TC
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI ZİRAİ MÜCADELE İLAÇLARININ BALIKLARIN SOLUNGAÇ KARACİĞER VE KAS DOKULARINDAKİ ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ GLUTATYON VE LİPİT PEROKSİDASYON SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: İsmail İŞIK
DANIŞMAN : Doç. Dr. İsmail ÇELİK

VAN-2007

TC
YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI ZİRAİ MÜCADELE İLAÇLARININ BALIKLARIN SOLUNGAÇ KARACİĞER VE KAS DOKULARINDAKİ ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ GLUTATYON VE LİPİT PEROKSİDASYON SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAZIRLAYAN: İsmail İŞIK

VAN-2007

KABUL ve ONAY SAYFASI

Doç. Dr. İsmail ÇELİK danışmanlığında, İsmail İŞIK tarafından hazırlanan "Bazı Zirai Mücadele İlaçlarının Balıkların Solungaç Karaciğer ve Kas Dokularındaki Antioksidan Enzim Aktiviteleri, Glutatyon ve Lipid Peroksidasyon Seviyeleri Üzerine Etkileri" isimli bu çalışma 05/09/2007 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Doç. Dr. İsmail ÇELİK İmza:

Üye : Doç. Dr. Vedat TÜRKOĞLU İmza:

Üye : Doç. Dr. Halit DEMİR İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …./…./2007 Gün ve…….sayılı kararı ile onaylanmıştır.

…….

Enstitü Müdürü

ÖZET

BAZI ZIRAİ MÜCADELE İLAÇLARININ BALIKLARIN SOLUNGAÇ KARACİĞER VE KAS DOKULARINDAKİ ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİ GLUTATYON VE LİPİT PEROKSİDASYON SEVİYELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

İŞIK, İsmail

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. İsmail ÇELİK

Ağustos 2007, Sayfa 69

Bu çalışmada, zirai mücadele ilaçlarından Parathion Metil ve Diazinonun yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle 24,48 ve 72 saatlik uygulamalarına laboratuar şartlarında maruz bırakılan Gök kuşağı alabalıklarının solungaç, karaciğer ve kas dolularındaki lipid peroksidasyon (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyi ile antioksidan enzim aktiviteleri süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon -S- transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Yetmişbeş alabalık (Oncorhynchcus mykiss) beş deney grubuna ayrıldı. Bu gruplardan biri kontrol diğerleri ise Parathion metil ve Diazinonun 24, 48 ve 72 saatlik dozlarına maruz bırakılan balıklardan oluşturuldu. Deney süresince balıklar yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle Parathion metil ve Diazinon'un 0.5 ve 1 ppm'lik dozlarına 24, 48 ve 72 saatlik sürelerle maruz bırakıldılar. Bu sürelerin sonunda solungaç, karaciğer ve kas dokuları kesilerek çıkartıldı. MDA, GSH, GST, GR, SOD ve GSH-Px düzeylerinin dokulardaki analizleri, spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Farklı düzeylerde söz konusu kimyasalların etkisine bırakılan balıklarda MDA düzeyi artarken, GSH düzeyinde azalmalara ve antioksidan enzim aktiviteleri düzeyleri üzerine farklı etkilere neden oldukları gözlendi.

Anahtar kelimeler: Antioksidan enzimler, balık, lipid peroksidasyon, pestisitler.

ABSTRACT

EFFECTS OF SOME AGRICULTURAL CHEMICALS ON ANTIOXIDANT ENZYMES ACTIVITY AND GLUTATHIONE, LIPID PEROXIDATION LEVELS IN GILL, LIVER AND MUSCLE TISSUES OF FİSHES

İŞIK, İsmail

Master, Biological Science

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İsmail ÇELİK

August 2007, pages 69

The study was carried out to investigate whether treatment of agricultural pesticides could affect on lipid peroxidation (MDA), reduced glutathione (GSH) levels and antioxidant enzymes activity, süperokside dismutase (SOD), glutathione peroksidase (GSH-Px), glutathione -S- transferase (GST), glutathione reductase (GR) in various tissues of fish under laboratory conditions. Fishes (*Oncorhynchcus mykiss*) were divided into five experimental groups; control and pesticides-exposed for 24, 48 and 72 hours. 0,5 ppm and 1 ppm of diazinon and parathion methyl were administered to fishes for 24, 48 and 72 hours. Gill, liver and muscle tissues were excised at the same time. MDA, GSH, GST, GR, SOD and GSH-Px levels were determined on both tissues samples by means of spectrophotometer. Fishes exposed to different levels of agricultural pesticides indicated that while MDA level increased significantly, glutathione levels decreased and caused the different effects on the level of antioxidant enzymes activity of various tissues in fish.

Key words: Antioxidant enzymes, fish, lipid peroxidation, pesticides.

ÖNSÖZ

Ürün artışına karşılık, zirai ilaçların çevre için rezidü (kalıntı) problemi devam etmektedir. Bu ilaçların etki mekanizmaları belirli sınırlar içinde olmakta, bu sınırlar aşıldığında, insan ve diğer canlılar için risk faktörü taşımaktadır. Çok toksik yapıda olan ve parçalanıp bozulma ihtimali olmayan bazı klorlu pestisitlerin dışındaki tarım ilaçlarının çoğu halen büyük miktarda kullanılmaktadır. Bu kimyasal yapıdaki tarım ilaçlarının taşınması, depolanması, kullanılması, maddelerin hatta sentezlenmesi bile büyük bir çevre kirliliğine sebep olmaktadır.

Pestisitler zırai mücadelede kullanılan ve tarım ürünlerine zararları dokunan canlılara çeşitli şekillerde etki eden kimyasallardır. Bunlardan pek çoğu tarım alanlarında kullanılmaktadır. Bu maddelerden bazıları toprağa karışarak sulama yoluyla akarsulara ve göllere akmaktadır.Söz konusu maddelerin karıştıkları ekosistemlerdeki canlıları ekilemesi muhtemeldir.

Günümüzde teknolojinin ilerlemesine paralel olarak çevreye bırakılan ağır metal iyonu miktarının ve çeşidinin artması, tarımda zirai ilaçlama faaliyetlerinin çoğalması, gıda tüketimindeki artışla birlikte suni üretim artışına gidilmesi gibi bazı faktörleri de içine alan pek çok sebepten dolayı canlı çevrenin kirlenip, bozulduğu görülmektedir

Kirlilik konusunda en aktif canlı olan insan, tabiat dengesini bozmaktadır. Yeryüzü, özellikle de insan çevresi, insan sağlığı açısından çok önemlidir. Kirli bölgelerde yaşayan insandaki ölüm oranının, nispeten daha temiz yörelerdekilerin en az iki misli, tüberküloz ve mide kanseri oranlarının ise üç katı olduğuna literatürlerde rastlanılmaktadır.

Bu araştırmanın hedefleri de kısaca şöyledir: Yurdumuzda, özelliklede bölgemizde çeşitli amaçlar için kullanılan pestisitlerden diazinon ve parathion metilin farklı dozdaki uygulamalarına maruz bırakılan balıkların solungaç karaciğer ve kaslarından alıan örneklerde bu kimyasal maddelerinin etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz aktiviteleri ile lipit peroksidasyonu (Malondialdehit) ve glutatyon düzeylerine bakılmıştır. Kimyasalların etkilerinin ortaya konulması toksikolojik çalışmalar için önem taşımaktadır.

Yukarıdaki biyolojik parametreler üzerine kimyasalların balıklar üzerindeki etkisinin araştırılmasının biyotoksik araştırmalarla ilgili önemli bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyiz.

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmayı öneren ve her konuda değerli katkılarını esirgemeyen kıymetli hocam Doç. Dr. İsmail ÇELİK'e en derin minnet ve

şükranlarımı arz ederim. Deney hayvanlarının temininde katkılarını sunan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Cemal BUDAĞ'a, analizlerin yapılmasında yol göstererek büyük katkı sunan Harran Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Yasin TÜLÜCE'ye, tezin gözden geçirilmesi ve yazımında katkılarını sunan Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden araştırma görevlisi M. Emre EREZ'e ayrıca projemi destekleyen Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığına (Proje no: 2006-FBE-081) teşekkürlerimi arz ederim.

İsmail İŞIK

İÇİNDEKİLER

	sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1.GİRİŞ	1
1.1. Pestisitler ve Etkileri	1
1.2. Diazinon	1
1.3. Parathion Metil	2
1.4. Serbest Radikaller	2
1.4.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri	3
1.4.2. Serbest radikallerin kaynakları	4
1.4.3. Serbest radikallerin etkileri	4
1.4.4. Antioksidan savunma sistemleri	6
1.4.4.1. Enzimatik antioksidanlar	6
1.4.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar	8
1.4.5. Antioksidan etki tipleri	10
1.5. Çevre Kirliliği	10
1.6. Araştırmanın Amacı	12
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM	16
3.1. Deneylerde Kullanılan Materyaller	16
3.2. Kimyasal Maddelerin Muamelesi	17
3.3. Doku Örneklerinin Alınması	17
3.4. Doku Ekstraksiyon işlemlerinin Gerçekleştirilmesi	17
3.5. Analizlerin Yapılması	18
3.5.1. Süperoksit dismutaz (SOD) enzim tayini	18
3.5.2. Glutatyon -S- transferaz (GST) enzim tayini	19

3.5.3. Glutatyon redüktaz (GR) enzim tayini 20
3.5.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-P_X) enzim Tayini 21
3.5.5. Lipid peroksidasyonu (MDA) tayini 22
3.5.6. Redükte glutatyon (GSH) tayini 23
3.6. İstatistiksel Analizler 24
4. BULGULAR 25
5. TARTIŞMA ve SONUÇ 53
KAYNAKLAR 63
ÖZ GEÇMİŞ

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 4.1. 24 saat Parathion Metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması 26

Şekil 4.2. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması 27

Şekil 4.3. 72 saat Parathion ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması 29

Şekil 4.4. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması. 30

Şekil 4.5. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması 32

Şekil 4.6. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması 33

Şekil 4.7. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması. 35

Şekil 4.8. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması. 36

Şekil 4.9 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması 38

Şekil 4.10. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeylerinin karşılaştırılması 39

Şekil 4.11. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeylerinin karşılaştırılması. 41

Şekil 4.12. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeylerinin karşılaştırılması. 42

Şekil 4.13. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Şekil 4.14. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması. 45

Şekil 4.15. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması 47

Şekil 4.16. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması 48

Şekil 4.17. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması 50

Şekil 4.18. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması 51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeyleri 25

Çizelge 4.2. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeyleri 27

Çizelge 4.3. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeyleri 28

Çizelge 4.4. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeyleri 30

Çizelge 4.5. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeyleri 31

Çizelge 4.6. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeyleri 33

Çizelge 4.7. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri 34

Çizelge 4.8.48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri 36

Çizelge 4.9.72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri 37

Çizelge 4.10.24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeyleri 39

Çizelge 4.11.48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeyleri 40

Çizelge 4.12.72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeyleri 42

Çizelge 4.13. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri 43

Çizelge 4.14. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri 45

Çizelge 4.15. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri 46

Çizelge 4.16. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri 48

Çizelge 4.17. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri 49

Çizelge 4.18. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri 51

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

µ	Mikron
°C	Santigrat derece
E	Enzim
g	Gram
L	Litre
M	Molar

Kısaltmalar

ΔA	Absorbans değişimi
$^{\cdot}OH$	Hidroksil radikali
$^1O_2$	Singlet oksijen radikali
ABA	Absisik asit
ALT	Alanin amino transferaz
AST	Aspartat amino transferaz
BHT	Bütillenmiş hidroksi toluen
CAT	Katalaz
CK	Kreatin kinaz
DNA	Deoksiribonükleik asit
DTNB	5, 5' - (2 - ditiobis) nitrobenzoik asit
$EC_{(25)}$	25°C su sıcaklığına göre düzeltilmiş elektriksel iletkenlik değeri
EDTA	Etilendiamin tetra asetik asit
EU	Enzim ünitesi
G6PD	Glukoz -6- fosfat dehidrojenaz
GA_3	Giberellik asit
GGT	Gamma glutamil transferaz
GR	Glutatyon redüktaz
GSH	Redükte glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSH	Okside glutatyon
GST	Glutatyon -S- transferaz

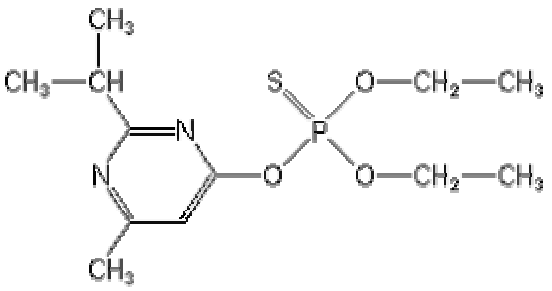
H_2O_2	Hidrojen peroksit
INT	2-(-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride
ibp	İprobenphos
LDH	Laktat dehidrogenaz
MT	Malathion
MDA	Malondialdehit
NADP	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
nm	nanometre
nmol	Nanomol
$O_2^{\cdot -}$	Süperoksit radikali
$RO^{\cdot}$	Alkoksil radikali
$ROO^{\cdot}$	Peroksil radikali
ROOH	Lipid hidroperoksit
rpm	Devir/dakika
SOD	Süperoksid dismutaz
SSA	Sulfosalisilik asit
TBA	Tiyobarbitürik asit
TCA	Trikarboksilik asit

1. GİRİŞ

1.1. Pestisitler ve Etkileri

Zirai mücadelede istenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitler toprakta birikerek toprak organizmalarını olumsuz etkilemekte toprağın pH'ını değiştirmekte, suya karışarak ürün veriminin düşmesine yol açmakta buharlaşarak atmosfere karışmakta böylece hava kirliliğine ve ozon tabakasının delinmesine neden olmaktadırlar. Pestisitlerin insan sağlığına etkileri ise akut-kronik zehirlenmeler kanser alerjik reaksiyonlar sinir sistemi tahribatları öğrenme güçlüğü ve hafıza kaybı enzim faaliyetlerinin bozulması karaciğerde fonksiyon kayıpları hücre membranında değişmeler şeklinde ortaya çıkmaktadır (Çelik ,1995).

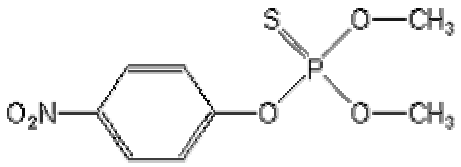
1.2. Diazinon



Biraz akarisit etkili, sistemik olmayan deyme, mide ve solunum zehiridir. Kolinesterazı inhibe eder. Çeltik, meyve ağaçları, bağ, şeker kamışı, hububat ,tütün, patates ve bahçe tarımında ısırıcı ve emici böceklere karşı kullanılır.

Akut ağızdan LD50 sıçanlara 100-200 mg/kg,farelere 80-135 mg/kg dır. Akut deriden LD_{50} sıçanlara 455-900 mg/kg dır.sıçanlarda 1000 ppm içeren gıdalarda 2 seneden fazla bir sürede beslenmede herhangi bir hastalık belirtisi görülmemiştir.Molekül ağırlığı 304.3 g/mol'dür. Molekül formülü $C_{12}H_{21}N_20_3$ olup kimyasal yapısı yukarıda verilmiştir (Öztürk ve Özge ,1978).

1.3. Parathion Metil



Az fumigat etkisi olan bir kontakt ve mide zehiridir. Ağız tolu ile sıçanlara akut toksisitesi 14-24 mg/kg, deri yolu ile sıçanlara akut toksisitesi 67 mg/kg dır. Günde 5 ppm ile 3 ay beslenme denemelerine alınmış sıçanlarda zehirlenme semptomları görülmemiştir. Molekül ağırlığı 263.21 g/mol'dür. Molekül formülü $C_8H_{10}NO_5PS$ olup kimyasal formülü yukarıda verilmiştir (Öztürk ve Özge, 1978).

1.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşleşmemiş elektron bulunan, kısa ömürlü, reaktif atom veya moleküllerdir. Halojen atomlar, oksijen metabolizması ara ürünleri olan oksijen türleri, Cl veya Br gibi tek atomlu yapılar, Na, K gibi alkali metal atomları, bir orbitalinde tek elektron bulunduran NO, NO_2 gibi atom kombinasyonları radikaller olarak sınıflandırılmaktadır. Ancak, Cu^{+2}, Fe^{+3}, Mn^{+2}, Mo^{+5} gibi geçiş metalleri dış yörüngelerinde birer elektron bulundurmalarına rağmen radikal kabul edilmezler. Radikaller elektrik yük olarak; pozitif, negatif ya da nötr olabilirler. Serbest radikal olan atom veya moleküller, dış orbital elektron konfigürasyonlarının yanı sıra, termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri göz önünde bulundurularak değerlendirilirler (Akkuş, 1995; Sen, 1995).

Atomlarda elektron dağılımı incelendiğinde elektronların kabuklarda olduğu görülür. Kabuklar alt kabuklardan, alt kabuklar da elektron içeren orbitallerden oluşur. Orbitallerde, her biri diğerinin fizikokimyasal reaksiyonlara girmesini engelleyen, zıt spinlerde hareket eden elektron çiftleri vardır. Serbest radikallerin dış orbitalleri, genellikle eşlenmemiş elektron içerir. Bu tip atom ya da atom kombinasyonları, elektron konfigürasyonlarını pozitif yükle dengelemek eğiliminde olduklarından stabil değildir (Halliwell ve ark., 1995).

1.4.1. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Aerobik organizmaların yaşamlarını sürdürebilmeleri için organik moleküllerden enerji açığa çıkarmada moleküler oksijeni kullanma mecburiyetinde olmaları, bu canlıları doğal olarak oksijenin toksik metabolik ürünleriyle birlikte yaşamak durumunda bırakmıştır. Oksijen, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı konumundaki maddelerde temel element olması ve aerobik canlılardaki oksidasyon reaksiyonları ve solunumda rol alması nedeniyle de önemlidir (Thurnham, 1990; Erenel ve ark., 1992).

Normal metabolizmada moleküler O_2'nin % 98' i oksidazlar yoluyla suya çevrilmektedir. Geriye kalan kısmı ise oksijenazlar yoluyla hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştiren, membranlarda oksidatif yıkıma neden olan reaktif toksik ürünlere dönüştürülür. Bu O_2 metabolizması ürünlerinin azaltılması enzimatik (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px)) ve nonenzimatik (glutatyon (GSH) ve α tokoferol) hücresel savunma mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir (Wohaieb ve Godin, 1987; Wickens, 2001).

Metabolik olayların normal seyrinde oksijen toplam dört elektron kabul edebilir. Oksijene bir elektron eklenmesi süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi hidrojen peroksit, üç elektron eklenmesi hidroksil radikali ve dört elektron eklenmesi su oluşumuna neden olur (Özdem ve Şadan, 1994; Wickens, 2001).

Süperoksit radikali: Moleküler oksijenin dış orbitallerinde paylaşılmamış iki elektron vardır. Söz konusu elektronlar paylaşılmayıp ayrı orbitallerde bulunduklarında ve spinleri aynı yönde olduğu zaman en düşük enerji seviyesindedirler. Dış orbitallerden her biri birer elektron daha kabul edebilir. Bu orbitallerin tek elektron alması ile süperoksit anyonu (süperoksit radikali O_2^-) iki elektron alması ile peroksil anyonu oluşur. Süperoksit radikali bir oksitleyici gibi davranarak bir elektron daha alabilir, böylece oluşan peroksil anyonu ortamdan iki proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturabilir (Kılınç, 1986).

Hidrojen peroksit: Hidrojen peroksit hücreler için toksik olmakla beraber, özellikle indirgenmiş metal iyonlarıyla reaksiyona girdiğinde önemli serbest radikal hasarına neden olmaktadır (Erenel ve ark., 1992). İnsan metabolizması bir saat içerisinde yaklaşık olarak $3x10^9$ toksik hidrojen peroksit molekülü oluşturmaktadır (Wickens, 2001).

Hidroksil radikali: Oksijen radikalleri içinde en reaktif ve en toksik etkili olanı hidroksil radikalidir (Kılınç, 1986; Erenel ve ark., 1992).

Hidroksil radikalinin yüksek reaktivitesi nedeniyle istenmeyen toksik etkileri yanı sıra, üretilmeleri normal biyolojik fonksiyonlar için de gereklidir. Fagositoz ve pek çok enzimatik tepkimenin zorunlu bir parçası olarak OH üretilir ve kataliz olayına doğrudan katılır (Kılınç, 1986).

1.4.2. Serbest radikallerin kaynakları

Serbest radikaller başlıca, oksijenin normal metabolizma basamaklarında indirgenmesi ile açığa çıkmaktadır. Ayrıca, organik maddelerin çürümesi, boyaların kuruması ve plastik maddelerin işlenmesi gibi endüstriyel işlemlerde oksijenin kısmi redüksiyonu ile oluşabilmektedir (Thomas, 1995).

Öte yandan hava kirliliği, kimyasallara maruz kalma, sigara dumanı ve iyonize edici radyasyon gibi çevresel kimyasal etkilerle karşı karşıya kalma sonucunda hücrelerde radikallerin çoğaldığı ve hipoksi, inflamasyon, ısı, yoğun egzersiz, iskemi travma, intoksikasyon gibi durumların radikal oluşumunu tetikleyen faktörler olduğu ileri sürülmektedir (Aslan ve ark., 1995; Wickens, 2001).

Biyolojik kaynaklar: Aktive olmuş fagositler (solunumsal patlama = respiratory burst), antineoplastik ajanlar (bleomisin, adriamicine), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol ve uyuşturucular), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, anestezikler), stres. Streste katekolemin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (Akkuş, 1995).

İntrasellüler kaynaklar: Küçük moleküllerin otooksidasyonu: Tioller, hidrokinonlar. Enzimler ve proteinler: Ksantin oksidaz, hemoglobin. Mitokondrial elektron transportu. Endoplazmik retikulum ve nükleer membran elektron transport sistemleri (stokrom P-450). Peroksizomlar: oksidazlar, flavoproteinler. Plazma membranı: lipoksijenaz, lipid peroksidasyonu. Oksidatif stres yapıcı durumlar: iskemi, travma, intoksikasyon (Akkuş, 1995).

1.4.3. Serbest radikallerin etkileri

Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimlerindeki artışı takiben başta membran fosfolipitleri olmak üzere hücresel bileşiklerin tümüne (karbonhidrat, lipit, protein, DNA.) zarar vermekte, membranlar depolarize olmakta, parçalayıcı enzimlerin aktivitesi artmakta, hücre zarının permeabilitesi ve elektrik yük dengesi değişmektedir

(Kavas, 1989; Sinclair ve ark., 1990). Hücrede başlıca mitokondriyum olmak üzere hücre membranı, lizozomlar, peroksizomlar, çekirdek ve endoplazmik retikulumda lokalize olur (Bendich, 1990).

Membran lipidlerine etkileri (Lipid peroksidasyonu): Poliansatüre (doymamış) yağ asitleri serbest radikal hasarına karşı hassastırlar. Bu oksidatif hasara "Lipit Peroksidasyonu" denir. Sonuçta membran akışkanlığında azalma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir (Kavas, 1989).

Peroksidasyon, bir metilen grubundan bir H atomunu yerinden çıkartan herhangi bir serbest radikal türü ile başlayabilir. Bu olay çift bağa komşu metilen grubu üzerinde daha da kolaydır. Oksijen peroksil radikalini oluşturmak için karbon radikaline eklenir ve sonuçta diğer lipit molekülünden bir H atomu çıkarır, lipit hidroperoksil oluşturur. Böylece zincirleme reaksiyon başlar. Siklik peroksitler yeniden düzenlenme ile endoperoksitlere, daha ileri oksidasyon ile de malondialdehit'e (MDA) dönüşebilirler (Sinclair ve ark., 1990; Erenel ve ark., 1992).

MDA hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlar doğurur. MDA bu özelliklerinden dolayı DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bundan dolayı hücreler için genotoksik ve karsinojeniktir (Moslen, 1994).

Proteinlere etkileri: Serbest radikallerin neden olduğu hasar sonucunda proteinlerde fragmantasyon, çapraz bağlanma, protein agregasyonu meydana gelmektedir. Proteinlerin, serbest radikal hasarından ne derece etkileneceği aminoasit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalin toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir (Kavas, 1989; Erenel ve ark., 1992).

Nükleik asitler ve DNA'ya etkileri: Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca etkileşime girer ve değişikliklere yol açar. Sitotoksisite, büyük oranda, nükleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar (Akkuş, 1995).

Karbonhidratlara etkileri: Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bunlar diabet gibi patolojik proseslerde önemli rol oynarlar. Bağ dokusunun önemli bir mukopolisakkariti olan hyalüronik asit, sinovyal sıvıda da bol bulunur. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvıya çok sayıda polimorf hücreler göç eder ve immün kompleklerle aktivasyonu sonucu ekstraselüler

sıvıya H_2O_2 ve O_2.- salgılarlar. Hyalüronik asit parçalanması enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovyal sıvının karakteristik bir özelliğidir. Gözün vitreous humor'unda bulunan hyaluronik asidin oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunur (Akkuş, 1995).

1.4.4. Antioksidan savunma sistemleri

Enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan antioksidan savunma sistemi serbest radikal reaksiyonlarını kontrol ederek belirli düzeylerin üzerine çıkmasını engellemek üzere görev yapmaktadır. Organizma değişen koşullara karşı hücresel homeostazisi korumak durumundadır. Serbest radikaller ve lipit peroksidasyonuna karşı bu yolla antioksidan bir savunma sistemi oluşturularak hücresel denge korunmaya çalışılmaktadır. Canlılar, oluşan bu toksik ürünlere karşı korunma mekanizmasına sahip olmakla beraber, bazı durumlarda bu korunma sistemi aşılabilmekte ve sistem yetersiz kalmaktadır (Thomas, 1995).

1.4.4.1. Enzimatik antioksidanlar

Bilinen en tanınmış reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren antioksidan enzimler SOD, CAT ve GSH siklusu enzimleri (glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glukoz-6-fosfat dehidrojenaz) dir (Özdem ve Şadan 1994; Aslan, 1995). Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, süperoksidi detoksifiye eden enzimdir. (Akkuş, 1995).

Süperoksit dismutaz: SOD enzimi süperoksit anyonunu (O_2^-) enzimatik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüştürür. Fizyolojik olarak metabolik aşamalarda üretimi oldukça fazla olan süperoksit, hücre içi aktivitesini düşük tutarak hücresel O_2^- düzeylerinin kontrolünde ve hücreleri O_2^- radikalinin etkilerinden korumada görev alır.

$$2O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Spontan olarak da oluşabilen bu reaksiyon SOD katalizörlüğünde yaklaşık 4000 kez daha hızlı oluşur.

Üç büyük SOD tipi bildirilmiştir. Cu, Zn ve Mg içeren birer enzim ökaryotik hücrelerde bulunmuştur. Cu, Zn içeren enzim sitoplazmada, Mg içeren enzim ise mitokondride bulunmaktadır (Kahraman, 1998).

Glutatyon peroksidaz: Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi 84000 dalton molekül ağırlığında olup her bir molekül başına 4 atom selenyum içerir. GSH-Px hidrojen peroksidi glutatyon varlığında suya katalizler (Deneke ve ark., 1985). Bu arada redükte glutatyon ise okside forma geçer. GSH-Px enzimi etki için redükte glutatyona gereksinim duymasından dolayı okside glutatyon (GSSG) formunun, redükte formuna (GSH) dönüşümünü glutatyon redüktaz katalizler (Kahraman, 1998).

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GSH\text{-}Px} ROH + GSSG + H_2O$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} NADP+ + 2GSH$$

Glutatyon -S- transferazlar: Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksidleri olmak üzere lipid peroksidlerine karşı GST'lar Se-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar.

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GST} GSSG + ROH + H_2O$$

GST'lar antioksidan aktivitelerine ilave olarak çok önemli başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahiptir. GST hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri glutatyon (GSH)'daki sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları böylece organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar (Akkuş, 1995).

Katalaz: Katalaz sitoplazma ve daha çok peroksizomlarda lokalize olan ve yapısında demir bulunduran bir enzim olarak H_2O_2'nin suya dönüştürülmesinden sorumludur (Erenel ve ark., 1992).

$$2H_2O_2 \xrightarrow{Katalaz} 2H_2O + O_2$$

İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz / peroksidaz yolu olduğu düşünülmektedir (Gaetani ve ark., 1989).

Katalaz reaksiyonu için Michaelis Sabiti (K_m) nispeten yüksektir ve katalaz H_2O_2'in oluştuğu tüm komponentlerde bulunmaz, bu da katalazın oksijen radikallerinin oluşumundan korunmada ikincil öneme sahip olduğunu akla getirmektedir (Erenel ve ark., 1992).

Glutatyon redüktaz: GSH'nun yüksek konsantrasyonları ve GSSG'un düşük düzeyleri hayvanların yaşamları için gereklidir. GSH, oksidazlar tarafından protein sülfitlerine tercih edilen bir substrat olup protein sülfidril oksidasyonunu önler. GSH, protein sülfidrillerinin oksidasyonunu geriye de çevirir. Yüksek GSH ve düşük GSSG düzeyleri önemlidir, çünkü yüksek GSSG düzeyleri protein sülfidrilleriyle reaksiyona girer ve proteinleri inaktive eden karışık glutatyon-protein sülfidrilleri oluşturur. Gerekli GSH-GSSG oranları glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6 fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleri tarafından devam ettirilir. NADPH'ın G6PD ile üretimi de oksijen hasarının tamirinde gerekli biyosentetik süreçlerde önemli olabilir (Erenel ve ark., 1992).

1.4.4.2. Nonenzimatik antioksidanlar

CAT ve GSH-Px gibi enzimler oldukça reaktif hidroksil türlerinin hasarlayıcı etkilerine karşı sadece sınırlı, direkt bir koruma sağlayabilirler. Bununla birlikte bir seri düşük molekül ağırlıklı serbest radikal temizleyiciler (antioksidanlar) direkt reaksiyona girerek onları daha az zararlı ve daha stabil türevlerine dönüştürebilirler (Erenel ve ark., 1992).

Nonenzimatik karakterdeki redoks reaksiyonlarında serbest radikal oluşumu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bir serbest radikal, iki bağlı molekülün bir tek bağının bir molekül yardımı ile yükseltgenmesi veya indirgenmesi sonucu meydana gelir (Thurnham, 1990). Nonenzimatik yapıdaki bu maddeler, GSH, ürik asit, beta karoten (provitamin A), taurin ve yüksek molekül ağırlıklı antioksidanlar olan mukus ve albümindir (Özdem ve Şadan, 1994). Diğer nonenzimatik antioksidanlar, melatonin, seruloplazmin, askorbik asit, alfa tokoferol, transferin, laktoferrin, miyoglobin, hemoglobindir (Akkuş, 1995).

Melatonin: Melatonin en zararlı radikal olan $^{\cdot}OH$ radikalini ortadan kaldıran çok güçlü bir antioksidandır. Bu yüzden, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir. Melatonin, $^{\cdot}OH$ radikali ile reaksiyona girdikten sonra bir indolil katyon radikaline dönüşür ki bunun da ortamda $O_2^{\cdot-}$ radikalini tutarak antioksidan aktivite

gösterdiği kaydedilmiştir. Melatoninin antioksidan olarak diğer önemli bir özelliği de lipofilik olmasıdır. Dolayısı ile hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabildiği gibi kan-beyin bariyeri gibi bariyerleri de kolayca geçer. Böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Melatoninin bir başka avantajı, diğer antioksidanların aksine çok yüksek dozlarda (300 mg/gün) ve uzun süre kullanımda (5 yıla kadar) bile toksik bir etkisinin olmamasıdır. Melatoninin hücre çekirdeğine girebilmesi onun DNA'yı oksidatif hasardan koruması bakımından diğer antioksidanlara göre daha üstün bir özelliğini teşkil eder. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir (Akkuş, 1995).

Glutatyon (GSH): GSH tripeptit yapısında olan, glutamik asit, sistein ve glisin aminoasitlerinden meydana gelen bileşiktir. Çok önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif zarara karşı korur. Proteinlerin –SH gruplarını redükte halde tutarak, protein ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. Bu görevleriyle beraber yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membranlarda geçişini de sağlamaktadır (Akkuş, 1995).

İndirgenmiş glutatyon reaktif ksenobiyotiklere karşı hücresel membran yapılarını korumaya iştirak ettiği bilinen önemli hücresel redox tepkimelerinde potansiyel biyolojik madde olarak görev alır. Bu önemli fonksiyonları bize devamlı azalan GSH konsantrasyonunun yaşlanma prosesleri ve neoplastik hastalıklarda kolaylaştırıcı faktör olabileceğini göstermiştir (Laganiere ve Yu, 1989).

Vitamin C (Askorbik Asit, AA): İnsanlar, primatlar, kobaylar ve meyve yiyen yarasaların, L-glukonolakton oksidaz enzimi içermediklerinden sentezleyemedikleri esansiyel bir vitamindir. AA, güçlü bir redükleyici ajan (e^- donörü) ve antioksidan olup süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidroaskorbik asiti oluşturur. AA, dehidroaskorbat redüktaz tarafından katalizlenen bir reaksiyon ile glutatyon tarafından rejenere edilir (Erenel ve ark., 1992).

Vitamin E (α Tokoferol): Bu vitamin, lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu bir serbest radikal temizleyici olarak davranır. Lipitte çözünür doğası, hücre zarlarının fosfolipit tabakası ve kan lipoproteinleri içerisinde yoğunlaşmasına izin vermektedir. Her bir E vitamini molekülü iki oksidasyon zincirini durdurur. Çünkü vitamin E radikali zincirin devamı için çok az reaktiftir. Vitamin E, AA tarafından rejenere edilebilir. Böylece bir antioksidan olan AA'in başka bir rolü daha ortaya çıkmaktadır (Erenel ve ark., 1992).

1.4.5. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar etki tiplerini, a) Radikalleri toplayıcı etki reaksiyonları, b) Radikalleri bastırıcı etki reaksiyonları, c) Radikal zararını onarıcı etki reaksiyonları, d) Zincir kırıcı etki reaksiyonları olarak dört şekilde gösterir (Harris, 1992).

Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutan veya çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine toplayıcı etki denir. Antioksidan enzimler bu tip etki gösteririler.

Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen bağı aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren olaya bastırıcı etki adı verilir. Vitaminler bu tarz bir etkiye sahiptir.

Serbest oksijen radikallerini kendilerine bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye zincir kırıcı etki denir. Seruloplazmin zincir kırıcı etki gösterirler (Akkuş, 1995).

1.5. Çevre Kirliliği

Günümüz dünyasındaki aşırı nüfuz artışı, hızlı kentleşme ve ileri teknoloji sonucu oluşan ve doğal kaynakları tehdit eden çevre kirlenmesi insanlığın en önemli sorunlardan birini oluşturmaktadır. İnsanoğlu açlık tehlikesi ile birlikte yetersiz ve dengesiz beslenme gibi çok önemli sorunlarla karşı karşıya kalmaktadır. Bu sorunların çözümünde şüphesiz ilk akla gelen, tarımsal üretimde yeterli miktarlarda kaliteli ürün elde etmek olmalıdır. Bu amaçla, fazla ve kaliteli ürün elde etmek için, tarım alanlarında gübreleme, melezleme, hormonlama gibi çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Günümüzde tarımda çeşitli amaçlar için kullanılan bu kimyasalların etki mekanizmaları belirli sınırlar içinde gerçekleşmektedir. Bu sınırlar aşıldığında ise insan ve diğer canlılar için risk faktörü oluşturmaktadır.

İnsanların her türlü aktiviteleri sonucu havada, suda ve toprakta oluşan olumsuz gelişmeleriyle ekolojik dengenin bozulmasına neden olan atıkların çevrede oluşturduğu arzu edilmeyen sonuçlarına (Kocataş, 1994), tabii çevreyi meydana getiren öğelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, canlıların (insan, hayvan ve bitki) hayati faaliyetlerini ve aktivitelerini olumsuz yönde etkileyecek şekilde değişmesi olayına çevre kirliliği denir (Gür ve Akınerdem, 1992).

Kirlilik konusunda en aktif canlı olan insan, tabiat dengesini zorlamakta ve bozmaktadır. Yeryüzü, özellikle de insan çevresi, insan sağlığı açısından çok önemlidir. Kirli bölgelerde yaşayan insanlardaki ölüm oranının, nispeten daha temiz yöredekilerin en az iki

misli, tüberküloz ve mide kanseri oranlarının ise üç katı olduğu literatürlerde açıklanmaktadır (Baykut ve ark., 1987).

Herhangi bir kirleticinin belirli bir çevrede meydana getirebileceği tesir, büyük ölçüde kirleticinin içinde bulunduğu kullanılmış suyun miktar ve özellikleri ile boşaltıldığı hacim ve diğer karakteristiklerine bağlıdır. Kirleticilerin alıcısı olan su ortamında estetik kirlenmeye, zehirli bir reaksiyona veya su canlılarının yaşama şartlarını bozan, taban birikimlerine, biyolojik olarak ayrışarak veya çözünerek oksijen sarfına ve böylece su çevresinden faydalanan insan grupları ve diğer canlı hayatı için tehlikeli durumların doğmasına sebep olabilir. Yapılan bir araştırmaya göre büyük göllerde binden fazla kimyasal madde tespit edilmiştir. Bunlardan bazılarının memeli canlılar için toksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. (Öztürk, 1990).

İnsan ve diğer canlıların kirleticilere ve streslere alışması mümkün olmamakta, hatta bu tür kirleticilerin insan vücudunda kronik olarak tolerans sınırlarının üzerinde birikmesi "Çevre sağlığı" olarak da tanımlanan kansere, kalp damar rahatsızlığına, DNA yapısında mutasyonlara, düşüklere, bebek ölümlerine vs. sebep olmaktadır (Bercovici ve ark., 1983; Baykut ve ark., 1987).

Toprak mikroflorası doğadaki besin zincirinin devamı için son derece önemli bir sistemdir. Tarımsal ilaçlar ise bu sistemin en önemli düşmanlarındandır.

Tarım ilaçları nehirlere göllere ve denizlere ulaşarak sularda biyolojik dengeyi bozmak, toksik tesirler oluşturmak suretiyle su ürünlerini azaltmakta veya kontamine ederek insanların sağlığını tehdit etmektedir. İnsan çevresine yayılmış olan bu maddeler ekosistemlere girer ve bu sistemlerde birikerek ekosistem dinamiğini bozar (Berksoy, 1976).

Her gün çevremizin biraz daha kirlenmesine sebep olan kimyasal kirleticiler insan ve hayvan bünyesine çeşitli yollardan (oral, teneffüs ve deri) girmektedir (Öztürk, 1990; Karpuzcu, 1991).

Büyüme, gelişme ve üremeyi düzenlemek için kullanılan çok önemli kimyasallardan biri de bitki hormonlarıdır. Bitkisel üretimde yüksek verim elde etmek amacıyla tarım alanlarında bitki hormon uygulamaları gün geçtikçe artmaktadır. Ancak bu maddelerin hayvanlar üzerindeki etkileri hakkındaki bilgilerimiz oldukça sınırlıdır.

1.6. Araştırmanın Amacı

Ürün artışına karşılık, zirai ilaçların çevre için rezidü (kalıntı) problemi devam etmektedir. Bu ilaçların etki mekanizmaları belirli sınırlar içinde olmakta, bu sınırlar aşıldığında, insan ve diğer canlılar için risk faktörü taşımaktadır. Çok toksik yapıda olan ve parçalanıp bozulma ihtimali olmayan bazı klorlu pestisitlerin dışındaki tarım ilaçlarının çoğu halen büyük miktarda kullanılmaktadır. Bu kimyasal yapıdaki tarım ilaçlarının taşınması, depolanması, kullanılması, maddelerin hatta sentezlenmesi bile büyük bir çevre kirliliğine sebep olmaktadır.

Pestisitler zırai mücadelede kullanılan ve tarım ürünlerine zararları dokunan canlılara çeşitli şekillerde etki eden kimyasallardır. Bunlardan pek çoğu tarım alanlarında kullanılmaktadır. Bu maddelerden bazıları toprağa karışarak sulama yoluyla akarsulara ve göllere akmaktadır.Söz konusu maddelerin karıştıkları ekosistemlerdeki canlıları ekilemesi muhtemeldir.

Günümüzde teknolojinin ilerlemesine paralel olarak çevreye bırakılan ağır metal iyonu miktarının ve çeşidinin artması, tarımda zirai ilaçlama faaliyetlerinin çoğalması, gıda tüketimindeki artışla birlikte suni üretim artışına gidilmesi gibi bazı faktörleri de içine alan pek çok sebepten dolayı canlı çevrenin kirlenip, bozulduğu görülmektedir

Kirlilik konusunda en aktif canlı olan insan, tabiat dengesini bozmaktadır. Yeryüzü, özellikle de insan çevresi, insan sağlığı açısından çok önemlidir. Kirli bölgelerde yaşayan insandaki ölüm oranının, nispeten daha temiz yörelerdekilerin en az iki misli, tüberküloz ve mide kanseri oranlarının ise üç katı olduğuna literatürlerde rastlanılmaktadır.

Bu araştırmanın hedefleri de kısaca şöyledir. Yurdumuzda, özelliklede bölgemizde çeşitli amaçlar için kullanılan pestisitlerden diazinon ve parathion metilin farklı dozdaki uygulamalarına maruz bırakılan balıkların solungaç karaciğer ve kaslarından alıan örneklerde bu kimyasal maddelerinin etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon redüktaz, glutatyon transferaz aktiviteleri ile lipit peroksidasyonu (Malondialdehit) ve glutatyon düzeylerine bakılmıştır. Kimyasalların etkilerinin ortaya konulması toksikolojik çalışmalar için önem taşımaktadır.

Yukarıdaki biyolojik parametreler üzerine kimyasalların balıklar üzerindeki etkisinin araştırılmasının biyotoksik araştırmalarla ilgili önemli bir boşluğu dolduracağı kanaatindeyiz.

2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

İnsanoğlunun, yaşamını sürdürebilmek için gıda, hammadde ve enerji kaynağı olarak her zaman tarım bitkilerine ihtiyacı olmuştur. Ancak bu ihtiyacın karşılanması ise, bu bitkilerin normal büyüme ve gelişmeleriyle birlikte, birim alandan maksimum düzeyde ürün elde edilmesiyle mümkün olabilir. Artan dünya nüfusuna karşılık tarım alanlarının kısıtlı olmasından dolayı önemli derecede ürün açığı ortaya çıkmıştır. Bu ürün açığını kapamak amacıyla bitki zararlılarına karşı tarım ilaçları ve bitki büyüme hormonları kullanımı bilinçsizce yaygınlaşmıştır. Çevremizde sıkça kullanılan zırai mücadele ilaçlarından bazıları ve antioksidanlar hakkında yapılan çalışmalardan bazıları aşağıda verilmiştir.

Tsuda ve ark. (1990) sazanda diazinon, ibp, MT ve fenitrothionun biyokonsantrasyonu ve boşaltımı üzerinde yaptıkları araştırmada, bu pestisitlerin kas ve iç organlarda 12-48 saatlik bir maruz bırakma sonucunda sınır bir değere ulaştıklarını belirlemişlerdir.

Tsuda ve ark.(1997), diozononoxon, malaoxon, fenitrothionoxon ve EPN oxonun dişli sazancık türlerinden *Oryzias latipes* (japon pirinç balığı) üzerindeki akut toksitisetisini birikim ve boşaltımını arştırmışlardır.

Christensen ve ark. (1982), 141 çeşit çevre kirleticilerinin GOT, LDH, CA, ATPase, AChE, RNA-ase, lipaz ve üreaz enzimleri üzerinde etkilerini çeşitli şekillerde tespit etmişlerdir.

Lien ve ark.(1997),0.3-0.5 mg/l malathiona maruz bırakılmış Afrika yayın balığı(*Clarias ariepinus*) larvalarında morfolojik anormallikleri araştırmışlardır.Prelarvalarda notokord deformasyonları,notokord oluşumundan sonra MT na maruz bırakılan bireylerde de omurga defomiteleri gözlemişler, MT un vücut kaslarında kontrolsüz kontraksiyonlara neden olduğunu bildirmişlerdir.

Dorval ve ark. (1994), Tarım ilaçlarına maruz kalmış nehirde *Catostomus commersoni* üzerinde yaptıkları çalışmada adrenal doku ve karaciğer dokusunda redükte GSH, CAT, GPx aktivitesini yüksek lipit peroksidasyon (LPO) seviyesini düşük bulmuşlardır.

Tek (1993), çevre kirleticilerden kafeinin yanı sıra $NaClO_3$, $Na_3Cr_2O_7$, trikloro asetik asit, alachor, carboxin, chloridazon, dalapon, dichlorvos, dnoc, metalaxin, propaxurun değişik orijinli karbonik anhidraz izoenzimlerin üzerindeki etkilerinin araştırılmasında, sığır eritrosit CA enzimi üzerinde kafein, $NaClO_3$, $Na_3Cr_2O_7$, TCA, dichlorvos ve dalaponun inhibisyon etkisini gösterilmiştir.

Oruç ve Üner (1999), 2,4-D ve Azinfosfometilin (1/3LC50) dozuna 24, 48, 72, 96, saatlik sürelerle maruz bırakılan aynalı sazanın(*Cyprinus carpio L.*) karaciğer dokusunda bazı antioksidan enzim aktivitelerini araştırmışlardır.

Llopis ve ark.(2003). *Anguilla anguilla*'nın tiokarbomat heerbisitlere karşı direncinde glutatyon metabolizmasının önemini açıklamışlardır.

Sayeed ve ark.(2003), deltametrinin *Channa punctatus* un karaciğer ve böbrek dokularındaki antioksidanlar üzerine etkilerini araştırmışlardır.

Tandon ve Dubey (1983), organik fosforlu bileşiklerden malathionun, tatlı su balıkları üzerindeki etkisinin tespitinde, karaciğer ve böbrek fruktoz-1.6-difosfat aldolaz seviyesinin artmasıyla birlikte ölümlere sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Wiszkowska ve ark. (1986), malathion gibi, fosforlu pestisitlerin RNA polimeraz aktivitesini değiştirdiği ve DNA yapısında bir metilleşmeye sebep olduğunu tespit etmişlerdir.

Rajendra ve ark. (1986), ratlarda yürüttükleri araştırmalarında, diazinonu bu hayvanların kan, beyin dokuları kolinesteraz (ChE) aktivitesi ve katekolamin, amino asit konsantrasyonları için analiz etmişlerdir. Düşük miktardaki pestisit muamelesi sonucu plazma ChE'nin önemli ölçüde azaldığını belirlemişlerdir.

Ceron ve ark. (1996), organik fosforlu pestisit olan diazinonun 0.42 mg/litre (96 saat) konsantrasyonuna deneysel olarak maruz bırakılan yılan balığının (*Anguilla anguilla*) beyin ve plazmadaki kolinesteraz (ChE) aktivitesini ölçmüşlerdir. Diazinonun inhibitör etkisini beyin dokusundaki ChE için >% 70 ve plazma örneklerindeki ChE için >% 90 olarak tespit etmişlerdir.

Hai ve ark. (1997), organik fosforlu bir insektisit olan dichlorvosun sazan (*Cyprinus carpio* L.) ve yayınbalığının (*Ictalurus nebulosus*) antioksidan enzimleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Dichlorvosun asetilkolinesterazı inhibe ettiği ve oksidatif stresde karakteristik değişimlere yol açtığı sonucuna varmışlardır.

Freeman-Witting ve Lewis (1986), captanın polimerizasyon aktivitesinin bir inhibitörü olduğunu, polimerize edici ve eksonükleaz aktivitesiyle çok yönlü bir enzim olan DNA polimeraz-I üzerinde tespit etmişlerdir.

Gallagher ve ark. (1995), diguat ile ciprofibratenin rat karaciğer antioksidan enzimleri üzerine etkileri konulu çalışmalarının sonunda; bu kimyasalların antioksidan enzimlerin katalitik etkilerini azalttığı, redükte glutatyon (GSH) biyosentezini ise inhibe ettiğini tespit etmişlerdir.

Oruç ve Üner (2000), 27 ppm 2,4-D, 0,003 azinphosmethyl ve her ikisinin karışımına 24, 48, 72 ve 96 saat lik peryotlarla maruz bırakılan tatlısu çipurasında (*Oreochromis*

niloticus) hepatik antioksidan enzim aktiviteleri ve lipit peroksidasyon seviyeleri üzerine çalışmışlardır.

Oruç ve Üner (1988), herbisitlerden azinphosmethylin aynalı sazanın (*Cyprinus carpio* L.) çeşitli dokularındaki bazı antioksidan enzim düzeyleri üzerine etkili olduklarını ortaya koymuşlardır. Yine aynı araştırıcılar (1999), 2,4-D'nin aynalı sazanın (*Cyprinus carpio* L.) çeşitli dokulardaki protein ve karbonhidrat metabolizmalarının bazı biyokimyasal parametreleri üzerine etkili olduklarını ortaya koymuşlardır.

Kavitha ve Venkateswara Rao (2007), Sivrisinek balığında (*Gambusia affinis*) organofosfat pestisitlerin oksidatif stres ve lokomotor davranışlar üzerinde etkili olduğunu götermişlerdir.

Oruç ve Usta (2007), 15 ve 30 günlük peryotlarla diazinon uygulamasına maruz bırakılan aynalı sazanın (*Cyprinus carpio*) çeşitli dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinin etkilendiği sonucuna varmışlardır.

Parves ve Raisuddin (2006), deltametrine maruz bırakılan tatlısu balıklarından *Channa punctata*'nın enzimatik olmayan antioksidan yapılarının etkilendiği ve glutatyon miktarında azalmalar olduğu sonucuna varmışlardır.

Durmaz ve ark. (2006), 1,7,15,ve 30 günlük peryotlarla diazinon etkisine maruz bırakılan tatlısu çipurasının (*Oreochromis niloticus*) çeşitli dokularında antioksidan enzim ve lipit peroksidasyon seviyelerinin etkilendiği sonucuna varmışlardır.

Sapozhnikova ve ark.(2005), aralarında *Cyprinus carpio*'nunda bulunduğu 6 balık türü üzerinde yaptıkları çalışmada DDT'ye maruz bırakılan canlıların en yüksek pestisit konsantrasyonunun kas ve gonatlarda olduğu sonucuna varmışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Deneylerde Kullanılan Materyaller

Deney hayvanı materyali: 15–20 cm uzunlıklarındaki 75 adet gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi su ürünleri bölümünden sağlandı. Denemelerde Yüzüncü Yıl Üniversitesi kampus alanı içerisinde bulunan Topraktaş Köyü yakunlarında üniversiteye ait derin kuyu sondajıyla elde edilen su kullanıldı. Kullanılan suyun temel kalite kriterleri; çözünmüş oksijen 7,2 mg/l, çözünmüş oksijen doymuşluğu %95, pH 8,2, total sertlik($CaCO_3$) 426,4 mg/l, total alkalinite($CaCO_3$) 466 mg/l, $EC_{(25)}$ 804 µmhos/cm cıvarında tespit edidi. Her grup 15 hayvandan oluşacak şekilde 5 grup oluşturuldu. Deney 150 litre hacimli cam akvaryumlarda gerçekleştirildi. Hayvanlar deneme müddetince standart balık yemi ile beslenmeye tabi tutuldu. Balıklar deneme boyunca 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık gün ışığı periyodunda ve 8-10 °C su sıcaklığında barındırıldı.

Analizlerde kullanılan cihaz ve malzemeler: Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometre, Nüve NM 110 vorteks, Gerhaeld çalkalayıcı, Bosch S 2000 hassas terazi, sıcak su sanyosu BM 101 Nüve, otomatik pipet Socorex Swiss, uğur derin dondurucu, Orion pH metre 420 A, BHG Hermle Z 320 K soğutmalı santrifüj (14.000 rpm), Harris derin dondurucu (-80 °C), Chyo Jl–180 dijital terazi, Ultrasonic processor homojenizatör, Whatman süzgeç kağıdı No.42.

Analizlerde kullanılan kimyasal maddeler: Süperoksit dismutaz (SOD) ve Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim kiti; Randox-Ransel, Redükte glutatyon (GSH); Boehringer-Mannheim, Metafosforik asit; Merck, Bütillenmiş hidroksitolüen (BHT); Sigma, Tiyobarbitürik asit (TBA); Sigma, 1.1.3.3.tetraethoksipropan (MDA); Sigma, 5-5'-Ditiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB); Sigma, Triklor asetik asit (TCA); Merck, Sükroz; Sigma, Sodyum klorür (NaCl); Merck, Sodyum hidroksit (NaOH); Merck, Disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4); Merck, Sodyum dihidrojen fosfat (NaH_2PO_4); Merck, Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA); Merck, Sodyum sitrat; Merck, Sulfosalisilik asit (SSA); Merck, Askorbik asit; Merck, Glioksilik asit; Sigma, Nitrik asit; Merck, Tris (Hidroksi metil amino metan hidroklorit tris HCl); Sigma, Sodyum sülfat; Proses Kimya San. Kullanılan pestisitlerden parathion metil Alkali San. Tic. A.Ş' nin ürettiği korthion isimli ilacın etken maddesi olarak,

diazinon ise Hektaş Tic. A.Ş' nin ürettiği hezudin isimli ilacın etken maddesi olarak piyasadan satın alınmıştır.

3.2. Kimyasal Maddelerin Muamelesi

Her grup 15 balıktan oluşacak şekilde 5 grup oluşturuldu. Zirai ilaçlardan diazinon ve parathion methyl'in 0.5 ve 1 ppm'lik dozları hayvanların yaşam ortamlarına ilave edildi. Kontrol grubuna diğer şartlar aynı kalmak şartıyla herhangi bir kimyasal ilave edilmedi. Hayvanlar bu ortam sularında 24, 48 ve 72 saatlik sürelerle uygulamaya tabi tutuldu.

.

3.3. Doku Örneklerinin Alınması

Deneme sonunda 24, 48 ve 72 saat kimyasallara maruz bırakılan balıkların karaciğer solungaç ve kas dokuları alındıktan sonra fizyolojik suyla yıkanıp kurutma kağıdıyla kurutulacak ve analizlerin yapılacağı zamanına kadar derin dondurucuda (-80^{o}C) muhafaza edildi. Doku antioksidant ve malondialdehit tayini için doku ekstraksiyonları gerçekleştirildi. (Xia ve ark., 1994). Redükte glutatyon tayini, aynı gün taze dokularda gerçekleştirildi. Doku antioksidant enzimleri ve malondialdehit analizleri ise elde edilen doku homojenizatlarında daha sonra yapıldı.

3.4. Doku Ekstraksiyon İşlemlerinin Gerçekleştirilmesi

Muamele sonrası balıkların karaciğer solungaç ve kas dokuları çıkartılarak sıvı azotta dondurularak, derin dondurucuda (-87^{o}C) analiz zamanına kadar saklandı. Dokularda antioksidan enzim ve malondialdehid tayinleri için doku ekstraksiyon işlemi aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi. (Xia ve ark., 1994; Marklund, 1990). Ekstraksiyon için 0.32 mol/L sukroz, 1mmol/L EDTA. 10nm/L Tris HCl (pH 7.4) içeren tampon hazırlanarak 300 mg dokular 25 ml'lik cam beherlerde Chyo Jl-180 dijital terazide tartıldı ve üzerine 1.5 ml soğuk tampon eklendi. Dokular cam bagetle iyice ezilerek Ultrasonic Processor homojenizatörde 5 dakika homojenize edildi. Ekstrakt hemen +4 ^{o}C'de 30 dakika 9500 rpm'de BHG Hermle soğutmalı santrifüj cihazında +4 ^{o}C'de santrifüj edildi. Karaciğer ve solungaç dokusundan elde edilen berrak süpernatantlarda SOD enzim aktivite tayini Randox-Ransod enzim kiti ile gerçekleştirilerek (Randox Lab., 2008), hesaplama için aynı grafik kullanıldı. Doku protein değeri hesaplanarak U/gr doku değeri, U/mg protein değerine çevrildi.

3.5. Analizlerin Yapılması

3.5.1. Süperoksid Dismutaz (SOD) Enzim Tayini

Prensip: Süperoksid dismutazın rolü, oksidatif enerji basamağında üretilen toksik süperoksid radikalini (O_2^-), hidrojen peroksite (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dismutasyonunu hızlandırmaktır. Bu metotla aşağıdaki formülde görüldüğü gibi ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak süperoksid radikali, 2-(-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride (INT) ile kırmızı boya formuna dönüşür. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun inhibisyon derecesi ile ölçülür. (Fhole ve Otting, 1984; Xia ve ark., 1994).

$$\text{Ksantin} \xrightarrow{XO} \text{Ürik Asit} + O_2^- \qquad \text{I.N.T.} \xrightarrow{O_2^-} \text{Formazon D (Renkli bileşik)}$$

$$O_2^{-\cdot} \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

Ayıraçlar	**Konsantrasyonları**
1.Substrat karışımı	
Ksantin	0.05 mmol/l
I.N.T.	0.025 mmol/l
2.Tampon	
CAPS	50 mmol/l pH 10.2
EDTA	0.94 mmol/l
3.Ksantin oksidaz	80 U/l
4.Standart	5.70/ml

Deneyin yapılışı: SOD enzim aktivitesi Randox-Ransod enzim kiti ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 505 nm'de 37 ^oC'de ölçüldü. (Randox Lab., 2008). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80 ^oC' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. Doku örneklerinden 10 µl alınarak 2500 µl 0.01 M fosfat tamponu (pH = 7.0) ilave edilerek 251 katı sulandırılacak (F=251). İnhibisyonun % 30-60 arası olması sağlanarak küvete aşağıdaki ayıraçlar pipetlendi.

	Ayıraç Körü	Standart	Sulandırılmış Örnek

Sulandırılmış Örnek	-	-	20 µl
Standart	-	20 µl	-
Fosfat Tamponu	20 µl	-	-
Substrat karışımı	680 µl	680 µl	680 µl

İçerik karıştırılacak ve ilk absorbans A_1 30 saniye sonra okunacak ve eş zamanlı olarak zaman başlatıldı. Son absorbans A_2 3 dakika sonra okundu.

Hesaplama : Spektrofotometreden alınan optik dansite sonuçları aşağıdaki denklemde yerine konarak SOD enzimi % inhibisyonları hesaplandı.

$$100 - \frac{(\Delta A_{StdDk}.x100)}{(\Delta A_{Blank\ Dk.})} = \%\ \text{İnhibisyon} \qquad 100 - \frac{(\Delta A_{ÖrnekDk}.x100)}{(\Delta A_{Blank\ Dk.})} = \%\ \text{İnhibisyon}$$

SOD enzim aktivitesinin hesaplanması için, standart grafiği elde edildi. Grafikten elde edilen $y = 0.0016x^2 + 0.298 - 0.05x$ (y = U / mg, x = % inhibisyon, r = 0.88, $r^2 = 0.93$, $p<0.02$) formülü ile SOD aktivitesi U/mg tüm dokuda hesaplanarak, sulandırma faktörü ile çarpıldı.

3.5.2. Glutatyon -S-transferaz (GST) enzim tayini

Glutatyon -S- Transferaz her biri iki alt birimden oluşmuş (dimerik) bir enzim ailesi olup ilk defa 1961 yılında tanımlandı. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol almalarından dolayı biyokimyacılara ilaveten genetikçiler, klinisyenler, farmakolojistler ve toksikolojistlerin ilgisini çeken bir enzimdir. Başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı GST'lar selenyum-bağımsız GSH peroksidaz aktivitesi göstererek bir savunma mekanizması oluştururlar (Akkuş, 1995).

$$ROOH + 2GSH \xrightarrow{GST} GSSG + ROH + H_2O$$

Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80 ^oC' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. 3 ml kuvartz küvette, 340 nm de absorbans ölçümü gerçekleştirildi. Absorbanslar 3 dakika boyunca 15 saniyede bir kaydedildi. Absorbans aralığındaki değişimin Lineer olduğu

kısımdan dakika başına absorbans değişimi tespit edilerek aşağıdaki formülden EU hesaplandı (EU = 3 (A / 9.6)). Aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı (Habig ve ark., 1981).

	Kör	Numune	Son Konsantrasyon
Pbs	2.7 ml	2.7 ml	0.1 M
Distile Su	0.1 ml		
CDNB	0.1 ml	0.1 ml	1 mM
GSH	0.1 ml	0.1 ml	1 mM
Süpernatant		0.1 ml	

3.5.3. Glutatyon redüktaz (GR) enzim tayini

GSH'nun yüksek konsantrasyonları ve GSSG'un düşük düzeyleri hayvanların yaşamları için gereklidir. GSH, oksidazlar tarafından protein sülfitlerine tercih edilen bir substrat olup protein sülfidril oksidasyonunu önler. GSH, protein sülfidrillerinin oksidasyonunu geriye de çevirir.

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

-80 ^oC' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. Aşağıdaki tabloda yer alan miktarlar uygun şekilde karıştırılarak ölçüm yapıldı.

Ölçüm Prosedürü	Kör	Numune
Fosfat Tamponu	1500 µl	1500 µl
Homojenat Tamponu	1200 µl	-
β-NADPH 2 mM	150 µl	150 µl
GSSG 20 mM	150 µl	150 µl
Numune (Süpematant)	-	1200 µl

GR aktivitesi (EU), 340 nm'de dakika başına harcanan NADPH miktarından hesaplandı. 5 dakika boyunca ölçülen absorbansın lineer olan kısmı dakika başına hesap edildi (A= ε x b x c), (Carlberg ve Mannervik, 1985).

3.5.4. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) Enzim Tayini

Prensip: Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), formülde görülen kumen hidroksidin ile indirgenmiş glutatyonu (GSH) okside eden reaksiyonunu katalizler. Ortamda glutatyon redüktaz (GR) ve nikotin adenin dinükleotid fosfat hidrojen (NADPH) var ise yükseltgenmiş glutatyon (GSSG), NADPH'ın NADP'ye oksidasyonu ile GSH'a indirgenir (Fhole ve Günzler, 1984).

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{\text{GSH-Px}} ROH + GSSG + H_2O$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{GR}} NADP^+ + 2GSH$$

Ayıraçlar	**Konsantrasyonları**
1.Ayıraç	
Glutatyon	4.0 mmol/l
G.Reduktaz	≥ 0.5 U/l
NADPH	0.28 mmol/l
2.Tampon	
Fosfat	0.05 mol/l pH 7.2
EDTA	4.3 mmol/l
3.Kumen Hidroperoksit	0.18 mmol/l
4.Sulandırma Ayıracı	

Deneyin yapılışı: Glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi, Randox-Ransel enzim kitleri ile Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 340 nm'de ultraviyole metotla 37 ^{o}C'de ölçüldü. (Randox Lab., 2008). Analiz materyali olarak daha önce hazırlanan ve analiz zamanına kadar -80 ^{o}C' de derin dondurucuda muhafaza edilen ekstraksiyon işlemleri

gerçekleştirilmiş doku örnekleri kullanıldı. Analiz için Doku örneklerinden 10 µl alınarak 2 ml sulandırma ayıracı ile sulandırıldı. (F = 201). Küvete aşağıdaki ayıraçlar pipetlendi.

	Ayıraç Körü	**Sulandırılmış Örnek**
Sulan. Örnek	------	15 µl
Distile Su	15 µl	-------
Ayıraç	750 µl	750 µl
Kumen	30 µl	30 µl

Küvetler karıştırılarak, örnek ve körün absorbansları 1 dakika sonra okundu. Zaman başlatılmasından, 1 ve 2 dakika sonra absorbanslar tekrar okunarak dakika absorbans değişimi hesaplandı.

Hesaplama: U/g Homojenat = 8412 x $\Delta A_{340\ nm}$ / dakika. Örnek ve körün U/g tüm doku sonuçları hesaplanarak, örnek değeri (U/g), kör değerden (U/g) çıkarıldı. Örnek sonuç değeri (U/g), sulandırma faktörü (F = 201) ile çarpıldı ve sonuçlar mg'ye çevrildi. Örnek GSH-Px aktivitesi, U/mg tüm doku türünden hesaplandı.

3.5.5. Lipid Peroksidasyonu (MDA) Tayini

Prensip: Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden malondialdehid, tiyobarbiturik asit ile renkli forma girmesi ile ölçülür. (Slater, 1984; Sushil ve ark., 1989).

Ayıraçlar

1.EDTA Çözeltisi (0.1 M) : 37.224 g EDTA-Na_2H_2O 1 litre distile suda çözülür.

2.BHT Çözeltisi (%88) : 0.220 g BHT 25 ml mutlak alkolde çözdürülür.

3.NaOH Çözeltisi (0.05 N) : 2 g NaOH 1 litre distile suda çözülür.

4.TBA Çözeltisi (%1) : 1 g TBA 100 ml'ye 0.05 N NaOH ile tamamlanır.

5.TCA (% 30) : 30 g TCA 100 ml distile suda çözülür.

6.Fosfat Tamponu : 8.1 g NaCl, 2.302 g Na_2HPO_4, 0.194 g NaH_2PO_4 yaklaşık 900 ml distile suda çözülerek pH'sı 7.4 'e ayarlanır. Son hacim 1 litreye tamamlanır.

Deneyin yapılışı: Lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid seviyesi, tiyobarbitürik asit (TBA) reaktifi ile renk reaksiyonu sonucu Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede maksimum 532 ve 600 nm'de absorbanslar ölçüldü.

Bir tüpe ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş doku örneklerinden 200 µl alınarak üzerine 800 µl fosfat tamponu ve 25 µl BHT ile süspanse edildi. Sonra 500 µl % 30'luk TCA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırılarak 2 saat -20 ^{o}C'de buzda tutuldu. Sonra 15 dakika 2000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantın 1 ml'si alınarak başka tüplere aktarıldı. Bunların üzerine 75 µl EDTA-Na_2H_2O, 250 µl TBA eklendi. Tüpler vorteksle karıştırıldı ve 15 dakika sıcak su banyosunda (+90^{o}C) tutuldu. Sonra oda ısısına getirilerek 532 nm ve 600 nm'de optik dansiteleri okundu. (Slater, 1984; Sushil ve ark., 1989).

A = a x b x c

A = Absorbans a = Ekstinksiyon katsayısı

b = Işık yolu c = Konsantrasyon

1.Sulandırma : 0.2 + 0.8 + 0.025 + 0.5 = 1.525 / 0.2 = 7.625

2.Sulandırma : 1 + 0.075 + 0.25 = 1.325 / 1 = 1.325

Sonuç = 7.625 x 1.325 = 10.103 125=F

c = A/a x b = (A/mol x cm)/1.56 x 10^5 x lt) x (1/cm) x (10^9 nM/mol) x (lt/10^3x ml)

c = A x 1 x F x 10 / 1.56 = nmol / mg doku

3.5.6. Redükte Glutatyon (GSH) Tayini

Prensip: Ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiş dokunun hazırlanan homojenatında, sülfidril (SH) taşımayan tüm proteinler çöktürücü (presipitasyon) çözelti ile çöktürüldü. İndirgenmiş glutatyon (GSH), elde edilen berrak sıvıda sülfidril gruplarının DTNB (5,5'-2-ditiobis nitrobenzoik asit) ile reaksiyonu sonucu sarı rengin oluşumu ile ölçüldü. Homojenatlarda indirgenmiş glutatyon seviyesi (GSH), 24 saat içerisinde, Shimadzu UV/VIS-1201 Spektrofotometre'de 412 nm'de gerçekleştirildi. (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

Ayıraçlar: 1. Çöktürücü Çözelti: 1.67 g metafosforik asit, 0.2 g EDTA (disodyum etilen diamin tetraasetik asit), 30 g NaCl 100 ml'ye distile suda eritilerek tamamlandı. 2. Fosfat Çözeltisi: 0.3 M disodyum fosfat distile su ile hazırlandı. 3. DTNB (Ellman's Ayıracı): 40 mg DTNB (5,5'-(2-ditiobis) nitrobenzoik asit), %1 sodyum sidrat, 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

Deneyin yapılışı: Doku homojenatından 200 µl alınarak, 3 ml çöktürücü çözelti ile homojenat karıştırıldı. 5 dakika bekleme sonrası, karışım watman süzgeç kağıdından (N.42)

süzüldü. Örnek numuneden elde edilen süpernatantın 2 ml'si başka tüpe aktarıldı. Üzerine 8 ml fosfat çözeltisi, 1ml DTNB ayıracı eklendi. Blank için 2 ml çöktürücü çözeltisi (3 kısım çöktürücü çözelti + 2 kısım distile su), 8 ml fosfat çözeltisi ve 1 ml DTNB ayıracı tüpe alınarak hazırlandı. Standart için, 40 mg GSH çözeltisi taze olarak hazırlandı. Shimadzu UV/VIS-1201 spektrofotometrede 412 nm'de blanka karşı standart numunelerin optik dansiteler okundu. Sonuçlar mg/g doku olarak hesaplandı. (Beutler ve ark., 1963; Rizzi ve ark., 1988).

3.6. İstatistiksel Analizler

Ortalama ve standart sapma (X ± SD) hazır program (Minitab for Windows) kullanarak standart metotlara göre, grup ortalamaları arasındaki fark ise Mann-Whitney U testi kullanılarak ortaya konmuştur. Önem derecesi bütün testler için $p<0.05$ olarak kabul edildi (İkiz ve ark., 1996).

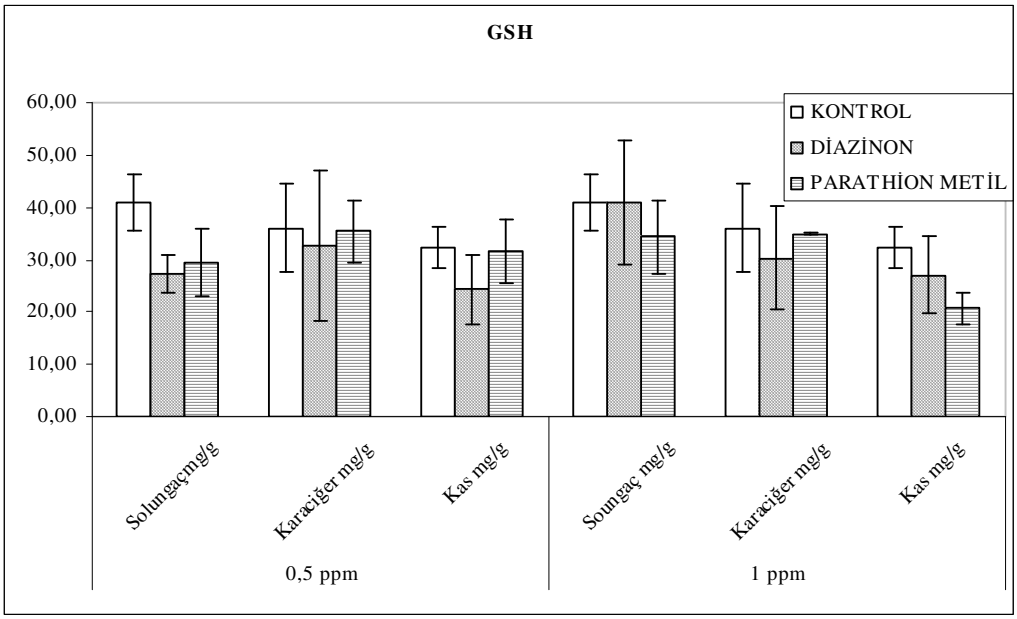
4. BULGULAR

Yetmişbeş adet gökkuşağı alabalığı (Oncorhynchus mykiss) beş deney grubuna ayrıldı. Bu gruplardan biri kontrol diğerleri ise Diazinon ve Parathion Metil'in 0,5 ppm ve 1ppm'lik dozlarına maruz kalan balıklardan oluşturuldu. 150 litrelik akvaryumlarda tutulan balıklardan sırasıyla 24, 48 ve 72 saat sonra beşer balık çıkarıldı. Uygulanan kimyasalların çeşitli dokulardaki lipid peroksidasyon düzeyi ile antioksidan enzim aktiviteleri düzeyleri üzerine farklı etkilere neden oldukları gözlendi.

Çizelge 4.1. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç (mg/g)	40.96±5.30	27.34±3.67*	29.48±6.61*
	Karaciğer (mg/g)	36.07±8.46	32.80±14.44	35.48±5.97
	Kas (mg/g)	32.29±3.83	24.27±6.57	31.66±6.20
1 ppm	Solungaç (mg/g)	40.96±5.30	41.03±11.81	34.34±7.14
	Karaciğer (mg/g)	36.07±8.46	30.31±9.79	35.02±0.32
	Kas (mg/g)	32.29±3.83	27.10±7.26	20.70±3.15

*:$p < 0.05$



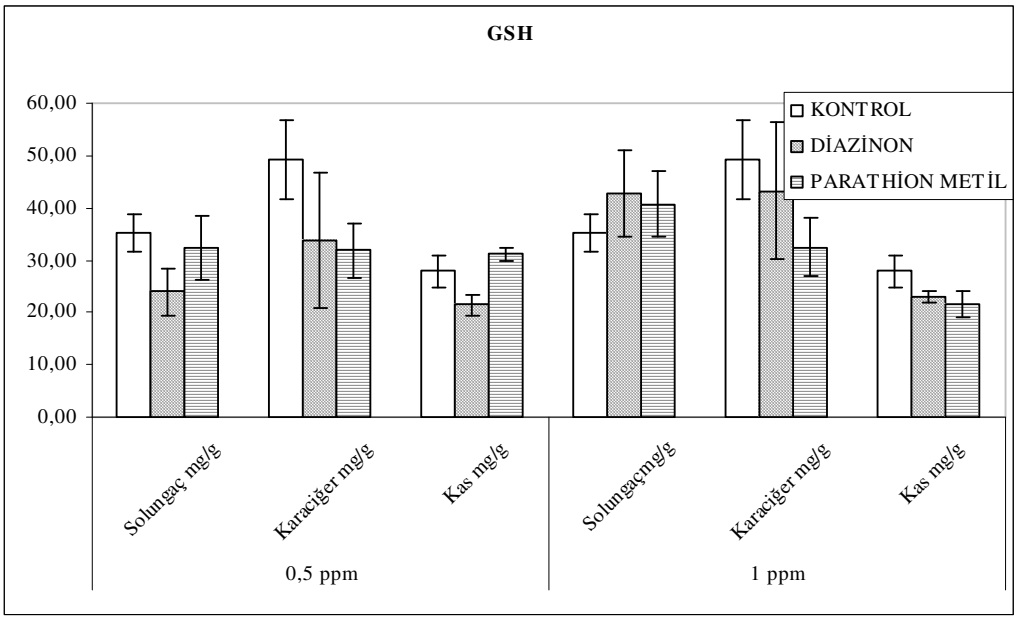
Şekil 4.1. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.1.'de sunulduğu gibi, 24 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 40.96±5.30, 27.34±3.67, 29.48±6.61, karaciğer dokusunda 36.07±8.46, 32.80±14.44, 35.48±5.97, kas dokusunda 32.29±3.83, 24.27±6.57, 31.66±6.20 olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 40.96±5.30, 41.03±11.81, 34.34±7.11, karaciğer dokusunda 36.07±8.46, 30.31±9.79, 35.02±0.32,kas dokusunda ise 32.29±3.83, 27.10±7.26, 20.70±3.15 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik diazinon ve parathion metila maruz bırakılan gruplarının her üç dokusu kontrol grubuna göre daha düşük glutatyon düzeyine sahip olduğu ve solungaç dokusunda aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlendi.

Çizelge 4.2. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç(mg/g)	35.20±3.58	24.01±4.45*	32.47±6.12
	Karaciğer(mg/g)	49.21±7.39	33.65±12.96*	31.81±5.08*
	Kas (mg/g)	27.89±3.01	21.41±1.95*	31.19±1.28*
1 ppm	Solungaç (mg/g)	35.20±3.58	42.79±8.39	40.70±6.28
	Karaciğer (mg/g)	49.21±7.39	43.77±13.21	32.50±5.60*
	Kas (mg/g)	27.89±3.01	23.16±1.07	21.63±2.51*

*:p < 0.05



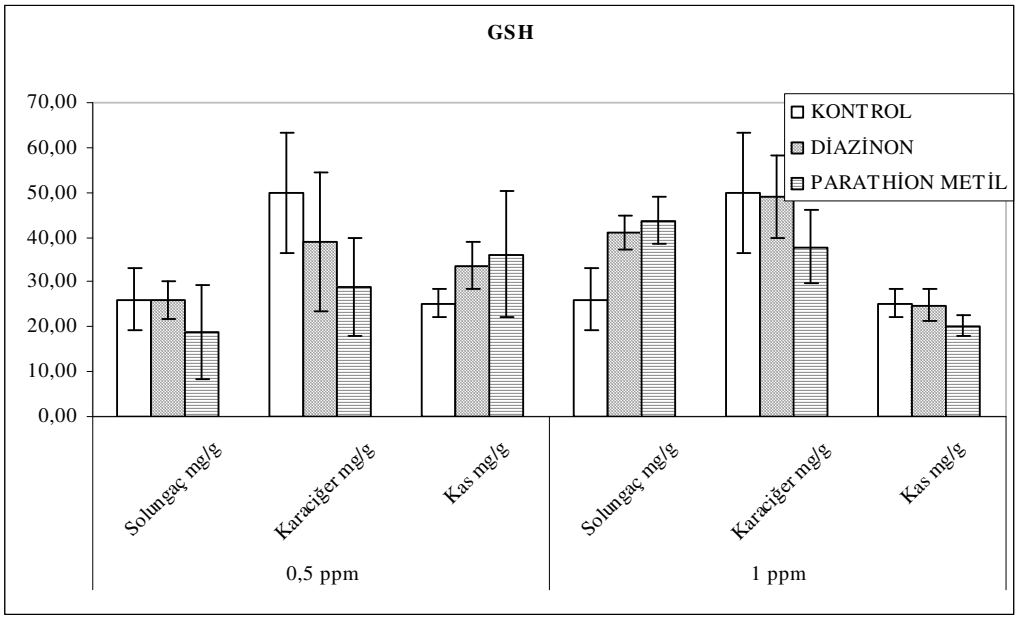
Şekil 4.2. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.2'de sunulduğu gibi, 0,5 ppm'lik dozda 48 saat sonunda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 35.20±3.58, 24.01±4.45, 32.47±6.12, karaciğer dokusunda 49.21±7.39, 33.65±12.96, 31.81±5.08, kas dokusunda 27.89±3.01, 21.41±1.95, 31.19±1.28 olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 35.20±3.58, 42.79±8.39, 40.70±6.28 karaciğer dokusunda 49.21±7.39, 43.77±13.21, 32.50±5.60,kas dokusunda ise 27.89±3.01, 23.16±1.07, 21.63±2.51 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun her üç dokusunda kontrol grubuna göre daha düşük glutatyon düzeyine sahip olmaları istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Parathion metil grubunda ise kontrol grubuna göre karaciğer dokusundaki azalış ve kas dokusundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda parathion metil grubunun karaciğer ve kas dokularının kontrol grubuna göre daha düşük glutatyon düzeyine sahip olmaları istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.3. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeyleri

		GSH		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç(mg/g)	26.08±6.96	26.03±4.28	18.82±10.42
	Karaciğer (mg/g)	49.99±13.38	39.01±15.59	28.91±10.83
	Kas (mg/g)	25.27±3.11	33.73±5.09*	36.24±13.98
1 ppm	Solungaç (mg/g)	26.08±6.96	41.18±3.81*	43.75±5.29 *
	Karaciğer (mg/g)	49.99±13.38	49.12±9.33	37.76±8.17
	Kas (mg/g)	25.27±3.11	24.89±3.41	20.29±2.33*

*:$p < 0.05$



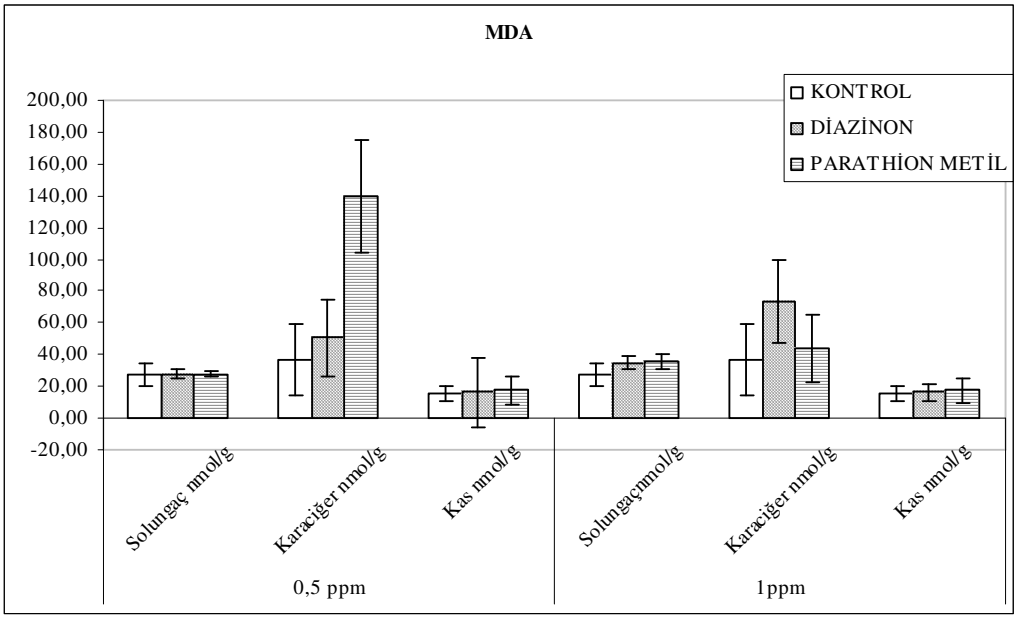
Şekil 4.3. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GSH düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.3'de sunulduğu gibi, 72 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 26.08±6.96, 26.03±4.28, 18.82±10.42,karaciğer dokusunda 49.99±13.38, 39.01±15.59, 28.91±10.83, kas dokusunda 25.27±3.11, 33.73±5.09, 36.24±13.98 olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon (GSH mg/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 26.08±6.96, 41.18±3.81, 43.75±5.29 karaciğer dokusunda 49.99±13.38, 49.12±9.33, 37.76±8.17,kas dokusunda ise 25.27±3.11, 24.89±3.41, 20.29±2.33 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun kas dokusunda kontrol grubuna göre daha yüksek glutatyon düzeyi bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda glutatyon düzeyinde diazinon grubunun solungaç dokusunda kontrol grubuna göre artma ile parathion metil grubunun solungaç dokusunda artış ve kas dokusundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.4. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç (nmol/g)	27.00±7.08	27.78±2.98	27.84±2.00
	Karaciğer (nmol/g)	36.52±22.25	50.64±23.97	140.01±35.39*
	Kas (nmol/g)	15.15±4.54	28.10±22.04	27.97±8.80*
1 ppm	Solungaç (nmol/g)	27.00±7.08	34.97±4.70	35.62±2.46
	Karaciğer (nmol/g)	36.52±22.25	73.44±26.49	44.29±21.44
	Kas (nmol/g)	15.15±4.54	16.19±4.86	17.61±7.84

*:p < 0.05



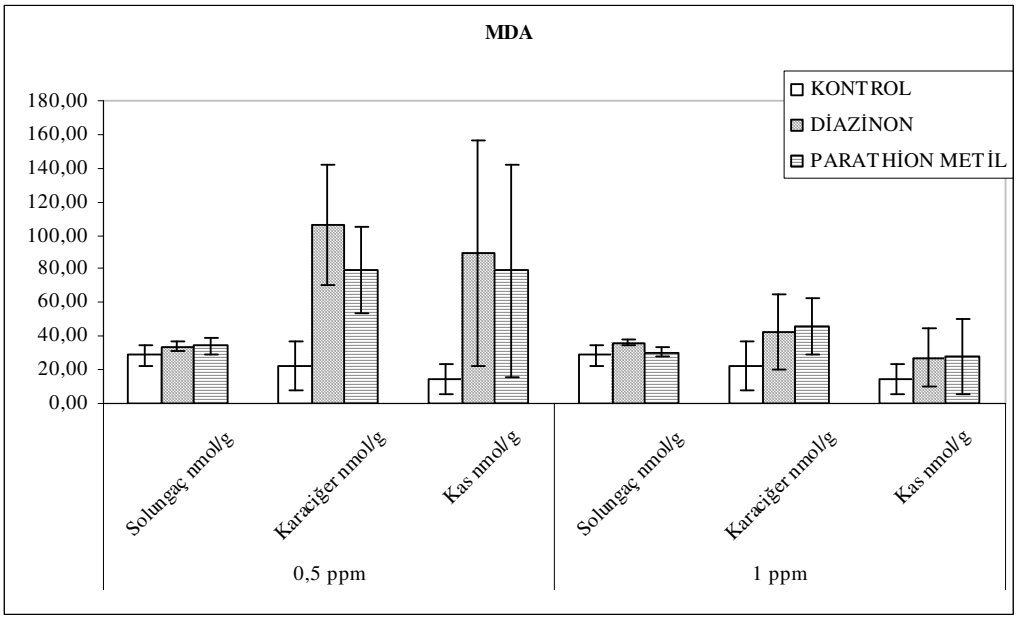
Şekil 4.4. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.4'te sunulduğu gibi 24 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları malondialdehit (MDA nmol/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 27.00±7.08, 27.78±2.98, 27.84±2.00, karaciğer dokusunda 36.52±22.25, 50.64±23.97, 140.01±35.39, kas dokusunda 15.15±4.54, 28.10±22.04, 27.97±8.80 olarak bulundu.1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları malondialdehit (MDA nmol/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 27.00±7.08, 34.97±4.70, 35.62±2.46 karaciğer dokusunda 36.52±22.25, 73.44±26.49, 44.29±21.44, kas dokusunda ise 15.15±4.54, 16.19±4.86, 17.61±7.84 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda parathion metil grubunun kas dokusunda kontrol grubuna göre malondialdehit düzeyindeki artma ile yine parathion metil grubunun karaciğer dokusundaki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.5. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç (nmol/g)	28.56±6.30	33.67±2.89	34.13±5.50
	Karaciğer (nmol/g)	22.14±14.54	106.08±35.51*	79.78±25.83*
	Kas (nmol/g)	14.24±9.15	89.37±66.75*	78.88±63.39
1 ppm	Solungaç (nmol/g)	28.56±6.30	36.00±1.83	30.50±2.66
	Karaciğer (nmol/g)	22.14±14.54	42.61±21.97	45.98±16.59
	Kas (nmol/g)	14.24±9.15	27.20±17.24	28.10±22.02

*:$p < 0.05$



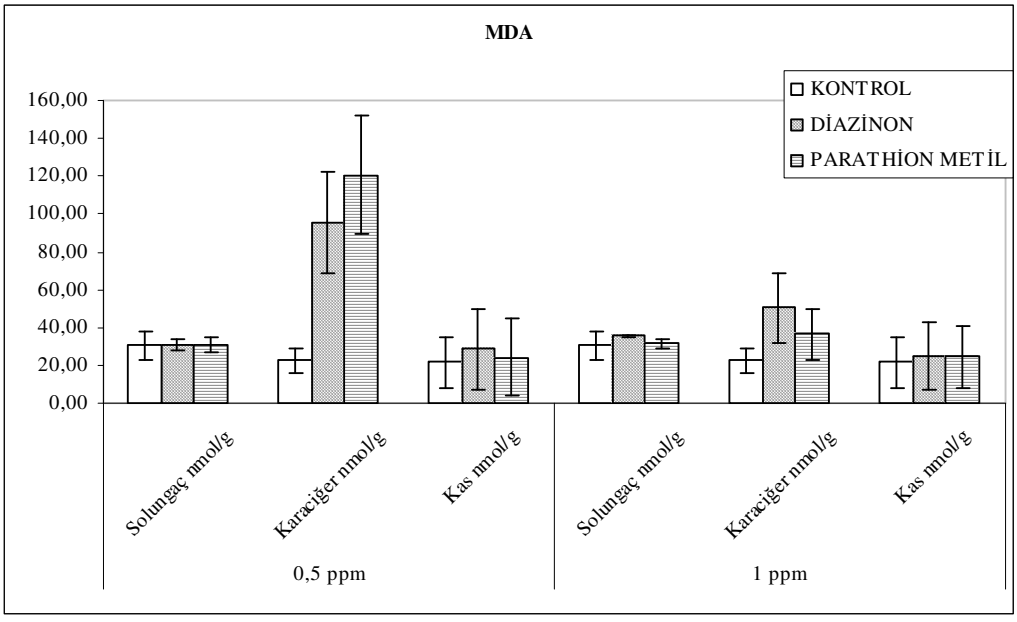
Şekil 4.5. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.5'te sunulduğu gibi 48 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları malondialdehit (MDA nmol/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 28.56±6.30, 33.67±2.89, 34.13±5.50, karaciğer dokusunda 22.14±14.54, 106.08±35.51, 79.78±25.83, kas dokusunda 14.24±9.15, 89.37±66.75, 78.88±63.39 olarak bulundu.1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları malondialdehit (MDA nmol/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 28.56±6.30, 36.00±1.83, 30.50±2.66, karaciğer dokusunda 22.14±14.54, 42.61±21.97, 45.98±16.59, kas dokusunda ise 14.24±9.15, 27.20±17.24, 28.10±22.02 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun karaciğer ve kas dokularında kontrol grubuna göre malondialdehit düzeyindeki artma ile parathion metil grubunun karaciğer dokusundaki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.6. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeyleri

		MDA		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç (nmol/g)	30.70±7.35	30.76±0.94	31.15±3.38
	Karaciğer (nmol/g)	22.66±6.34	95.59±26.68*	120.71±31.47*
	Kas (nmol/g)	21.37±13.68	28.36±20.95	23.96±20.39
1 ppm	Solungaç (nmol/g)	30.70±7.35	35.49±0.67	31.34±2.63
	Karaciğer (nmol/g)	22.66±6.34	50.51±18.34	36.37±13.58
	Kas (nmol/g)	21.37±13.68	24.99±17.69	24.35±16.82

*:$p < 0.05$



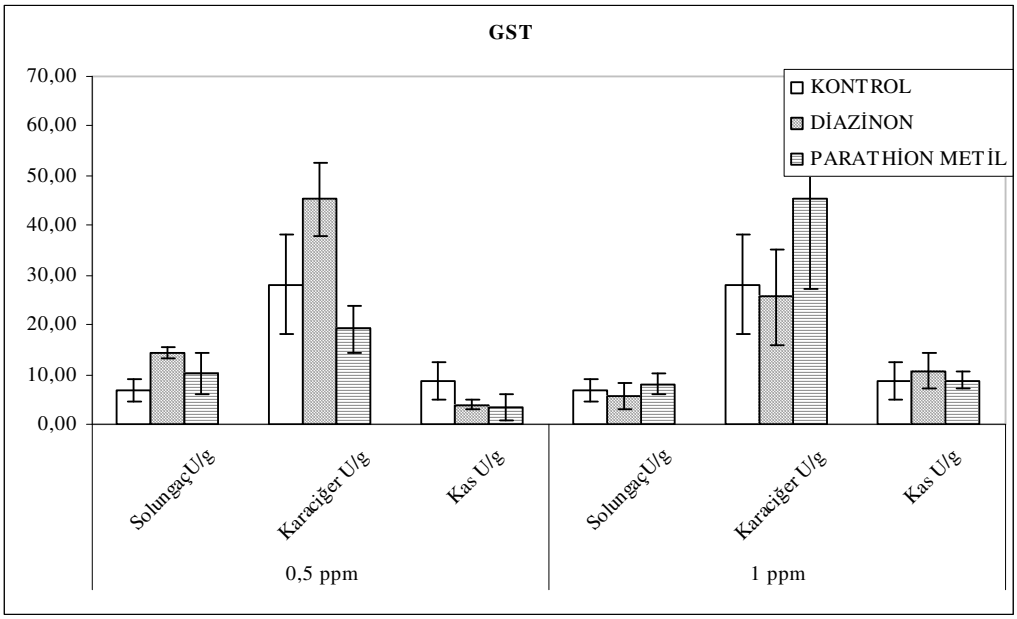
Şekil 4.6. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında MDA düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.6'da sunulduğu gibi 72 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları malondialdehit (MDA nmol/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 30.70±7.35, 30.76±0.94, 31.15±3.38, karaciğer dokusunda 22.66±6.34, 95.59±26.68, 120.71±31.47, kas dokusunda 21.37±13.68, 28.36±20.95, 23.96±20.39, olarak bulundu.1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları malondialdehit (MDA nmol/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 30.70±7.35, 35.49±0.67, 31.34±2.63, karaciğer dokusunda 22.66±6.34, 50.51±18.34, 36.37±13.58, kas dokusunda ise 21.37±13.68, 24.99±17.69, 24.35±16.82 olarak bulundu.0.5 ppm'lik dozda diazinon ve parathion metil gruplarının karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre malondialdehit düzeyindeki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.1 ppm'lik dozda ise karaciğer dokusunda kontrol grubuna göre malondialdehit düzeyindeki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.7. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri

		GST		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	6.84±2.16	14.49±1.08*	10.30±4.17
	Karaciğer (U/g)	28.14±9.99	45.28±7.41*	19.12±4.60
	Kas (U/g)	8.72±3.88	3.80±0.96*	3.34±2.73*
1 ppm	Solungaç (U/g)	6.84±2.16	5.52±2.66	8.13±1.94
	Karaciğer (U/g)	28.14±9.99	25.57±9.55	45.57±18.28
	Kas (U/g)	8.72±3.88	10.76±3.47	8.78±1.63

*:$p < 0.05$



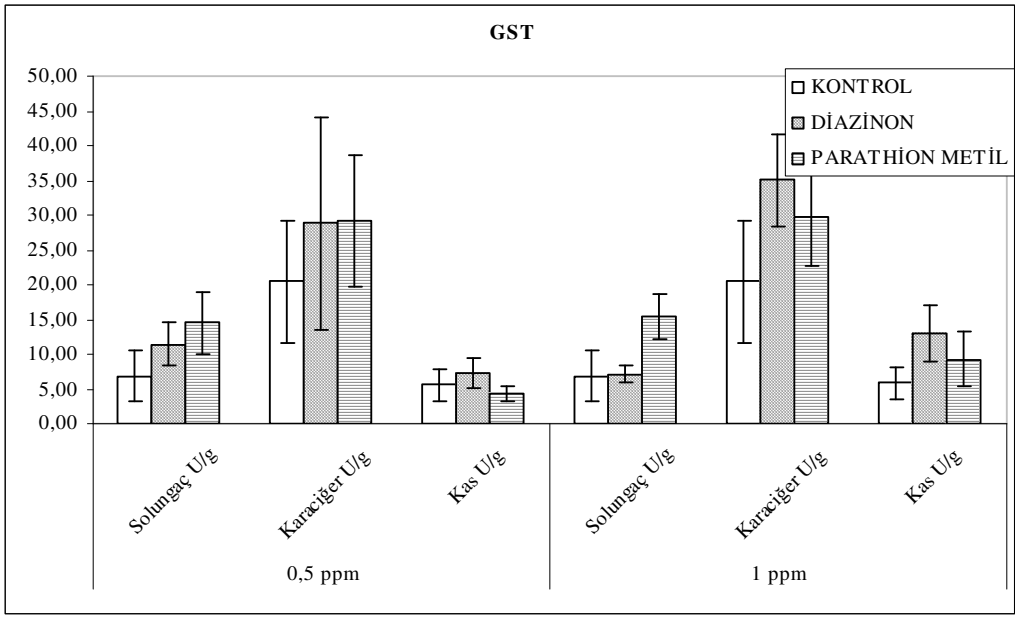
Şekil 4.7. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.7'de sunulduğu gibi 24 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon -S- transferaz enzim aktivitesi (GST U/g),için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 6.84±2.16, 14.49±1.08, 10.30±4.17, karaciğer dokusunda 28.14±9.99, 45.28±7.41, 19.12±4.60, kas dokusunda 8.72±3.88, 3.80±0.96, 3.34±2.73, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon -S-transferaz enzim aktivitesi (GST U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 6.84±2.16, 5.52±2.66, 8.13±1.94 karaciğer dokusunda 28.14±9.99, 25.57±9.55, 45.57±18.28, kas dokusunda ise 8.72±3.88, 10.76±3.47, 8.78±1.63 olarak bulundu.0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç ve karaciğer dokularında kontrol grubuna göre glutatyon -S- transferaz enzim düzeyindeki artma ve kas dolusundaki azalma ile parathion metil grubunun kas dokusunda azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.8.48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri

		GST		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	6.86±3.74	11.46±3.13	14.54±4.45*
	Karaciğer (U/g)	20.47±8.75	28.88±15.25	29.22±9.43
	Kas (U/g)	5.88±2.24	7.32±2.09	4.38±1.03
1 ppm	Solungaç (U/g)	6.86±3.74	7.14±1.28	15.42±3.20*
	Karaciğer (U/g)	20.47±8.75	35.03±6.65*	29.61±6.95
	Kas (U/g)	5.88±2.24	12.99±4.03*	9.29±3.87

*:p < 0.05



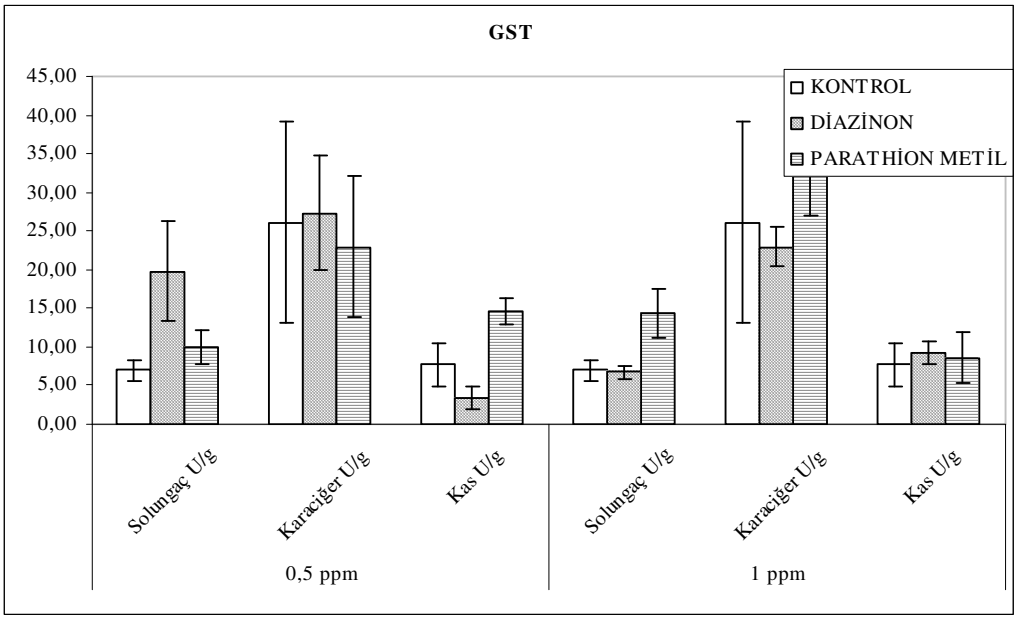
Şekil 4.8. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.8'de sunulduğu gibi 48 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon -S- transferaz enzim aktivitesi (GST U/g),için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 6.86±3.74, 11.46±3.13, 14.54±4.45, karaciğer dokusunda 20.47±8.75, 28.88±15.25, 29.22±9.43, kas dokusunda 5.88±2.24, 7.32±2.09, 4.38±1.03, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon -S-transferaz enzim aktivitesi (GST U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 6.86±3.74, 7.14±1.28, 15.42±3.20 karaciğer dokusunda 20.47±8.75, 35.03±6.65, 29.61±6.95, kas dokusunda ise 5.88±2.24, 12.99±4.03, 9.29±3.87 olarak bulundu.0.5 ppm'lik dozda parathion metil grubunun solungaç dokusunda kontrol grubuna göre glutatyon -S- transferaz enzim düzeyindeki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda ise diazinon grubunun karaciğer ve kas dokularında artma ile yine parathion metil grubunun solungaç dokusunda artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.9.72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeyleri

		GST		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	6.99±1.37	19.77±6.51*	9.94±2.14
	Karaciğer (U/g)	26.14±12.99	27.33±7.50	22.96±9.14
	Kas (U/g)	7.75±2.83	3.39±1.38*	14.62±1.77*
1 ppm	Solungaç (U/g)	6.99±1.37	6.76±0.83	14.31±3.16*
	Karaciğer (U/g)	26.14±12.99	22.96±2.52	33.19±6.28
	Kas (U/g)	7.75±2.83	9.22±1.49	8.62±3.22

*:$p < 0.05$



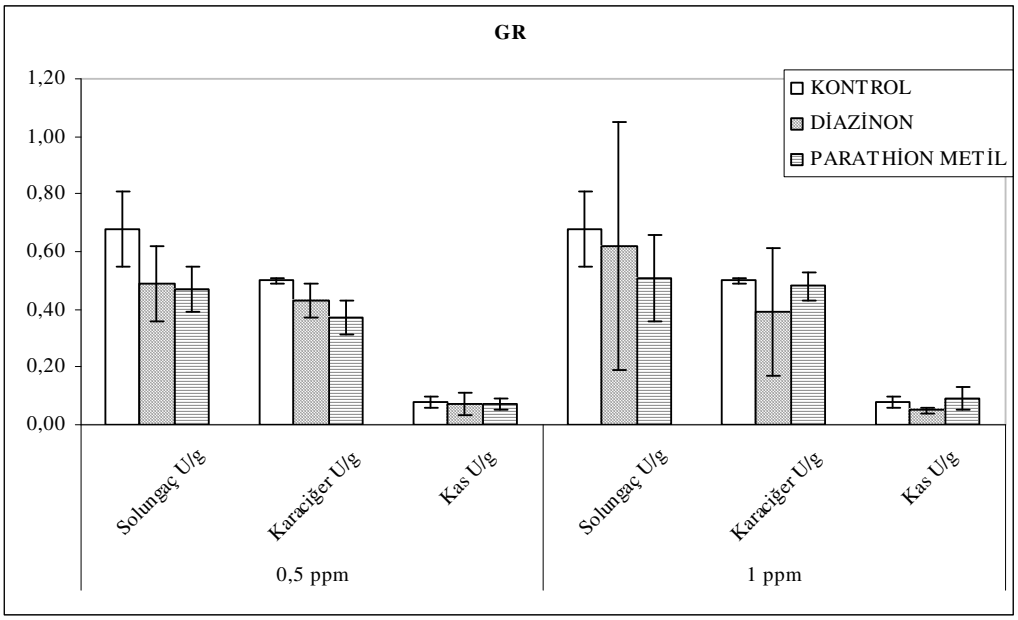
Şekil 4.9 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GST enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.9'da sunulduğu gibi 72 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon -S- transferaz enzim aktivitesi (GST U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 6.99±1.37, 19.77±6.51, 9.94±2.14, karaciğer dokusunda 26.14±12.99, 27.33±7.50, 22.96±9.14, kas dokusunda 7.75±2.83, 3.39±1.38, 14.62±1.77, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon -S-transferaz enzim aktivitesi (GST U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 6.99±1.37, 6.76±0.83, 14.31±3.16 karaciğer dokusunda 26.14±12.99, 22.96±2.52, 33.19±6.28,kas dokusunda ise 7.75±2.83, 9.22±1.49, 8.62±3.22 olarak bulundu.0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç dokusunda kontrol grubuna göre glutatyon -S- transferaz enzim düzeyindeki artma ve kas dokusundaki azalma ile parathion metil grubunun kas dokusunda artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda ise parathion metil grubunun solungaç dokusunda artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.10.24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeyleri

		GR		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	0.68±0.13	0.49±0.13*	0.47±0.08*
	Karaciğer (U/g)	0.50±0.01	0.43±0.06	0.37±0.06
	Kas (U/g)	0.08±0.02	0.07±0.04	0.07±0.02
1 ppm	Solungaç (U/g)	0.68±0.13	0.62±0.43	0.51±0.15
	Karaciğer (U/g)	0.50±0.01	0.39±0.22	0.48±0.05
	Kas (U/g)	0.08±0.02	0.05±0.01	0.09±0.04

*:p < 0.05



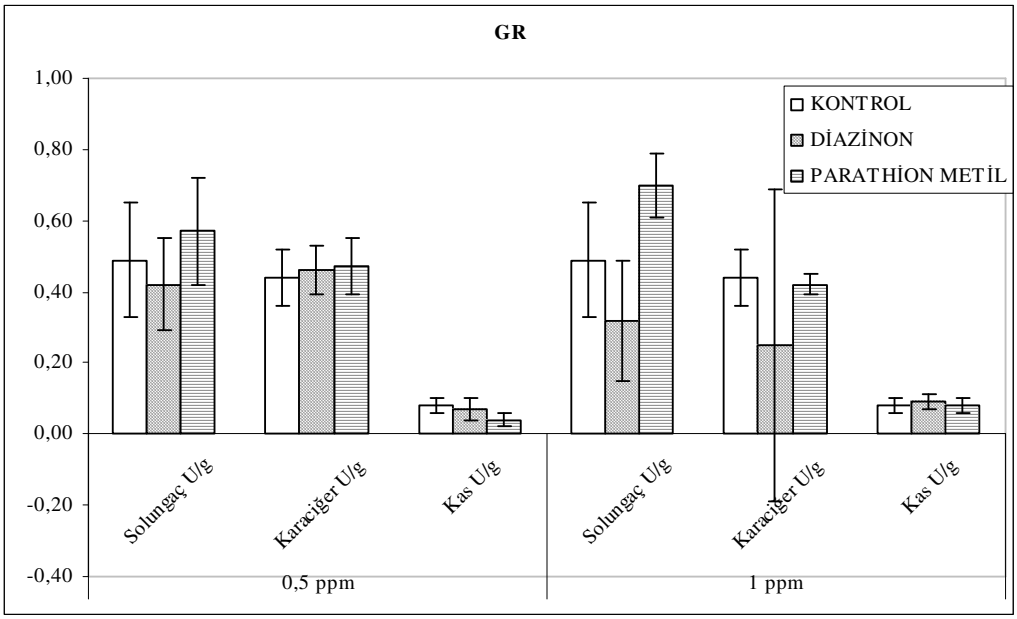
Şekil 4.10. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.10'da sunulduğu gibi 24 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon redüktaz enzim aktivitesi (GR U/g),için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 0.68±0.13, 0.49±0.13, 0.47±0.08, karaciğer dokusunda 0.50±0.01, 0.43±0.06, 0.37±0.06, kas dokusunda 0.08±0.02, 0.07±0.04, 0.07±0.02, olarak bulundu.1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon redüktaz enzim aktivitesi (GR U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 0.68±0.13, 0.62±0.43, 0.51±0.15 karaciğer dokusunda 0.50±0.01, 0.39±0.22, 0.48±0.05, kas dokusunda ise 0.08±0.02, 0.05±0.01, 0.09±0.04 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon ve parathion metil gruplarının solungaç dokularında kontrol grubuna göre glutatyon redüktaz enzim düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.11.48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeyleri

		GR		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	0.49±0.16	0.42±0.13	0.57±0.15
	Karaciğer (U/g)	0.44±0.08	0.46±0.07	0.47±0.08
	Kas (U/g)	0.08±0.02	0.07±0.03	0.04±0.02
1 ppm	Solungaç (U/g)	0.49±0.16	0.32±0.17	0.70±0.09
	Karaciğer (U/g)	0.44±0.08	0.25±0.44	0.42±0.03
	Kas (U/g)	0.08±0.02	0.09±0.02	0.08±0.02

*:$p < 0.05$



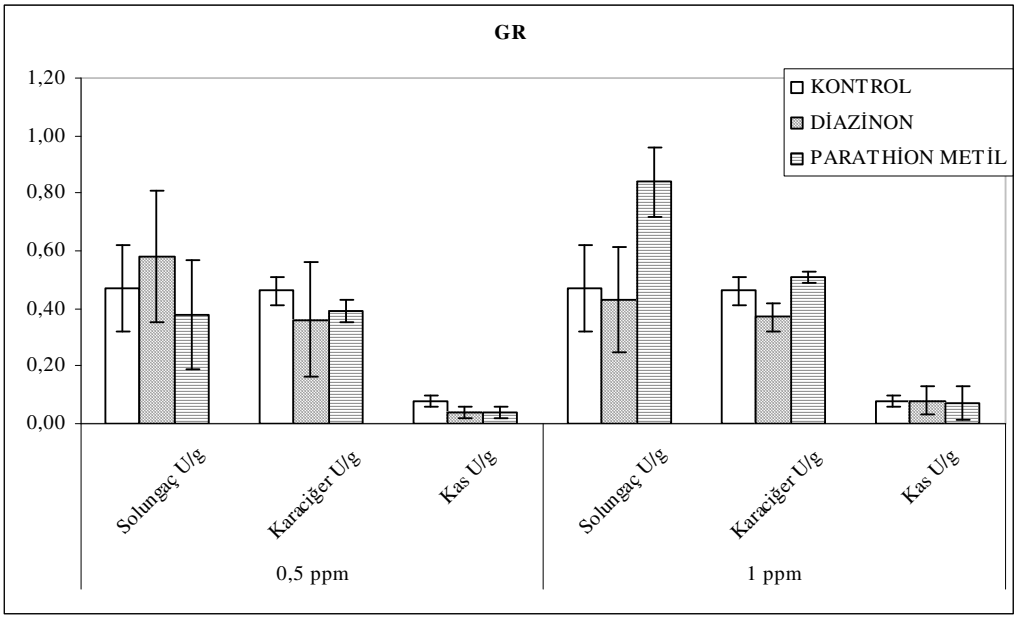
Şekil 4.11. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.11'de sunulduğu gibi 48 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon redüktaz enzim aktivitesi (GR U/g),için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 0.49±0.16, 0.42±0.13, 0.57±0.15, karaciğer dokusunda 0.44±0.08, 0.46±0.07, 0.47±0.08, kas dokusunda 0.08±0.02, 0.07±0.03, 0.04±0.02, olarak bulundu.1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon redüktaz enzim aktivitesi (GR U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 0.49±0.16, 0.32±0.17, 0.70±0.09 karaciğer dokusunda 0.44±0.08, 0.25±0.44, 0.42±0.03, kas dokusunda ise 0.08±0.02, 0.09±0.02, 0.08±0.02 olarak bulundu.

Çizelge 4.12.72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeyleri

		GR		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	0.47±0.15	0.58±0.23	0.38±0.19
	Karaciğer (U/g)	0.46±0.05	0.36±0.20	0.39±0.04
	Kas (U/g)	0.08±0.02	0.04±0.02*	0.04±0.02*
1 ppm	Solungaç (U/g)	0.47±0.15	0.43±0.18	0.84±0.12 *
	Karaciğer (U/g)	0.46±0.05	0.37±0.05*	0.51±0.02
	Kas (U/g)	0.08±0.02	0.08±0.05	0.07±0.05

*:p < 0.05



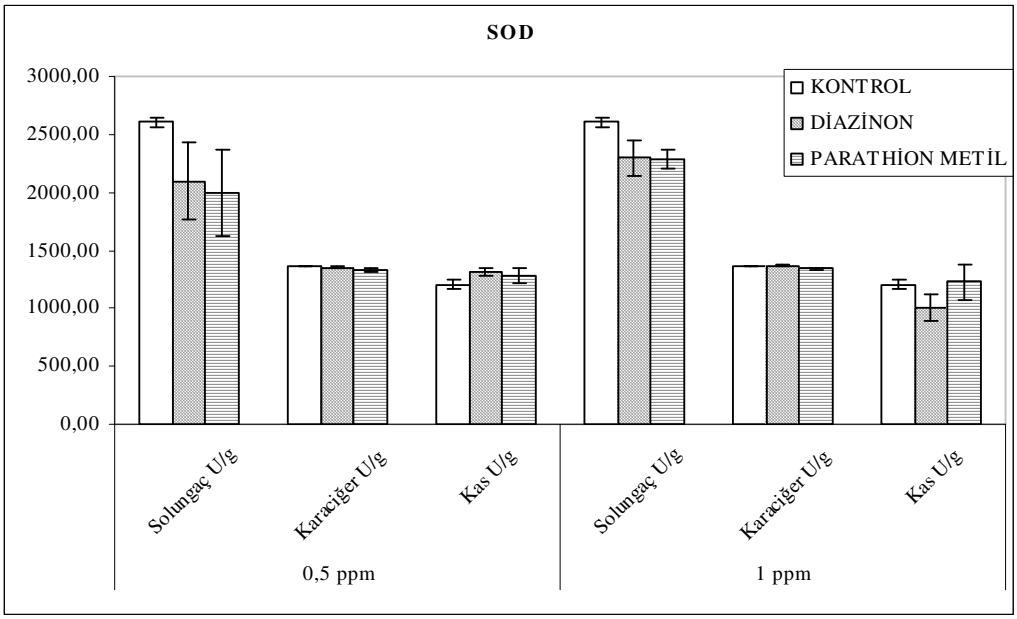
Şekil 4.12. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GR enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.12'de sunulduğu gibi 72 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon redüktaz enzim aktivitesi (GR U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 0.47±0.15, 0.58±0.73, 0.38±0.19, karaciğer dokusunda 0.46±0.05, 0.36±0.20, 0.39±0.04, kas dokusunda 0.08±0.02, 0.04±0.08, 0.04±0.02, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon redüktaz enzim aktivitesi (GR U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 0.47±0.15, 0.43±0.18, 0.84±0.12 karaciğer dokusunda 0.46±0.05, 0.37±0.05, 0.51±0.02, kas dokusunda ise 0.08±0.02, 0.08±0.05, 0.07±0.05 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon ve parathion metil gruplarının kas dokularında kontrol grubuna göre glutatyon redüktaz enzim düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda diazinon grubunun karaciğer dokusundaki azalma ile parathion metil grubunun solungaç dokusundaki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.13. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç(U/g)	2608.36±40.31	2099.55±336.9*	1988.71±372.9*
	Karaciğer(U/g)	1362.14±5.57	1348.35±8.56*	1331.91±21.65*
	Kas (U/g)	1208.09±35.54	1315.26±38.07*	1278,38.±61.67
1 ppm	Solungaç(U/g)	2608.36±40.31	2295.96±150.6*	2281.70±79.47*
	Karaciğer(U/g)	1362.14±5.57	1365.04±10.44	1340.25±8.71*
	Kas (U/g)	1208.09±35.54	1005.14±115.2*	1224.96±147.4

*:$p < 0.05$



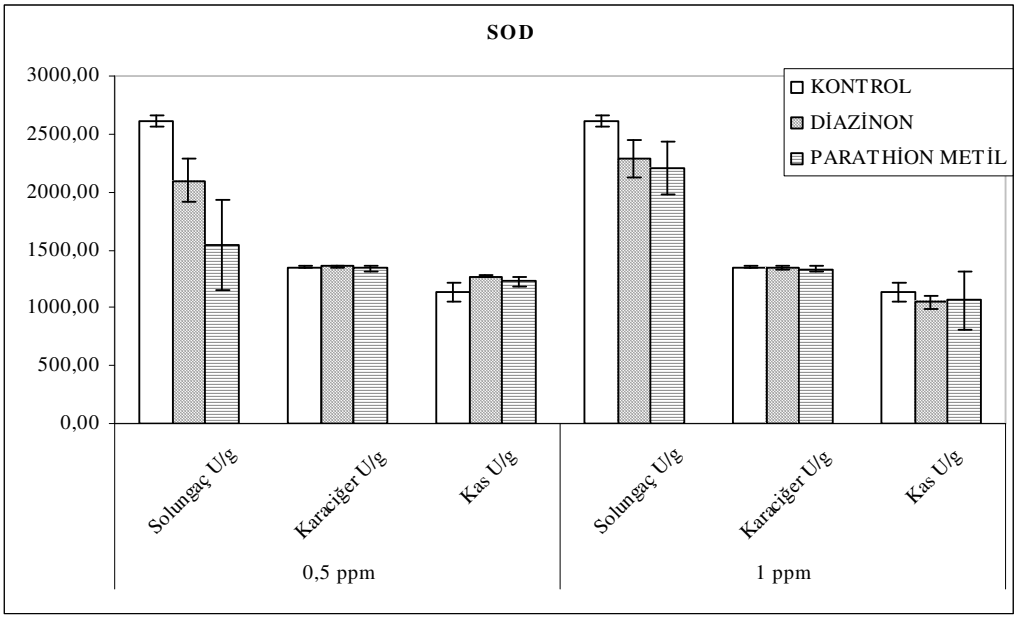
Şekil 4.13. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.13'de sunulduğu gibi 24 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 2608.36±40.31, 2099.55±336.9, 1988.71±372.9, karaciğer dokusunda 1362.14±5.57, 1348.35±8.56, 1331.91±21.65, kas dokusunda 1208.09±35.54, 1315.26±38.07, 1278.38±61.67, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 2608.36±40.31, 2295.96±150.6, 2281.70±79.47, karaciğer dokusunda 1362.14±5.57, 1365.04±10.44, 1340.25±8.71, kas dokusunda ise 1208.09±35.54, 1005.14±115.2, 1224.96±147.4, olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç ve karaciğer dokularında kontrol grubuna göre süperoksit dismutaz enzim düzeyindeki azalma ile kas dokusundaki artma ve parathion metil grubunun solungaç ve karaciğer dokularındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.1 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç ve kas dokusu ile parathion metil grubunun solungaç ve karaciğer dokularındaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.14. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç (U/g)	2614.51±44.34	2099.94±193.1*	1532.65±389.2*
	Karaciğer (U/g)	1349.17±7.72	1357.60±12.17	1344.52±25.26
	Kas (U/g)	1133.37±77.97	1271.53±14.00*	1229.60±41.15
1 ppm	Solungaç (U/g)	2614.51±44.34	2283.70±165.6*	2205.33±229.8*
	Karaciğer (U/g)	1349.17±7.72	1349.47±19.16	1337.79±27.95
	Kas (U/g)	1133.37±77.97	1050.35±59.00	1062.46±256.3

*:p < 0.05



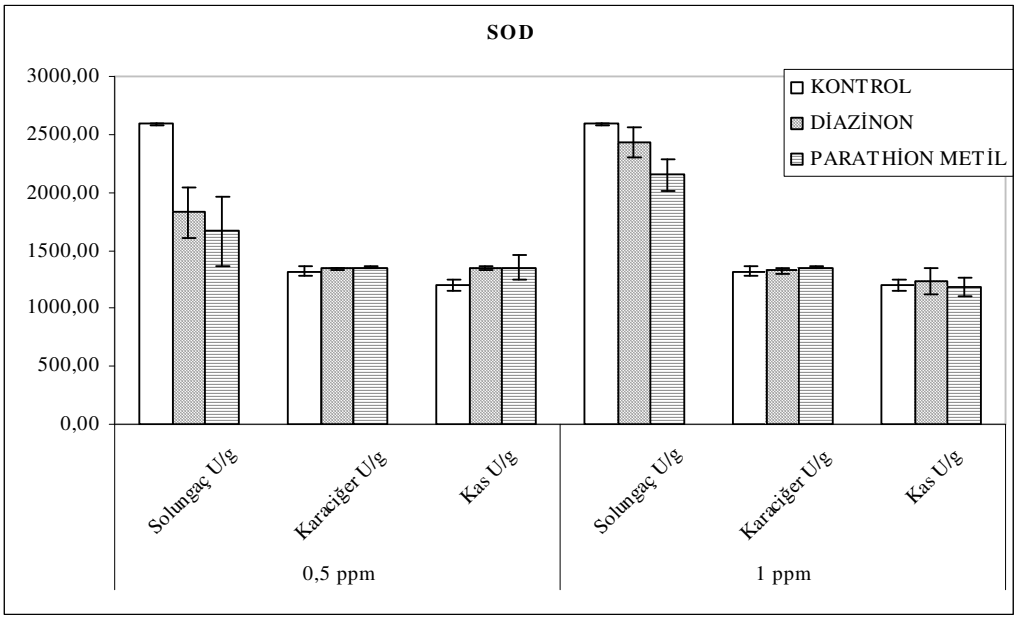
Şekil 4.14. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.14'te sunulduğu gibi 48 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 2614.51±44.34, 2099.94±193.1, 1532.65±389.2, karaciğer dokusunda 1349.17±7.72, 1357.60±12.47, 1344.52±25.26, kas dokusunda 1133.37±77.97, 1271.53±14.00, 1229.60±41.15, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 2614.51±44.34, 2283.70±165.6, 2205.33±229.8, karaciğer dokusunda 1349.17±7.72, 1349.47±19.16, 1337.79±27.95, kas dokusunda ise 1133.37±77.97, 1050.35±59.00, 1062.46±256.3, olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç dokusunda kontrol grubuna göre süperoksit dismutaz enzim düzeyindeki azalma ile kas dokusundaki artma ve parathion metil grubunun solungaç dokusundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda diazinon ve parathion metil gruplarının solungaç dokusundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.15. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeyleri

		SOD		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0,5 ppm	Solungaç(U/g)	2586.78±15.92	1824.89±225.2*	1665.25±295.6*
	Karaciğer(U/g)	1316.32±38.80	1340.16±10.96	1351.90±6.43
	Kas (U/g)	1196.12±51.71	1281.99±15.41*	1197.93±101.1
1 ppm	Solungaç(U/g)	2586.78±15.92	2435.88±126.2	2149.61±134.4*
	Karaciğer(U/g)	1316.32±38.80	1326.36±27.59	1347.46±8.68
	Kas (U/g)	1196.±51.71	1232.20±110.5	1179.86±78.59

*:$p < 0.05$



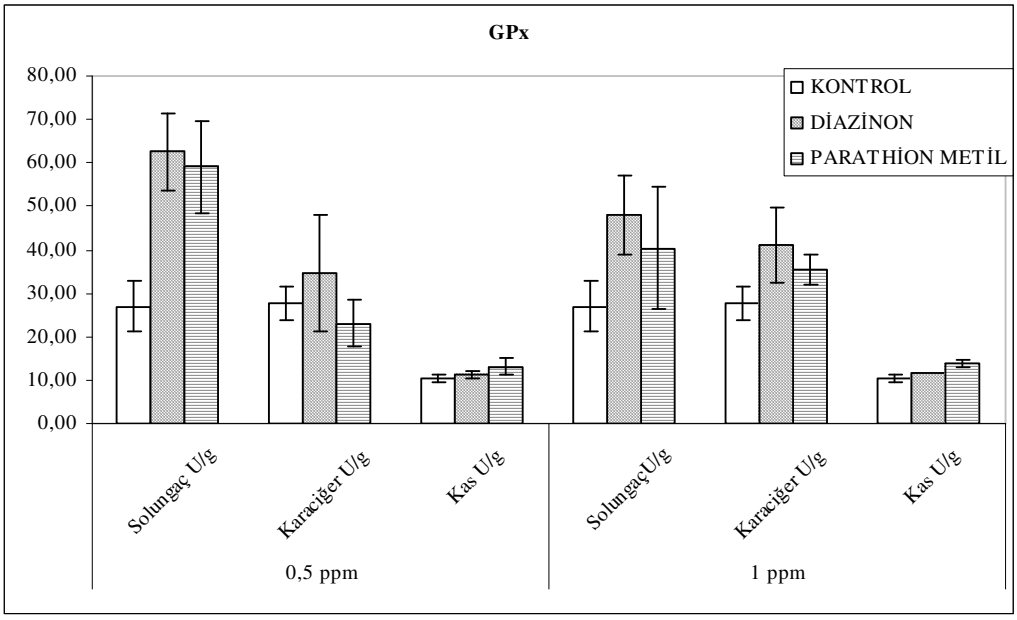
Şekil 4.15. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında SOD enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.15'te sunulduğu gibi 72 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 2586.78±15.92, 1824.89±225.2, 1665.25±295.6, karaciğer dokusunda 1316.32±38.80, 1340.16±10.96, 1351.90±6.43, kas dokusunda 1196.12±51.71, 1281.99±15.41, 1197.93±101.1, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (SOD U/g) için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 2586.78±15.92, 2435.88±126.2, 2149.61±134.4, karaciğer dokusunda 1316.32±38.80, 1326.36±27.59, 1347.46±8.68, kas dokusunda ise 1196.12±51.71, 1232.20±110.5, 1179.86±78.59, olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç dokusunda kontrol grubuna göre süperoksit dismutaz enzim düzeyindeki azalma ile kas dokusunda artma ve parathion metil grubunun solungaç dokusundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda parathion metil grubunun solungaç dokusundaki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.16. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	27.00±5.94	62.49±8.98*	59.08±10.53*
	Karaciğer (U/g)	27.76±4.00	34.58±13.53	23.07±5.35
	Kas (U/g)	10.47±0.91	11.27±0.82	13.16±1.98*
1 ppm	Solungaç (U/g)	27.00±5.94	47.90±9.14*	40.41±13.91
	Karaciğer (U/g)	27.76±4.00	41.00±8.53*	35.41±3.36*
	Kas (U/g)	10.47±0.91	11.70±0.83	13.81±0.75*

*:p < 0.05



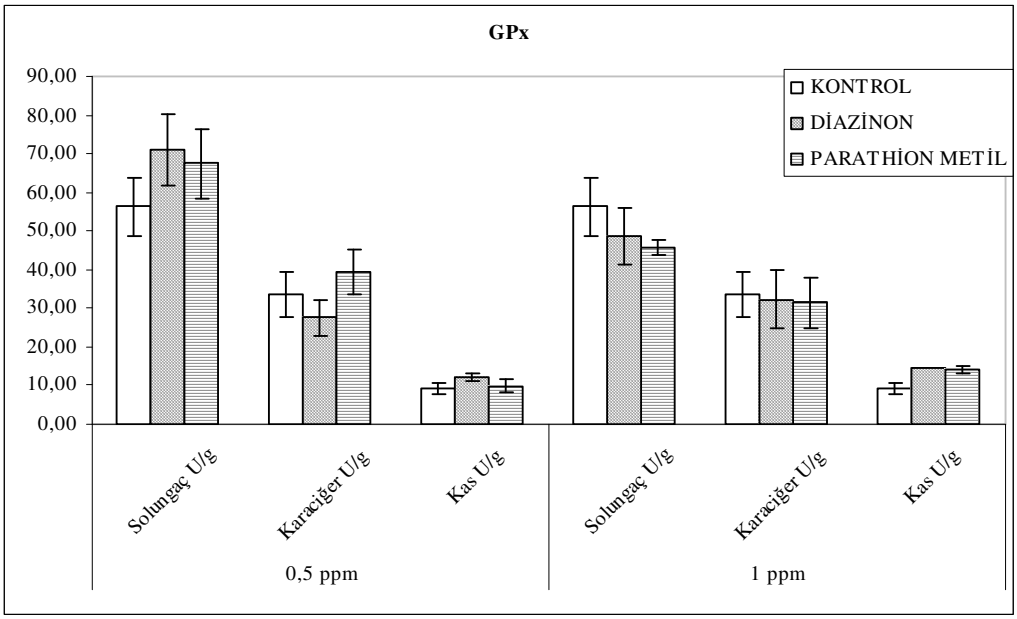
Şekil 4.16. 24 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.16'da sunulduğu gibi 24 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 27.00±5.94, 62.49±8.98, 59.08±10.53, karaciğer dokusunda 27.76±4.00, 34.58±13.53, 23.07±5.35, kas dokusunda 10.47±0.91, 11.27±0.82, 13.16±1.98, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 27.00±5.94, 47.90±9.14, 40.41±13.91 karaciğer dokusunda 27.76±4.00, 41.00±8.53, 57.84±53.27, kas dokusunda ise 10.47±0.91, 11.70±0.83, 13.81±0.75 olarak bulundu. 0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç dokusu ile parathion metil grubunun solungaç ve kas dokularında kontrol grubuna göre glutatyon peroksidaz enzim düzeyindeki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda ise diazinon grubunun solungaç va karaciğer dokuları ile parathion metil grubunun karaciğer ve kas dokularındaki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.17. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	56.20±7.60	71.14±9.12*	67.51±9.10
	Karaciğer (U/g)	33.57±5.85	27.69±4.60	39.36±5.81
	Kas (U/g)	9.12±1.51	11.99±1.03*	9.97±1.67*
1 ppm	Solungaç (U/g)	56.20±7.60	48.49±7.34	45.80±2.05
	Karaciğer (U/g)	33.57±5.85	32.34±7.72	31.55±6.51
	Kas (U/g)	9.12±1.51	14.71±1.08*	14.08±1.06*

*:$p < 0.05$



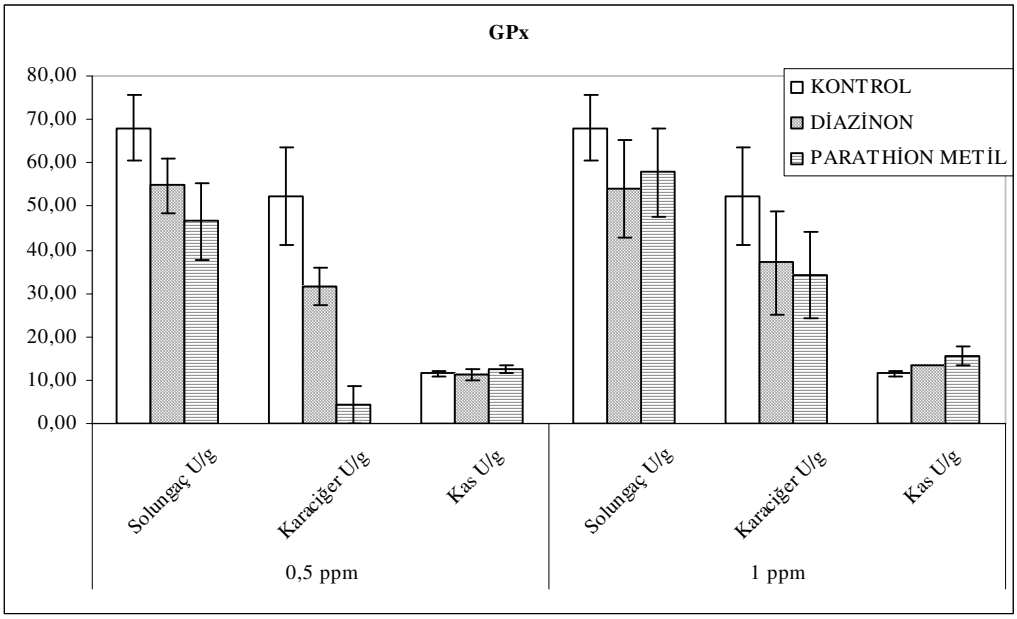
Şekil 4.17. 48 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.17'de sunulduğu gibi 48 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 56.20±7.60, 71.14±9.12, 67.51±9.10, karaciğer dokusunda 33.57±5.85, 27.69±4.60, 39.36±5.81, kas dokusunda 9.12±1.51, 11.99±1.03, 9.97±1.67, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 56.20±7.60, 48.49±7.34, 45.80±2.05 karaciğer dokusunda 33.57±5.85, 32.34±7.72, 31.55±6.51, kas dokusunda ise 9.12±1.51, 14.71±1.08, 14.08±1.06 olarak bulundu.0.5 ppm'lik dozda diazinon grubunun solungaç ve kas dokuları ile parathion metil grubunun kas dokusunda kontrol grubuna göre glutatyon peroksidaz enzim düzeyindeki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda ise diazinon ve parathion metil gruplarının kas dokularındaki istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Çizelge 4.18. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeyleri

		GPx		
		KONTROL	DİAZİNON	PARATHİON METİL
		X ± SD	X ± SD	X ± SD
0.5 ppm	Solungaç (U/g)	68.00±7.61	54.72±6.14*	46.51±8.78*
	Karaciğer (U/g)	52.32±11.45	31.60±4.34*	27.09±4.30*
	Kas (U/g)	11.59±0.73	11.27±1.16	12.55±0.91
1 ppm	Solungaç (U/g)	68.00±7.61	53.96±11.25	55.76±10.26*
	Karaciğer (U/g)	52.32±11.45	37.00±11.96	34.09±9.97
	Kas (U/g)	11.59±0.73	13.29±1.47	15.60±2.02*

*:p < 0.05



Şekil 4.18. 72 saat Parathion metil ile Diazinon uygulanan balıkların çeşitli dokularında GPx enzim düzeylerinin karşılaştırılması.

Çizelge 4.18'de sunulduğu gibi 72 saat sonunda 0,5 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g), için solungaç dokusunda, kontrol, diazinon ve parathion metil gruplarında sırasıyla 68.00±7.61, 54.72±6.14, 46.51±8.78, karaciğer dokusunda 52.32±11.45, 31.60±4.34, 27.09±4.30, kas dokusunda 11.59±0.73, 11.27±1.16, 12.55±0.91, olarak bulundu. 1 ppm'lik dozda istatistik ortalamaları glutatyon peroksidaz enzim aktivitesi (GSH-Px U/g), için solungaç dokusunda, Kontrol, Diazinon ve Parathion metil gruplarında sırasıyla 68.00±7.61, 53.96±11.25, 55.76±10.26 karaciğer dokusunda 52.32±11.45, 37.00±11.96, 34.09±9.97, kas dokusunda ise 11.59±0.73, 13.29±1.47, 15.60±2.02 olarak bulundu.0.5 ppm'lik dozda diazinon ve parathion metil gruplarının solungaç ve karaciğer dokularında kontrol grubuna göre glutatyon peroksidaz enzim düzeyindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulundu. 1 ppm'lik dozda ise parathion metil grubunun solungaç dokusundaki azalma ve kas dokusundaki artma istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çevresel ve fiziksel faktörlerin etkisi sonucu canlılarda serbest radikaller çeşitli hastalıkların patogenezisinde önemli rol oynarlar. Diyabet, kalp hastalıkları, hipertansiyon, psoriasis, romatoid artrit, kas, deri, göz hastalıkları, kanser ve yaşlılık gibi birçok hastalıkta serbest radikal ve lipid peroksidasyon ürünlerinin oluşumunda artma sonucu, antioksidan savunma mekanizmalarının yetersiz kaldığı gözlenmiştir. Yalnız bu hastalıkların patogenezisinde serbest radikallerin hastalığın sebebi mi yoksa bir sonuç olarak mı ortaya çıktıkları kesin olarak bilinmemektedir (Halliwel ve Gutteridge, 1984; Ikeda ve Long, 1990; Janssen ve ark., 1993).

Deneysel çalışmalar da, serbest radikaller, lipid peroksidasyonu ve peroksidasyon ürünleri ile kanser gelişimi arasında pozitif bir ilişkinin söz konusu olduğu ortaya konulmuştur. Birçok kimyasal maddenin hücre etrafındaki oksidatif stresi artırarak, kansere sebep olduğu bildirilmektedir. Fiziksel ajanlardan radyasyonun da serbest radikal ve lipid peroksidasyon üretimini artırarak kansere sebep olduğu gösterilmiştir. Serbest radikaller, kanserin başlangıç, ilerleme ve gelişme dönemlerinde etkili olmakla beraber bu etki ilerleme döneminde daha belirgin, diğer dönemlerde ise nispeten azdır. Serbest radikallerin etkisi sonucu DNA ve kromozomlarda kırılma ve onkojenlerde aktivasyonda artış meydana gelir (Özdem ve Şadan, 1994; Akkuş, 1995).

Serbest radikalleri, direkt olarak in vivo tayin edebilmek için kullanılan metotlar yenidir. Serbest radikallerin doğrudan tayini elektron spin rezonans spektrometri (ESR) cihazıyla gerçekleştirilmekte ama bu cihazda analizler henüz deneme aşamasında ve işlemler için detaylı tıbbi donanıma gereksinim olduğu belirtilmektedir. Serbest radikallerin ölçümü, dolaylı olarak lipid peroksidasyon ürünlerinin tayini ile yapılmaktadır. (Akkuş, 1995).

Lipid peroksidasyonu membran fosfolipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin oksijen ile reaksiyona girerek, lipit hidroperoksitlerini oluşturmalarındaki olaylar dizisidir. Bir dizi reaksiyon sonucu MDA, bazı aldehitler, konjuge dienler, uçucu hidrokarbonlar gibi ürünler ortaya çıkmaktadır. Lipid peroksidasyonu göstergesini oluşturan peroksidasyon ürünlerinden MDA'nın ölçümü, tiyobarbütirik asit ile reaksiyon sonucu yapılmaktadır. (Slater, 1984; Sushil, 1984).

Bu çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin seçiliş sebebi; bazı tarım zararlılarının yok edilmesi ve dolayısıyla ürünün arttırılması için ülkemizde sıkça kullanılmalarıdır. Bu kimyasal maddeler suya karışabilmekte ve suda yaşayan canlıları etkileyebilmektedir.

Çalışmamızda bu kimyasallardan diazinon ve parathion metil seçilmiştir. Bu kimyasalların 0,5 ppm ve 1 ppm'lik dozlarına 24, 48, ve 72 saatlik periyotlarla yaşam ortamlarına eklenmek suretiyle maruz bırakılan balıkların çeşitli dokularından alınan örneklerde, bu kimyasal maddelerin etkinliğinin göstergesi olarak değerlendirilebilecek antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon -S- transferaz ve glutatyon redüktaz aktiviteleri ile lipid peroksidasyonu (Malondialdehit) ve glutatyon düzeylerine bakılmıştır. Bu kimyasalların balıklar üzerinde in vivo olarak çalışılmasının toksikolojik çalışmalar bakımından önem taşıdığını düşünülmektedir.

Sunulan çalışmada parametrelere olumsuz etki edecek faktörlerin en aza indirilmesi için gerekli bütün önlemler alındı. Kontrol ve tüm deneme grubundaki denekler aynı koşullarda tutuldu.

Seçilen kimyasalların etkilerinin 24, 48 ve 72 saat sonrasındaki solungaç, karaciğer ve kas dokularındaki Glutatyon (GSH), sonuçları çizelge 4.1.,4.2.,ve 4.3.'te sunuldu. malondialdehit (MDA), sonuçları çizelge 4.4.,4.5.,ve 4.6.'da, glutatyon -S- transferaz enzim aktivite (GST), sonuçları çizelge 4.7.,4.8.,4.9.'da glutatyon redüktaz enzim aktivite (GR), sonuçları çizelge 4.10.,4.11.,4.12.'de süperoksit dismutaz enzim aktivite (SOD), sonuçları çizelge 4.13.,4.14.,4.15.'te glutatyon peroksidaz (GSH-Px), enzim aktivite sonuçları çizelge 4.16.,4.17.,4.18.'de sunuldu. Çizelgelerde görüleceği gibi kimyasalların etkisi sonrası, solungaç karaciğer ve kas dokularında glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), glutatyon -S-transferaz enzim aktivite (GST), glutatyon redüktaz enzim aktivite (GR), süperoksit dismutaz enzim aktivite (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), enzim aktivite düzeylerinde önemli değişimler ortaya çıkmıştır. Diğer yandan bu kimyasalların gökkuşağı alabalığı antioksidant savunma sistemi ve lipit peroksidasyonu üzerindeki etkilerine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmadığı için bu çalışmada elde edilen sonuçları önceki çalışmalarla karşılaştırılamadı. Elde edilen sonuçlara göre;

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon (GSH) verilerinin, Çizelge 4.1.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon miktarının azaldığı görüldü. Azalan gruplar arasında, diazinon ve parathion metilin solungaç dokularında kontrol grubuna göre önemli farklılık belirlendi. ($p<0.05$). 1ppm'lik uygulamada diazinonun solungaç dokusunda kontrol grubuna göre glutatyon miktarında artış gözlendi diğer dokularda azalma görüldü ve parathion metilin solungaç ve kas dokularında bu azalma önemli bulunmuştur. ($p<0.05$).

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda, seçilen her üç dokuda glutatyon (GSH) verilerinin, Çizelge 4.2.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon miktarının azaldığı görülmüş ve bu azalmalar diazinon grubunun her üç dokusu ile parathion metil grubunun karaciğer dokusunda önemli bulunmuştur. ($p<0.05$). Ancak parathion metil grubunun kas dokusunda artma görülmüş ve bu artış önemli bulunmuştur. ($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil gruplarının solungaç dokularında glutatyon miktarında artma diğer dokularda azalma görülmüş bu azalmalar parathion metil grubunun karaciğer ve kas dokularında dikkate değer görülmüştür ($p<0.05$).

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda, seçilen her üç dokuda glutatyon (GSH) verilerinin, Çizelge 4.3.'te incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve uygulanan gruplarda glutatyon miktarının azaldığı görülmüş ancak diazinon ve parathion metilin kas dokusunda artma belirlenmiş ve bu artış diazinon grubunda önemli bulunmuştur. ($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil gruplarının solungaç dokularında glutatyon miktarında artma görülmüş ve bu artış önemli bulunmuştur. ($p<0.05$). Diğer dokularda azalma görülmüş bu azalmalar parathion metil grubunun kas dokusunda dikkate değer görülmüştür ($p<0.05$).

Serbest radikallerin detoksifikasyonunda önemli görevleri bulunan glutatyonun asıl besinsel kaynağı kükürt içeren aminoasitler, özellikle sistein ve metiyonindir (Roediger, 1995). Sözkonusu dokularda düşük GSH düzeyinin, GSH'ın sentezinin yetersizliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.. Glutatyon, serbest radikal artışına ve lipid peroksidasyon oluşmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdan uzaklaştırılması için görev alan güçlü bir antioksidandır. Oksidatif hasardan kaynaklanan lipid peroksidasyon ürünleriyle reaksiyona girerek okside glutatyona dönüşür. Çeşitli araştırmalarda serbest radikal hasarı ve lipid peroksidasyonu ile glutatyon düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda lipid peroksidasyon ürünlerinde artış, glutatyon düzeylerinde azalmalar bulunmuştur (Meister ve Anderson, 1983; Yagi, 1994). GSH ve onu metabolize edici antioksidan enzimler, reaktif oksijen türevlerinin yol açtığı hücresel hasar karşısında büyük bir savunma sağlar (Avellini ve ark., 1993; Kurata ve ark.; 1993), antioksidatif koruma fonksiyonundan dolayı GSH'nun tüketildiğini göstermiştir. Reaktif oksijen türevlerinin etkisi altında yaygınlaşan oksidatif stresin değiştirilmesi yönünde kullanıyor olmasından dolayı eritrositlerdeki GSH seviyesinde azalma olduğu düşünülmektedir. GSH'da görülen bu azalma oksidatif stres riskini arttırmaktadır (Halliwell, 1994; 1999). Glutatyon, hücrelerin serbest radikallerden ileri gelen oksidatif

hasardan korunması yanı sıra yabancı toksik bileşiklerin ortadan kaldırılmasında görev alan reaksiyonlarda da yer almaktadır (Akkuş, 1995). Bununla birlikte, GSH'nun GSSG'na oksidasyonu ve adaptasyon mekanizmasının kaybedilmesinden dolayı ciddi bir oksidatif stres GSH düzeyini baskılayabilir.

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin, Çizelge 4.4.'te incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda malondialdehit miktarının arttığı görüldü. Artan gruplar arasında parathion metil grubunun karaciğer ve kas dokularında kontrol grubuna göre önemli farklılık belirlendi. ($p<0.05$). .

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin, Çizelge 4.5.'te incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda malondialdehit miktarının arttığı ve bu artışın diazinon ve parathion metilin karaciğer dokusu ile diazinonun kas dokusunda dikkate değer olduğu görüldü ($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada artma olmakla beraber bu artış istatistikî açıdan önemli görülmedi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda malondialdehit (MDA) verilerinin, Çizelge 4.6.'da incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda malondialdehit miktarının arttığı ve bu artışın karaciğer dokusunda dikkate değer olduğu görüldü ($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada meydana gelen artış ise önemli düzeyde bulunmadı.

Çeşitli faktörlerin etkisi (Radyasyon, ilaç toksikasyonları, kimyasal maddeler) veya çeşitli hastalıkların oluşumu ile birlikte serbest radikal üretiminde artış, buna bağlı olarak hücresel bileşiklerde çeşitli zararlı etkiler oluşmaktadır (Halliwell, ve Gutteridge, 1990; Janssen ve ark., 1993; Stevens, 1993; Moslen, 1994). Serbest radikaller, hücre savunma sisteminin koruyucu etkisini aşacak şekilde fazla meydana gelmeleri sonucunda metabolizmada zararlı etkilerini en hassas bileşikler olan lipidler üzerinde gösterirler. Membranların yapısında yer alan doymamış fosfolipidler ve kolesterol, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu meydana getirir. (Porter, 1984; Niki, 1987). Meydana gelen bu etkilerde bu bağlamda olabileceği düşünmekteyiz.

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon -S- transferaz (GST) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.7.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon -S- transferaz aktivite düzeylerinin solungaç dokusunda arttığı, ayrıca parathion metilin karaciğer dokusunda yine arttığı görüldü. Bu artışların diazinon grubunda

önemli olduğu belirlendi.($p<0.05$). Parathion metilin karaciğer dokusunda meydana gelen azalmanın önemli düzeyde olmadığı görüldü. Ancak diazinon ve parathion metilin kas dokularında meydana gelen azalma dikkate değer bulundu. ($p<0.05$). 1ppm'lik uygulamada diazinonun kas dokusu ile parathion metilin solungaç, karaciğer ve kas dokularında artış gözlendi ancak bu artışlar dikkate değer bulunmadı. Aynı şekilde diazinonun solungaç ve karaciğer dokularındaki azalmanında önemli düzeyde olmadığı görüldü.

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon -S- transferaz (GST) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.8.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon -S- transferaz aktivite düzeylerinin arttığı ve bu artışın parathion metilin solungaç dokusunda önemli olduğu belirlendi.($p<0.05$). Parathion metilin kas dokusunda meydana gelen azalmanın önemli düzeyde olmadığı görüldü. 1 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon -S- transferaz aktivite düzeylerinin her üç doku için arttığı ve bu artışların diazinonun karaciğer ve kas dokusu ile parathion metilin solungaç dokusunda önemli düzeye ulaştığı belirlendi.($p<0.05$).

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon -S- transferaz (GST) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.9.'da incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon -S- transferaz aktivite düzeylerinin arttığı ve bu artışın diazinonun solungaç dokusu ile parathion metilin kas dokusunda önemli olduğu belirlendi.($p<0.05$). Diazinonun kas dokusunda meydana gelen azalmanında önemli noktaya ulaştığı($p<0.05$), ancak parathion metilin kakaraciğer dokusundaki azalmanın önemli olmadığı görüldü. 1ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon -S- transferaz aktivite düzeylerinin parathion metilin her üç dokusu için arttığı ve bu artışların solungaç dokusunda önemli düzeye ulaştığı belirlendi.($p<0.05$).diazinonun solungaç ve karaciğer dokularındaki azalma ile kas dokusundaki artışın ise öemli düzeye ulaşmadığı belirlendi.

GST hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. Katalitik olarak; ksenobiyotikleri glutatyondaki (GSH) sisteine ait –SH grubu ile bağlayarak onların elektrofilik bölgelerini nötralize ederler ve ürünün daha fazla suda çözünür hale gelmesini sağlar. Oluşan bu GSH konjugatları organizmadan atılabilir veya daha ileri metabolize olurlar (Akkuş, 1995). GST aktivitesindeki artışı oksidatif stres durumuna karşı koyma mekanizmasında izlenen adaptasyonu olarak düşünülebilir. (Agrawal ve ark., 1991; Banerjee ve ark., 1999).

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerinin Çizelge 4.10.'da incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon redüktaz aktivite düzeylerinin azaldığı bu azalmanın diazinon ve prathion metilin solungaç dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi ($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon redüktaz aktivite düzeylerinin azaldığı parathion metilin kas dokusunda ise arttığı ancak bu artışın dikkate değer olmadığı görüldü.

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon redüktaz (GR) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.11.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon redüktaz aktivite düzeylerinin azaldığı parathion metilin solungaç ve karaciğer dokularında ise artış olduğu ancak bu artışın önemli dereceye ulaşmadığı belirlendi.1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon redüktaz aktivite düzeylerinin azaldığı diazinonun kas dokusu ile parathion metilin solungaç dokusunda ise arttığı ancak bu artışın dikkate değer olmadığı görüldü. Parathion metilin kas dokusunda ise kontrol grubuna göre istatistiki fark belirlenmedi.

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon redüktaz (GR) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.12.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon redüktaz aktivite düzeylerinin azaldığı ve bu azalmanın kas dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi ($p<0.05$). Diazinonun solungaç dokusunda ise artış olduğu ancak bu artışın önemli dereceye ulaşmadığı belirlendi. 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon redüktaz aktivite düzeylerinin azaldığı parathion metilin solungaç ve karaciğer dokularında ise arttığı ancak bu artışların solungaç dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi ($p<0.05$). Diazinonun kas dokusunda ise kontrol grubuna göre fark belirlenmedi.

İnsan eritrositlerinde önemli miktarda katalaz bulunmasına rağmen, hidrojen peroksitin buradan uzaklaştırılmasındaki temel mekanizmanın NADPH, glutatyon redüktaz / peroksidaz yolu olduğu düşünülmektedir (Gaetani ve ark., 1989). NADPH kullanımı pahasına GSH-GSSG oranını sürdürme görevinden GR sorumludur. GR aktivitelerindeki indükleme oksidatif streslerin potansiyel biyokimyasal indikatörüdür (Stegeman ve ark., 1992). GSH'un azalan seviyesini doldurmadaki randımanlı çalışmasıyla bir antioksidan olan GR'ın indüksiyonu, ksenobiyotiklerin okside edici metabolitlerinin zararlı etkilerine hücrenin dayanması için temelde önemlidir (Rohrdanz ve Kahl, 1998). Yüksek GR aktivitesi

peroksidatif komponentlerin artışından kaynaklanmaktadır. Hücre içindeki azalan GSH miktarını normal seviyeye yükseltmek için GR aktivitesinde artış meydana gelmiş olabilir.

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.13.'te incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz aktivite düzeylerinin solungaç ve karaciğer dokusunda azaldığı bu azalmanın önemli dereceye ulaştığı belirlendi ($p<0.05$). Kas dokusunda ise artma gözlenmekle beraber bu artmanın sadece diazinon grubunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi.($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz aktivite düzeylerinin solungaç dokusunda azaldığı bu azalmanın önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$). Parathion metilin kas dokusundaki artmanın ise dikkate değer olmadığı görüldü. Yine diazinonun karaciğer dokusunda artma gözlenmekle beraber bu artmanın dikkate değer olmadığı görüldü.

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.14.'te incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz aktivite düzeylerinin solungaç dokusunda azaldığı bu azalmanın önemli dereceye ulaştığı belirlendi ($p<0.05$). Karaciğer ve kas dokusunda ise artma gözlenmekle beraber bu artmanın sadece diazinonun kas dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz aktivite düzeylerinin solungaç dokusunda azaldığı bu azalmanın önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$). Diazinonun kas dokusundaki azalmanın ise dikkate değer olmadığı görüldü. Diazinonun karaciğer dokusunda artma gözlenmekle beraber bu artışların önemli olmadığı görüldü.

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda süperoksit dismutaz (SOD) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.15.'te incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz aktivite düzeylerinin solungaç dokusunda azaldığı bu azalmanın önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$). Karaciğer ve kas dokusunda ise artma gözlenmekle beraber bu artmanın sadece diazinonun kas dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi.($p<0.05$). 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda süperoksit dismutaz aktivite düzeylerinin solungaç dokusunda azaldığı bu azalmanın parathion metilin solungaç dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$). Diğer dokularda artma gözlenmekle beraber önemli olmadığı görüldü.

24 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.16.'da incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon peroksidaz aktivite düzeylerinin arttığı bu artışların diazinonun ve parathion metilin solungaç dokularında ve parathion metilin kas dokusunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi ($p<0.05$).Parathion metilin karaciğer dokusunda azalma gözlenmekle beraber bu azalmanın önemli olmadığı görüldü. 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon peroksidaz aktivite düzeylerinin arttığı bu artışların diazinonun solungaç ve karaciğer dokuları ile parathion metilin karaciğer ve kas dokularında önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$).

48 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.17.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon peroksidaz aktivite düzeylerinin arttığı bu artışların diazinonun solungaç dokusu ile diazinon ve parathion metilin kas dokularında önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$). Diazinonun karaciğer dokusunda azalma gözlenmekle beraber bu azalmanın önemli olmadığı görüldü. 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon peroksidaz aktivite düzeylerinin solungaç ve karaciğer dokularında azaldığı ancak bu azalmanın önemli olmadığı, kas dokusunda ise artış olduğu ve bu artışların önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$).

72 saat boyuca söz konusu kimyasallara maruz bırakılan balıklarda seçilen her üç dokuda glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktivite düzeylerinin, Çizelge 4.18.'de incelenmesinde 0,5 ppm'lik uygulamada kontrol grubuna göre diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon peroksidaz aktivite düzeylerinin azaldığı bu azalmaların solungaç ve karaciğer dokularında önemli dereceye ulaştığı. ($p<0.05$), parathion metilin kas dokusunda meydana gelen artışın önemli olmadığı görüldü. 1 ppm'lik uygulamada diazinon ve parathion metil uygulanan gruplarda glutatyon peroksidaz aktivite düzeylerinin solungaç ve karaciğer dokularında azaldığı ancak bu azalma parathion metilin solungaç dokusunda önemli bulundu ($p<0.05$). Kas dokusunda ise artış olduğu ve bu artışların parathion metil grubunda önemli dereceye ulaştığı belirlendi. ($p<0.05$).

GSH-Px hidrojen peroksidi glutatyon varlığında suya katalizler (Deneke ve ark., 1985). Bu arada redükte glutatyon ise okside forma geçer. GSH-Px enzimi etki için redükte glutatyona gereksinim duymasından dolayı okside glutatyon (GSSG) formunun, redükte formuna (GSH) dönüşümünü glutatyon redüktaz katalizler (Kahraman, 1998). GPx, hidrojen

peroksit ve lipid peroksidlerin indirgenmesini katalizlemektedir. Lipid peroksidasyon karşısında randımanlı koruma sağlayan enzim olarak kabul edilir (Winston ve Di Giulio, 1991). Serbest radikal oluşumunun ve lipid peroksidasyonunun uzun süreli artışına bağlı olarak hücresel antioksidan savunma sisteminin aşılması halinde ise antioksidan enzim aktivitelerinde azalma olabileceği bildirilmektedir (Meister ve Anderson, 1983; Akkuş, 1995).

Sonuç olarak, diazinon ve parathion metil balıkların antioksidan savunma sistemini önemli oranda etkilemiştir. Balıklarlar antioksidan mekanizması yoluyla oksidatif strese direnç göstermiştir. Bununla birlikte, antioksidan mekanizması balıkların dokularındaki lipid peroksidasyon artışını engelleyememiştir. Bu bulgularla diazinon ve parathion metil subakut muamelelerinde karaciğer, solungaç ve kas dokusunda önemli sistemik organ toksisitesine yol açtığını ortaya koymaktadır.

Farklı doz ve dönemlerde diazinon ve parathion metil etkisinde bıraktığımız balıkların dokularında antioksidan savunma sistemleri ve lipid peroksidasyon seviyeleri gibi parametrelerde farklı bulgular elde edilmesinin nedeni diazinon ve parathion metil uygulanan süre içinde tüm dokulara aynı düzeyde olmamasından ve hücresel fizyolojik adaptasyonun dokulara göre farklı nitelikte olmasından kaynaklanabilir. Ayrıca çalışmada kullanılan kimyasalların yapı ve etki özelliklerinin farklı oluşu, bu tip farklılığa yol açtığı söylenebilir.

Aynı zamanda uygulama süresi boyunca dokularda meydana gelebilecek serbest radikal hasarına karşı, balıkların metabolizmasında antioksidan savunma sisteminin yeniden yapılanma faaliyetlerine gidildiği sonucuna varılmıştır. Diazinon ve parathion metil uygulaması karşısında balıkların dokularında fizyolojik bir adaptasyonu sonucunda farklı antioksidan savunma sisteminde değişiklikler meydana gelmiştir. Bu nedenle, birçok ksenobiyotik detoksifikasyonunda görev alan multienzim yapısındaki SOD, GPx, GR ve GST antioksidan enzimleri oksidatif strese karşı dokuları korumada önemli bir rol üstlenmiştir.

Bir tarım ülkesi olan yurdumuzda yoğun kullanılan diazinon ve parathion metil in vitro veya in vivo çalışma sahasına alarak su canlıları üzerindeki etkilerini ortaya koymak önemlidir. Bu araştırmadaki bulguların özellikle aquatik canlılardaki risk faktörünün olup olmadığı ile ilgili pestisit kullanımına ışık tutacağı kanısındayız.

Daha etkili ve daha ekonomik başka bir yol bulununcaya kadar pestisit kullanımını yasaklamak veya tamamen kaldırmak bugünkü şartlar altında mümkün değildir. Ancak bazı tedbirler almak suretiyle pestisitler toprak ve su kirliliği ve çevre sağlığı açısından yarattığı sorunları en aza indirmek mümkündür. Bu amaca yönelik tedbirler şöyle sıralanabilir:

1. Öncelikle, biyolojik ve kimyasal olarak çabuk parçalanabilen, parçalandığı zaman toprak, su, bitki ve gıda gibi ortamlarda en az artık madde bırakan ve aynı zamanda toksik olmayan pestisitler bulunmalıdır.

2. Birim alana ve bitkiye uygulanacak pestisit ve hormon dozu ve uygulama sayısı en düşük düzeye indirilmelidir.

3. Tarımda kullanılan pestisit çeşidi azaltılmalı, tabii pestisitlerin elde edilmesi ve kullanılması yolundaki çalışmalara ağırlık verilmelidir.

4. Mekanik ve biyolojik mücadele metodları üzerindeki araştırmalar hızlandırılmalı, mucadelelenin ekonomik yönü tek faktör olmaktan çıkartılmalıdır.

5. Pestisit tavsiyesi detaylı araştırmalara tabii tutulmalı ve uygulayıcılar devamlı olarak eğitilmelidir.

6. Yoğun bir şekilde pestisit bulaşmış meyvelerin tüketilmesiyle ortaya çıkabilecek zehirlenmelerin önüne geçilebilmesi için gerekli tedbirleri alınmalıdır.

7. Pestisit üretim tesislerinin yerleri çok dikkatli bir şekilde seçilmeli, tesisten çıkan artıklar mutlaka arıtılmalıdır.

8. Biyoteknoloji ve bitki ıslah yöntemlerinden yararlanılarak hastalık ve zararlılara karşı dayanıklı bitki çeşitlerinin ıslahı yoluna gidilerek, pestisit duyulan ihtiyaç en aza indirilmelidir.

9. Bu araştırmanın sonucunda, antioksidant savunma sistemini aktive veya inhibe eden bu kimyasallar, deney hayvanları üzerinde yapılacak in vivo denemelere ışık tutabilir. Bu hayvanlarda; Karbonik anhidraz enzimi yanında Na+/K+ ATP az, Glutamat oksaloasetat transminaz, Laktat dehidrogenaz, RNA az, Lipaz ve Üreaz gibi önemli metabolizma enzimleri üzerine, adı geçen bileşiklerin etkileri etkileri araştırılabilir.

KAYNAKLAR

Agrawal, D., Sultana, P., Gupta, G.S.D., 1991. Oxidative damage and changes in glutathione redox system in erythrocytes from rats treated with hexachlorocyclo hexane. ***Fd. Chem. Toxicol.,*29:** 459-62.

Akkuş, İ., 1995. ***Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri***. Mimoza Yayınları, Konya.

Aslan, R., Şekeroğlu, R., Bayıroğlu, F., 1995. Serbest radikal türlerinin membran lipit peroksidasyonuna etkileri ve hücresel antioksidan savunma. ***YYÜ Sağ. Bil. Ens. Derg.,* 2**: 137-142.

Avellini, L., Spaterna, A., Rebold, G.P, Gaiti, A., 1993. Defense mechanisim against free radical-induced damage in sheep, cattle and dog erythrocytes. ***Comp. Biochem .Physiol. B. 106:*** 391-394

Banerjee, B.D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pasha, S.T., 1999. Chakrabotry AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free radical scavengers. ***Toxicol. Lett.,* 107:** 33-47.

Baykut, F., Aydın, A., Baykut, S., 1987. ***Çevre Sorunları ve Koruma.*** Güney Matbaacılık, İstanbul. 109-225s.

Bendich, A., 1990. ***Antioxidant Nutrients and Immune Functions***, Plenum Pres, New York.

Bercovici, B., Wassermann, M., Cucos, S., Ron, M., Wassermann, D., Dines, A., 1983. Semum level of polychlorinated biphenyls and some arganochlorine insecticides in woman with recent and formas missed abortions. ***Environ. Res.* 3**: 169-174.

Berksoy, N., 1976. Tarım ilaçlarının kullanılması. ***Çevre araştırmaları.*** 26-27 Kasım 1976, Gaziantep.

Beutler, E., 1984. ***Red Cell Metabolism***: A manual of Biochemical methods, Third edition. Grune and Startton, New York I. 105-106.

Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione***. J. Lab. Clin. Med.,* 61** (5): 882-888.

Carlberg, I., Mannervik, B., 1985. Glutathione reductase. ***Methods Enzymol.,* 113**: 484-490.

Ceron, J.J., Ferrando, M.D., Sancho, E., Gutierrez-Panizo, C., Andreu-Moliner, E., 1996. Effects of diazinon exposure on cholinesterase activity in different tissues of European eel (Anguilla anguilla). ***Ecotoxicol. Environ. Saf.,* 35** (3): 222-225.

Christensen, G.M., Olson, D., Riedel, B., 1982. Chemical effects on the activity of eight enzymes. A review and discussion relevant to environmental monitoring. ***Environmental Research*****, 29:** 247-255.

Çelik, İ., 1995. ***Bazı Pestisit ve Bitki Büyüme Regülatörlerinin Sığır ve İnsan Eritrosit Karbonik Anhidraz İzoenzimleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması*** (doktora tezi). Y Y Ü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.

Dorval,J.,Leblond,V.,Deblois,C.,Hontela,A.,1994.Oxidative stress and endocrine endpoints in *Catostomus commersoni* from a river impacted by agricultural chemicals. ***Environmental Toxicology and Chemistry,Vol. 24***, (5) 1273-1280

Durmaz, H., Sevgiler, Y., Üner, N., 2006. Tissue spesific antioxidative and neurotoxic responses to diazinon in Oreochromis niloticus. ***Pesticide Biochemistry and Psiology 84***: 215-226

Erenel, G., Erbaş, D., Arıcıoğlu, A., 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. ***Gazi Tıp Derg.,*** **3**: 243-250.

Fhole, L., Günzler, W.A., 1984. Assays of glutathione peroxidase. ***Methods in Enzymology*****,** **105**: 114-115.

Fhole, L., Otting, F., 1984. Superoxide dismutase assays. ***Methods in Enzmology***, **105**: 93-104.

Freeman-Witting, M.J., Lewis, R.A., 1986. Alteration of the exonuclease activities of DNA polymerase I by captan**.** ***Biochem. Biophys. Acta.,*** **867** (3): 107-113.

Gaetani, G.F., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A.M., Kirkman, H.N., 1989. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. ***Blood,*** **73** (1): 334-339.

Gallagher, E.P., Buetler, T.M., Stapleton, P.L., Wang, C., Stahl, D.L., Eaton D.L., 1995. The effect of diquat and ciprofibrate on mRNA expression and catalytic activities of hepatic xenobiotic metabolizing and antioxidant enzymes in rat liver. ***Toxicol. Appl. Pharmacol.*****, 134** (1): 81-91.

Gür, K., Akınerdem, F., 1992. ***Çevre Kirliliği Ekoloji İlişkisi*****.** Tarımda Kaynak. 3-5s.

Habig, W. H., Jakoby, W. B., 1981. Assays for differentiation of glutathione-s-transferase. ***Medhods Enzymol.,*** **77**: 398-405.

Hai, D.Q., Varga, S.I., Matkovics, B., 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (Cyprinus carpio) and catfish (Ictalurus nebulosus). ***Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.,*** **117** (1): 83-88.

Halliwel, B., Gutteridge, J.M., 1984. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy. ***The Lancet,* 23**: 1396-1397.

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

Halliwell, B., 1999. Antioxidant defense mechanisims: from the beginning to the and . ***Free Radic. Biol. Med.* 31 4:** 261-272

Halliwell, B., Gutteridge, M.C., 1990. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease : An overview. ***Methods in Enzmology,* 186**: 1-85.

Halliwell, B., Murcia, M.A., Chirico, S., Auroma, O.I., 1995. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. ***Critical Rev. Food Sci. Nutr.,* 35** (1): 7-20.

Harris, E.D., 1992. Regulation of antioxidant enzymes. ***Faseb J.,* 6**: 2675-2683.

Ikeda, Y., Long, D.M., 1990. The molecular basis of brain iınjury and brain edema: The role of oxygen free radicals. ***Neurosurgery,* 27** (1): 1-11.

İkiz, F., Püskülcü, H., Eren, Ş., 1996. ***İstatitiğe Giriş*** (Bilgisayar Örnekleri ile Geliştirilmiş 4. Baskı). E Ü, İzmir, Bornova. 343-346.

Janssen, Y.M.W., Houten, B.V., Borm, P.J.A., Mossmon, B.T., 1993. Biology of disease, cell and tissue responses to oxidative damage. ***Lab. Invest.,* 69** (3): 261-274.

Kahraman, T., 1998. ***Elektrik Alanın Rat Eritrosit ve Dokularındaki Antioksidan Enzim (Süperoksid Dismutaz, Glutatyon Peroksidaz) Aktiviteleri, Lipit Peroksidasyon ve Glutatyon Seviyelerine Etkisi*** (doktora tezi). Y Y Ü Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.

Karpuzcu, M., 1991. ***Çevre Kirlenmesi ve Kontrolü***. B Ü, Çevre Bilimleri Enstitüsü, Koç Matbaası, İstanbul.

Kavas, G.Ö., 1989. Serbest radikaller ve organizma üzerine etkileri, ***Türkiye Klinikleri,* 9**: 1-8.

Kavitha, P., Venkateswara Rao, J., 2007. Oxidative stres and locomotor behaviour response as biomarkers for assesing recovery status of mosquito fish Gambusia affinis after lethal effect of on organophosphate pesticide monocrotophos. ***Pesticide Biochemistry and Physiology. 87:*** 182-188

Kılınç, K., 1986. Oxygen radicals: Their production, function and toxic effects. ***Biyokimya Dergisi,* 9**(3): 59-76.

Kocataş, A., 1994**. *Ekoloji Çerve Biyolojisi.*** E Ü, Fen Fak., Yay. No: 142, İzmir. 424s.

Kono, Y., Fridovich, I., 1982. Superoxide radical inhibit catalase. ***J. Biol. Chem.,* 257**: 5751–5754.

Kurata, M., Suzuki, M., Agar, N.S., 1999. Antioxidant system and erythrocyte life span in mammals. ***Comp. Biochem .Physiol. B. 106:*** 477-487

Laganiere, S., Yu, B.P., 1989. Effect of chronic food restriction in ageing rats II. liver cytosolic antioxidants and related enzymes. ***Mech of Age and Develop,*** **48**: 221-230.

Lien, N.T.H., Adriens, D., Janssen, C.R, 1997. Morphological Abnormalities in African Catfish (*Clariasgariepinus*) LarvaeExposed to Malathion.***Chemosphere,Vol. 35.***(7) :1475-1486

Llopis,S.P.,Ferrando,M.D.,Pena.J.B.,2003.Fish tolerance to organophosphate-induce oxidative stress is,dependent on glutathione metabolism and enchanced by N-acetylcystsine.***Aquatic Toxicology 65:*** 337-360.

Marklund, S.L., 1990. Analysis of extracellular superoxide dismutase in tissue homogenates and extracellular fluids. ***Methods in Enzmology,*** **186**: 260-265.

Meister, A., Anderson, M.E., 1983. Glutathione. ***Ann. Rev. Biochem.*** **52**: 711-760.

Moslen, M.T., 1994. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis. ***Free Radicals in Diagnostic Medicine*** (Editors: D Armstrong) Plenum Press,New York. 1-15s.

Niki, E., 1987. Antioxidant in relation to lipid peroxidation. ***Chemistry and Physics of Lipids,*** **44**: 227-253.

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. ***Analytical Biochemistry*****, 95**: 351-358.

Oruç, E.Ö., Usta, D., 2007. Evaluation of oxidative stress responses and neurotoxicity potential of diazinon in different tissues of Cyprinus carpio. ***Environmental Toxicology and Pharmacology, 23:*** 48-55

Oruç, E.Ö., Üner, N., 1988. Effects of azinphosmethyl on some biochemical parameters in blood, muscle and liver tissues of Cyprinus carpio (L.). ***Pestic. Biochem. Physiol.,*** **62**: 65-71.

Oruç, E.Ö., Üner, N., 1999. Effects of 2,4-D on some biochemical parameters of protein and carbohydrate metabolism in the serum, muscle and liver tissues of Cyprinus carpio (L.). ***Environ. Pollut.,*** **105**: 267-272.

Oruç, E.Ö., Üner, N., 2000.Combined effects of 2,4-D and azinphosmethyl on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in liver of *Oreochromis niloticus.* ***Comperative Biochemistry and Physiology Part C, 127*****:** 291-296.

Oruç, E.Ö., Üner, N., 2002. Marker Enzyme Assesment in liver of Cyprinus carpio(L.) Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl*. **J Biochem,Molecular Toxicology Volume 16**,* (4).

Özdem, S., Şadan, G., 1994. Serbest oksijen radikallerinin oluşum ve klinik açıdan önemi, ***A Ü, Tıp Fak. Derg.,*** **11** (1): 63-71.

Öztürk, S., 1990. ***Tarım İlaçları.*** Renk ofset, İstanbul.

Öztürk, S., Özge, N., 1978. ***Bitki Koruma İlaçları.*** Eser yayıncılık, Ankara.

Parves, S., Rasiuddin, S., 2006. Copper modulates non enzymatic antioxidant in the freshwater fish Channa punctata (Bloch) exposed to deltamethrin. ***Chemosphere 68:*** 1324-1332

Porter, N.A., 1984. Chemistry of lipid peroxidation. ***Methods in Enzmology,*** **105**: 273-283.

Rajendra, W., Oloffs, P.C., Banister, E.W., 1986. Effects of chronic intake of diazinon on blood and brain monoamines and amino acids. ***Drug Chem. Toxicol*****., 9** (2): 117-131.

Randox Lab., Lmd., 2008. Ransod süperoxide dismutase enzim kiti, Ransel glutathione peroxidase enzim kiti.

Rizzi, R., Caroli, A., Bolla, P., Acciaioli, A., Pagnacco, G., 1988. Variability of reduced glutathione levels in massese ewes and its effect on daily milk production. ***J. Dairy Research*****, 55**: 345-353.

Roediger, W.E.W., 1995. New views on the pathogenesis of kwashiorkor: methionine and other amino acids. ***J Pediatr. Gastroent. and Nutr.,*** **21:** 130-136.

Rohrdanz, E., Kahl, R., 1998. Alterations of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide. ***Free Rad. Biol Med.,*** 24: 27-38

Sapozhnikova, Y., Zubcow, N., Hungerford, S., Roy, A.L., Biocenco, N., Zubcow, E., Schlenk, D., 2005 Evaluation of pesticides and metals in fish of the Diniester River, Moldova. ***Chemosphere 60:*** 196-205

Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Sheikl, R., 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to delthametrin in freshwater fish, *Channa punctatus* . Bloch.

Sen, C.K., 1995. Oxidants and antioxidants in exercise. ***J. Appl. Physiol.,*** **79** (3): 675-686.

Sinclair, A.J., Barnett, A.H., Junec, J., 1990. Free radicals and antioxidant systems in health and disease. ***Brit. J. Hos. Med,.*** **43**: 334-344.

Slater, T.F., 1984. Overview of methods used for detecting lipid peroxidation. ***Methods in Enzymology*****, 105**: 283-305.

Stategman, J.J., Broumer, M., Di Giulio, R.T., 1992. Molecular responses to environmental contamination: enzyme and protein synthesis as indicators of chemical exposure and e.ects. In: ***Biomarkers, Biochemical Physiological and Histological Markers of Anthropogenic Stress.*** (Editors:Huggett,R.A., Kimerle, P.M., Mehrle Jr., Bergman, H.L.) Lewis Publishers, Boca Raton, FL. 235-335.

Stevens, R.G., 1993. Breast cancer and electric power. ***Biomed & Pharmacother,*** **47**: 435-438.

Sushil, J.K., Mcvie, R., Duett, J., Herbst, J.J., 1989. Erythrocyte membrane lipid peroxidation and glycosylated hemoglobin in diabetes. ***Diabetes,*** **38:** 1539-1543.

Şekeroğlu, M. R., Çelik, İ., Arslan, O., 1997. Influence of some pesticides on activity of seven serum enzymes (in vitro). ***J. Environ. Sci. Health*****, A32** (7): 1975-1980.

Tandon, R.S., Dubey, A., 1983. Toxic effects of two organophosphorus pesticides on fructose-1,6-diphosphote aldolase activity of liver, brain and gills of the freshwater fish Clarias batrachu. ***Environ. Poll.,*** **A31**: 1-7.

Tek, V., 1993. ***Değişik Orjinli Karbonik Anhidraz İzoenzimleri Üzerine Bazı Çevre Kirleticilerinin ve Kafeinin Etkileri ve Kinetik Özelliklerinin Araştırılması*** (doktora tezi). A Ü, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

Thomas, M., 1995. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working. ***Critical Rev. Food Sci. Nutr.,*** **35** (1): 21-39.

Thurnham, D.I., 1990. Antioxidants and prooxidants in malnourished populations. ***Proceedings Nutr. Society,*** **49**: 247-259.

Tsuda, T., Kojıima, M., Harada, H., Nakajima, A., Aoki, S., 1996. Acute Toxicity, Accumulation and Excretion of Organophosphorus Insecticides and their Oxidation Pruducts in Killifish. ***Chemosphere,Vol.35,*** (5) : 939-949.

Tsuda,T.,Aoki,S.,Kojima,M.,Harada,H.,1990.Bioconcentration and Excretion of Diazinon ,ibp,Malathion and Fenitrothion by Carp.***Comrerative Biochemistry and physiology part C: Comperative Pharmacology and toxicology,Vol:96,*** (1): 23-26

Wickens, A.P., 2001. Ageing and free radical theory. ***Respiration Physiology,*** **128**: 379-391.

Winston, G.W., Di Giulio, R.T., 1991. Prooxidant and antioxidant mechanism in aquatic organism. ***Aquat. Toxicol*****.24:** 143-152

Wiszkowska, H., Kulamowicz, I., Malinowska, A., 1986. The effect of malathion on RNA polymerase activity of cell nuclei and transcription products in lymphocyte culture. ***Environ. Res.,*** **41**: 372-377.

Wohaieb, S.A., Godin, D.V., 1987. Starvation related alterations in free radical tissue defense mechanisms in rats. ***Diabetes,*** **36**: 169-173.

Xia, E., Rao, G., Remmen, H.V., Heydari A.R., Richardson, A., 1994. Activities of antioxidant enzymes in various tissues of male fischer 344 rats are altered by food restriction. ***J. Nutr.,*** **125**: 195-201.

Yagi, K., 1994. Lipid Peroxides in Hepatic, Gastrointestinal, and Pancreatic Disease. ***Free Radicals in Diagnostic Medicine*** (Editor: Armstrong, D.) Plenum, 165-169.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Erciş'te doğdu. İlk ve ortaokulu Van ve Ercişte tamamladı. 1996 yılında Bitlis Anadolu Öğretmen lisesi'nden mezun oldu. Aynı yıl Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Bölümüne girdi. 2000 yılında bu bölümden mezun oldu. Halen Van Fen Lisesi'nde biyoloji öğretmenliği yapmaktadır.