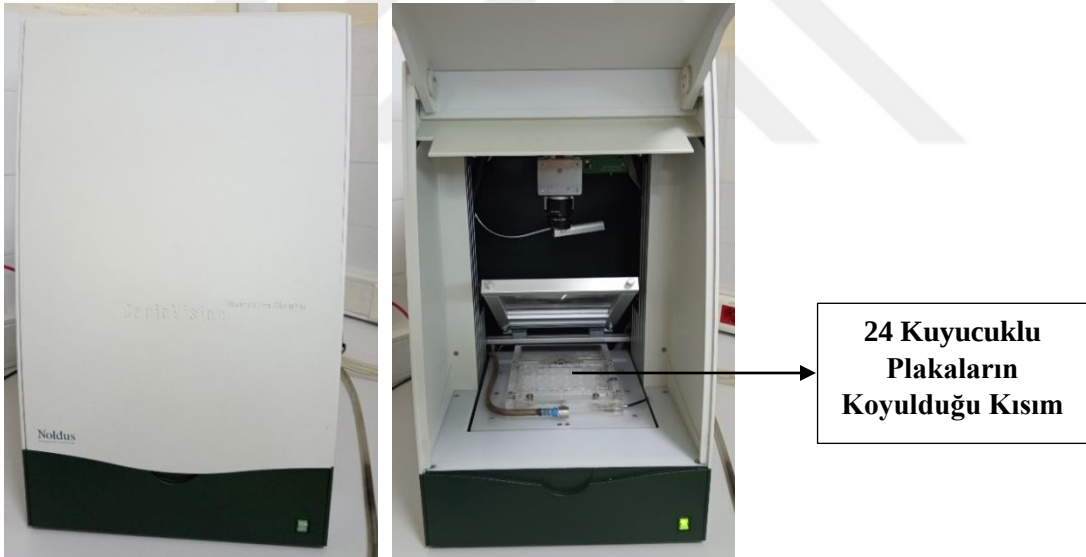
Larvaların lokomotor aktivitesi ve tigmotaksis

120 saatlik maruz kalma süresinden sonra, zebra balığı larvalarının lokomotor aktivitesi ve tigmotaksis davranışları 24 kuyucuklu bir plaka sistemi kullanılarak analiz edilmiştir (Şekil 9). Her bir kuyuya bir larva yerleştirilmiş olup, toplamda 72 larva test edilmiş ve her grup için üçer tekrar yapılmıştır.



Şekil 9. 24 Kuyucuklu plaka

Plaka, larvaların 30 dakikalık bir alışma süresi geçirdiği DanioVision (Noldus) odasına yerleştirilmiştir (Şekil 10). Daha sonra larvalar, 10 dakikalık aralıklarla 50 dakika boyunca dönüşümlü karanlık ve aydınlık döngülerine maruz bırakılmıştır. Bu süreçte, larvaların lokomotor aktiviteleri kaydedilmiş ve davranış analizleri, doğruluğu kanıtlanmış EthoVision XT yazılımı kullanılarak yapılmıştır (Kankaynar vd 2023).

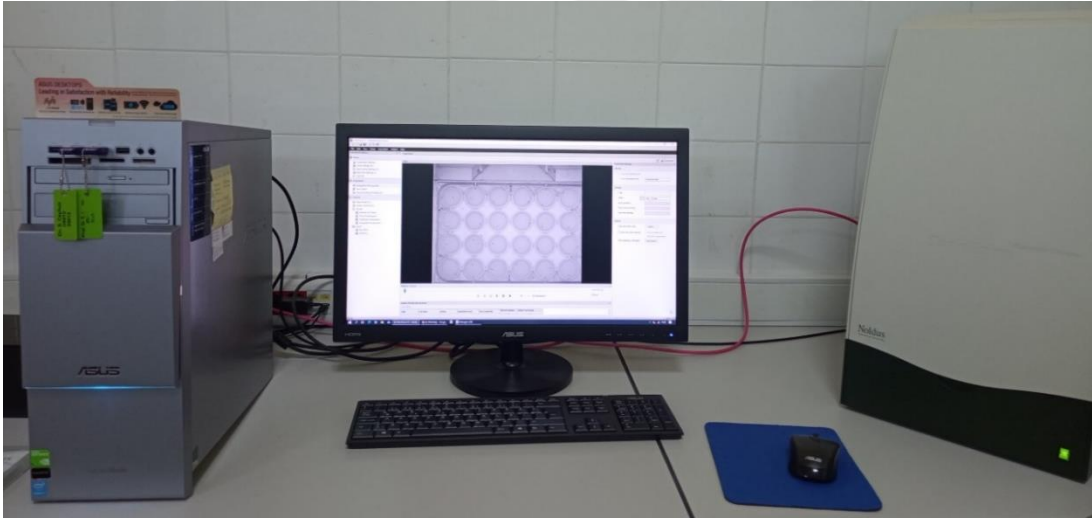


Şekil 10. Davranış analiz cihazı DanioVision (Noldus)

Lokomotor aktivite analizi, çevresel değişikliklerin zebra balığı larvalarının davranışları üzerindeki etkilerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmiştir. Dönüşümlü ışık ve karanlık döngüleri, bu organizmalarda sıklıkla stres tepkilerini tetikleyen doğal koşulları simüle etmiştir. Larvaların hareket modellerinin analiz edilmesiyle, araştırmacılar çevresel stres faktörlerinin gelişim süreçleri üzerindeki etkileri hakkında önemli bilgiler elde etmişlerdir.

Tigmotaksis, zebra balığı larvalarında anksiyete seviyesinin bir göstergesi olarak kabul edilmekte olup, Schnörr ve arkadaşları tarafından tanımlanan yöntemin biraz değiştirilmiş bir versiyonu kullanılarak değerlendirilmiştir (Schnörr vd 2012). Larvaların aydınlatmadaki ani değişikliklere verdikleri tepkileri incelemek için, 24 kuyucuklu plakadaki her kuyu, larvaların vücut uzunluğuna karşılık gelen 3 mm genişliğinde iki eşit bölgeye ayrılmıştır. Tigmotaksis, dış bölgede alınan mesafenin toplam test alanına olan oranı üzerinden sayısal olarak değerlendirilmiştir. Yüksek tigmotaksis seviyeleri genellikle artan anksiyete ve stres ile ilişkilidir, bu nedenle bu ölçüm, zebra balığı larvalarında stres tepkilerini değerlendirmek için kritik öneme sahiptir (Schnörr vd 2012).

Elde edilen veriler, EthoVision XT yazılımı kullanılarak ayrıntılı bir şekilde analiz edilmiştir. Bu yazılım, larvaların davranışlarının yüksek doğrulukla izlenmesine ve değerlendirilmesine olanak tanıyarak, çevresel değişikliklerin lokomotor desenleri ve anksiyete tepkileri üzerindeki etkilerinin kapsamlı bir değerlendirmesini sunmuştur (Şekil 11). Bu çalışmanın bulguları, zebra balığı larvalarındaki stres ve anksiyete mekanizmalarının altında yatan nörolojik ve fizyolojik mekanizmaların anlaşılmasına önemli katkılar sağlamaktadır (Kankaynar vd 2023).



Şekil 11. DanioVision ve larva davranış analizlerinin yapıldığı sistem

Histopatolojik ve İmmünofloresans Analizleri

Deneyin sonunda (döllenmeden 120 saat sonra), zebra balığı larvalarındaki doku ve hücrel tepkileri değerlendirmek için rastgele 10 larva histopatolojik ve immünofloresans analizi için seçilmiştir. Larvalar, doku yapısını korumak amacıyla %10'luk formaldehit çözeltisinde 48 saat sabitlenmiş ve ardından standart doku işleme protokolleri uygulanarak dehidrasyon, temizleme ve parafin bloklarına gömme işlemleri gerçekleştirilmiştir (Kızıltan vd

2022). Bu bloklardan mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alınmış, histolojik inceleme için detaylı kesitler elde edilmiştir. Kesitler, nekroz, inflamasyon ve hücrel dejenerasyonu belirlemek amacıyla hematoksilin-eozin (HE) ile boyanmıştır (Zodrow vd 2004).

Histopatolojik incelemelerde, artan sıcaklığın retina katmanlarında değişikliklere, gangliyonlarda dejenerasyon ve nekroz, nörofillerde de dejenerasyon ve nekroza neden olduğu gözlenmiştir. Bu değişikliklerin tüm LED ışık türleri (mavi, yeşil, kırmızı ve beyaz) arasında anlamlı olduğu bulunmuş ($p < 0,05$), özellikle kırmızı ve beyaz LED gruplarında gözlemlenen olumsuz histopatolojik bulgular tüm sıcaklıklarda kaydedilmiştir ($p < 0,05$) (Zodrow ve ark., 2004).

İmmüno Floresans analizleri için kesitler, oksidatif DNA hasarını ve stres tepkilerini tespit etmek amacıyla sırasıyla 8-OHdG (FITC) ve HSP70 (Texas Red) ikincil antikorları ile etiketlenmiştir. 8-OHdG, oksidatif stres kaynaklı DNA hasarının bir belirtisi olup, HSP70 ise hücrel koruma mekanizmalarında önemli rol oynayan bir ısı şok proteinidir. Hücre çekirdeklerini boyamak amacıyla DAPI kullanılmış ve bu sayede hücre yoğunluğu ve nükleer morfoloji görselleştirilmiştir (Topal vd 2017).

Isı şok proteini-70 (Hsp70) biyomarkeri, ısı stresi ve toksik kimyasallara yanıt olarak nörofillerde ve gangliyonlarda farklı seviyelerde ifade edilmiştir. Kırmızı ve beyaz LED gruplarında Hsp70 ifade seviyesinin diğer gruplara kıyasla tüm sıcaklıklarda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca, olumsuz etkinin sıcaklık arttıkça doğrudan orantılı olarak arttığı gözlenmiştir. Sıcaklık artışıyla birlikte bu etki belirginleşmiş ve Hsp70'in zebra balığı embriyolarında indüklendiği ortaya konmuştur (Fader vd 1994; Van Cleef Toedt vd 2001; Hallare vd 2005).

Histopatolojik bulgular, gözlenen doku hasarının şiddetine göre dört düzeyde kategorize edilmiştir: yok (-), hafif (+), orta (++), ve şiddetli (+++) (Zodrow vd 2004). İmmüno Floresans etiketleme ve floresan mikroskopisi verileri, floresan sinyallerinin kantifikasyonu için ZEISS Zen Görüntüleme yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analiz, farklı deneysel koşullar altında doku tepkilerini karşılaştırarak hücrel hasarın ve stres yanıtlarının niceleyici olarak değerlendirilmesini sağlamıştır.

Metabolom Analizleri

Zebra balığı larvalarının metabolomik profilleri, deneysel koşulların neden olduğu biyokimyasal etkileri anlamak amacıyla titizlikle analiz edilmiştir. Her grup için, temsili bir örneklem sağlamak üzere 25 larvanın altı havuzu kullanılmıştır. Larvalar, hücre içi metabolitlerin salınımını daha verimli hale getirmek amacıyla Tissulyzer 2.0 cihazı kullanılarak

1 mL metanol içerisinde homojen hale getirilmiştir. Bu homojenizasyon işlemi, hücre içi bileşenlerin tam bir şekilde serbest bırakılmasını sağlayarak, metabolomik analizlerin doğruluğunu artırmaktadır. Homojenizasyonun ardından, örnekler daha ileri analizler öncesinde metabolitlerin bütünlüğünü korumak için 30 dakika boyunca -20°C 'de inkübe edilmiştir. Hücre lizisini artırmak ve ekstraksiyon sürecini optimize etmek amacıyla yaklaşık 10 dakika ultrasonikasyon uygulanmış olup, bu yöntem, metabolomik çalışmalarda metabolitlerin doğru ölçümü için hücresel yapıların parçalanmasını ve hücre içi içeriklerin serbest bırakılmasını sağlamak açısından önemlidir (Kocak vd 2022). Ultrasonikasyon işleminden sonra, homojenatlar 12.000 rpm hızında 10 dakika süreyle santrifüj edilerek proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Bu kritik adım, proteinlerin metabolitlerden ayrılmasını sağlayarak metabolomik verilerin doğruluğunu artırır. Böylece, protein kontaminasyonundan arındırılmış küçük molekül metabolitlerin yalnızca süpernatantta kalması sağlanır. Süpernatantlar dikkatlice ayrı mikro santrifüj tüplerine aktarılmış ve Eppendorf Concentrator Plus kullanılarak vakumla buharlaştırılmıştır. Vakumla buharlaştırma, metabolitlerin aşırı ısıya maruz kalmadan yoğunlaştırılmasını sağlayarak, ısıya duyarlı bileşiklerin bütünlüğünü korur (Kocak vd 2022).

Kuruyan kalıntılar, %0.1 formik asit içeren asetonitril ve MS dereceli su karışımı (1:1 v/v) ile 300 μL hacminde yeniden çözülmüştür. Bu çözelti, kütle spektrometrisi (MS) analizi için optimize edilmiştir ve metabolitlerin doğru ve hassas bir şekilde tespit edilmesini sağlar. Seçilen çözelti, MS analizi ile uyumlu olup, optimal iyonizasyon koşulları ve mükemmel kromatografik pik çözünürlüğü sağlamaktadır. Metabolomik analizlerde çözücü seçimi kritik öneme sahiptir ve doğrudan metabolit tespitinin duyarlılığı ile özgüllüğünü etkiler (Kocak vd 2022).

Normalizasyon, veri filtreleme ve pik anotasyonu işlemlerini gerçekleştirmek için kalite kontrol örnekleri (QC'ler) oluşturulmuştur. Her bireysel örnekten 10 μL örnek alınıp bir mikro santrifüj tüpünde birleştirilerek kalite kontrol örneği oluşturuldu. Cihazın duyarlılığını değerlendirmek amacıyla QC'ler her sekiz çalıştırmadan sonra bir kez enjekte edildi.

Bu titiz ve sistematik yaklaşım, farklı deney grupları arasında meydana gelen metabolomik değişikliklerin ayrıntılı bir değerlendirmesini sağlamıştır. Yapılan analizler, zebra balığı larvalarındaki biyokimyasal değişikliklerin çevresel stres faktörlerine nasıl yanıt verdiğini kapsamlı bir şekilde ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler, çevresel veya gelişimsel stres faktörlerinin metabolik yolları nasıl etkilediği konusunda değerli içgörüler sağlamış olup, bu tür organizmalarda strese fizyolojik yanıtları gösteren potansiyel biyomarkörlerin belirlenmesine katkıda bulunmuştur.

İstatistiksel Analiz

Tüm deneylerden elde edilen veri setlerinin istatistiksel analizi, Windows platformunda GraphPad Prism yazılımının 8.0 versiyonu (GraphPad Software, San Diego, CA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Herhangi bir istatistiksel test uygulamadan önce, varyansların homojenliği Levene testi kullanılarak değerlendirilmiş ve bu adım, parametrik testlerin varsayımlarının karşılanıp karşılanmadığını belirlemek için önemlidir. Bu adım ayrıca, veri setlerinin doğruluğunu ve güvenilirliğini artırmak için gereksiz varyansların etkisini ortadan kaldırmaya yardımcı olmuştur. Normallik varsayımını karşılamayan veri setleri için non-parametrik Kruskal–Wallis testi uygulanmıştır. Bu test, biyolojik araştırmalarda özellikle yararlıdır, çünkü biyolojik sistemlerdeki doğal değişkenlik nedeniyle veriler genellikle normal bir dağılım göstermez. Kruskal-Wallis testinin esnekliği, geniş bir veri yelpazesıyla çalışırken istatistiksel geçerliliği koruma yeteneğini sağlamıştır.

Verilerin normal dağılım gösterdiği durumlarda, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılmıştır. ANOVA sonrasında, grup ortalamaları arasındaki belirli farklılıkları tespit etmek amacıyla Tukey'nin post hoc testi (TukeyHSD) kullanılmıştır. Verilerin ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası (SEM) olarak raporlanması, verilerin değişkenliğini ve merkezi eğilimlerini net ve standart bir şekilde sunmak için bir yöntem sağlamaktadır. P-değeri 0.05'ten küçük olan sonuçlar istatistiksel anlamlılık göstermiş ve bu bulgular çalışmanın bağlamında önemli bir rol oynamaktadır. Belirtilen p-değeri, deneysel sonuçların anlamlılığını belirlemek ve bulguların tesadüfi olmadığını göstermek açısından kritik bir eşik olarak kabul edilmiştir.

Belirli özelliklerdeki değişikliklerin fenotip üzerindeki etkilerini daha ayrıntılı olarak incelemek için, LED ışık rengi, sıcaklık ve bunların etkileşimi gibi her yaşam öyküsü parametresi üzerinde iki yönlü ANOVA uygulanmıştır. Analiz sonucunda, çevresel faktörlerin biyolojik süreçler üzerindeki bireysel ve toplu etkilerine dair önemli bulgular elde edilmiştir. LED ışık rengi ve sıcaklık değişkenleri sabit tutularak, yalnızca bu faktörlerin ana etkileri değil, aynı zamanda aralarındaki etkileşimler de incelenmiştir. Böylece, çevresel stres faktörleri arasındaki karmaşık ilişkiler daha net bir şekilde ortaya konulmuştur. Bu iki yönlü ANOVA analizi, faktörler arasındaki karmaşık etkileşimlerin aydınlatılmasına ve çevresel faktörlerin biyolojik süreçler üzerindeki kombine etkilerinin anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır.

Histopatolojik analizlerde istatistiksel değerlendirme, GraphPad Prism 8.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Non-parametrik Kruskal-Wallis testi, gruplar arasındaki etkileşimleri tespit etmek için uygulanmış, Mann-Whitney U testi ise belirli gruplar arasındaki anlamlı farkları belirlemek için kullanılmıştır. Bu yaklaşım, normallikten sapmaların olduğu durumlarda bile sağlam ve güvenilir sonuçlar elde etmeye olanak tanımıştır. İmmünofloresans boyamanın

analizinde, her görüntüden rastgele beş alan seçilmiş ve pozitif boyamanın yoğunluğu ZEISS Zen Görüntüleme Yazılımı programı kullanılarak nicel olarak ölçülmüştür. Pozitif boyalı alanların yüzde alanı istatistiksel olarak ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak tanımlanmıştır. Bir yönlü ANOVA ve ardından Tukey'nin post hoc testi, immünoreaktif hücrelerin yüzdesini ve deneysel gruplar ile sağlıklı kontroller arasında pozitif boyalı alanları karşılaştırmak için gerçekleştirilmiştir. Yapılan detaylı istatistiksel analiz, immünofloresans sonuçlarının doğruluğunu artırmış ve biyolojik anlamlarını güçlendirmiştir. Uygulanan bu yaklaşım, çalışmanın sağlam ve güvenilir verilerle desteklenmesini sağlamıştır.

Genel olarak, bu çalışmada kullanılan istatistiksel yöntemler, verilerin doğası ve araştırma hedefleriyle uyumlu olarak dikkatle seçilmiştir. Parametrik ve non-parametrik testlerin bir kombinasyonunu kullanarak, çalışma verileri kapsamlı bir şekilde analiz edilebilmiş olup, deneysel sonuçların yorumlanması için sağlam bir temel sağlanmıştır. Bu sistematik ve titiz analiz yöntemi, elde edilen sonuçların bilimsel geçerliliğini ve tekrarlanabilirliğini artırmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI

Morfolojik Gözlem Sonuçları

Araştırmada, zebra balığı larvalarının farklı LED ışık renkleri ve sıcaklıklara maruz kalmasının çeşitli biyolojik parametreler üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Bu kapsamda:

Gelişimsel etkiler

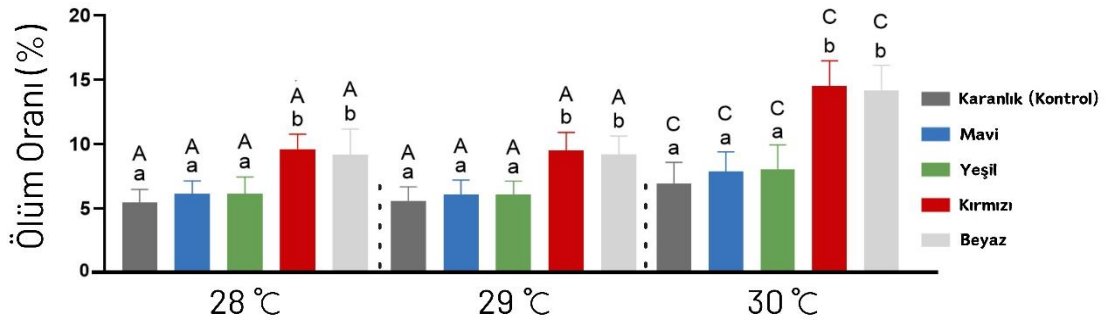
LED ışıkları ve sıcaklık varyasyonlarının zebra balığı larvalarının gelişimsel süreçleri üzerinde önemli etkileri olduğu gözlemlenmiştir. Bu etkiler, larvaların çevresel stres faktörlerine nasıl tepki verdiğini anlamak açısından kritik öneme sahiptir.

Özellikle larva ölüm oranları, LED ışık renginin ve uygulanan sıcaklık seviyelerinin farklılıklarına bağlı olarak önemli ölçüde değişmiştir. Çalışmanın sonuçları, çevresel faktörlerin bu organizmalar üzerindeki biyolojik etkilerini anlamada LED ışığı ve sıcaklığın birlikte değerlendirilmesinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

Ölüm oranları

Yüksek sıcaklıklarda kırmızı ve beyaz LED ışığa maruz bırakılan larvaların, diğer koşullara göre anlamlı derecede daha düşük hayatta kalma oranlarına sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 12). Elde edilen bulgular, LED ışık türü ve sıcaklık kombinasyonlarının biyolojik sistemler üzerindeki karmaşık etkileşimlerini ortaya koymaktadır.

Ölüm oranlarının LED ışık türüne bağlı olarak sıcaklık tarafından modüle edildiği anlaşılmaktadır ($F = 6.286$, $p < 0,029$). Elde edilen sonuçlar, çevresel stres faktörlerinin zebra balığı larvalarının hayatta kalma oranları üzerindeki zararlı etkilerini vurgulamakta ve organizmaların çevresel değişimlere olan duyarlılığını gözler önüne sermektedir.

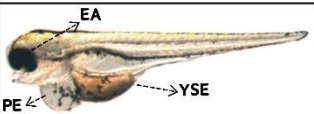
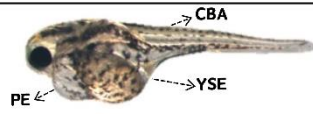
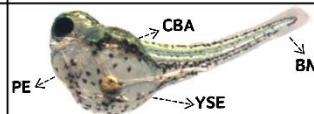


Şekil 12. Zebra balığı larvalarının ölüm oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Fizyolojik anormallikler

Farklı LED ışıkları ve artan sıcaklıklar, zebra balığı larvalarında perikardiyal ödem (PE), yumurta kesesi ödemi (YSE), eğri vücut eksenini (CBA), göz anomalileri (EA) ve vücut malformasyonları (BM) gibi fizyolojik anormalliklere neden olmuştur (Şekil 13). Gözlemlenen yapısal bozukluklar, embriyonik gelişim sırasında kritik organların ve dokuların düzgün gelişimini engelleyebilir ve uzun vadede sağlık ve hayatta kalma şansını olumsuz etkileyebilir.

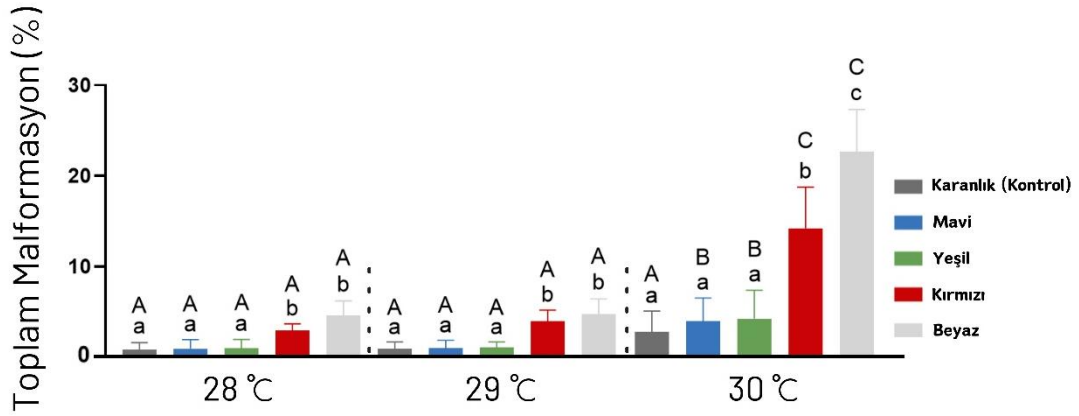
Mikroskopik incelemeler, deformasyonların embriyonik gelişimin çeşitli aşamalarında ortaya çıktığını ve yüksek sıcaklıkların süreci daha da kötüleştirdiğini göstermektedir.

120 hpf	28 °C	29 °C	30 °C
Karanlık (Kontrol)			
Mavi			
Yeşil			
Kırmızı			
Beyaz			

Şekil 13. Farklı dalga boylarına sahip LED ışıklara ve artan sıcaklık koşullarına maruz bırakılan zebra balığı larvalarının mikroskopik görüntüleri.

Malformasyon oranları

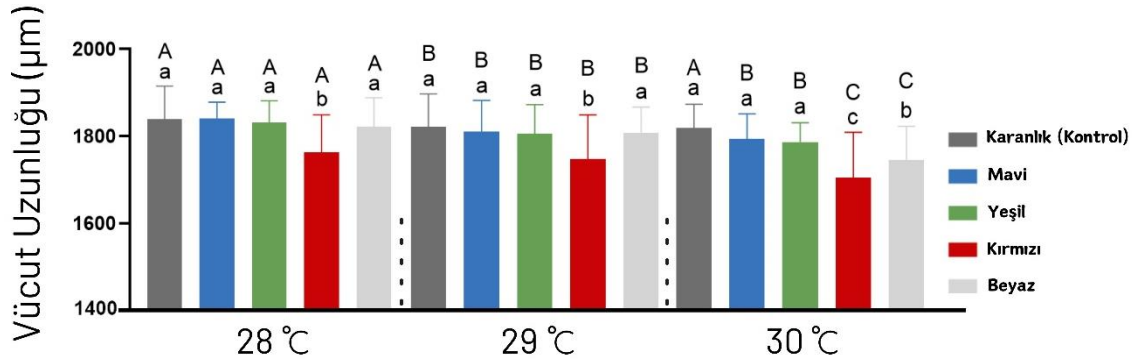
29°C’de malformasyon oranları, 28°C’ye kıyasla artış göstermiştir. Beyaz ve kırmızı LED ışığı altında yetiştirilen larvalarda bu artış daha belirgin hale gelmiştir. 30°C sıcaklıkta malformasyon oranlarında dikkate değer bir artış gözlemlenmiş olup en yüksek değerler beyaz LED ışığı altında gözlemlenmiştir (Şekil 14). Ortaya çıkan sonuçlar, çevresel koşullardaki değişimlerin embriyonik gelişimdeki hassasiyeti artırabileceğini ve popülasyon düzeyinde önemli sonuçlar doğurabileceğini göstermektedir.



Şekil 14. Zebra balığı larvalarının toplam malformasyon oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

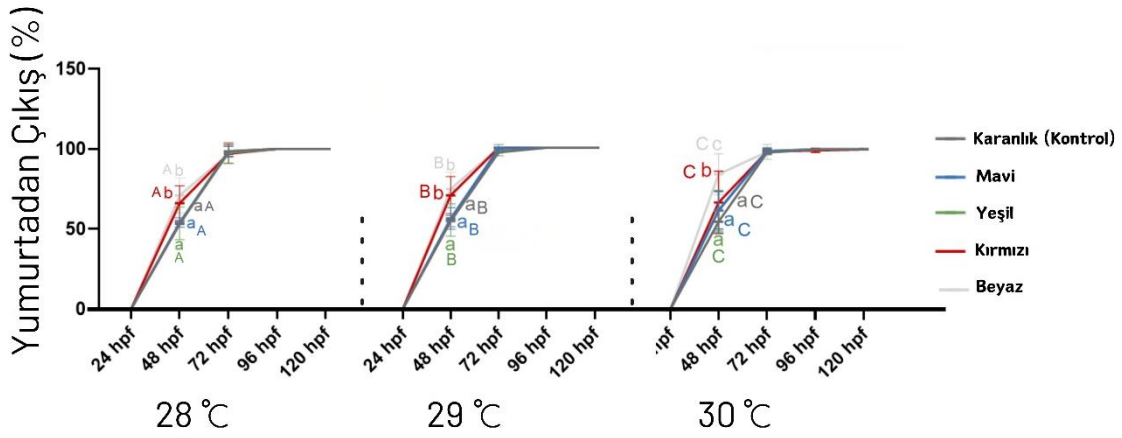
Vücut uzunluğu ve yumurtadan çıkış oranları

Kırmızı ve beyaz LED ışıkları, sadece ölüm oranlarını artırmakla kalmamış, aynı zamanda vücut uzunluğunda azalmalar, göz çapında küçülmeler ve gözlemlenen vücut anormallikleri ile ilişkili perikardiyal alanda genişlemelere neden olmuştur. Vücut uzunluğu, hem grup hem de sıcaklık artışları tarafından olumsuz yönde etkilenmiştir (Şekil 15).



Şekil 15. Zebra balığı larvalarının vücut uzunluğu oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

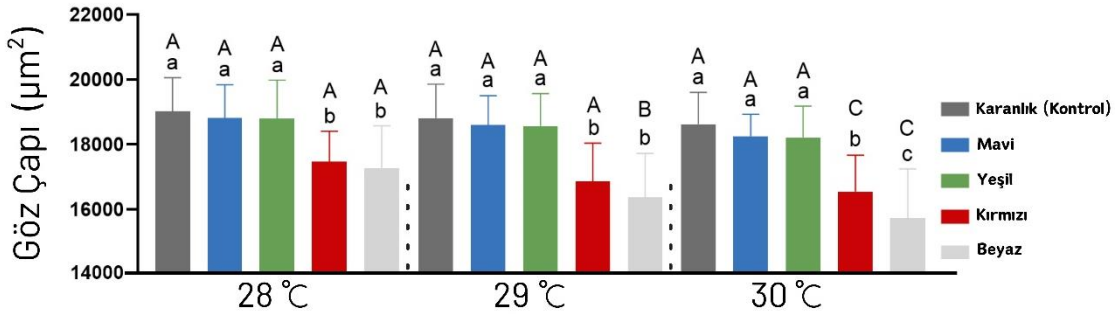
Kırmızı ve beyaz LED ışıkları, yumurtadan çıkış sürecini tetikleyerek diğer ışık türlerine kıyasla daha yüksek yumurtadan çıkış oranlarına yol açmıştır. Etki, sıcaklık artışıyla daha belirgin hale gelmiştir (Şekil 16). Meydana gelen artışlar, ışık spektrumlarının embriyonik gelişim ve zamanlama üzerindeki etkilerini vurgulamakta ve bu süreçlerin sıcaklıkla nasıl modüle edildiğini göstermektedir.



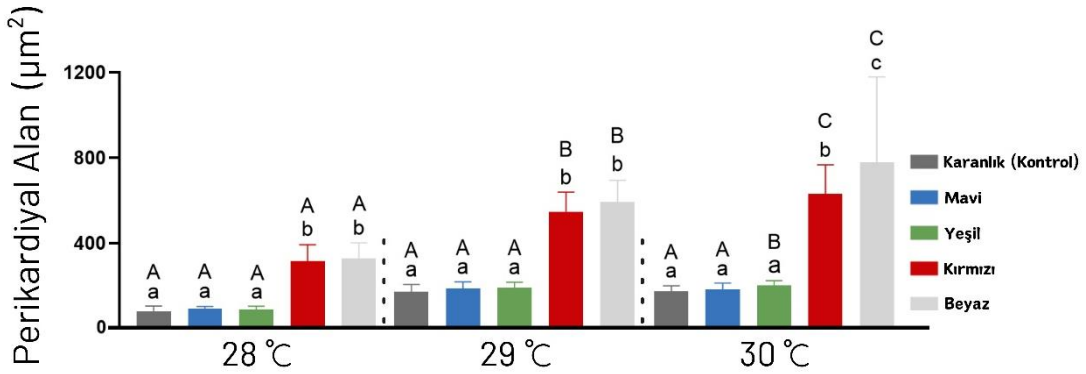
Şekil 16. Zebra balığı larvalarının yumurtadan çıkış oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Göz çapı ve perikardiyal alan

Zebra balığı larvalarının göz çapı, kırmızı ve beyaz LED ışıkları altında önemli ölçüde küçülmüş ve sıcaklık artışıyla daha belirgin hale gelmiştir (Şekil 17). Perikardiyal alan boyutunun da artan sıcaklık ve kırmızı ile beyaz LED ışıkları altında genişlediği gözlemlenmiştir (Şekil 18).



Şekil 17. Zebra balığı larvalarının göz çapı oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).



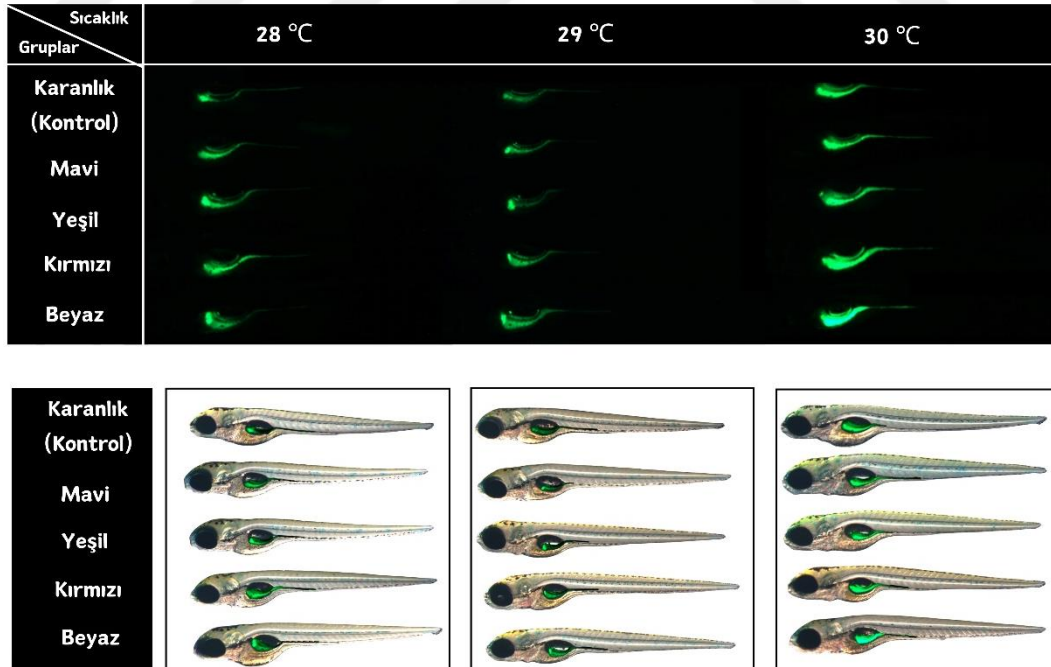
Şekil 18. Zebra balığı larvalarının perikardiyal alan oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$).

Sonuç olarak, bu araştırmalar LED ışıkları ve sıcaklık değişimlerinin zebra balığı larvalarının embriyonik gelişimi, büyüme, hayatta kalma ve morfolojik deformasyonlar üzerindeki etkilerini kapsamlı bir şekilde ortaya koymuştur. LED ışıkları ve sıcaklık artışlarının birleşik etkileri, zebra balığı larvalarının gelişiminde zararlı sonuçlara yol açmıştır. Tespit edilen bulgular, LED ışıkları ve sıcaklık değişimlerinin zebra balığı üzerindeki çevresel etkilerini anlamak için bu faktörlerin birlikte değerlendirilmesinin gerekli olduğunu göstermektedir.

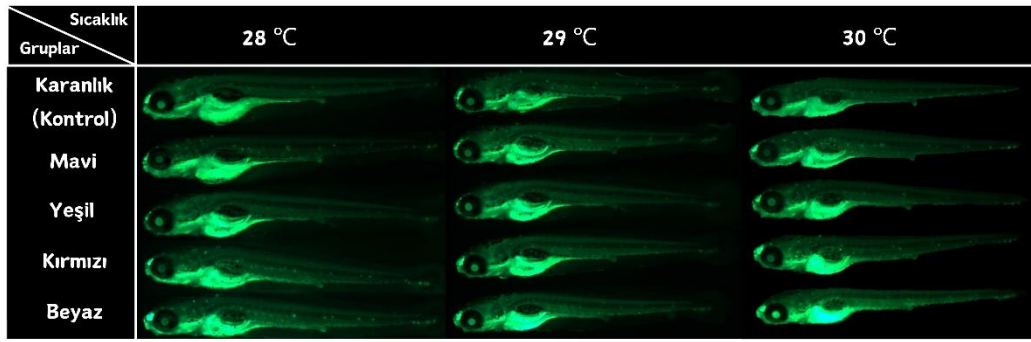
Ayrıca, farklı sıcaklıklar ve LED ışıkları altında zebra balığı larvalarında meydana gelen morfolojik ve fizyolojik değişiklikler, grafiklerle desteklenmiş olup, deneysel bulguların görsel olarak anlaşılmasını sağlamaktadır. İstatistiksel analizler, sonuçların güvenilirliğini artırarak deneysel tasarımı sağlamliğını desteklemektedir.

Tam Vücut Boyama

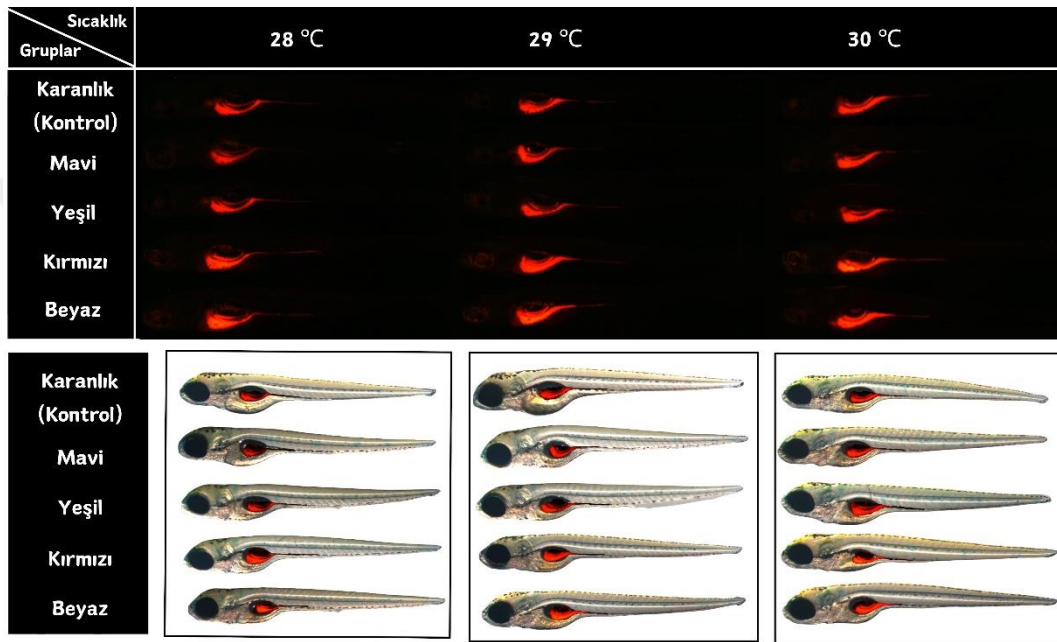
Yapılan çalışmada, zebra balığı larvalarının farklı LED ışık renklerine ve sıcaklıklarına maruz kalmasının biyokimyasal etkileri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Zebra balığı larvalarının biyokimyasal süreçler üzerindeki tepkilerini belirlemek için CM-H₂DCFDA, Akridin Orange (AO) ve Nile Red gibi çeşitli floresan boyama teknikleri kullanılmıştır (şekil 19, şekil 20, şekil 21).



şekil 19. Zebra balığı larvalarının flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak görüntülenen CM-H₂DCFDA fotoğrafları



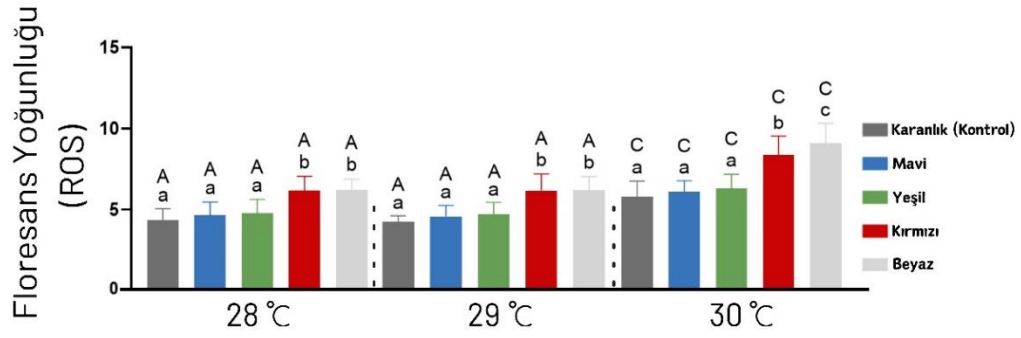
Şekil 20. Zebra balığı larvalarının flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak görüntülenene Akridin Orange (AO) fotoğrafları



Şekil 21. Zebra balığı larvalarının flüoresan mikroskobu (Zeiss, Discovery V12, Almanya) kullanılarak görüntülenene Nile-Red fotoğrafları

Reaktif oksijen türleri (ROS) tespiti

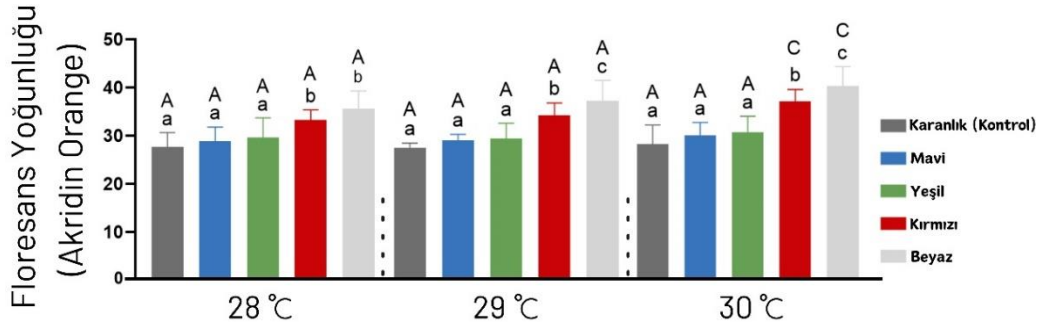
CM-H₂DCFDA boyama kullanılarak tespit edilen ROS seviyeleri, hem LED ışık türüne hem de sıcaklık artışına bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik göstermiştir. Hücresel düzeyde oksidatif stresin, çevresel faktörlerin biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini anlamada kritik bir gösterge olduğu vurgulanmaktadır. Şekil 22'de gösterildiği gibi, 30°C'de kırmızı ve beyaz LED ışıklarına maruz kalan zebra balığı larvaları, ROS seviyelerinde önemli bir artış sergilemiştir. Oksidatif stresin organizmanın homeostatik dengesini bozarak, hücresel hasar ve potansiyel hastalıklara yol açabileceği görülmektedir. Aynı LED ışıkları altında, 28°C ve 29°C'de de artan ROS seviyeleri gözlemlenmiş olsa da, en belirgin artış 30°C'de meydana gelmiştir. Elde edilen bulgular, çevresel stres faktörlerinin oksidatif stres yoluyla organizmalar üzerinde biyokimyasal bozulmalara neden olabileceğini ve bu etkinin sıcaklık artışıyla şiddetlendiğini ortaya koymaktadır.



Şekil 22. Zebra balığı larvalarının ROS oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Apoptotik hücre tespiti

Akridin Orange (AO) boyama kullanılarak apoptotik hücreler analiz edilmiş ve farklı LED ışık renklerinin apoptotik hücre sayısını önemli ölçüde etkilediği ortaya çıkmıştır. Bu analiz, hücre ölümü süreçlerinin çevresel faktörler tarafından nasıl tetiklendiğini anlamada önemli bir araç sunmaktadır. Şekil 23, özellikle 30°C'de beyaz ve kırmızı LED ışıkları altında apoptotik hücre sayısında belirgin bir artış olduğunu göstermektedir. Apoptoz, organizmanın zararlı koşullara karşı savunma mekanizması olarak işlev görse de, aşırı apoptoz dokuların ve organların fonksiyonlarını bozabilir. Bu apoptoz artışı, çevresel koşulların programlanmış hücre ölümünü tetikleyebileceğini ve bunun organizmanın genel fizyolojik durumu üzerinde potansiyel olumsuz etkiler yaratabileceğini göstermektedir.

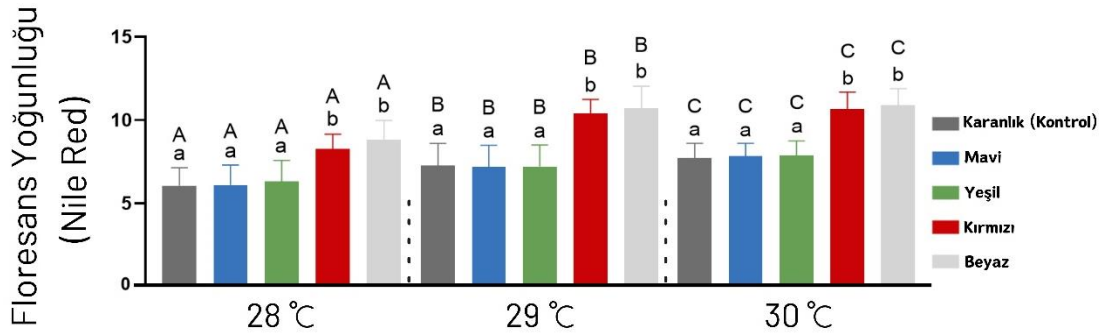


Şekil 23. Zebra balığı larvalarının Akridin Orange (AO) oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Lipid birikimi

Nile Red boyama sonuçları, Şekil 24'de gösterildiği gibi, lipid damlacıklarının birikiminin hem LED ışık türü hem de sıcaklık artışı ile önemli ölçüde etkilendiğini ortaya koymuştur. Elde edilen veriler, lipid metabolizmasının çevresel stres faktörleri tarafından nasıl etkilenebileceğine dair önemli bilgiler sunmaktadır. Kırmızı ve beyaz LED ışıkları altında lipid birikimi belirgin bir artış göstermiş olup, özellikle 30°C'de bu artış daha da belirgin hale

gelmiştir. Lipid metabolizmasındaki bu değişiklikler, hücresel enerji dengesizliklerine ve potansiyel olarak yağlanma hastalıklarına yol açabilir. Bu artış, lipid metabolizmasının çevresel stres faktörlerinden nasıl etkilendiğine dair önemli bilgiler sağlamaktadır.



Şekil 24. Zebra balığı larvalarının Nile Red oranları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Bu bulgular, zebra balığı larvalarının farklı LED ışıkları ve sıcaklık koşullarına maruz kalmasının oksidatif stres, apoptoz ve lipid metabolizması gibi kritik biyokimyasal süreçler üzerindeki önemli etkilerini ortaya koymaktadır. Çevresel stres faktörlerinin organizmaların hücresel ve moleküler düzeylerde nasıl yanıt verdiğini anlamak için değerli bilgiler sağlamaktadır. Özellikle kırmızı ve beyaz LED ışıklarının, bu biyokimyasal parametreler üzerinde en belirgin etkilere sahip olduğu, etkilerin sıcaklık artışıyla daha da yoğunlaştığı saptanmaktadır. Çalışmanın sonuçlar, çevresel stres faktörlerinin biyokimyasal süreçler üzerindeki potansiyel etkilerini anlamak ve bu etkilerin uzun vadeli sonuçlarını incelemek açısından büyük önem taşımaktadır.

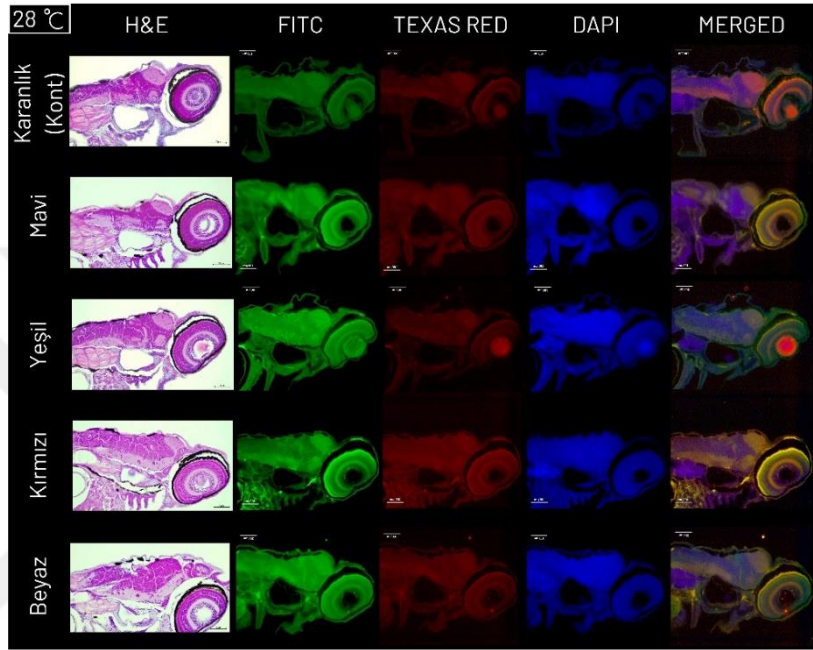
Histopatolojik ve İmmünofloresans Gözlem Sonuçları

Yapılan çalışmada, zebra balığı larvalarının farklı LED ışık renkleri ve sıcaklıklara maruz kalmasının histopatolojik ve immünofloresans parametreler üzerindeki etkileri ayrıntılı olarak araştırılmıştır. Sunulan veriler, zebra balığı larvalarında meydana gelen doku hasarlarının farklı sıcaklık ve ışık koşullarına bağlı olarak önemli ölçüde değiştiğini göstermektedir.

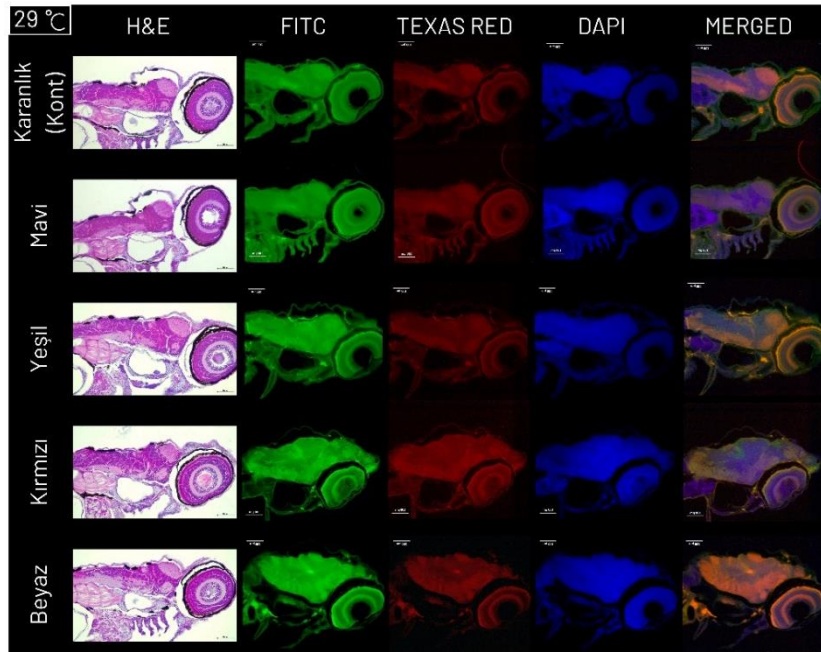
Histopatolojik bulgular

Histopatolojik incelemeler, artan sıcaklıkların zebra balığı larvalarının retinal tabakalarında, ganglionlarında, nöronlarda ve beyin dokularında önemli değişikliklere neden olduğunu ortaya koymuştur. Bu değişiklikler, hücresel dejenerasyon ve nekroz gibi patolojik olayların çevresel stres faktörleri tarafından nasıl tetiklendiğini gösteren önemli kanıtlar sunmaktadır. Değişikliklerin şiddetinin hafiften çok şiddetliye kadar değiştiği bulunmuş olup,

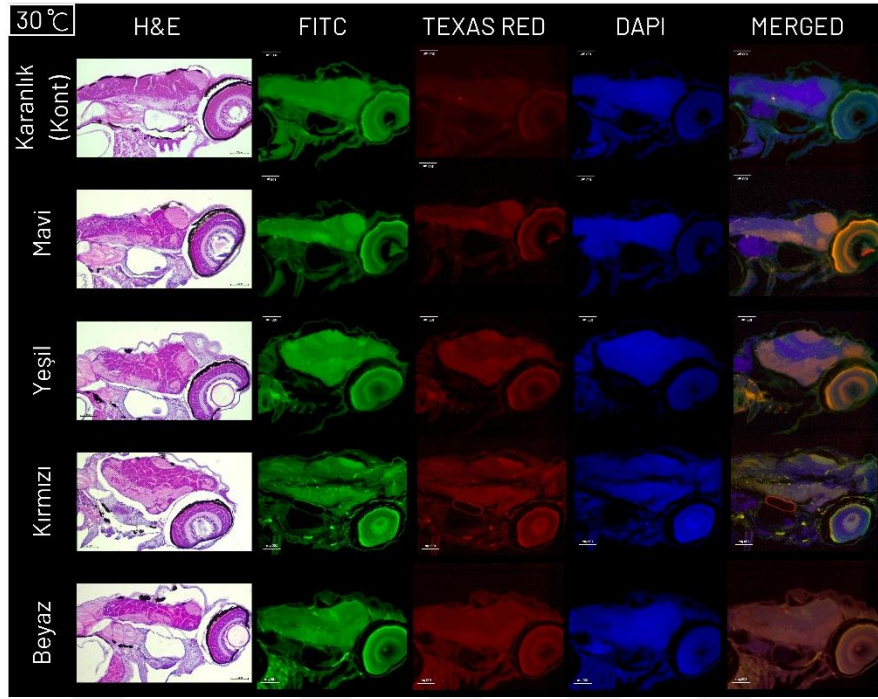
kırmızı ve beyaz LED ışıklarının tüm sıcaklıklarda en belirgin olumsuz etkileri yarattığı tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Yeşil ve mavi LED grupları da olumsuz etkilenmiş, ancak etkiler daha hafif düzeyde kalmıştır. Histopatolojik incelemeler, LED ışıkları ve sıcaklığın ortak maruziyet etkisinin, özellikle retinal tabaka dejenerasyonu, nöronlarda dejenerasyon ve ganglionlarda nekroz gibi durumlarda belirgin olduğunu ortaya koymuştur (Şekil 25, Şekil 26, Şekil 27). (nöronlarda dejenerasyon: $F = 2.041$, $p < 0,046$; ganglionlarda nekroz: $F = 12.859$, $p < 0,05$; nöronlarda nekroz: $F = 15.451$, $p < 0,039$).



Şekil 25. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular, 28 derece sıcaklıkta alınan enine kesitlerin mikroskopik görüntüleri



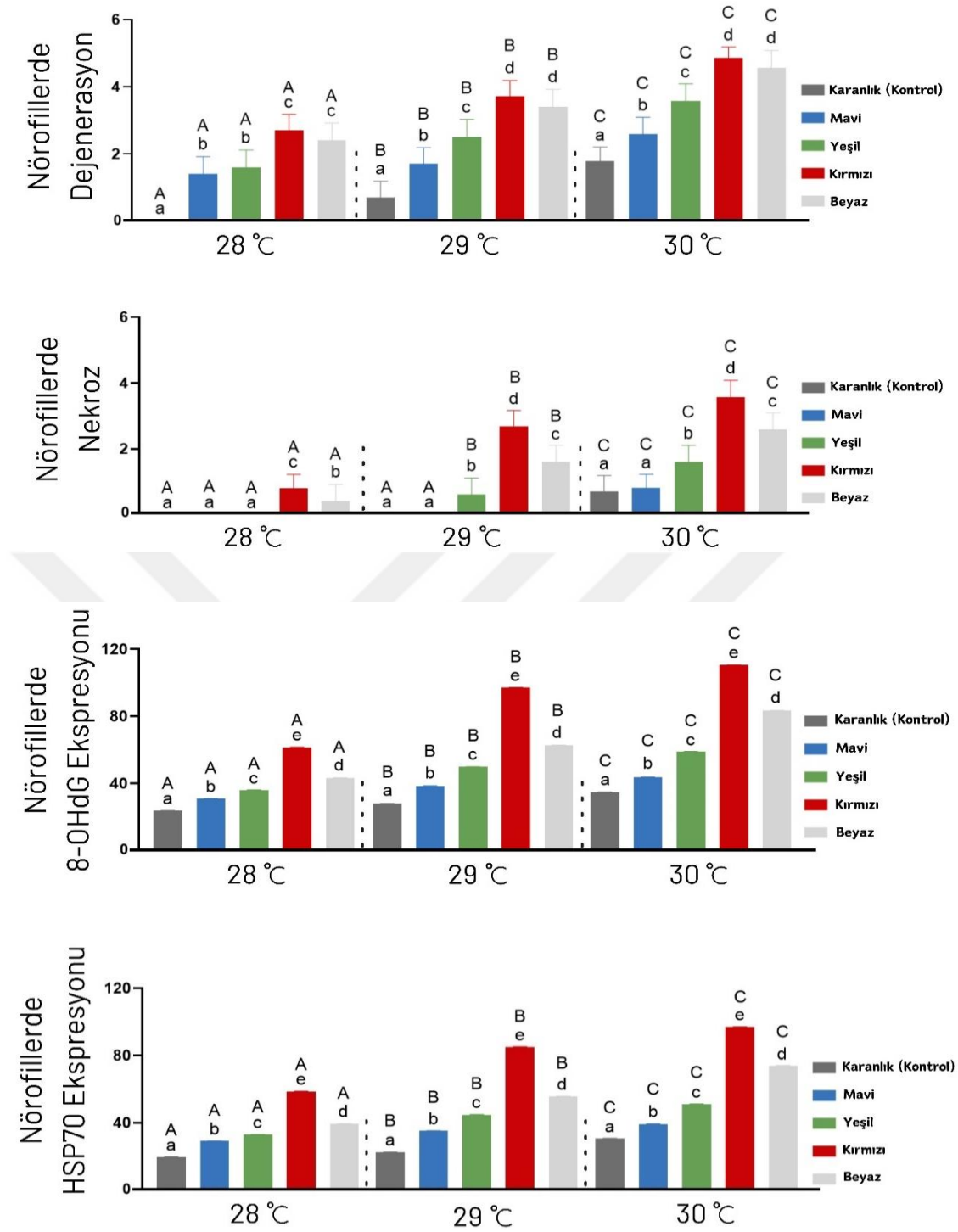
Şekil 26. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular; 29 derece sıcaklıkta alınan enine kesitlerin mikroskopik görüntüleri



Şekil 27. Histopatolojik ve immünohistokimyasal bulgular; 30 derece sıcaklıkta alınan enine kesitlerin mikroskobik görüntüleri

İmmüno Floresans bulgular

Isı Şok Proteini-70 (Hsp70), ısı stresi ve toksik kimyasallara yanıt olarak ekspresyon seviyeleri artan bir biyomarkerdir (Morales vd 2011). Hsp70'in artan ekspresyonu, organizmaların stres faktörlerine verdiği hücrel yanıtları gösteren kritik bir biyomolekül olarak öne çıkmaktadır. Zebra balığı larvalarının nöron ve ganglionlarında, LED ışık maruziyetine bağlı olarak farklı ekspresyon seviyeleri gözlemlenmiştir. Kırmızı ve beyaz LED gruplarında diğer gruplara kıyasla tüm sıcaklıklarda Hsp70 ekspresyon seviyelerinin önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. (Şekil 28) Artan hücrel stresin bir göstergesi olarak, ışık türlerinin ve sıcaklıkların organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri vurgulanmaktadır. Elde edilen sonuçlar, Hsp70'in çevresel stres koşulları altında zebra balığı embriyolarında stres yanıtında kritik bir rol oynadığını gösteren önceki araştırmalarla uyum içindedir (Fader vd 1994; Van Cleef-Toedt vd 2001; Hallare vd 2005).

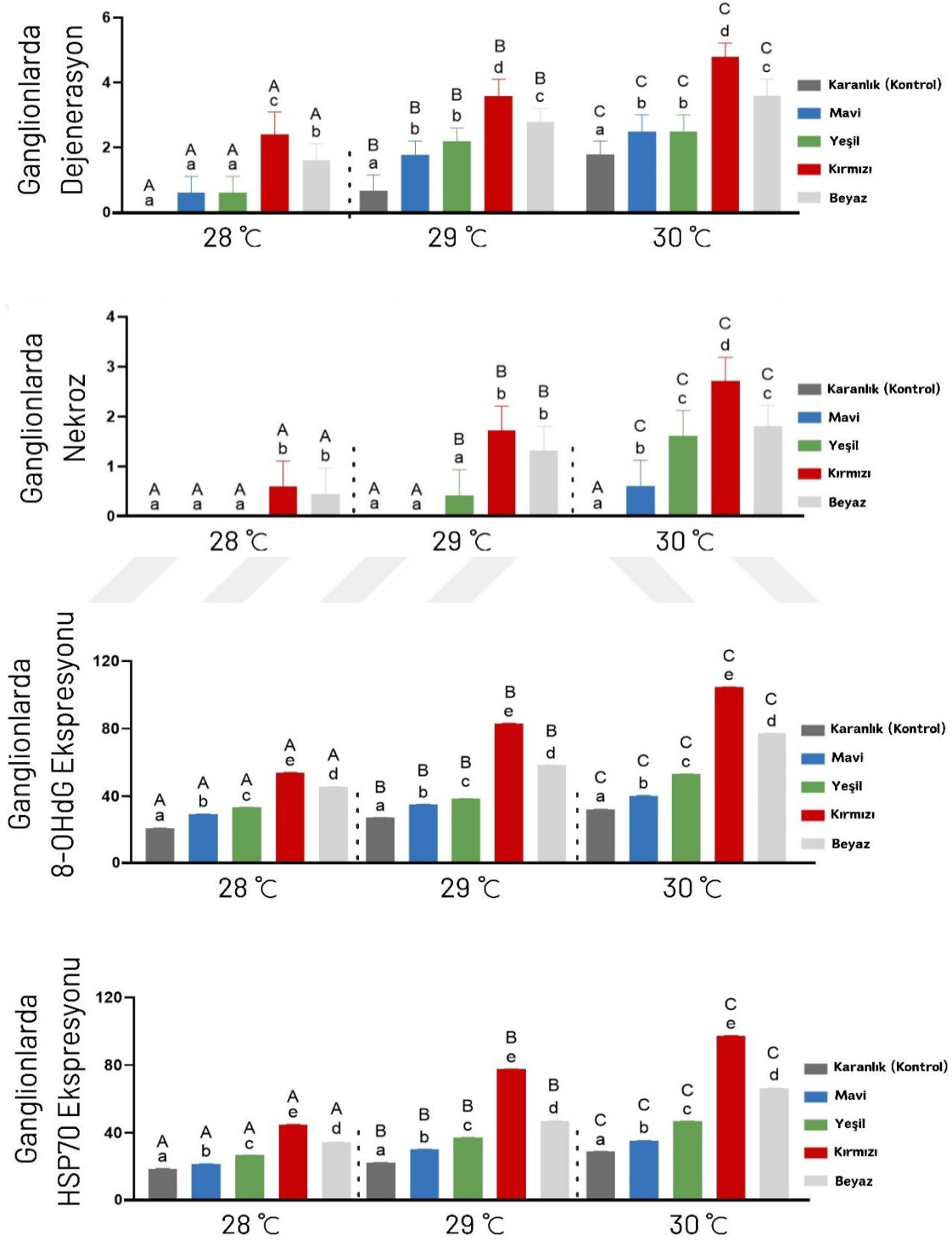


Şekil 28. Beyin nörofillerinde görülen histopatolojik hasar seviyeleri ve biyomarkerlerin floresan yoğunluğu. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

8-OHdG ekspresyonu

Reaktif oksijen türleri (ROS) tarafından üretilen DNA hasarının bir belirtici olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ekspresyonu, Hsp70 ekspresyon modellerini yansıtmıştır. 8-OHdG, nükleer ve mitokondriyal DNA'da baskın bir oksidatif hasar olup, oksidatif stres ve karsinogenez göstergesi olarak yaygın biçimde kullanılan bir biyomarker olarak kabul edilmektedir (Valavanidis vd., 2009). Nöronlarda 8-OHdG ekspresyonu, hem

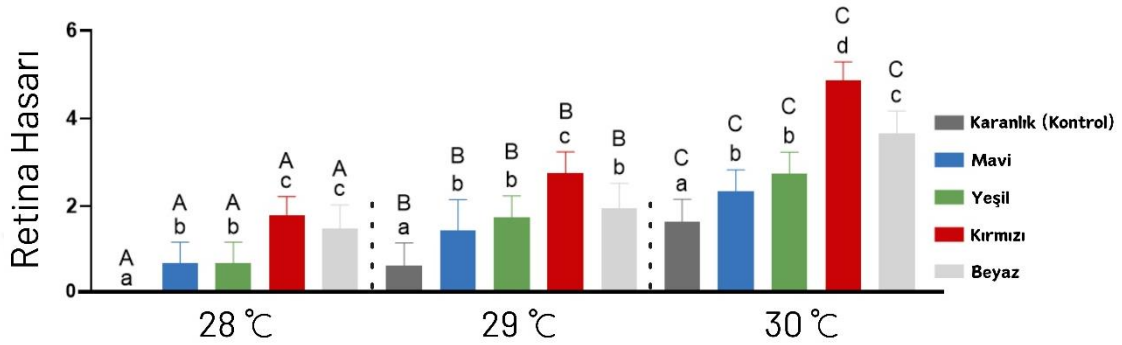
LED ışık rengi hem de sıcaklık tarafından önemli ölçüde etkilenmiştir. Bulgular, özellikle yüksek sıcaklıklarda kırmızı ve beyaz LED ışıklarının oksidatif stres ve DNA hasarını artırarak hücrel stres tepkilerini şiddetlendirdiğini göstermektedir. (Şekil 29) (nöronlarda 8-OHdG ekspresyonu: $F = 3.366\ 756$, $p < 0,044$). Bu sonuçlar, çevresel stres faktörlerinin DNA hasarına yol açabilecek biyomoleküler etkileşimleri nasıl tetiklediğini göstermektedir.



Şekil 29. Göz gangliyonlarındaki histopatolojik hasar düzeyleri ve biyomarkerlerden elde edilen floresan sinyali yoğunluğu. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Hücresel hasar ve kantifikasyon

Ganglionlardaki nekroz ve nöronlardaki dejenerasyon gibi hücresel hasarların analizinde, Şekil 30'da kantifikasyon yapılmış olup, bu parametrelerin hem LED ışık renkleri hem de sıcaklık tarafından önemli ölçüde etkilendiği gösterilmiştir. Yüksek sıcaklıklarla (28, 29 ve 30°C) birlikte kırmızı ve beyaz LED'ler özellikle zararlı olup, hücresel hasarı artırmıştır. Bu sonuçlar, çevresel stres faktörlerinin zebra balığı larvalarının sağlığı ve gelişimi üzerindeki kritik etkilerini vurgulamaktadır.



Şekil 30. Retina hasarı. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Veriler, LED ışık rengi ve sıcaklık kombinasyonunun oksidatif stresi artırdığını, hücresel stres yanıtlarını tetiklediğini ve zebra balığı larvalarında önemli histopatolojik hasara neden olduğunu kuvvetle öne sürmektedir. Bu bulgular, çevresel değişimlerin organizmalar üzerindeki olumsuz etkilerini anlamak için önemli veriler sunmakta ve bu tür stres faktörlerinin uzun vadeli etkilerinin daha fazla araştırılması gerektiğini vurgulamaktadır. En şiddetli etkiler, özellikle yüksek sıcaklıklarda, kırmızı ve beyaz LED gruplarında gözlenmiş olup, bu tür çevresel faktörlerin uzun vadeli etkilerini daha fazla araştırma gerekliliğini vurgulamaktadır.

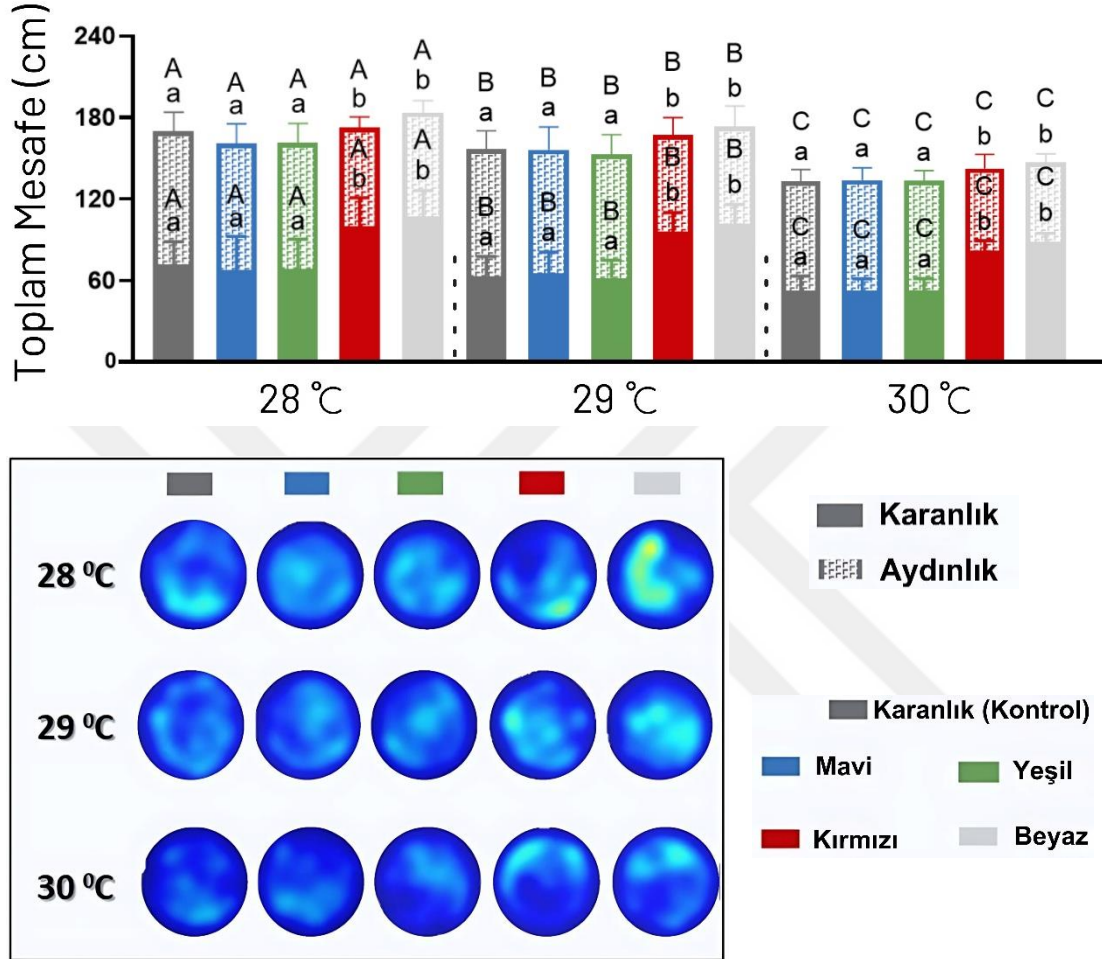
Davranışsal ve Fizyolojik Gözlemler

Yapılan çalışma, zebra balığı (*Danio rerio*) larvalarında farklı LED ışık renkleri ve çeşitli sıcaklıkların davranışsal ve fizyolojik etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemiştir. Bulgular, kırmızı ve beyaz LED ışıklarının larvaların lokomotor ve kardiyovasküler fonksiyonlarını önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir ve bu durum, çevresel faktörlerin sucul organizmalar üzerindeki etkilerini anlamanın önemini vurgulamaktadır.

Davranışsal analiz

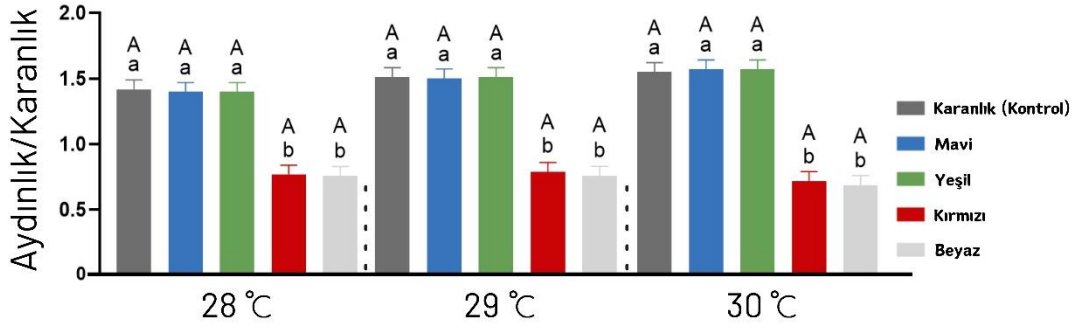
Şekil 31'de gösterildiği gibi, kırmızı ve beyaz LED ışıklarına maruz kalan zebra balığı larvaları, diğer gruplara kıyasla toplam yüzme mesafesinde önemli bir artış sergilemiştir. Bu artış, bu ışık koşulları altında artan stres veya uyarılma seviyelerini önermektedir. Işık

spektrumunun, organizmaların doğal davranışlarını nasıl etkilediği, çevresel uyaranların hayatta kalma stratejilerinde oynadığı kritik rolü bir kez daha gözler önüne sermektedir. Ancak, sıcaklık arttıkça, tüm gruplarda yüzme mesafesinde bir azalma gözlenmiştir. Bu bulgu, yüksek sıcaklıkların enerji talebini artırarak organizmanın aktivitesini sınırlayabileceğini göstermektedir.



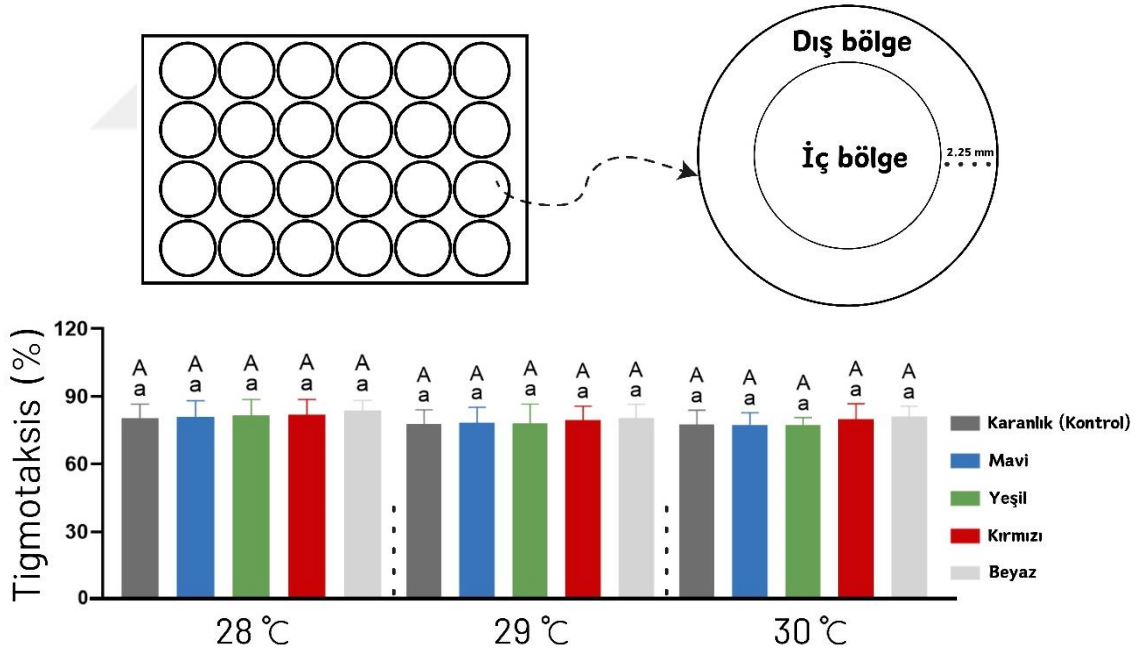
Şekil 31. Zebra balığı larvalarının lokomotor aktivitesi. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Aydınlık/karanlık tercih testi, kırmızı ve beyaz LED ışıklarının zebra balığı larvaları üzerindeki etkilerini daha da derinlemesine inceleme fırsatı sunmuştur. Şekil 32'ye göre, kırmızı ve beyaz LED rengine maruz kalan larvalarda aydınlık/karanlık oranında belirgin bir azalma gözlenmiştir, ortaya çıkan eğilim ışığa karşı artan duyarlılığı ve kaçınma davranışını işaret edebilir. Gözlemlenen veriler, zebra balığının stres altındaki uyum mekanizmalarını daha iyi anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu ortaya koymaktadır.



Şekil 32. Zebra balığı larvalarının aydınlık/ karanlık oranı. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Öte yandan, tigmotaksis analizi, larvaların kabın duvarlarına yakın kalma eğilimini ölçen ve bu davranış anksiyete ile ilişkilendirilen bir davranış olup, gruplar arasında anlamlı farklar göstermemiştir. Elde edilen sonuçlar, kırmızı ve beyaz LED'lerin genel aktivite seviyelerini ve ışık/karanlık tercihlerini etkilerken, tigmotaksis ile ölçülen anksiyete benzeri davranışları anlamlı şekilde değiştirmediklerini göstermektedir (Şekil 33). Bununla birlikte, zebra balığı larvalarının farklı stres faktörlerine verdiği davranışsal tepkilerin karmaşık ve çok boyutlu olduğu anlaşılmaktadır.

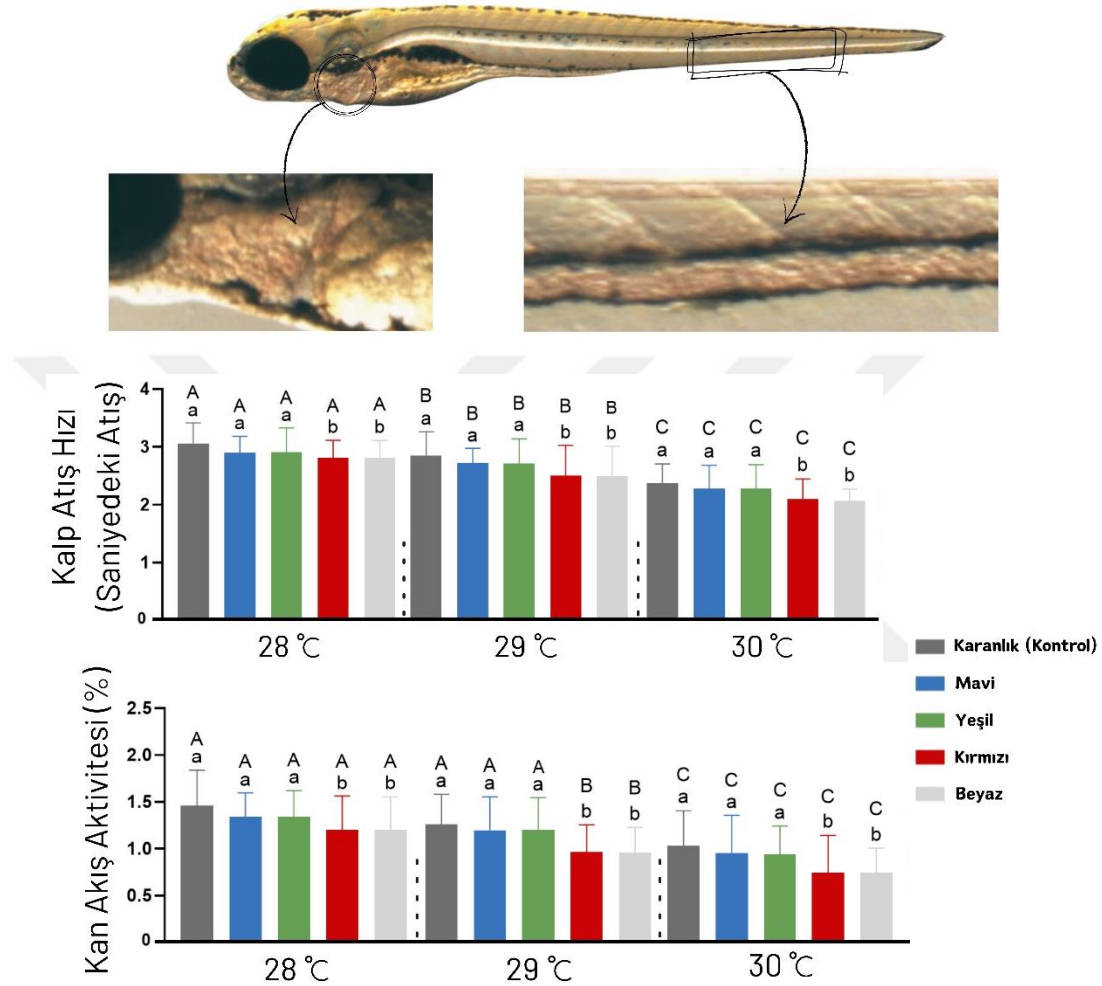


Şekil 33. Zebra balığı larvalarının tigmotaksis sonuçları. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Fizyolojik gözlemler

Davranışsal değerlendirmelerin yanı sıra araştırmada, LED ışık maruziyetinin fizyolojik etkilerini incelemek amacıyla kalp hızı ve kan akışı gibi kardiyovasküler parametreler de ölçülmüştür. Şekil 34'de gösterildiği üzere, kırmızı ve beyaz LED ışıklarına maruz kalan

larvalarda hem kalp hızı hem de kan akışında önemli bir azalma gözlenmiştir. Söz konusu azalma, organizmanın homeostatik dengesinin bozulabileceğini ve ışık koşullarının kalp sağlığı üzerindeki potansiyel riskleri artırabileceğini işaret etmektedir. Elde edilen veriler, kırmızı ışığın stres tepkilerini artırarak kalp hızı gibi temel fizyolojik parametreleri olumsuz etkileyebileceğini öne süren literatürle uyumludur.



Şekil 34. Zebra balığı larvalarının kalp atış hızı ve kan akış aktivitesine ilişkin bulgular. Büyük harfler, sıcaklıklar arasındaki istatistiksel farklılıkları; küçük harfler ise aynı sıcaklıkta farklı renkler arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir ($p < 0,05$)

Sıcaklık artışlarının bu parametreler üzerindeki etkisi daha da belirginleşmiş olup, kırmızı ve beyaz LED'lerin olumsuz etkilerinin sıcaklık artışıyla arttığı gözlenmiştir. Gözlemler, ışık ve sıcaklık gibi çevresel stres faktörlerinin birleşik etkilerinin organizmanın fizyolojik yanıtlarını daha karmaşık hale getirebileceğini ortaya koymaktadır. Önceki çalışmalar, ışık ve sıcaklık kombinasyonlarının fizyolojik sistemlerde beklenmedik ve şiddetli tepkilere yol açabileceğini de belirtmiştir.

Çalışma sonuçlarına bakıldığında LED ışık rengi ve sıcaklığın zebra balığı larvalarının davranışı ve fizyolojisi üzerinde önemli etkilere sebep olduğu görülmüştür. Özellikle kırmızı

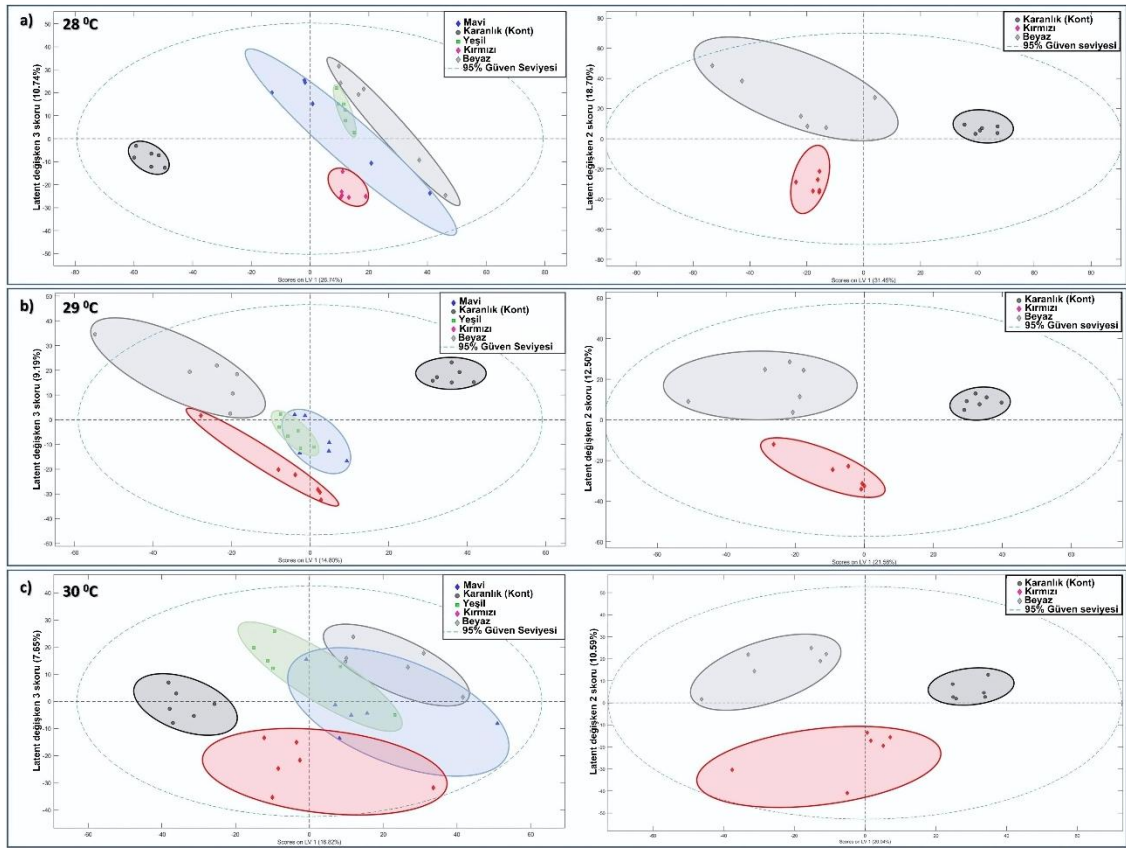
ve beyaz LED ışıklarının hem lokomotor aktivite hem de kardiyovasküler fonksiyonlar üzerinde zararlı etkileri olduğu bulunmuş olup, bu etkiler yüksek sıcaklıklarda daha belirgin hale gelmiştir. Elde edilen bulgular çevresel ışık ve sıcaklık değişikliklerinin sucul organizmaların gelişimi ve sağlığı üzerinde derin etkilere sahip olabileceğini göstermektedir.

Metabolom Sonuçları

LED ışık maruziyetinin zebra balığı larvalarının metabolomik profilleri üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla kapsamlı bir metabolomik analiz uygulanmıştır. Biyoinformatik ve spektral analizler sonucunda toplam 3.855 metabolik özellik tespit edilmiştir. Bu tür büyük ölçekli verilerin analizi, biyolojik sistemlerin ışıkla nasıl etkileşime girdiğini anlamak açısından kritik bir rol oynamaktadır. Veriler, MATLAB 2020b yazılımına kemometri analizi için aktarılmış ve çeşitli ön işleme adımlarından geçirilmiştir. Kalite kontrol (QC) örneklerinin %50'sinden daha azında bulunan, düşük yoğunluklu (≤ 3.000 RSD) ve düşük relatif standart sapma ($\leq 30\%$ RSD) değerine sahip özellikler veri kümesinden çıkarılmıştır. Bu adımlar, analiz sonuçlarının güvenilirliğini artırmak ve potansiyel gürültü kaynaklarını en aza indirmek açısından kritik öneme sahiptir.

Filtrelenen veriler daha sonra sınıflandırma analizi için PLS-Toolbox'a aktarılmıştır. Yapılan analiz, biyolojik sistemlerin farklı dalga boylarındaki ışığa maruz kaldıklarında nasıl tepki verdiklerini açıklamak amacıyla kullanılmıştır. Ortogonal Projeksiyonlar ile Gizli Yapılar Ayrımcı Analizi (OPLS-DA) yöntemi, gruplar arasındaki farklılıkları vurgulamak ve ışığın biyolojik sistemler üzerindeki belirli etkilerini açıklamak için uygulanmıştır. Analiz sonuçları, gruplar arasında önemli farklılıklar olduğunu ortaya koyarak çalışmanın hipotezini desteklemiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda, mavi ve yeşil ışık maruziyet gruplarının daha homojen bir yapıya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, söz konusu ışık dalga boylarının hücresel düzeyde benzer tepkiler ürettiğini ortaya koymaktadır. Mavi ve yeşil LED'lerin hücresel metabolizma üzerinde diğer dalga boylarına kıyasla daha kararlı etkiler yarattığı düşünülmektedir. Öte yandan, kırmızı, beyaz ve karanlık grupları arasındaki metabolik profil farklılıkları, grupların net bir şekilde ayırt edilmesine olanak tanımıştır (Şekil 35). Elde edilen sonuçlar, kırmızı ve beyaz LED ışığının biyolojik sistemler üzerinde daha çeşitli ve potansiyel olarak daha yoğun etkiler yaratabileceğini öne sürmektedir.



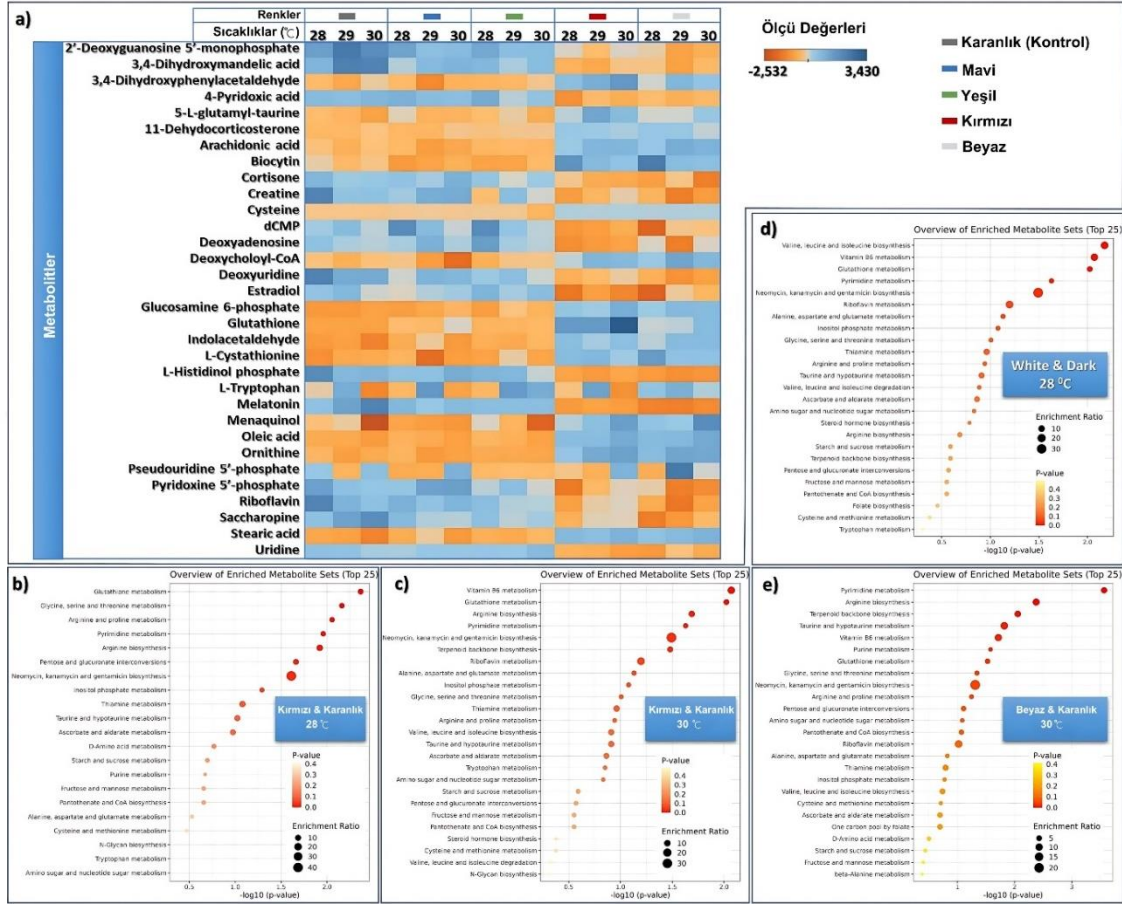
Şekil 35. Tüm LED maruziyet gruplarını (kontrol (karanlık), mavi, yeşil, kırmızı ve beyaz) sınıflandıran gizli değişkenlerin skor grafiği (solda) ve önemli ölçüde farklılık gösteren LED maruziyet gruplarının kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığı skor grafiği (sağda)

Grafiklerinden elde edilen veriler, biyolojik sistemler üzerindeki ışığın etkilerini görselleştirme ve anlama açısından değerli içgörüler sağlamaktadır. Gruplar arasında belirgin ayrımlar gözlemlenmiş olup, farklı ışık dalga boylarının biyolojik sistemler üzerinde benzersiz etkileri olduğunu göstermektedir. Mavi ve yeşil LED'lerin etkileri daha homojen ve kararlı iken, kırmızı ve beyaz LED'ler daha dramatik ve farklılaşmış etkiler yaratmaktadır. Bu bulgu, kırmızı ve beyaz LED'lere maruz kalmanın hücresel metabolizma üzerinde daha radikal değişikliklere yol açabileceğini önermektedir.

Metabolit açıklamaları MATLAB yazılımı tarafından korunmuş ve İnsan Metabolomu Veritabanı (HMDB) ve MS-DIAL gibi referans veri tabanları ile karşılaştırılmıştır. Mummichog tekniği, 10 ppm kütle toleransı ile metabolit açıklamaları için kullanılmış olup, bu teknik hassas metabolit tanımlamasına olanak tanımaktadır. Toplamda 117 metabolit başarıyla tanımlanmış olup, bu metabolitlerin anlamlılığı Welch testi kullanılarak istatistiksel olarak doğrulanmıştır. Bu testler, ışık maruziyetine duyarlı metabolitlerin belirlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

Metabolitlerin biyolojik yollara etkilerini daha iyi anlamak amacıyla, Kyoto Gen ve Genom Ansiklopedisi (KEGG) kimlikleri oluşturulmuş ve bu kimlikler kullanılarak yol analizi

gerçekleştirilmiştir. Her metabolitin yukarı-regülasyon ve aşağı-regülasyonunu izlemek için Fold Analizi yapılmıştır. Bu analizler, ışık maruziyeti altında hangi biyolojik yolların aktif hale geldiğini veya baskılandığını göstermektedir. Önemli değişiklikler gösteren metabolitleri belirlemek ve görselleştirmek için bir ısı haritası oluşturulmuştur (Şekil 36).



Şekil 36. Z-skora göre önemli ölçüde değişen anotlanmış metabolitlere ait ısı haritası (a). Kırmızı ve beyaz LED'ler için p-değeri ve zenginleştirme oranını içeren, önemli ölçüde değişen metabolitler arasında en çok etkilenen yollar; en zengin 25 yolun izlenmesi (b-e).

Isı haritası, bu etkilerin belirli metabolitler düzeyinde nasıl farklılaştığını daha ayrıntılı olarak göstermektedir. Özellikle, bazı metabolitlerin belirli ışık dalga boylarına karşı daha duyarlı olduğu ve bu dalga boylarının biyolojik yollar üzerinde önemli düzenleyici etkiler yarattığı gözlemlenmiştir. Örneğin, kırmızı ve beyaz LED maruziyeti altında enerji metabolizması ile ilgili yollarda belirgin bir artış gözlenmiş olup, bu dalga boylarının enerji metabolizması üzerinde önemli bir etkisi olabileceğini önermektedir.

Elde edilen sonuçlar, LED ışık maruziyetinin biyolojik sistemlerdeki metabolomik profilleri nasıl değiştirdiğine ve bu değişikliklerin biyolojik fonksiyonlar üzerindeki olası etkilerine dair daha derin bir anlayış sağlamaktadır. Özellikle, LED ışıklarının potansiyel biyolojik etkilerine ve bunların klinik veya endüstriyel uygulamalardaki önemine yönelik gelecekteki araştırmalar için değerli bilgiler sağlamaktadır.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Çevresel koşulların organizmalar üzerindeki etkileri arasında ışık ve sıcaklık, biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde en kritik rol oynayan faktörlerdir. Işık ve sıcaklık gibi iki temel faktör, hem fizyolojik hem de davranışsal yanıtları şekillendirerek organizmaların hayatta kalma ve adaptasyon yeteneklerini doğrudan etkiler. Çeşitli araştırmalar, ışık ve sıcaklık gibi çevresel stres faktörlerinin karmaşık bir şekilde etkileşime girerek sucul organizmalar üzerinde önemli etkiler yarattığını vurgulamaktadır. Özellikle LED'ler tarafından yayılan farklı ışık dalga boylarının, sıcaklık artışlarıyla birleştiğinde sucul türlerde oksidatif stres ve apoptozu artırabileceği gösterilmiştir (Kim vd 2016). Bu ikili maruziyet, sucul organizmaların hayatta kalması ve sağlığı üzerinde ciddi fizyolojik değişikliklere yol açabilir. Ayrıca, ışık ve sıcaklığın sinerjik etkilerinin, çeşitli sucul türlerde büyüme gerilemesi ve artmış ölüm oranları gibi olumsuz sonuçları hızlandırdığı belgelenmiştir (Grubisic vd 2018). Farklı dalga boylarındaki ışıklara ve küresel ısınma nedeniyle artan sıcaklıklara maruz kalmanın, özellikle sucul organizmalar üzerinde olumsuz etkiler yarattığı bildirilmiştir (Swaddle vd 2015; Kühne vd 2021). Gözlemlenen etkiler, sadece doğrudan fizyolojik hasarla sınırlı kalmayıp, birden fazla stres faktörünün gıda ağlarını ve ekolojik dengeyi bozduğu ekolojik sonuçları da içermektedir (Beauchesne vd 2021). Ortaya çıkan faktörler, ekolojik denge ve biyolojik çeşitlilik açısından önemli sonuçlar yaratabilir. (Holker vd 2021). Sıcaklık değişimlerinin sucul organizmalar üzerindeki etkilerini inceleyen birçok çalışma olmasına rağmen, bu çalışmaların büyük kısmında kullanılan sıcaklık aralıklarındaki geniş farklılıklar, küresel ısınmanın etkilerini daha gerçekçi değerlendirmeyi güçleştirmektedir. Son dönemdeki araştırmalar, hafif sıcaklık artışlarının bile sucul organizmalarda stres yanıtlarını önemli ölçüde değiştirebileceğini ve diğer çevresel kirleticiler ve stres faktörlerinin etkilerini artırabileceğini önermektedir (Muñiz-González vd 2019). Bununla birlikte, mevcut bilgiye göre, farklı dalga boylarındaki ışığın (mavi, 450 nm; yeşil, 530 nm; kırmızı, 630 nm; beyaz floresan lamba) ve düşük sıcaklık artışlarının (28, 29 ve 30 °C) birlikte maruziyetinin etkilerini araştıran ilk çalışma, bilim dünyasında önemli bir model organizma olan zebra balığı ile gerçekleştirilmiştir.

Teleost grubuna ait zebra balığı, gündüz düşük gece ise yüksek melatonin seviyeleri gösterir. Bu durum, ışığa duyarlı pineal sistem ve sirkadiyen osilatörleri barındıran retina tarafından düzenlenmektedir (Cahill, 1996). Döllenmenin ardından, retina omurgalı gözünde yer alan koni ve çubuklar gibi fotoreseptörler dahil tüm hücre tiplerini barındırır. Çalışmalar, ışık ortamının bu fotoreseptörlerin gelişimi ve düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığını,

farklı ışık dalga boylarının zebra balığı larvalarında büyüme ve gen ekspresyonu modellerini etkilediğini göstermiştir (Di Rosa vd 2015). Işık dalga boylarının etkisi sadece görsel gelişimin ötesine uzanmakla kalmaz; aynı zamanda sirkadiyen ritimleri ve zebra balığının davranışsal tepkilerini de etkiler, bu da ışık maruziyeti ile fizyolojik süreçler arasında karmaşık bir etkileşim olduğunu gösterir (Septriani vd 2021). Benzersiz bir şekilde, konilerin mozaik deseninde düzenlenen zebra balığı larvalarında, ultraviyole-mavi ve ardından yeşil-kırmızı eklenmesiyle spektral alt bölgeler oluşur (Allison vd 2010; Adatto vd 2016). Zebra balığı larvalarının ışık spektrumlarına karşı duyarlılık göstermesi oldukça dikkat çekicidir. Söz konusu duyarlılık yalnızca görsel bir fenomenle sınırlı kalmaz; farklı ışık koşullarında değişen lokomotor aktivite gibi çeşitli biyolojik süreçleri de etkiler (Tuz-Sasik vd 2022). Yapılan araştırmalar, su sıcaklığı, beslenme faktörleri, kirleticiler, tankın rengi ve aydınlatma koşulları gibi doğrudan ve dolaylı etkenlerin balıkların büyümesinde anormalliklere ve ölümlere yol açabileceğini göstermiştir (Yan vd 2019). Ayrıca, sıcaklık ve ışık koşullarının etkileşimde olduğu, sıcaklık değişikliklerinin zebra balığı larvaları üzerindeki ışığın etkisini modüle edebileceği ve bunun da büyüme modelleri ve stres yanıtlarında değişikliklere yol açtığı bilinmektedir (Pan ve von Herbing 2017).

Çalışmamızda farklı sıcaklıkların etkileri incelendiğinde, en yüksek sıcaklıkların ölüm oranı ve vücut anormalliklerinde belirgin bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, artan sıcaklıkların zebra balığı larvalarının normal gelişimini ve fizyolojik durumunu bozarak ölüm oranlarını artırdığı ve gelişimsel kusurları şiddetlendirdiğini ortaya koyan önceki araştırmalarla uyumludur (Joshi ve Pancharatna 2019). Yüksek sıcaklıklarda ortaya çıkan durum, larvaların erken gelişim aşamalarındaki fizyolojik işlev bozukluklarından kaynaklanabilir. (Ashaf-Ud-Doulah vd 2021). Özellikle yüksek sıcaklıklar, oksidatif stresle ilişkilendirilir; bu durum hücresel hasarı artırarak anormalliklerin sıklığını yükseltmektedir (Septriani vd 2021). Vücut anormallikleriyle paralel olarak, vücut uzunluğundaki azalmaların artan sıcaklıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, zebra balığı embriyolarında artan sıcaklıklarla birlikte ölüm oranlarında ve gelişimsel anormalliklerde belirgin bir artış gözlemlenmiştir (Schirone ve Gross 1968; Dorts vd 2016; Ashaf-Ud-Doulah vd 2021;). Belirgin olan durum, erken gelişim aşamalarında sıcaklığa karşı bir hassasiyeti ve muhtemelen kritik gelişim yollarının bozulmasını işaret etmektedir (Park vd 2020).

LED ışıkları açısından değerlendirildiğinde ise, kırmızı ve beyaz LED ışıklarının en belirgin olumsuz etkileri yarattığı görülmüştür. Aynı sıcaklık koşullarında, kırmızı ve beyaz LED gruplarının ölüm oranlarını diğer renk gruplarına kıyasla daha yüksek şekilde etkilediği tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Araştırmalar, özellikle yüksek sıcaklık koşullarında kırmızı ve beyaz

LED ışıklarının diğer ışık spektrumlarına göre daha fazla fizyolojik stres oluşturduğunu ortaya koymaktadır (Mizusawa vd 2018). Çalışma verileri, yüksek sıcaklık stresinin kırmızı ve beyaz LED ışıklarının zararlı etkilerini daha da artırdığını açıkça ortaya koymaktadır. Dev tatlı su karidesi larvalarında ışık türlerinin hayatta kalma oranlarına etkisini inceleyen bir araştırmada, kırmızı ışık altında en düşük hayatta kalma oranının tespit edildiği, buna karşın yeşil, beyaz, sarı ve mavi ışık spektrumları arasında anlamlı bir fark bulunmadığı ifade edilmiştir. (Wei vd 2021).

Farklı bir araştırmada, mor, yeşil ve kırmızı ışık altında yetiştirilen zebra balığı larvalarında 5 dpf'de morfolojik bozuklukların meydana geldiği ve çene deformasyonları ile omurga eğriliklerinin gözlemlendiği rapor edilmiştir. (Villamizar vd 2013). Bu bulgular, belirli ışık dalga boylarının zebra balığı larvalarının gelişimini önemli ölçüde etkileyebileceğini ve sıklıkla malformasyonlar ve diğer gelişimsel sorunlara yol açabileceğini gösteren araştırmalarla uyumludur. Örneğin, kırmızı ve yeşil ışığa maruz kalmanın, bu ışık spektrumlarının neden olduğu stres nedeniyle, daha yüksek malformasyon oranları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Septriani vd 2021). Beyaz LED ışığa maruz kalmanın zebra balığı larvalarında vücut uzunluğunun kısılmasına neden olduğu gözlemlenmiştir (Üstündağ vd 2019). Bu, beyaz ışığın tam spektrum olmasına rağmen, özellikle sıcaklık gibi diğer stres faktörleriyle birleştiğinde, gelişimsel gecikmelere ve büyüme sorunlarına da yol açabileceğini gösteren diğer çalışmalarla tutarlıdır (Karakatsouli vd 2008). Bir çalışmada, farklı ışık spektrumlarına maruz kalan zebra balığı larvalarının beyaz veya mavi ışıkta yetiştirildiğinde en yüksek hayatta kalma oranına sahip olduğu, kırmızı ışıkta yetiştirilenlerin ise %100 ölüm oranına sahip olduğu bildirilmiştir (de Alba vd 2022). Kırmızı LED ışığının hayatta kalma oranları üzerindeki olumsuz etkileri geniş çapta belgelenmiş olup, mevcut çalışmalar kırmızı ışığın sirkadiyen ritimleri bozarak oksidatif stresin artmasına ve buna bağlı olarak mortalitenin yükselmesine neden olabileceğini öne sürmektedir. (Xu vd 2023). Benzer şekilde, farklı türlerin büyümesinin kırmızı LED altında olumsuz etkilendiği bildirilmiştir (Ruchin 2004; Sierra-Flores vd 2016; Wu vd 2021; Yamanome vd 2009). Kırmızı LED'in büyüme üzerindeki olumsuz etkisi, özellikle ışığa duyarlı türlerde belirgindir; burada kırmızı ışığın büyüme hormonlarını inhibe ettiği ve metabolik süreçleri değiştirdiği gösterilmiştir (Noureldin vd 2021).

Kuluçka, çevresel faktörlerin balıkların erken yaşam evreleri üzerindeki etkilerini araştırmada yaygın olarak kullanılan bir sonuç ölçütüdür (Oliveira vd 2009). Çalışmalar, kuluçka oranlarının hem ışık spektrumu hem de sıcaklıktan önemli ölçüde etkilenebileceğini, belirli dalga boylarının ve daha yüksek sıcaklıkların kuluçka sürecini hızlandırabileceğini göstermiştir (Peng vd 2019). Çalışmamızda, diğer gruplara kıyasla, tüm sıcaklık seviyelerinde

kırmızı ve beyaz LED ışık altında balıkların kuluçka oranlarında artış gözlemlenmiştir. Tüm gruplarda sıcaklığın artmasıyla kuluçka oranları daha yüksek olmuştur. Artan sıcaklıkların metabolik hızları artırarak kuluçka süresini kısalttığı, diğer türlerde elde edilen bulgularla tutarlıdır (Yanagitsuru vd 2021). Aynı şekilde, yüksek sıcaklık stresi altında kuluçka süresinin kısaldığı, farklı balık türlerinde de bildirilmiştir (Watanabe vd 1995; Thépot ve Jerry 2015; Ashaf-Ud-Doula vd 2021). 30 °C'de kuluçka oranları ve hızları önemli ölçüde farklılık göstermiştir ($p < 0,05$). Elde edilen sonuçlar, ışığın yoğunluğu ve spektrumunun, sıcaklıkla birlikte balık embriyolarında kuluçka dinamiklerini düzenlemede kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (Downing ve Litvak 2002). Işık spektrumunun artan sıcaklıkla birlikte kuluçka oranları üzerinde daha belirgin bir etkiye sahip olabileceği görülmüştür. Çalışmamızda gözlemlenen hızlandırılmış kuluçka süreci, kuluçka enzimlerinin ve embriyo hareketlerinin artan aktivitesinin tetiklenmesiyle açıklanabilir (Samaee vd 2015). Ayrıca, çalışmalar, özellikle kırmızı spektrumda belirli dalga boylarının kuluçka enzimlerinin aktivitesini artırarak kuluçka sürecini hızlandırabileceğini göstermiştir (El-Magsodi vd 2016). Zebra balığı ile gerçekleştirilen birçok gelişimsel toksisite çalışmasında, anormal morfolojilerin genellikle sıcaklık ve ışık gibi çevresel faktörlere bağlı olarak artan reaktif oksijen türleri (ROS) ve buna bağlı olarak artan apoptoz ile ilişkilendirildiği belirtilmiştir (Sulukan vd 2017; Parlak 2018; Liu vd 2022). Son çalışmalar, ışık ve sıcaklık gibi çevresel stres faktörlerinin tetiklediği artan ROS seviyelerinin zebra balığı embriyolarında önemli oksidatif strese ve apoptoza yol açarak normal gelişimi olumsuz etkileyebileceğini doğrulamıştır (Park vd 2020). Oksidatif stres genellikle antioksidan savunmaların düzensizliği ile ilişkilendirilir ve hücresel hasarın daha da kötüleşmesine neden olur (Baran vd 2021). ROS, hücrelerde oksidatif stresin bir belirteci olarak kabul edilmektedir. Gerçekten de, aşırı ROS üretiminin, gelişmekte olan dokularda yaygın hücre ölümüne yol açan apoptotik yolları, özellikle kaspazlar ve pro-apoptotik genlerin yukarı düzenlenmesini aktive ettiği gösterilmiştir (Jiang vd 2019). Daha önce yapılan çalışmalar, ışık spektrumu gibi çevresel faktörlerin teleostların fizyolojik durumları üzerinde belirgin etkiler yarattığını göstermiştir (Wu vd 2021). Örneğin, belirli ışık spektrumlarının, özellikle mavi ve yeşil ışığın, antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif stresi hafiflettiği, böylece apoptozu azalttığı ve zebra balığında daha iyi gelişimsel sonuçlar sağladığı bulunmuştur (Kim vd 2016). Nitekim yeşil ve/veya mavi LED ışıklarına maruz kalan farklı balık türlerinde antioksidan kapasitenin arttığı, oksidatif stresin azaldığı ve bağışıklık fonksiyonunun iyileştiği gösterilmiştir (Volpato ve Barreto 2001; Shin vd 2011; Choi vd 2012; Akhtar vd 2022).

Daha önce yapılan çalışmalardan elde edilen bulgular, yüksek sıcaklık ve bazı ışık koşullarının zebra balığı larvalarında oksidatif stresin artmasına neden olabileceğini göstermektedir. Bu stres faktörlerinin, hücresel redoks dengesini bozarak reaktif oksijen

türlerinin (ROS) üretimini artırdığı, bunun da önemli hücresel hasara yol açabileceği ve gelişimsel anormalliklere katkıda bulunabileceği bilinmektedir (Liu vd 2015). Araştırmamızda gözlemlenen veriler, larva boyama analizlerinin, yüksek sıcaklık ile kırmızı ve beyaz LED ışıklarının zebra balığı larvalarında en yüksek oksidatif stres seviyelerini tetiklediğini işaret etmektedir. Sıcaklık ve ışığın oksidatif stresi artırabileceği, özellikle kırmızı ışığın lipid peroksidasyonunu teşvik etme ve antioksidan savunma mekanizmalarını bozma potansiyeline sahip olduğu, zararlı etkilerinin belirgin olduğu bulgularla desteklenmektedir (Yuan vd 2017). Metabolom sonuçlarına göre, gruplarda gözlemlenen yüksek glutatyon seviyeleri de bu etkiyi desteklemektedir. Yüksek glutatyon seviyeleri genellikle ROS'un zarar verici etkilerine karşı koymak için hücresel bir yanıt olarak görülür; ancak, bu sistem aşırı yüklendiğinde başarısız olabilir ve bu da artan oksidatif hasar ve hücre ölümüne yol açabilir (Jin vd 2015). Glutatyon seviyelerinin yüksek olmasına karşın, glutatyon sentezinde kritik bir rol oynayan riboflavin seviyelerinin kırmızı ve beyaz LED gruplarında daha düşük olması beklenmedik bir durumdur. Bu gözlem, antioksidan sistemin ağır bir baskı altında olabileceğini, bu da redoks dengesini korumak için gerekli olan temel kofaktörlerin tükenmesine yol açabileceğini düşündürmektedir (Nunes vd 2019). Riboflavinin antioksidan özelliklerine karşın düşük seviyelerde bulunması, araşidonik asit, stearik asit ve oleik asit seviyelerinin artışına neden olabilir. Kırmızı ve beyaz LED ışığının tetiklediği yağ asidi metabolizması bozuklukları, muhtemelen lipid peroksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu lipid peroksidasyonu, oksidatif stresin iyi belgelenmiş bir sonucudur; burada ROS, hücre zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerine saldırır ve hücresel hasarı daha da şiddetlendirebilecek zararlı yan ürünlerin oluşumuna yol açar (Dreier vd 2020). Kırmızı LED ışık spektrumu, sarıkuyruklu palyaço balığında (*Amphiprion clarkii*) oksidatif stresin artmasına neden olmuş ve bu durum, antioksidan enzim gen ekspresyon seviyesi ile enzim aktivitesiyle tanımlanmıştır (Shin vd 2011).

Toplanan veriler, genç balıkların büyüme koşullarını iyileştirmek ve oksidatif strese neden olabilecek faktörleri anlamada kritik bir rol üstlenmektedir. Işık spektrumu ve sıcaklık arasındaki etkileşim, sucul organizmalarda oksidatif stres seviyelerini belirlemede kritik öneme sahiptir, çünkü farklı ışık koşulları sıcaklığa bağlı stresin etkilerini ya şiddetlendirebilir ya da hafifletebilir (Kim vd 2016). Çalışmamızda yapılan immünohistokimyasal analizler, kırmızı ve beyaz LED ışığa maruz kalan larvaların beyinlerinde gözlemlenen yüksek DNA hasarının, bu gruplarda tespit edilen aşırı ROS üretiminin bir sonucu olabileceğini göstermektedir. Ortaya çıkan bulgular, diğer araştırmaların sonuçlarıyla uyum göstermektedir. Çalışmalarda, artan ROS seviyelerinin, özellikle yüksek yoğunluklu ışık maruziyeti altında meydana gelen stres koşullarında, önemli DNA hasarı ve apoptoz ile doğrudan ilişkilendirildiği belirlenmiştir. (Zhao vd 2016). Metabolom sonuçlarına göre, kırmızı ve beyaz LED'lere maruz kalan larvalarda dört

nükleobazdan biri olan 2'-deoksiguanozin 5'-monofosfat metabolitinin seviyeleri düşüktür. Aynı şekilde, DNA'yı oksidatif hasara karşı koruyan vitamin B6'nın başlıca formlarından biri olan 4-piridoksik asit metabolitinin seviyelerinde de azalma gözlenmiştir. Bu düşük seviyeler, oksidatif stresin bu hasara yol açabileceğini gösteren olası bir mekanizma olarak değerlendirilebilir. Bu koruyucu metabolitlerin azalması, antioksidan savunma sisteminin zayıfladığını ve DNA'yı oksidatif strese karşı daha savunmasız hale getirerek artan hücresel hasara yol açtığını göstermektedir (Jung vd 2016).

İki renk grubunda gözlemlenen oksidatif stresin olası nedenlerinden biri, düşük melatonin metabolit seviyeleri olabilir. Melatonin, antioksidan özellikleriyle iyi bilinir ve eksikliği, vücudun oksidatif strese karşı koyma yeteneğini önemli ölçüde zayıflatarak artan hücresel hasar ve apoptoza yol açabilir (Jung vd 2016). Melatonin eksikliğinin, oksidatif stres ve ilişkili hastalıkların yanı sıra vücutta şiddetli ağrı, ruh hali bozuklukları, kanser, demans ve diğer işlev bozukluklarına neden olduğu bildirilmektedir (Hardeland 2012; Ahammed vd 2019). Zebra balığı üzerinde yapılan çalışmalar, melatonin takviyesinin oksidatif hasarı hafifletebileceğini ve antioksidan enzim aktivitesini artırabileceğini göstermiştir. Kırmızı ve beyaz LED gruplarında gözlemlenen düşük melatonin seviyelerinin, artan oksidatif stres tetikleyebileceği düşünülmektedir (Yan vd 2022). LED maruziyeti sonucunda ortaya çıkan oksidatif stresin altında yatan diğer bir potansiyel mekanizma, noradrenalinin önemli metabolitlerinden biri olan ve güçlü antioksidan etkisiyle bilinen 3,4-dihidroksimandelik asit seviyesindeki azalma olabilir (Ley vd 2002). 3,4-dihidroksimandelik asit, serbest radikalleri nötralize eden önemli bir bileşiktir. Seviyesindeki azalma, oksidatif stresini artırarak hücresel ve moleküler hasarın şiddetlenmesine yol açabilir (Dröge, 2002).

Bunun yanı sıra, programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptoz, hücre hasarıyla başa çıkmak için savunma mekanizması olarak işlev görürken, omurgalılar da dahil olmak üzere balıklarda, oksidatif stres tarafından endojen ve/veya eksojen yollarla olumsuz etkilenebilir (Baran vd 2018; Kasture vd 2018). Oksidatif stresin, stres koşulları altında hücresel bütünlüğü korumada önemli bir rol oynayan p53 yolu da dahil olmak üzere çeşitli sinyal yollarını aktive ederek apoptozu tetiklediği bilinmektedir (Zhao vd 2016). Bir yassı balık türü olan turbot balığı (*Scophthalmus maximus*) üzerinde yapılan bir çalışmada, yüksek ısı stresine maruz kalan turbot yavrularında hepatositlerin apoptoz oranında kademeli bir artış gözlemlenmiştir, bu da mevcut sonuçlarımızla uyumludur (Jia vd 2020). Benzer mekanizmalar zebra balığında da gözlemlenmiş olup, oksidatif hasar, apoptozu gerçekleştiren enzimler olan kaspazların aktivasyonuna ve pro-apoptotik genlerin artan ifadesine yol açmıştır (Chen vd 2021). Bu bulgular, farklı ışık koşulları ve sıcaklıkların zebra balığı larvalarının hücre ölüm

süreçlerini etkilediğini göstermektedir. Diğer yandan, kırmızı ve beyaz LED ışığına maruz kalan larvalarda gözlemlenen yüksek lipid birikimi, enerji metabolizmasındaki bozuklukların bir işareti olabilir. Lipid birikimi genellikle oksidatif stresin normal metabolik süreçleri bozmasına, lipidlerin peroksidasyonuna ve ardından hasar görmüş yağların hücrelerde depolanmasına yol açmasının bir sonucudur (Guru ve Arockiaraj 2022). Hücresel enerji metabolizmasında kilit rol oynayan kreatin seviyesinin kırmızı ve beyaz LED gruplarında düşük olması bu durumu desteklemektedir (Balestrino 2021). Ayrıca, kırmızı ve beyaz LED ışıklarına maruz kalan gruplarda gözlemlenen yüksek araşidonik asit seviyesinin, artan lipid birikimi ve apoptozla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Araşidonik asit, lipid modifiye eden enzimler için bir substrat olarak, oksidatif stres koşullarında inflamasyonu ve hücre ölümünü şiddetlendirerek gözlemlenen fenotiplere daha fazla katkıda bulunur (Betancor vd 2015). Erken zebra balığı embriyosunun gelişimi sırasında, hücre hareketlerini düzenleyen bazı önemli lipid modifiye edici enzimler (örneğin siklooksijenaz) için araşidonik asidin bir substrat görevi üstlendiği ifade edilmiştir. (Anderson vd 2011).

Oksidatif stres, biyokimyasal yolları etkileyerek hücresel enerji metabolizmasını ve detoksifikasyon süreçlerini bozabilir, bu da hücresel işlevlerin aksamasına neden olabilir. Oksidatif stresin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırarak DNA, proteinler ve lipidler gibi temel biyomoleküllere zarar verdiği ve bu yolla hücresel süreçleri önemli ölçüde değiştirdiği bilinmektedir (Shen vd 2020). Bu aksaklıklar, hücre zarları ve mitokondri fonksiyonlarında önemli değişikliklere yol açar. Mitokondriyal disfonksiyon, oksidatif stresin bir göstergesi olup, ATP üretiminde azalma, ROS üretiminde artış ve apoptotik yolların aktivasyonu ile karakterizedir (Nunes vd 2019). Azalan enerji üretimi ve apoptotik yolların harekete geçmesi, hücre ölümünü tetikleyebilir. Oksidatif stresin mitokondriyal parçalanmayı tetiklediği ve ardından hücre ölümüne yol açtığı zebra balığı modellerinde sıkça gözlemlenir. Bu da mitokondri sağlığının hücresel homeostazı korumadaki kritik rolünü vurgular (Kalyn ve Ekker 2021).

Gözlemlenen morfolojik değişiklikler, biyokimyasal bozulmalarla doğrudan bağlantılıdır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile zararlı bileşiklerin detoksifikasyon kapasitesi arasındaki dengesizlikten doğan oksidatif stres, lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre zarının bütünlüğünü bozabilir (Zhao vd 2016). Oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun artması, hücre zarının yapısının zayıflamasına neden olabilir ve ortaya çıkan etki, ödem ve doku deformasyonlarını beraberinde getirebilir. Süreç, önemli proteinlere zarar veren protein oksidasyonu ile daha da şiddetlenir, bu da hücresel işlevlerin bozulmasına ve gelişimsel anormalliklerin ortaya çıkmasına katkıda bulunur (Betancor vd 2015). Ek olarak, protein

oksidasyonu ve DNA hasarı, hücresel onarım mekanizmalarını zayıflatarak gelişimsel bozukluklara yol açabilir. Oksidatif stresten kaynaklanan DNA hasarının onarım süreçlerini bozması, mutasyonlara ve apoptoza yol açarak gelişmekte olan zebra balığı embriyolarında morfolojik kusurların ortaya çıkmasına sebep olur (Muthulakshmi vd 2018).

Zebra balıkları, ses, temas, görme ve koku gibi çeşitli uyaranlara karşı duyarlıdır ve uyaranlara verdikleri tepkiler kısa süre içinde gözlemlenebilir. Bu hassasiyet, zebra balığının çevresel değişikliklere karşı davranışsal tepkileri incelemek için, özellikle nörofarmakoloji ve toksikoloji bağlamında mükemmel bir model yapar. Işık-karanlık uyararı, son derece hassas ve tutarlı veriler sağladığı için nörofarmakolojide yaygın olarak kullanılmaktadır (Basnet vd 2019). Zebra balığı larvaları, ışık ve karanlık koşullara yanıt olarak belirgin ve tekrarlanabilir bir yüzme deseni sergiler ve bu desen, nöroaktif ilaçların ve diğer çevresel faktörlerin sinir sistemleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için yaygın olarak kullanılmıştır (Tuz-Sasik vd 2022). Ayrıca, larvalar, döllenmeden 4 gün sonra yüzme kesesi gelişimi ile birlikte ışık/karanlık koşullarına bağlı olarak belirgin bir yüzme deseni gösterir (Maeda vd 2021). Bu kapsamda, 144 hpf'de ışık ve karanlık periyotlarının değişimine karşı zebra balığı larvalarının davranışları (yüzme aktivitesi) incelendi. Araştırmalar, zebra balığı larvalarının karanlık periyotlar sırasında lokomotor aktivitelerini artırma eğiliminde olduklarını, bunun ışık ile karanlık arasındaki ani geçişin tetiklediği bir stres yanıtı olduğuna ve bir hayatta kalma mekanizmasını yansıttığına inanıldığını göstermiştir (Kist ve Portugues 2019). Zebra balığı larvalarının, ışığa oranla karanlık ortamda daha aktif oldukları gözlemlenmiştir. Büyük olasılıkla ani ışık değişiminin tetiklediği stres yanıtı çevresel tehditlere karşı hızlı bir tepkiye yol açmaktadır. (Bachour vd 2020). Davranış deseni, farklı deneysel düzeneklerde tutarlılık gösterir ve zebra balığındaki ışık-karanlık tepkisinin, anksiyete benzeri davranışın sağlam bir ölçüsü olduğunu vurgular (Guo vd 2015). Elde edilen bulgular, standart bir tepki sürecini yansıtabilir.

Çalışmamızda, karanlık grubun yanı sıra dört farklı ışık renginin etkileri incelenmiştir. Işık ve renklerin davranış ve sinirsel düzenleme üzerindeki etkilerinin, nörotransmitter sentezi ve lokomotor aktivite ile bağlantılı olduğu belirtilmiştir. (Siregar vd 2020; Sreelekshmi ve Inbaraj 2022). Çalışmalar, farklı ışık dalga boylarının nörotransmitter seviyelerini önemli ölçüde değiştirebileceğini ve bunun da zebra balığının davranış ve stres tepkilerini etkilediğini göstermiştir. Örneğin, mavi ve kırmızı ışığa maruz kalmanın epinefrin ve norepinefrin seviyelerini artırdığı, bunların da stres ve anksiyete benzeri davranışları modüle etmede kritik olduğu ile ilişkilendirilmiştir (Walter vd 2019). Dikkat çekici bir şekilde, kırmızı ve beyaz LED gruplarında karanlıktan kaçınma davranışının belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir. Ortaya çıkan bulgu, yüzme davranışının belirli ışık koşullarından büyük ölçüde etkilendiğini

ortaya koyan önemli bir kanıt olarak görülebilir. Özellikle kırmızı ve beyaz ışık altında gözlemlenen yüzme desenlerindeki değişiklikler, sirkadiyen ritmin bozulması ve belirli ışık dalga boylarına duyarlı stresle ilişkili hormonal yollar nedeniyle olabilir (Cano ve Vázquez 2015). Tüm gruplarda sıcaklık artışı, ışık ve karanlıkta hareketin azalmasına neden oldu ($p < 0,05$). Sıcaklık değişikliklerinin de ışık koşullarıyla etkileşime girerek, muhtemelen metabolik ve nörolojik süreçler üzerindeki birleşik etkiler nedeniyle davranışsal sonuçları daha fazla etkilediği gösterilmiştir (Sourisse vd 2023). Genel olarak, bu bulgular sıcaklık ve ışık dalga boylarının zebra balığı larvalarının yüzme davranışını etkileyebileceğini düşündürmektedir. Kırmızı ve beyaz LED ışığına maruz kalmanın, sıcaklık artışı ile birlikte hormonal mekanizmada bozulmaya yol açmış olabileceği gözlemlenmiştir. Nitekim bir çalışmada, zebra balığının gün ışığına kıyasla mavi ve kırmızı dalga boylarına maruz kaldığında epinefrin seviyelerinin arttığı, serotonin seviyelerinin ise azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, kırmızı ışıkta norepinefrin seviyelerinin arttığı bulunmuştur (Sreelekshmi ve Inbaraj 2022). Bu nörotransmitter değişiklikleri, belirli ışık koşulları altında gözlemlenen değişmiş yüzme davranışının altında yatan bir stres tepkisinin göstergesi olabilir (Basnet vd 2019). Çalışmamızda, organizmanın uyku/uyanıklık döngüsü ve sirkadiyen ritmiyle yakından ilişkili olan melatonin seviyesinin, beyaz ve kırmızı LED ışığına maruz kalan larvalarda belirgin şekilde düştüğü gözlemlenmiştir. Zebra balığının melatonin eksikliği, bilişsel performansı, sirkadiyen saati bozabilir ve nörolojik bozukluklara neden olabilir (Zhdanova vd 2008; Díaz-Casado vd 2016). Bu iki renkte gözlemlenen davranış farklılıklarının düşük melatonin seviyelerinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Tigmotaksis, larval zebra balıklarında anksiyete düzeyinin bir göstergesi olarak kabul edilir ve genellikle bir organizmanın çevresel uyarıcılara karşı duyarlılığını yansıtır. Çalışmamızda, beklentilerin aksine, ışık spektrumu ve sıcaklık koşullarının tigmotaksis üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlendi.

Zebra balığı larvalarının şeffaflığından faydalanılarak kalp hızı ve kan akışı, kardiyovasküler toksisite ile metabolik ve fizyolojik bozuklukların değerlendirilmesinde önemli ölçütler olarak kullanılmaktadır (Zhu vd 2014). Zebra balığı larvalarının şeffaflığı, kardiyovasküler parametrelerin gerçek zamanlı olarak gözlemlenmesine ve ölçülmesine olanak tanır, bu da onları çevresel stres faktörlerinin kalp fonksiyonu üzerindeki etkilerini incelemek için ideal bir model yapar (Rayani vd 2018). Yapılan araştırmada, zebra balığı larvalarının kırmızı ve beyaz LED ışığına maruz kalmasının hem kalp hızı hem de kan akışında belirgin bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiş ve ortaya çıkan sonuç diğer bulgularla uyumludur. Kardiyovasküler fonksiyonlardaki azalma, kalp kası kasılmasını ve kan dolaşımını bozduğu bilinen kalsiyum sinyalizasyon yollarının ve oksidatif stresin bozulmasına bağlanabilir (Saputra vd 2023). Sıcaklıktaki sadece bir derece artışla birlikte görülen bu belirgin azalma, zebra

balığının düşük sıcaklık değişikliklerini araştırmak için uygun bir model olduğunu göstermektedir. Sıcaklık dalgalanmalarının, zebra balığı modellerinde belirli ışık spektrumlarının kalp hızı ve kardiyovasküler fonksiyon üzerindeki olumsuz etkilerini arttırdığı gözlemlenmiş olup, bu bulgular ışık maruziyetinin kardiyovasküler sağlık üzerindeki etkilerini şiddetlendirebileceğini göstermektedir. (Park ve diğerleri, 2020). Bu renk gruplarında metabolik sendromla bağlantılı olarak yüksek sistein seviyesinin, bu durumu açıklayan olası mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Yüksek sıcaklık stresi altında gözlemlenen paralel bir tespit, önceki çalışmaların sonuçlarıyla da örtüşmektedir (Osterauer ve Kohler 2008). Yükselmiş sistein seviyeleri, oksidatif stres ve kardiyovasküler disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir, bu da bu koşullar altında gözlemlenen kalp fonksiyonundaki düşüşü daha da desteklemektedir (Chen vd 2021).

Öte yandan, beyin gelişimiyle ilişkili göz oluşumu dikkate alındığında (Chow ve Lang 2001; Graw 2010), kırmızı ve beyaz LED'lere maruz kalma ve artan sıcaklığın neden olduğu göz çapının azalmasının, histopatoloji ve immünohistokimya analiz sonuçlarında gözlemlenen beyin hasarıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmalar, özellikle kırmızı ve beyaz olmak üzere belirli ışık dalga boylarının, retina hücrelerinin normal gelişimini bozabileceğini ve beyin yapısında anormal gen ekspresyonu ve yapısal anormalliklerle kanıtlanan nörotoksisiteye katkıda bulunabileceğini göstermiştir (Shi vd 2019). Araştırmanın sonuçları doğrultusunda, beyaz ışığa maruz kalan zebra balığı larvalarında göz çaplarının daha küçük olabileceği ifade edilmiştir (Septriani vd 2021). Ayrıca, göz boyutundaki azalma ve buna bağlı beyin hasarı, gelişim sırasında hücresel sağlığı korumak için kritik olan oksidatif stres ve bozulmuş mitokondriyal fonksiyonla bağlantılı olabilir (Seo vd 2012). Çalışmamızda larva beyninin immünohistokimyasal analizinde elde edilen önemli bulgulardan biri, sıcaklık farkının etkilerini inceleyen çalışmalarda biyomarker olarak yaygın kullanılan HSP ailesinin bir üyesi olan HSP70'in, yalnızca bir derecelik sıcaklık artışıyla bile ekspresyonunda belirgin bir değişiklik gözlenmesidir. Farklı sıcaklıklar (20, 25 ve 30 °C) ve ışık spektrumlarına (yeşil ve kırmızı) maruz bırakılan genç kayabalıkları (*Rock Bream*, *Oplegnathus fasciatus*) üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, çevresel koşulların 30 °C sıcaklık ve kırmızı ışık olarak ayarlanmasının, diğer sıcaklık ve renk gruplarına kıyasla Hsp70 gen ekspresyon seviyesini önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir. (Choe vd 2017). HSP70 ekspresyonundaki bu artış, özellikle yüksek sıcaklık ve belirli ışık maruziyeti koşullarında, protein yanlış katlanması ve hücresel hasara yol açabilecek durumlara karşı hücresel strese karşı koruyucu bir yanıt olarak işlev görmektedir. (Roh vd 2008). Japon balıklarıyla gerçekleştirilen farklı bir deney, mavi ve yeşil ışığın, kırmızı ışık ve yüksek sıcaklığın neden olduğu stresi hafifletmede faydalı olabileceğini ortaya koymuştur. (Kim vd 2014). Kırmızı ve beyaz LED'lere maruz kalan

larvaların beyinlerinde gözlemlenen hasarın altında yatan olası mekanizmalardan biri, nörotoksik etkiye sahip olan ve dopaminin monoamin oksidaz aktivitesi sonucu oluşan ilk ürünü olan 3,4-Dihidroksifenilasetaldehit metabolit seviyesindeki artış olabilir (Kristal vd 2001; Mexas vd 2011).

Zebra balığı larvalarında oksidatif strese neden olan ışık spektrumu ve sıcaklık kombinasyonu ile ilgili elde ettiğimiz bulgular, hücresel ve moleküler düzeylerde kayda değer sonuçlar göstermektedir. Işık ve sıcaklık etkileşiminin, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini artırarak oksidatif stresi daha da yoğunlaştırdığı bilinmektedir. Bu reaktif moleküller, lipidler, proteinler ve DNA gibi çeşitli hücresel bileşenlere zarar verebilmektedir (Lackmann vd 2018). Oksidatif stres, hücresel yapıların zarar görmesine neden olabilecek reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimindeki artışa yol açar. Lipid peroksidasyonu, oksidatif stresin önemli bir sonucudur; burada ROS, hücre zarlarındaki lipidlere saldırarak zar bütünlüğünün kaybına ve ardından hücresel işlev bozukluğuna yol açar (Adibhatla ve Hatcher 2010). Etkilenen biyokimyasal süreçler arasında özellikle lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı yer almaktadır. Protein oksidasyonu, proteinlerin yapı ve işlevini değiştirerek hücresel işlevleri bozar, DNA hasarı ise mutasyonlara yol açabilir ve apoptozu tetikleyerek hücrelerin canlılığını olumsuz etkileyebilir (Zhao vd 2016).

Çalışmamızda gözlemlenen HSP70 ve 8-OHdG biyomarkerlarındaki artış, hücresel stres tepkilerini ve DNA hasarını göstererek bu süreçlere dair daha fazla içgörü sağlar. HSP70, iyi bilinen bir stres proteini olup, oksidatif stres de dahil olmak üzere çeşitli stres faktörlerine yanıt olarak genellikle yukarı regüle edilir ve proteinlerin yanlış katlanmasına ve birikmesine karşı koruyucu bir mekanizma olarak hücresel bütünlüğü korur (Fan vd 2021). İlgili biyomarkerlar, hücresel savunma mekanizmalarının devreye girdiğini ve oksidatif hasarın onarılmadığı durumlarda hücre ölümüne yol açtığını göstermektedir. Benzer şekilde, 8-OHdG, oksidatif DNA hasarı için kritik bir biyomarker olup, hücrelerdeki oksidatif stresin boyutunu değerlendirmek için yaygın olarak kullanılır. Çalışmamızda görüldüğü gibi, bu biyomarkerın artan seviyeleri, onarılmadığı takdirde mutasyonlara ve apoptotik hücre ölümüne yol açabilecek önemli DNA hasarını işaret eder (Dai vd 2019).

Sonuç ve Öneriler

Çevresel koşulların, özellikle ışık ve sıcaklık gibi değişkenlerin, organizmaların biyolojik işleyişi üzerindeki derin etkileri iyi bilinmektedir. Bu çalışmada, dört farklı LED ışık renginin zebra balığı larvalarının gelişimsel süreçlerine etkileri kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Sonuçlar, özellikle kırmızı ve beyaz LED ışıklarının zebra balığı larvalarında ciddi biyolojik bozulmalara yol açtığını açıkça ortaya koymaktadır. Kırmızı ve beyaz ışığa

maruz kalan larvalarda, hayatta kalma oranlarında belirgin bir düşüş, büyüme hızında yavaşlama ve morfolojik deformasyonlar tespit edilmiştir. Diğer yandan, mavi LED ışığı, zebra balığı larvalarının gelişimini en az etkileyen spektrum olarak öne çıkmıştır. Mavi ışık, larvaların doğal çevrelerindeki ışık koşullarına daha yakın bir ortam sunarak optimal gelişim sağlamıştır.

Zebra balığı ve diğer deniz balığı türlerinde ışık spektrumunun biyolojik etkileri üzerine sınırlı çalışma olmasına rağmen çalışmamızın sonuçları literatürde yer alan 470-550 nm dalga boylarının larval gelişim için en uygun aralık olduğuna dair bulgularla uyum göstermektedir. Çalışmamız, spektrum dışındaki ışık renklerinin larval gelişim üzerinde olumsuz etkiler yarattığını ve artan sıcaklıkla birlikte etkilerin daha da şiddetlendiğini ortaya koymuştur. Özellikle, ışık ve sıcaklık faktörlerinin bir arada değerlendirilmesinin önemini vurgulayan bulgular, çevresel koşulların organizmalar üzerindeki birlikte etkilerini daha iyi anlamamıza olanak sağlamaktadır.

Özellikle sıcaklık artışının ışığın zararlı etkilerini daha da ağırlaştırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Sıcaklık ve ışığın birleşik etkilerinin tek başlarına yaratacaklarından daha güçlü sonuçlar doğurduğu gözlemlenmiştir. Sıcaklık artışının, hücresel seviyede oksidatif stresi artırarak zararlı biyolojik süreçlere neden olduğu tespit edilmiştir. Küresel ısınmanın etkileri dikkate alındığında, bu tür düşük sıcaklık artışlarının incelenmesi, iklim değişikliğinin sucül ekosistemler üzerindeki olası sonuçlarını daha net bir şekilde ortaya koymaktadır. Çalışma, çevresel stres faktörlerinin organizmalar üzerindeki karmaşık etkilerini aydınlatmak için önemli bir katkı sağlamaktadır.

Yapılan araştırma, çevresel değişimlerin biyolojik sistemler üzerindeki geniş kapsamlı etkilerini anlamada kritik bir adım olarak değerlendirilmelidir. Özellikle sucül organizmaların, yapay ışık ve sıcaklık gibi değişkenlere nasıl tepki verdiğini ortaya koyan bulgular, ekosistemlerin gelecekteki adaptasyon yeteneklerini incelemek açısından da değerli bilgiler sunmaktadır. Kırmızı ve beyaz LED ışıklarıyla sıcaklık artışının birleşimi, zebra balığı larvalarında ciddi gelişimsel bozulmalar ve artan oksidatif stres seviyeleri ile sonuçlanmıştır. Larvaların hayatta kalma oranında düşüş, gelişimsel anormallikler ve moleküler düzeyde hasar gibi etkiler açıkça gözlemlenmiştir. Elde edilen bulgular, küresel ısınma ve yapay ışık kirliliğinin sucül yaşam üzerindeki potansiyel tehditlerini daha iyi anlamamıza yardımcı olabilir.

Sonuç olarak, ışık spektrumları ve sıcaklık değişimlerinin sucül ekosistemlerdeki organizmalar üzerindeki etkilerinin derinlemesine incelenmesi, bu ekosistemlerin sürdürülebilirliği ve adaptasyon kabiliyetlerini anlamada büyük önem taşımaktadır.

Araştırmamız, evresel faktörlerin biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini araştıran gelecekteki çalışmalar için önemli bir referans noktası olacağı değerlendirilmektedir.



KAYNAKLAR

- Ablon, G. (2018). Phototherapy with light emitting diodes: treating a broad range of medical and aesthetic conditions in dermatology. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 11(2), 21.
- Abrams, E. W., & Mullins, M. C. (2009). Early zebrafish development: it's in the maternal genes. *Current opinion in genetics & development*, 19(4), 396-403.
- Adatto, I., Krug, L., Zon, L.I., 2016. The red light district and its effects on zebrafish reproduction. *Zebrafish* 13 (3), 226–229.
- Adibhatla, R. M., & Hatcher, J. F. (2010). Lipid oxidation and peroxidation in CNS health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & redox signaling*, 12(1), 125-169.
- Ahammed, G.J., Xu, W., Liu, A., Chen, S., 2019. Endogenous melatonin deficiency aggravates high temperature-induced oxidative stress in *Solanum lycopersicum* L. *Environ. Exp. Bot.* 161, 303–311.
- Akhtar, M.S., Tripathi, P.H., Ciji, A., 2022. Light spectra influence the reproductive performance and expression of immune and anti-oxidative defense genes in endangered golden mahseer (*Tor putitora*) female brooders. *Aquac* 547, 737355.
- Aleksandrin, V. V., Ivanov, A. V., Virus, E. D., Bulgakova, P. O., & Kubatiev, A. A. (2018). Application of wavelet analysis to detect dysfunction in cerebral blood flow autoregulation during experimental hyperhomocysteinaemia. *Lasers in Medical Science*, 33, 1327-1333.
- Alfonso, S., Gesto, M., & Sadoul, B. (2021). Temperature increase and its effects on fish stress physiology in the context of global warming. *Journal of Fish Biology*, 98(6), 1496-1508.
- Allison, W.T., Barthel, L.K., Skebo, K.M., Takechi, M., Kawamura, S., Raymond, P.A., 2010. Ontogeny of cone photoreceptor mosaics in zebrafish. *J. Comp. Neurol.* 518 (20), 4182–4195.
- Anderson, J.L., Carten, J.D., Farber, S.A., 2011. Chapter 5- zebrafish lipid metabolism: From mediating early patterning to the metabolism of dietary fat and cholesterol. In: Detrich, H.W., Westerfield, M., Zon, L.I. (Eds.), *Methods in Cell Biology*, 101. Academic Press, pp. 111–141.
- Angiulli, E., Pagliara, V., Cioni, C., Frabetti, F., Pizzetti, F., Alleva, E., *et al.*, 2020. Increase in environmental temperature affects exploratory behaviour, anxiety and social preference in *Danio rerio*. *Sci. Rep.* 10 (1), 5385.
- Ashaf-Ud-Doulah, M., Islam, S.M.M., Zahangir, M.M., Islam, M.S., Brown, C., Shahjahan, M., 2021. Increased water temperature interrupts embryonic and larval development of Indian major carp rohu *Labeo rohita*. *Aquac. Int.* 29 (2), 711–722.
- Bachour, R.-L., Golovko, O., Kellner, M., Pohl, J., 2020. Behavioral effects of citalopram, tramadol, and binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Chemosphere* 238, 124587.
- Balestrino, M., 2021. Role of creatine in the heart: health and disease. *Nutrients* 13 (4), 1215
- Bantis, F., Smirnakou, S., Ouzounis, T., Koukounaras, A., Ntagkas, N., & Radoglou, K. (2018).

- Baran, A., K^oktürk, M., Atamanalp, M., Ceyhun, S.B., 2018. Determination of developmental toxicity of zebrafish exposed to propyl gallate dosed lower than ADI (acceptable daily intake). *Reg. Toxicol. Pharmacol.* 94, 16–21.
- Baran, A., Yildirim, S., Ghosigharehaghaji, A., Bolat, İ., Sulukan, E., & Ceyhun, S. B. (2021). An approach to evaluating the potential teratogenic and neurotoxic mechanism of BHA based on apoptosis induced by oxidative stress in zebrafish embryo (*Danio rerio*). *Human & experimental toxicology*, 40(3), 425-438.
- Basnet, R.M., Zizioli, D., Taweedet, S., Finazzi, D., Memo, M., 2019. Zebrafish larvae as a behavioral model in neuropharmacology. *Biomedicines* 7 (1), 23.
- Beauchesne, D., Cazelles, K., Archambault, P., Dee, L. E., & Gravel, D. (2021). On the sensitivity of food webs to multiple stressors. *Ecology Letters*, 24(10), 2219-2237.
- Betancor, M. B., Almaida-Pagán, P. F., Hernandez, A., & Tocher, D. R. (2015). Effects of dietary fatty acids on mitochondrial phospholipid compositions, oxidative status and mitochondrial gene expression of zebrafish at different ages. *Fish physiology and biochemistry*, 41, 1187-1204.
- Bruzzone, M., Chiarello, E., Albanesi, M., Miletto Petrazzini, M. E., Megighian, A., Lodovichi, C., & Dal Maschio, M. (2021). Whole brain functional recordings at cellular resolution in zebrafish larvae with 3D scanning multiphoton microscopy. *Scientific reports*, 11(1), 11048.
- Cahill, G.M., 1996. Circadian regulation of melatonin production in cultured zebrafish pineal and retina. *Brain Res.* 708 (1–2), 177–181. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)01365-2](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)01365-2).
- Carmello, J.C., Barbugli, P.A., Jord^o AO, C.C., Oliveira, R., Pavarina, A.C., 2023. The biological effects of different LED wavelengths in the health field. A review. *Rev. Odontol. UNESP*. 52.
- Chan, P. K., Lin, C. C., & Cheng, S. H. (2009). Noninvasive technique for measurement of heartbeat regularity in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *BMC biotechnology*, 9, 1-10.
- Chen, J., Lei, L., Mo, W., Dong, H., Li, J., Bai, C., ... & Huang, C. (2021). Developmental titanium dioxide nanoparticle exposure induces oxidative stress and neurobehavioral changes in zebrafish. *Aquatic Toxicology*, 240, 105990.
- Chico, T. J., Ingham, P. W., & Crossman, D. C. (2008). Modeling cardiovascular disease in the zebrafish. *Trends in cardiovascular medicine*, 18(4), 150-155.
- Choe, J.R., Shin, Y.S., Choi, J.Y., Kim, T.H., Kim, D., Choi, C.Y., 2017. Effects of various light spectra on physiological stress and DNA damage by thermal stress in juvenile rock bream (*Oplegnathus fasciatus*). *Ocean Polar Res.* 39 (2), 107–114.
- Choi, C.Y., Shin, H.S., Choi, Y.J., Kim, N.N., Lee, J., Kil, G.-S., 2012. Effect of LED light spectra on starvation-induced oxidative stress in the cinnamon clownfish *Amphiprion melanopus*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 163 (3), 357–363.
- Choi, T. Y., Choi, T. I., Lee, Y. R., Choe, S. K., & Kim, C. H. (2021). Zebrafish as an animal model for biomedical research. *Experimental & Molecular Medicine*, 53(3), 310-317.
- Christian, F., Edith, Selly, Adityawarman, D., & Indarto, A. (2013). Application of nanotechnologies in the energy sector: A brief and short review. *Frontiers in Energy*, 7, 6-18.
- Current status and recent achievements in the field of horticulture with the use of light-emitting diodes (LEDs). *Scientia horticultrae*, 235, 437-451.

- Czarnecka, M., Kobak, J., Grubisic, M., & Kakareko, T. (2021). Disruptive effect of artificial light at night on leaf litter consumption, growth and activity of freshwater shredders. *Science of The Total Environment*, 786, 147407.
- Dai, L., Watanabe, M., Qureshi, A. R., Mukai, H., Machowska, A., Heimbürger, O., ... & Stenvinkel, P. (2019). Serum 8-hydroxydeoxyguanosine, a marker of oxidative DNA damage, is associated with mortality independent of inflammation in chronic kidney disease. *European Journal of Internal Medicine*, 68, 60-65.
- de Alba, G., Carrillo, S., S´anchez-V´azquez, F.J., L´opez-Olmeda, J.F., 2022. Combined blue light and daily thermocycles enhance zebrafish growth and development. *J. Exp. Zool. A*. 337 (5), 501–515.
- de Almeida Moreira, B. R., Frias, Y. A., de Lima, E. W., Cruz, V. H., Lopes, P. R. M., & da Silva Viana, R. (2021). Algae-specific colorful LEDs: Biotechnological drivers to biorefinery and photobiological platforms. *Journal of Cleaner Production*, 316, 128350.
- del Pozo Cano, A., & Sánchez Vázquez, F. J. (2015). Light pulses at night elicit wavelength-dependent behavioral responses in zebrafish. *Journal of Zoology*, 297(3), 235-242.
- Deutsch, C., Ferrel, A., Seibel, B., Pörtner, H. O., & Huey, R. B. (2015). Climate change tightens a metabolic constraint on marine habitats. *Science*, 348(6239), 1132-1135.
- Di Rosa, V., Frigato, E., López-Olmeda, J. F., Sánchez-Vázquez, F. J., & Bertolucci, C. (2015). The light wavelength affects the ontogeny of clock gene expression and activity rhythms in zebrafish larvae. *PloS one*, 10(7), e0132235.
- Díaz-Casado, M.E., Lima, E., García, J.A., Doerrier, C., Aranda, P., Sayed, R.K., *et al.*, 2016. Melatonin rescues zebrafish embryos from the parkinsonian phenotype restoring the parkin/PINK1/DJ-1/MUL1 network. *J. Pineal Res.* 61 (1), 96–107.
- Dieleman, J. A., De Visser, P. H. B., & Vermeulen, P. C. M. (2016, May). Reducing the carbon footprint of greenhouse grown crops: Re-designing LED-based production systems. In VIII International Symposium on Light in Horticulture 1134 (pp. 395-402).
- Dominoni, D. M., & Nelson, R. J. (2018). Artificial light at night as an environmental pollutant: An integrative approach across taxa, biological functions, and scientific disciplines. *Journal of experimental zoology. Part A, Ecological and integrative physiology*, 329(8-9), 387.
- Donelson, J.M., Munday, P.L., 2015. Transgenerational plasticity mitigates the impact of global warming to offspring sex ratios. *Glob. Chang. Biol.* 21 (8), 2954–2962.
- Donelson, J.M., Wong, M., Booth, D.J., Munday, P.L., 2016. Transgenerational plasticity of reproduction depends on rate of warming across generations. *Evol. Appl.* 9 (9), 1072–1081.
- Dorts, J., Falisse, E., Schoofs, E., Flamion, E., Kestemont, P., Silvestre, F., 2016. DNA methyltransferases and stress-related genes expression in zebrafish larvae after exposure to heat and copper during reprogramming of DNA methylation. *Sci. Rep.* 6 (1), 34254.
- Downing, G., & Litvak, M. K. (2002). Effects of light intensity, spectral composition and photoperiod on development and hatching of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) embryos. *Aquaculture*, 213(1-4), 265-278.
- Dreier, D. A., Nouri, M. Z., Denslow, N. D., & Martyniuk, C. J. (2021). Lipidomics reveals multiple stressor effects (temperature× mitochondrial toxicant) in the zebrafish embryo toxicity test. *Chemosphere*, 264, 128472.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*.

- El-Magsodi, M. O., Bossier, P., Sorgeloos, P., & Van Stappen, G. (2016). Effect of light colour, timing, and duration of light exposure on the hatchability of *Artemia* spp.(Branchiopoda: Anostraca) eggs. *Journal of Crustacean Biology*, 36(4), 515-524.
- Fader, S.C., Yu, Z., Spotila, J.R., 1994. Seasonal variation in heat shock proteins (hsp 70) in stream fish under natural conditions. *J. Therm. Biol.* 19 (5), 335–341.
- Fan, K. P., Hua, X. T., Liu, Y. F., Zhang, Z. Q., Li, X. H., Liu, Y., & Liu, P. F. (2021). HSP70 gene expression responses to the temperature stress in pufferfish (*Takifugu rubripes*). *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 85(5), 1088-1096.
- Feitsma, H., & Cuppen, E. (2008). Zebrafish as a cancer model. *Molecular Cancer Research*, 6(5), 685-694.
- Gobo, J. P. A., Wollmann, C. A., Celuppi, M. C., Galvani, E., Faria, M. R., Mendes, D., ... & Gonçalves, F. L. T. (2022). The bioclimate present and future in the state of São Paulo/Brazil: Space-time analysis of human thermal comfort. *Sustainable Cities and Society*, 78, 103611.
- Grubisic, M., van Grunsven, R. H., Manfrin, A., Monaghan, M. T., & Hölker, F. (2018). A transition to white LED increases ecological impacts of nocturnal illumination on aquatic primary producers in a lowland agricultural drainage ditch. *Environmental pollution*, 240, 630-638.
- Guo, N., Lin, J., Peng, X., Chen, H., Zhang, Y., Liu, X., & Li, Q. (2015). Influences of acute ethanol exposure on locomotor activities of zebrafish larvae under different illumination. *Alcohol*, 49(7), 727-737.
- Guru, A., & Arockiaraj, J. (2023). Exposure to environmental pollutant bisphenol A causes oxidative damage and lipid accumulation in Zebrafish larvae: Protective role of WL15 peptide derived from cysteine and glycine-rich protein 2. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 37(1), e23223.
- Habenicht, S., Funke, H. J., Gruber, D., Oelgeschläger, D., Schumacher, O., Gehn, R., ... & Oppermann, H. (2013). The European SEEL (Solutions for energy efficient lighting) project: High temperature electronics for LED-lighting architectures. *Additional Papers and Presentations*, 2013(HITEN), 000193-000206.
- Haddouk, A., Khelifi, K., Monteiro, V., Afonso, J. L., & Mechergui, H. (2021). Power losses reduction in a variable linear power supply using the LM317 voltage regulator. *ISA transactions*, 112, 402-408.
- Häder, D. P., Williamson, C. E., Wängberg, S. Å., Rautio, M., Rose, K. C., Gao, K., ... & Worrest, R. (2015). Effects of UV radiation on aquatic ecosystems and interactions with other environmental factors. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 14(1), 108-126.
- Hallare, A.V., Schirling, M., Luckenbach, T., Köhler, H.R., Triebkorn, R., 2005. Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *J. Therm. Biol.* 30 (1), 7–17.
- Hardeland, R., 2012. Neurobiology, pathophysiology, and treatment of melatonin deficiency and dysfunction. *Sci. World J.* 2012, 640389
- Hasenleitner, M., & Plaetzer, K. (2019). In the right light: Photodynamic inactivation of microorganisms using a LED-based illumination device tailored for the antimicrobial application. *Antibiotics*, 9(1), 13.
- Heiskanen, V., Hamblin, M.R., 2018. Photobiomodulation: lasers vs. light emitting diodes? *Photochem. Photobiol. Sci.* 17 (8), 1003–1017. <https://doi.org/10.1039/c8pp90049c>.

- Ho, D. T., Kim, A., Kim, N., Roh, H. J., Chun, W. K., Lee, Y., & Kim, D. H. (2020). Effect of blue light emitting diode on viral hemorrhagic septicemia in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 521, 735019.
- Holker, F., Bolliger, J., Davies, T.W., Giavi, S., Jechow, A., Kalinkat, G., *et al.*, 2021. 11 Pressing research questions on how light pollution affects biodiversity. *Front. Ecol. Evol.* 9
- Hong, W.Y., Rahmat, B.N.N.M.N.L., 2022. Energy consumption, CO2 emissions and electricity costs of lighting for commercial buildings in Southeast Asia. *Sci. Rep.* 12 (1), 13805.
- Hung, T. S., Lai, K. K., Ken, Y., Pai, N. Y., Lin, W. T., & Wu, C. H. (2012). An innovative supply chain management strategy for green smart light emitting diode (LED) industry. *African Journal of Business Management*, 6(8), 2990.
- Inan, M. N., & Arik, M. (2014, May). Development of figure of merits for energy efficient LED lighting systems. In *Fourteenth Intersociety Conference on Thermal and Thermomechanical Phenomena in Electronic Systems (ITherm)* (pp. 260-266). IEEE.
- Jia, Y., Chen, X., Wang, Z., Meng, Z., Huang, B., Guan, C., 2020. Physiological response of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*. L) during hyperthermal stress. *Aquac* 529, 735645.
- Jiang, J., Lv, L., Wu, S., An, X., Wang, F., Liu, X., & Zhao, X. (2019). Developmental toxicity of kresoxim-methyl during zebrafish (*Danio rerio*) larval development. *Chemosphere*, 219, 517-525.
- Jin, Y., Liu, Z., Liu, F., Ye, Y., Peng, T., & Fu, Z. (2015). Embryonic exposure to cadmium (II) and chromium (VI) induce behavioral alterations, oxidative stress and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*). *Neurotoxicology and teratology*, 48, 9-17.
- Joshi, V., & Pancharatna, K. (2019). Food colorant Sunset Yellow (E110) intervenes developmental profile of zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Applied Toxicology*, 39(4), 571-581.
- Jung, M. M., Kim, T. H., Choi, Y. J., Kim, N. N., Choi, J. Y., Oh, S. Y., ... & Choi, C. Y. (2016). Variations in the antioxidant system and circadian rhythms of goldfish, *Carassius auratus*, exposed to ammonia: profile of the effects of green LED spectra. *Biological Rhythm Research*, 47(4), 583-596.
- Kalueff, A. V., Stewart, A. M., & Gerlai, R. (2014). Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. *Trends in pharmacological sciences*, 35(2), 63-75.
- Kalyn, M., & Ekker, M. (2021). Cerebroventricular microinjections of MPTP on adult zebrafish induces dopaminergic neuronal death, mitochondrial fragmentation, and sensorimotor impairments. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 718244.
- Kamata, N., & Igarashi, M. (1995). Relationship between temperature, number of instars, larval growth, body size, and adult fecundity of *Quadricalcarifera punctatella* (Lepidoptera: Notodontidae): cost–benefit relationship. *Environmental entomology*, 24(3), 648-656.
- Kamimura, Y., Shoji, J., 2024. Highly structured habitats mitigate size- and growth- selective mortality of post-settlement juvenile fish. *Fish. Oceanogr.* 33 (3), e12663.
- Kang, C. K., Lee, Y. J., Han, E., Park, H. J., Yun, S. G., & Lee, W. C. (2015). Effects of temperature and body size on the physiological energetics of the stalked sea squirt *Styela clava*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 462, 105-112.
- Kankaynar, M., Ceyhun, H.A., Baran, A., Sulukan, E., Yildirim, S., Bolat, I., *et al.*, 2023. The anxiolytic and circadian regulatory effect of agarwood water extract and its effects on

the next generation; zebrafish modelling. *Comp. Biochem. Physiol. C Mol. Integr. Physiol.* 269, 109621

- Karakatsouli, N., Papoutsoglou, S. E., Panopoulos, G., Papoutsoglou, E. S., Chadio, S., & Kalogiannis, D. (2008). Effects of light spectrum on growth and stress response of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reared under recirculating system conditions. *Aquacultural Engineering*, 38(1), 36-42.
- Kasture, V.V., Sundrani, D.P., Joshi, S.R., 2018. Maternal one carbon metabolism through increased oxidative stress and disturbed angiogenesis can influence placental apoptosis in preeclampsia. *Life Sci.* 206, 61–69.
- Kim, B. S., Jung, S. J., Choi, Y. J., Kim, N. N., Choi, C. Y., & Kim, J. W. (2016). Effects of different light wavelengths from LEDs on oxidative stress and apoptosis in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) at high water temperatures. *Fish & shellfish immunology*, 55, 460-468.
- Kim, N. N., Choi, Y. J., Shin, H. S., Lim, J. R., Han, J. M., Cho, J. H., ... & Choi, C. Y. (2014). The effect of LED light spectra on antioxidant system by thermal stress in goldfish, *Carassius auratus*. *Molecular & cellular toxicology*, 10, 47-58.
- Kimmel, C. B., Ballard, W. W., Kimmel, S. R., Ullmann, B., & Schilling, T. F. (1995). Stages of embryonic development of the zebrafish. *Developmental dynamics*, 203(3), 253-310.
- Kist, A. M., & Portugues, R. (2019). Optomotor swimming in larval zebrafish is driven by global whole-field visual motion and local light-dark transitions. *Cell Reports*, 29(3), 659-670.
- Kiziltan, T., Baran, A., Kankaynar, M., Senol, O., Sulukan, E., Yildirim, S., *et al.*, 2022. Effects of the food colorant carmoisine on zebrafish embryos at a wide range of concentrations. *Arch. Toxicol.*
- Knouft, J.H., Ficklin, D.L., 2017. The potential impacts of climate change on biodiversity in flowing freshwater systems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 48 (1), 111–133.
- Kocak, O.F., Atakay, M., Yaman, M.E., Senol, O., Erkeyman, M.H., Esen, B.S., Salih, B., 2022. Chemometrics assisted untargeted metabolomic analysis to explore metabolic alterations in chronic urticaria via LC/Q-TOF/MS/MS. *Scand. J. Clin. Lab. Investig.* 82 (7–8), 533–540.
- Kristal, B.S., Conway, A.D., Brown, A.M., Jain, J.C., Ulluci, P.A., Li, S.W., *et al.*, 2001. Selective dopaminergic vulnerability: 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde targets mitochondria. *Free Radic. Biol. Med.* 30 (8), 924–931.
- Kühne, J.L., van Grunsven, R.H.A., Jechow, A., Hölker, F., 2021. Impact of different wavelengths of artificial light at night on phototaxis in aquatic insects. *Integr. Comp. Biol.* 61 (3), 1182–1190.
- Lackmann, C., Santos, M. M., Rainieri, S., Barranco, A., Hollert, H., Spirhanzlova, P., ... & Seiler, T. B. (2018). Novel procedures for whole organism detection and quantification of fluorescence as a measurement for oxidative stress in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Chemosphere*, 197, 200-209.
- LASER, T. (2007). CALDERHEAD RG. *LASER*, 16(2), 97-108.
- Ley, J.P., Engelhart, K., Bernhardt, J., Bertram, H.-J., 2002. 3,4-Dihydroxymandelic acid, a noradrenalin metabolite with powerful antioxidative potential. *J. Agric. Food Chem.* 50 (21), 5897–5902.
- Liu, H., Gooneratne, R., Huang, X., Lai, R., Wei, J., & Wang, W. (2015). A rapid in vivo zebrafish model to elucidate oxidative stress-mediated PCB126-induced apoptosis and

- developmental toxicity. *Free Radical Biology and Medicine*, 84, 91-102.
- Liu, Z., Shangguan, Y., Zhu, P., Sultan, Y., Feng, Y., Li, X., *et al.*, 2022. Developmental toxicity of glyphosate on embryo-larval zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 236, 113493
- Maeda, H., Fukushima, N., Hasumi, A., 2021. Standardized Method for the Assessment of Behavioral Responses of Zebrafish Larvae, 9 (8), p. 884.
- Maia, C. M., & Volpato, G. L. (2013). Environmental light color affects the stress response of Nile tilapia. *Zoology*, 116(1), 64-66.
- Martín, J., Lo´pez, P., 2013. Effects of global warming on sensory ecology of rock lizards: increased temperatures alter the efficacy of sexual chemical signals. *Funct. Ecol.* 27 (6), 1332–1340.
- Martinez-Vega, P., Lopez-Badillo, A., Luviano-Ortiz, J. L., Hernandez-Guerrero, A., & Cervantes, J. G. (2020, November). Low Cost Cooling Device for High Power LED Lamps. In *ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition* (Vol. 84591, p. V011T11A028). American Society of Mechanical Engineers.
- Mexas, L.M., Florang, V.R., Doorn, J.A., 2011. Inhibition and covalent modification of tyrosine hydroxylase by 3,4-dihydroxyphenylacetaldehyde, a toxic dopamine metabolite. *NeuroToxicology* 32 (4), 471–477.
- Migaud, H., Cowan, M., Taylor, J., & Ferguson, H. W. (2007). The effect of spectral composition and light intensity on melatonin, stress and retinal damage in post-smolt Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 270(1-4), 390-404.
- Mir, D. A., Doll, C. N., Lindner, R., & Parray, M. T. (2020). Explaining the diffusion of energy-efficient lighting in India: A technology innovation systems approach. *Energies*, 13(21), 5821.
- Mizusawa, K., Kasagi, S., & Takahashi, A. (2018). Melanin-concentrating hormone is a major substance mediating light wavelength-dependent skin color change in larval zebrafish. *General and Comparative Endocrinology*, 269, 141-148.
- Morales, M., Planello´, R., Martı´nez-Paz, P., Herrero, O., Cort´es, E., Martı´nez-Guitarte, J. L., *et al.*, 2011. Characterization of Hsp70 gene in *Chironomus riparius*: expression in response to endocrine disrupting pollutants as a marker of ecotoxicological stress. *Comp. Biochem. Physiol. C Mol. Integr. Physiol.* 153 (1), 150–158.
- Mugabo, M., Gilljam, D., Petteway, L., Yuan, C., Fowler, M. S., & Sait, S. M. (2019). Environmental degradation amplifies species’ responses to temperature variation in a trophic interaction. *Journal of Animal Ecology*, 88(11), 1657-1669.
- Muñiz-González, A. B., & Martı´nez-Guitarte, J. L. (2020). Combined effects of benzophenone-3 and temperature on gene expression and enzymatic activity in the aquatic larvae *Chironomus riparius*. *Science of the Total Environment*, 698, 134292.
- Muthulakshmi, S., Maharajan, K., Habibi, H. R., Kadirvelu, K., & Venkataramana, M. (2018). Zearalenone induced embryo and neurotoxicity in zebrafish model (*Danio rerio*): role of oxidative stress revealed by a multi biomarker study. *Chemosphere*, 198, 111-121.
- Nicholson, E., Watermeyer, K. E., Rowland, J. A., Sato, C. F., Stevenson, S. L., Andrade, A., ... & Watson, J. E. (2021). Scientific foundations for an ecosystem goal, milestones and indicators for the post-2020 global biodiversity framework. *Nature Ecology & Evolution*, 5(10), 1338-1349.
- Noureldin, S. M., Diab, A. M., Salah, A. S., & Mohamed, R. A. (2021). Effect of different monochromatic LED light colors on growth performance, behavior, immune-

- physiological responses of gold fish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 538, 736532.
- Noureldin, S. M., Diab, A. M., Salah, A. S., & Mohamed, R. A. (2021). Effect of different monochromatic LED light colors on growth performance, behavior, immune-physiological responses of gold fish, *Carassius auratus*. *Aquaculture*, 538, 736532.
- Nunes, M. E. M., Schimith, L. E., da Costa-Silva, D. G., Lopes, A. R., Leandro, L. P., Martins, I. K., ... & Franco, J. L. (2019). Acute exposure to permethrin modulates behavioral functions, redox, and bioenergetics parameters and induces DNA damage and cell death in larval zebrafish. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019(1), 9149203.
- Olimov, L. O., & Yusupov, A. K. (2021). The Influence Of Semiconductor Leds On The Aquatic Environment And The Problems Of Developing Lighting Devices For Fish Industry Based On Them. *The American Journal of Applied Sciences*, 3(02), 119-125.
- Oliveira, R., Domingues, I., Koppe Grisolia, C., Soares, A.M.V.M., 2009. Effects of triclosan on zebrafish early-life stages and adults. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 16 (6), 679–688.
- Opel, D.R., Hagstrom, E., Pace, A.K., Sisto, K., Hirano-Ali, S.A., Desai, S., *et al.*, 2015. Light-emitting diodes: a brief review and clinical experience. *J. Clin. Aesthet. Dermatol.* 8 (6), 36–44.
- Osterauer, R., Köhler, H.-R., 2008. Temperature-dependent effects of the pesticides thiacloprid and diazinon on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquat. Toxicol.* 86 (4), 485–494.
- Paital, B., Panda, S.K., Hati, A.K., Mohanty, B., Mohapatra, M.K., Kanungo, S., *et al.*, 2016. Longevity of animals under reactive oxygen species stress and disease. *Science of the Total Environment* 951 (2024) 175468 susceptibility due to global warming. *World J. Biol. Chem.* 7 (1), 110–127.
- Pan, T. C. F., & Hunt von Herbing, I. (2017). Metabolic plasticity in development: Synergistic responses to high temperature and hypoxia in zebrafish, *Danio rerio*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 327(4), 189-199.
- Papa, C. (2012, February). The role of semiconductors in the energy landscape. In 2012 IEEE International Solid-State Circuits Conference (pp. 16-21). IEEE.
- Park, K., Han, E. J., Ahn, G., & Kwak, I. S. (2020). Effects of combined stressors to cadmium and high temperature on antioxidant defense, apoptotic cell death, and DNA methylation in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Science of the Total Environment*, 716, 137130.
- Parkinson, E., & Tiegs, S. D. (2023). Spectral composition of light-emitting diodes impacts aquatic and terrestrial invertebrate communities with potential implications for cross-ecosystem subsidies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 378(1892), 20220361.
- Parlak, V., 2018. Evaluation of apoptosis, oxidative stress responses, AChE activity and body malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to deltamethrin. *Chemosphere* 207, 397–403.
- Pecl, G. T., Araújo, M. B., Bell, J. D., Blanchard, J., Bonebrake, T. C., Chen, I. C., ... & Williams, S. E. (2017). Biodiversity redistribution under climate change: Impacts on ecosystems and human well-being. *Science*, 355(6332), eaai9214.
- Peng, R., Jiang, X. M., Jiang, M., & Chen, S. (2019). Effect of light intensity on embryonic development of the cuttlefish *Sepia lycidas*. *Aquaculture International*, 27, 807-816.
- Pörtner, H. O. (2010). Oxygen-and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. *Journal of Experimental Biology*, 213(6), 881-893.

- Rall, B. C., Vucic-Pestic, O. L. I. V. E. R. A., Ehnes, R. B., Emmerson, M., & Brose, U. (2010). Temperature, predator–prey interaction strength and population stability. *Global Change Biology*, 16(8), 2145–2157.
- Rayani, K., Lin, E., Craig, C., Lamothe, M., Shafaattalab, S., Gunawan, M., ... & Tibbits, G. F. (2018). Zebrafish as a model of mammalian cardiac function: optically mapping the interplay of temperature and rate on voltage and calcium dynamics. *Progress in biophysics and molecular biology*, 138, 69–90.
- Rehman, N.N.M.A., Dixit, P.P., 2020. Influence of light wavelengths, light intensity, temperature, and pH on biosynthesis of extracellular and intracellular pigment and biomass of *Pseudomonas aeruginosa* NR1. *J. King Saud Univ. Sci.* 32 (1), 745–752.
- Roh, B. H., Kim, D. H., Cho, M. K., Park, Y. L., & Whang, K. U. (2008). Expression of heat shock protein 70 in human skin cells as a photoprotective function after UV exposure. *Annals of dermatology*, 20(4), 184–189.
- Romm, J.J., 2022. *Climate Change: What Everyone Needs to Know*. Oxford University Press.
- Ruchin, A.B., 2004. Influence of colored light on growth rate of juveniles of fish. *Fish Physiol. Biochem.* 30 (2), 175–178.
- Ryu, T., Veilleux, H. D., Donelson, J. M., Munday, P. L., & Ravasi, T. (2018). The epigenetic landscape of transgenerational acclimation to ocean warming. *Nature Climate Change*, 8(6), 504–509.
- Samaee, S.-M., Rabbani, S., Jovanović, B., Mohajeri-Tehrani, M.R., Haghpanah, V., 2015. Efficacy of the hatching event in assessing the embryo toxicity of the nano-sized TiO₂ particles in zebrafish: a comparison between two different classes of hatching derived variables. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 116, 121–128.
- Saputra, F., Lai, Y. H., Roldan, M. J. M., Alos, H. C., Aventura, C. A., Vasquez, R. D., & Hsiao, C. D. (2023). The effect of the pyrethroid pesticide fenpropathrin on the cardiac performance of zebrafish and the potential mechanism of toxicity. *Biology*, 12(9), 1214.
- Schirone, R.C., Gross, L., 1968. Effect of temperature on early embryological development of the zebra fish, *Brachydanio rerio*. *J. Exp. Zool.* 169 (1), 43–52.
- Schnorr, S.J., Steenbergen, P.J., Richardson, M.K., Champagne, D.L., 2012. Measuring thigmotaxis in larval zebrafish. *Behav. Brain Res.* 228 (2), 367–374.
- Schwerte, T., & Fritsche, R. (2003). Understanding cardiovascular physiology in zebrafish and *Xenopus* larvae: the use of microtechniques. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 135(1), 131–145.
- Seo, S. J., Krebs, M. P., Mao, H., Jones, K., Connors, M., & Lewin, A. S. (2012). Pathological consequences of long-term mitochondrial oxidative stress in the mouse retinal pigment epithelium. *Experimental eye research*, 101, 60–71.
- Septiani, S., Kiddane, A. T., Do Kim, G., & Brown, C. L. (2021). Effects of different wavelength from Light Emitting Diodes (LEDs) on growth and development in zebrafish (*Danio rerio*) embryos and larvae. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 322, p. 01033). EDP Sciences.
- Shakoor, A., Ashraf, F., Shakoor, S., Mustafa, A., Rehman, A., & Altaf, M. M. (2020). Biogeochemical transformation of greenhouse gas emissions from terrestrial to atmospheric environment and potential feedback to climate forcing. *Environmental Science and Pollution Research*, 27, 38513–38536.
- Shen, J., Liu, P., Sun, Y., Xu, X., Guo, L., Rao, Q., ... & Liu, X. (2021). Embryonic exposure to prothioconazole induces oxidative stress and apoptosis in zebrafish (*Danio rerio*)

- early life stage. *Science of The Total Environment*, 756, 143859.
- Shi, Q., Wang, Z., Chen, L., Fu, J., Han, J., Hu, B., & Zhou, B. (2019). Optical toxicity of triphenyl phosphate in zebrafish larvae. *Aquatic Toxicology*, 210, 139-147.
- Shin, H.S., Lee, J., Choi, C.Y., 2011. Effects of LED light spectra on oxidative stress and the protective role of melatonin in relation to the daily rhythm of the yellowtail clownfish, *Amphiprion clarkii*. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 160 (2), 221–228.
- Sierra-Flores, R., Davie, A., Grant, B., Carboni, S., Attack, T., Migaud, H., 2016. Effects of light spectrum and tank background colour on Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae performances. *Aquac* 450, 6–13. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.06.041>.
- Simensen, L.M., Jonassen, T.M., Imsland, A.K., Stefansson, S.O., 2000. Photoperiod regulation of growth of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquac* 190 (1), 119–128.
- Siregar, P., Juniardi, S., Audira, G., Lai, Y.-H., Huang, J.-C., Chen, K.H.-C., *et al.*, 2020. Method standardization for conducting innate color preference studies in different zebrafish strains. *Biomedicines* 8 (8), 271.
- Song-lin, Z. (2011). Application of Zebrafish in the Field of Environmental Detection. *Environmental Monitoring and Forewarning*.
- Sourisse, J. M., Bonzi, L. C., Semmelhack, J., & Schunter, C. (2023). Warming affects routine swimming activity and novel odour molecular response in larval zebrafish. *bioRxiv*, 2023-06.
- Sreelekshmi, S., Inbaraj, R.M., 2022. Light of different wavelengths influence stress response in the monoamines of zebrafish brain. *Ecol. Environ. Conserv.* 28 (4), 1733–1737.
- Strielkowski, W., Veinbender, T., Tvaronavičienė, M., & Lace, N. (2020). Economic efficiency and energy security of smart cities. *Economic research-Ekonomska istraživanja*, 33(1), 788-803.
- Sullivan, C., & Kim, C. H. (2008). Zebrafish as a model for infectious disease and immune function. *Fish & shellfish immunology*, 25(4), 341-350.
- Sulukan, E., Baran, A., Şenol, O., Yildirim, S., Mavi, A., Ceyhun, H.A., *et al.*, 2022. The synergic toxicity of temperature increases and nanopolystyrene on zebrafish brain implies that global warming may worsen the current risk based on plastic debris. *Sci. Total Environ.* 808, 152092.
- Sulukan, E., Kocuturk, M., Ceylan, H., Beydemir, S., Isik, M., Atamanalp, M., *et al.*, 2017. An approach to clarify the effect mechanism of glyphosate on body malformations during embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere* 180, 77–85.
- Swaddle, J.P., Francis, C.D., Barber, J.R., Cooper, C.B., Kyba, C.C., Dominoni, D.M., *et al.*, 2015. A framework to assess evolutionary responses to anthropogenic light and sound. *Trends Ecol. Evol.* 30 (9), 550–560.
- Şenol, O., Sulukan, E., Baran, A., Bolat, I., Toraman, E., Alak, G., *et al.*, 2023. Global warming and nanoplastic toxicity; small temperature increases can make gill and liver toxicity more dramatic, which affects fillet quality caused by polystyrene nanoplastics in the adult zebrafish model. *Sci. Total Environ.* 892, 164682.
- Tavares, B., & Lopes, S. S. (2013). The importance of Zebrafish in biomedical research. *Acta medica portuguesa*, 26(5), 583-592.

- Teffer, A. K., Hinch, S., Miller, K., Jeffries, K., Patterson, D., Cooke, S., ... & Juanes, F. (2019). Cumulative effects of thermal and fisheries stressors reveal sex-specific effects on infection development and early mortality of adult coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Physiological and Biochemical Zoology*, 92(5), 505-529.
- Thépôt, V., Jerry, D.R., 2015. The effect of temperature on the embryonic development of barramundi, the Australian strain of *Lates calcarifer* (Bloch) using current hatchery practices. *Aquacult. Rep.* 2, 132–138.
- Tian, H., Lu, C., Ciais, P., Michalak, AM, Canadell, JG, Saikawa, E., ... & Wofsy, SC (2016). Atmosphere gas concentrations as a net source for the terrestrial biosphere. *Nature*, 531 (7593), 225-228.
- Topal, A., Çomaklı, S., O'zkaraca, M., Baran, A., Ko'ktürk, M., Parlak, V., *et al.*, 2017. Immunofluorescence evaluation of 4-hydroxynonenal and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activation in zebrafish (*Danio rerio*) larvae brain exposed (microinjected) to propyl gallate. *Chemosphere* 183, 252–256.
- Touzot, M., Lengagne, T., Secondi, J., Desouhant, E., Théry, M., Dumet, A., ... & Mondy, N. (2020). Artificial light at night alters the sexual behaviour and fertilisation success of the common toad. *Environmental pollution*, 259, 113883.
- Tuz-Sasik, M. U., Boije, H., & Manuel, R. (2022). Characterization of locomotor phenotypes in zebrafish larvae requires testing under both light and dark conditions. *PLoS One*, 17(4), e0266491.
- Türkog'lu, M., Baran, A., Sulukan, E., Ghosigharehagaji, A., Yildirim, S., Ceyhun, H.A., *et al.*, 2021. The potential effect mechanism of high-fat and high-carbohydrate diet- induced obesity on anxiety and offspring of zebrafish. In: *Eat. Weight Disord.*
- Üstündağ, Ü.V., Çalışkan-Ak, E., Ates, P.S., Ünal, I., E'gilmezer, G., Yiğitbası, T., *et al.*, 2019. White LED light exposure inhibits the development and xanthophore pigmentation of zebrafish embryo. *Sci. Rep.* 9 (1), 10810.
- Üstündağ, Ü.V., Çalışkan-Ak, E., Ates, P.S., Ünal, I., E'gilmezer, G., Yiğitbası, T., *et al.*, 2019. White LED light exposure inhibits the development and xanthophore pigmentation of zebrafish embryo. *Sci. Rep.* 9 (1), 10810.
- Valavanidis, A., Vlachogianni, T., Fiotakis, C., 2009. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 27 (2), 120–139.
- Van Cleef-Toedt, K.A., Kaplan, L.A., Crivello, J.F., 2001. Killifish metallothionein messenger RNA expression following temperature perturbation and cadmium exposure. *Cell Stress Chaperones* 6 (4), 351–359.
- van der Meijden, W. P., Te Lindert, B. H., Bijlenga, D., Coppens, J. E., Gómez-Herrero, G., Bruijtel, J., ... & Van Someren, E. J. (2015). Post-illumination pupil response after blue light: Reliability of optimized melanopsin-based phototransduction assessment. *Experimental eye research*, 139, 73-80.
- Veldman, M. B., & Lin, S. (2008). Zebrafish as a developmental model organism for pediatric research. *Pediatric research*, 64(5), 470-476.
- Villamizar, N., Blanco-Vives, B., Migaud, H., Davie, A., Carboni, S., S'anchez-V'azquez, F. J., 2011. Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts: a review. *Aquac* 315 (1), 86–94.
- Villamizar, N., Vera, L.M., Foulkes, N.S., S'anchez-V'azquez, F.J., 2013. Effect of lighting conditions on zebrafish growth and development. *Zebrafish* 11 (2), 173–181.

- Visser, M. E., & Both, C. (2005). Shifts in phenology due to global climate change: the need for a yardstick. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1581), 2561-2569.
- Volpato, G.L., Barreto, R.E., 2001. Environmental blue light prevents stress in the fish Nile tilapia. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 34, 1041–1045.
- Walter, K. M., Miller, G. W., Chen, X., Harvey, D. J., Puschner, B., & Lein, P. J. (2019). Changes in thyroid hormone activity disrupt photomotor behavior of larval zebrafish. *Neurotoxicology*, 74, 47-57.
- Watanabe, W.O., Lee, C.-S., Ellis, S.C., Ellis, E.P., 1995. Hatchery study of the effects of temperature on eggs and yolk sac larvae of the Nassau grouper *Epinephelus striatus*. *Aquac* 136 (1), 141–147.
- Wei, J., Tian, L., Wang, Y., Yu, L., Zhu, X., 2021. Effects of salinity, photoperiod, and light spectrum on larval survival, growth, and related enzyme activities in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquac* 530, 735794.
- Wu, L., Wang, Y., Li, J., Song, Z., Xu, S., Song, C., *et al.*, 2021. Influence of light spectra on the performance of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquac* 533, 736191.
- Xu, W., Zou, H., Zeng, J., Mei, W., & Choi, S. (2023). Effects of various LED light spectra on growth, gonadal development, and growth-/reproduction-related hormones in the juvenile red spotted grouper, *Epinephelus akaara*. *Animals*, 13(13), 2047.
- Yamanome, T., Mizusawa, K., Hasegawa, E. I., & Takahashi, A. (2009). Green light stimulates somatic growth in the barfin flounder *Verasper moseri*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology*, 311(2), 73-79.
- Yan, H., Liu, Q., Cui, X., Shen, X., Hu, P., Liu, W., *et al.*, 2019. Growth, development and survival of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae cultured under different light spectra and intensities. *Aquacult. Res.* 50 (8), 2066–2080.
- Yan, R., Ding, J., Wei, Y., Yang, Q., Zhang, X., Huang, H., ... & An, Y. (2022). Melatonin prevents NaAsO₂-induced developmental cardiotoxicity in zebrafish through regulating oxidative stress and apoptosis. *Antioxidants*, 11(7), 1301.
- Yanagitsuru, Y. R., Main, M. A., Lewis, L. S., Hobbs, J. A., Hung, T. C., Cannon, R. E., & Fangué, N. A. (2021). Effects of temperature on hatching and growth performance of embryos and yolk-sac larvae of a threatened estuarine fish: Longfin smelt (*Spirinchus thaleichthys*). *Aquaculture*, 537, 736502.
- Yasuhara, M., Danovaro, R., 2016. Temperature impacts on deep-sea biodiversity. *Biol. Rev.* 91 (2), 275–287.
- Yuan, S. S., Xu, H. Z., Liu, L. Q., & Zheng, J. L. (2017). Different effects of blue and red light-emitting diodes on antioxidant responses in the liver and ovary of zebrafish *Danio rerio*. *Fish physiology and biochemistry*, 43, 411-419.
- Zhang, H., Peng, Y., Zhang, N., Yang, J., Wang, Y., & Ding, H. (2022). Emerging optoelectronic devices based on microscale LEDs and their use as implantable biomedical applications. *Micromachines*, 13(7), 1069.
- Zhang, P., Grutters, B. M., Van Leeuwen, C. H., Xu, J., Petruzzella, A., Van den Berg, R. F., & Bakker, E. S. (2019). Effects of rising temperature on the growth, stoichiometry, and palatability of aquatic plants. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1947.
- Zhao, X., Ren, X., Zhu, R., Luo, Z., & Ren, B. (2016). Zinc oxide nanoparticles induce oxidative DNA damage and ROS-triggered mitochondria-mediated apoptosis in zebrafish embryos. *Aquatic Toxicology*, 180, 56-70.

- Zhdanova, I.V., Yu, L., Lopez-Patino, M., Shang, E., Kishi, S., Guelin, E., 2008. Aging of the circadian system in zebrafish and the effects of melatonin on sleep and cognitive performance. *Brain Res. Bull.* 75 (2–4), 433–441.
- Zhou, Q., Zhang, P., & Zhang, G. (2015). Biomass and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light sources. *Bioresource technology*, 179, 505–509.
- Zhu, J.-J., Xu, Y.-Q., He, J.-H., Yu, H.-P., Huang, C.-J., Gao, J.-M., *et al.*, 2014. Human cardiotoxic drugs delivered by soaking and microinjection induce cardiovascular toxicity in zebrafish. *J. Appl. Toxicol.* 34 (2), 139–148.
- Zodrow, J.M., Stegeman, J.J., Tanguay, R.L., 2004. Histological analysis of acute toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in zebrafish. *Aquat. Toxicol.* 66 (1), 25–38.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Rabia PİR
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Tirebolu Anadolu Lisesi
Lisans:	Erzurum Teknik Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Elektrik-Elektronik Mühendisliği
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Nanobilim ve Nanomühendislik Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	İyi
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	