ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Tamer KAYIŞ

DİAZİNONUN SUBLETAL KONSANTRASYONLARININ *Pimpla turionellae* L.'nın EŞEY ORANI ve BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2010

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DİAZİNONUN SUBLETAL KONSANTRASYONLARININ *Pimpla turionellae* L.'nın EŞEY ORANI ve BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Tamer KAYIŞ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu Tez 16/07/2010 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri tarafından Oy Birliği / ~~Oy çokluğu~~ ile Kabul Edilmiştir.

……..	…..……....……..	……..
Prof. Dr. İskender EMRE	Prof.Dr. M. Rifat ULUSOY	Prof.Dr. Mustafa CANLI
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE
……	……..…	
Doç.Dr. Bedii CİCİK	Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP	
ÜYE	ÜYE	

Bu Tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.
Kod No:

Prof.Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Ç. Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No: FEF2007D3

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

ÖZ

DOKTORA TEZİ

DİAZİNONUN SUBLETAL KONSANTRASYONLARININ *Pimpla turionellae* L. nın EŞEY ORANI VE BAZI BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Tamer KAYIŞ

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman :Prof. Dr. İskender EMRE
2. Danışman :Yrd. Doç. Dr. Mustafa COŞKUN
:Yıl: 2010, Sayfa: 101
Jüri :Prof. Dr. İskender EMRE
:Prof. Dr. M. Rifat ULUSOY
:Prof.Dr. Mustafa CANLI
:Doç. Dr. Bedii CİCİK
:Yrd. Doç. Dr. Pınar ÖZALP

Sunulan çalışmada farklı diazinon konsantrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm) *P.turionellae*'nın süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri, protein ve glikojen miktarları ve eşey oranına etkileri meridik bir besin kullanılarak araştırılmıştır.

SOD aktivitesi diazinondan önemli ölçüde etkilenmiştir. Özellikle deney periyodunun 72 ve 96. saatlerinde yüksek diazinon konsantrasyonları SOD aktivitesinin önemli ölçüde artmasına neden olmuştur. CAT aktivitesi diazinondan SOD ye göre daha az etkilenmiştir. CAT aktivitesinin denenen hiçbir konsantrasyonda kontrole göre düşmemiş olması önemli bir bulgudur. Bunun yanında CAT aktivitesinde uygulanan diazinon konsatrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak artışlar meydana gelmiştir.

Diazinon uygulaması *P.turionellae*'nın protein miktarını önemli ölçüde etkilememiştir. Glikojen miktarı deneyin 24 ve 48. saatlerinde diazinondan önemli ölçüde etkilenirken 72 ve 96. saatlerde önemli bir etkide bulunmamıştır. 24.saatte 0.01 ppm dışındaki dozlar glikojen miktarını önemli ölçüde azaltırken, 48. saatte 0.50 ppm diazinon, dişilerin glikojen miktarının kontrole göre önemli ölçüde artmasına neden olmuştur. Toplam ergin birey çıkış oranı besinin en düşük ve en yüksek dozda (0.01 ve 0.75ppm) diazinon içermesi durumunda önemli ölçüde azalmıştır. Toplam dişi çıkış oranı hemen hemen bütün konsantrasyonlarda azalmıştır. Diazinon erkek birey çıkış oranını önemli ölçüde etkilememiştir. Maksimum toplam ergin (%76.25) ve dişi (%53.75) çıkışları kontrol grubunda gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Pimpla turionellae,* Diazinon, Biyokimyasal Parametreler, Eşey oranı

ABSTRACT

PhD THESIS

EFFECTS OF SUBLETHAL CONCENTRATIONS OF DIAZINON ON SEX RATIO AND SOME BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *Pimpla turionellae* L.

Tamer KAYIŞ

DEPARTMENT OF BIOLOGY
INSTITUE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor :Prof. Dr. İskender EMRE
Advisor :Asst. Prof. Dr. Mustafa COŞKUN
:Year: 2010, Pages: 101
Jury :Prof. Dr. İskender EMRE
:Prof. Dr. M. Rifat ULUSOY
:Prof.Dr. Mustafa CANLI
:Assoc. Prof. Dr. Bedii CİCİK
:Asst. Prof. Dr. Pınar ÖZALP

In this study, effects of different concentrations of diazinon (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 and 0.75ppm) on superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity, protein and glycogen amount and the sex ratio of *P. turionellae* were investigated by using a meridic diet.

SOD activity was affected significantly by diazinon treatment. Especially at 72th and 96th hours, high concentrations of diazinon caused an increase in SOD activity. CAT activity was less affected than SOD by diazinon treatment. One main finding in this study that tried concentrations of diazinon did not cause decreasing in CAT activity compared to control. Also, CAT activity showed increase depends on concentration and exposure time of diazinon.

Diazinon treatment did not remarkably affect on protein amount of insects. Glycogen amounts were significantly affected by diazinon at 24th and 48th hours; however, it was not affected at 72th and 96th hours. At 24th hour, except 0.01 ppm of diazinon, all concentrations of diazinon caused a significant decrease in glycogen amount, while 0.5 ppm of diazinon caused an increase in glycogen amount of insect at 48th hour.Lowest (0.01ppm) and highest (0.75ppm) concentrations of diazinon caused significant decrease on total adult emergence ratio. Total female emergence ratio significantly decreased in almost of all diazinon concentrations. Diazinon did not considerably affect on male emergence ratio. Maximum total adult emergence (76.25%) and female emergence (53.75%) was observed in control group.

Key Words: *Pimpla turionellae,* Diazinon, Biochemical Parameters, Sex ratio

TEŞEKKÜR

Öncelikle bana bu araştırma konusunu veren, çalışmayı yöneten, deneylerimin yapılması ve tezimin yazımı sırasında her türlü desteğini ve yardımını esirgemeyen, değerli hocam Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyelerinden Sayın Prof. Dr. İskender EMRE'ye, akademik yaşamımın tamamında olduğu gibi doktora çalışmamın da her aşamasında bana sonuna kadar destek olan, çalışmalarım sırasında benden yardımlarını ve bilgilerini esirgemeyen 2. danışmanım Adıyaman Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim üyelerinden Sayın Yrd. Doç. Dr. Mustafa COŞKUN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Tez izleme komitesinde yer alan, yardımları ve önerileriyle tezimin sonuçlandırılmasında büyük katkıları olan Sayın Prof.Dr. M. Rifat ULUSOY ve Sayın Yrd.Doç.Dr. Pınar ÖZALP'e teşekkürlerimi sunarım.

Bölüm olanaklarını benden esirgemeyen Bölüm Başkanı Sayın Prof.Dr. Mustafa CANLI'ya, çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Mehmet SULANÇ'a, tezimin her aşamasında yardımları ve destekleri ile beni yalnız bırakmayan, Fikret BÜYÜKKAYA ve Osman DURSUN'a, desteklerinden dolayı arkadaşlarım Elçin ve Asutay CANPOLAT ve Kadir KOCALAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Deneylerim sırasında bana laboratuar imkânı sağlayan Sayın Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e ve Bakteriyoloji laboratuarındaki arkadaşlarım Arş. Gör. Ayşenur KAYA ve Tamer AKKAN'a teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı Biyoloji Bölümü laboratuar sorumlusu Mustafa TOMAK'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımızda kullandığımız insektisitleri bize temin eden HEKTAŞ A.Ş. ye teşekkür ederim.

Son olarak tüm hayatım boyunca olduğu gibi doktora eğitimim süresince de benden maddi ve manevi her türlü desteklerini esirgemeyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ I
ABSTRACT III
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER VII
ÇİZELGELER DİZİNİ X
ŞEKİLLER DİZİNİ XI
SİMGELER VE KISALTMALAR XII
1.GİRİŞ 1
1.1. Oksidatif Stres 4
1.1.1. Serbest Radikaller 5
1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT) 6
1.1.2.1. Süperoksit Anyon Radikali ($O_2^{-\cdot}$) 7
1.1.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) 9
1.1.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$) 9
1.1.2.4. Singlet Oksijen ($^1O_2$) 10
1.1.2.5. Diğer Reaktif Oksijen Türleri 11
1.1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları 11
1.1.3.1. Biyolojik Kaynaklar 11
1.1.3.2. İntraselüler Kaynaklar 12
1.1.4. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar 12
1.1.4.1. Lipidler Üzerine Etkileri 12
1.1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri 13
1.1.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri 14
1.1.4.4. DNA Üzerine Etkileri 14
1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri 14
1.2.1. Enzimatik Antioksidanlar 16
1.2.1.1 Süperoksit Dismutaz **(**Süperoksit:superooksit oksidoredüktaz**)** (SOD) (EC:1.15.1.1) 16
1.2.1.1.(1). Cu/Zn SOD 17

1.2.1.1.(2). Mn SOD 18
1.2.1.1.(3). Fe SOD 19
1.2.1.2. Katalaz (Hidrojen peroksit:hidrojen peroksit oksidoredüktaz) (CAT) (EC: 1.11.1.6) 20
1.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz (glutatyon:hydrojen peroksit oksidoredüktaz) (GSH-Px) (EC: 1.11.1.9) 21
1.2.1.3.(1). Glutatyon redüktaz (glutatyon:$NADP^+$ oksidoredüktaz) (GSH-Rd) (EC: 1.8.1.7) 23
1.2.1.3.(2). Glutatyon–S-Transferaz (RX:glutatyon R-transferaz) (GST) (EC: 2.5.1.18) 23
1.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar 23
1.2.2.1. Glutatyon (GSH) 23
1.2.2.2. Vitamin E (Tokoferol) 24
1.2.2.3. Vitamin C (Askorbik asit) 25
1.2.2.4. Vitamin A 26
1.2.2.5. Melatonin 26
1.2.2.6. Biluribin 26
1.2.2.7. Albumin 27
1.2.2.8. Ürik asit 27
1.3.Pestisitler 27
1.3.1. İnsektisitler 27
1.3.1.1. Diazinon ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$) 29
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 31
3. MATERYAL ve METOD 35
3.1. Materyal 35
3.1.1. Deney Böceklerinin Elde Edilmesi 35
3.1.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması 35
3.1.2.1. Kontrol Besinin Hazırlanması 35
3.1.2.2. Diazinon İçeren Besinlerin Hazırlanması 38
3.1.3. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Böceklerin Beslenmesi 39

3.1.4. Diazinonun Eşey Oranına Etkilerinin Belirlenmesi 39
3.2. Metod 40
3.2.1. Böceklerin Homojenizasyonu 40
3.2.2. Protein Miktarının Tayini 40
3.2.3. Glikojen Miktarının Tayini 42
3.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini 43
3.2.5. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini 46
3.2.6. Diazion'un Eşey Oranına Etkilerinin Hesaplanması 47
3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi 47
4. BULGULAR 49
5. TARTIŞMA 73
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER 79
KAYNAKLAR 81
ÖZGEÇMİŞ 101

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Biyolojik önemi olan bazı serbest radikaller 6
Çizelge 1.2. Pestisitlerin etkiledikleri canlı gruplarına göre sınıflandırılması.....28
Çizelge 3.1. Kontrol besininin bileşimi.....36
Çizelge 3.2. Lowry ve ark (1951) protein miktarı ölçüm prosedürü 41
Çizelge 3.3. Van Handel (1985) glikojen miktarı ölçüm prosedürü.....42
Çizelge 3.4. Sun ve ark. (1988) SOD aktivitesi ölçüm prosedürü 45
Çizelge 3.5. Aebi (1984) CAT aktivitesi ölçüm prosedürü 46
Çizelge 4.1. Farklı diazinon konsantrasyonlarının ergin *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitelerine etkileri 50
Çizelge 4.2. Farklı diazinon konsantrasyonlarının ergin *P. turionellae* dişilerinin CAT aktivitelerine etkileri 53
Çizelge 4.3. Farklı diazinon konsantrasyonlarının ergin *P. turionellae* dişilerinin protein miktarına etkileri 56
Çizelge 4.4. Farklı diazinon konsantrasyonlarının ergin *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına etkileri.....59
Çizelge 4.5. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'*nın deney sonu toplam eşey oranına etkileri.....61
Çizelge 4.6. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'*nın günlere göre ergin birey çıkış oranına etkileri 63
Çizelge 4.7. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'*nın günlere göre dişi birey çıkış oranına etkileri.....66
Çizelge 4.8. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'*nın günlere göre erkek birey çıkış oranına etkileri.....70

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 4.1. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitesine etkileri 51
Şekil 4.2. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitesine süreye bağlı etkileri 51
Şekil 4.3. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin CAT aktivitesine etkileri 54
Şekil 4.4. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin CAT aktivitesine süreye bağlı etkileri 55
Şekil 4.5. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin protein miktarına etkileri....57
Şekil 4.6. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin protein miktarına süreye bağlı etkileri 57
Şekil 4.7. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına etkileri....60
Şekil 4.8. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına süreye bağlı etkileri 60
Şekil 4.9. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın eşey oranına etkileri....61
Şekil 4.10. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın ergin birey çıkışına etkileri....64
Şekil 4.11. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın ergin birey çıkışına günlere göre etkileri....65
Şekil 4.12. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın dişi birey çıkışına etkileri....67
Şekil 4.13. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın dişi birey çıkışına günlere göre etkileri....68
Şekil 4.14. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın erkek birey çıkışına etkileri....71
Şekil 4.15. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın erkek birey çıkışına günlere göre etkileri....71

SİMGELER ve KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolin esteraz
APOX	: Askorbat peroksidaz
BSA	: Bovin serum albumin
CAT	: Katalaz
Cu/Zn SOD	: Bakır/çinko süperoksit dismutaz
DHAR	: Dehidro askorbik asit redüktaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DDT	: Diklorodifeniltrikloretan
EDTA	: Etilendiamin tetraasetikasit
ER	: Endoplazmik retikulum
FeSOD	: Demir süperoksit dismutaz
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrojenaz
GSH	: Glutatyon
GSH-Px	: Glutatyon peroksidaz
GSH-Rd	: Glutatyon redüktaz
GSSG	: Okside glutatyon
GST	: Glutatyon –S-Transferaz
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
HO_2	: Su
HOCl	: Hipokloröz asit
L(R)OOH	: Hidroperoksid
MDA	: Malondialdehid
MnSOD	: Mangan süperoksit dismutaz
NADPH	: Nikotinamid adenindinükleotid fosfat
NBT	: Nitrobluetetrazolium
NO,	: Nitrik oksit
NO_3	: Nitrat
$^1O_2$	: Singlet oksijen

O_2	: Oksijen
$O_2^{-\cdot}$	: Süperoksit radikali
O_3	: Ozon
OC	: Organoklorlu insektisitler
$OH^{\cdot}$	: Hidroksil radikali
$ONOO^-$	: Peroksinitrit
OPIs	: Organofosforlu insektisitler
PL-GSH-Px	: Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz
PPM	: Milyonda bir birim
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
$R^{\cdot}$	: Karbon merkezli radikaller
RNA	: Ribonükleik asit
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
RO	: Alkoksil
ROO	: Peroksil radikali
ROOH	: Organik peroksitler
ROT	: Reaktif oksijen türleri
RS	: Til radikalleri
Se-GSH-Px	: Selenyuma bağımlı glutatyon peroksidaz
–SH	: Sülfhidril grubu
SOD	: Süperoksit dismutaz

1. GİRİŞ

Modern tarımsal uygulamalarda özellikle son yarım asırlık süre içerisinde çeşitli hastalık ve zararlılara karşı kimyasal ilaçların kullanılması kolay, pratik ve etkili bir yöntem olduğu için pestisit kullanımı sürekli olarak artmaktadır.

Pestisitler, pest adı verilen zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal ve biyolojik maddelerdir. Veteriner hekimlikte ve tarımsal mücadelede çeşitli pestisitler iç ve dış parazitlere karşı koruyucu amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğada kimyasal kirlenmeye neden olan bu maddeler, canlılar arasındaki besin zincirini veya doğrudan kontaminasyon ile insan sağlığını önemli ölçüde tehdit etmektedir (Ekebas ve ark., 2000).

Zirai mücadelede istenmeyen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitler toprakta, suda ve atmosferde birikerek çevre kirliliğine neden olmakta, bunun yanında insanlar da dâhil tüm canlılarda akut ve kronik zehirlenmelere, sinir sisteminde tahribata, enzim faaliyetlerinde bozulmalara, hücre membran yapısında değişmelere neden olmaktadır. Ayrıca bu tür kimyasalların aşırı ve bilinçsiz kullanımı çevreye faydalı birçok türün yok olmasına veya zararlı populasyonlarında bağışıklık mekanizmasının gelişmesine neden olmaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005). Bunlara ilaveten enzim aktivitesi üzerindeki değişiklikler, üremeyle ilgili anormallikler, beslenme ve beslenme alışkanlıklarıyla ilgili anormallikler, algılamada ve davranışlarda bozulma gibi değişikliklerle populasyon dinamiğini bozma, metabolizmayı değiştirme, parazitlemede ve parazit çıkışında anormalliklere sebep olma gibi birtakım değişikler de görülmektedir (Haynes, 1988).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de tarım alanlarındaki zararlıları yok etmek ve daha kaliteli ve bol ürün elde etmek amacıyla pestisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Pestisit kullanımı genelde bölgesel olarak ağırlık kazanmakla birlikte özellikle polikültür tarım yapılan Akdeniz bölgesinde yoğunluk kazanmaktadır (Comelekoglu ve ark., 2000).

Organofosforlu insektisitler (OPIs), 1940' lı yılların ortalarından bu yana kullanılan insektisitler arasında en önemli ve yaygın sınıfı oluşturmaktadır (Gallo ve Lawryk, 1991; Gültekin ve ark., 2001). Bu grup insektisitlerin organizmadaki birincil

hedefi asetilkolin esterazlardır (AChE) (Rajdeep ve Sendhu, 2008; Hazarika, 2003). Organofosfat grubu insektisitler, asetilkolin esterazın geri dönüşümsüz inhibisyonu sonucu kolinerjik sinapslarda asetilkolin (ACh) birikmesine bağlı olarak muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olup sonuçta kolinerjik sendroma yol açarlar (Giordano ve ark., 2007).

Serbest radikaller hücrede ekzojen ve endojen kaynaklara bağlı olarak oluşan, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, düşük molekül ağırlıklı moleküller olarak tanımlanırlar. Organizmalarda serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemleri arasında doğal bir denge söz konusudur. (Mercan, 2004).

Organizmada serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunun ana kaynağı ksenobiyotikler ve ksenobiyotiklerin biyoaktivasyonu sonucu oluşan ürünlerdir. Birçok maddenin serbest radikal oluşturarak oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir. Ksenobiyotikler arasında önemli bir grubu oluşturan pestisitlerin neden olduğu toksik etkilerin ortaya çıkarılmasında serbest radikal oluşumunun önemli rol oynadığı bilinmektedir (Mercan, 2004).

Bazı çalışmalar organofosforlu insektisitlerin toksisite mekanizmasında önemli bir komponent olarak oksidatif stresi ortaya koymuşlardır. Organofosforlu insektisitler serbest radikal oluşturma ve antioksidanlarla ya da reaktif oksijen türlerini temizleyen enzimlerin yapısında da değişikliğe yol açarak oksidatif strese neden olabilmektedir (Bagchi ve ark., 1995; Gültekin ve ark., 2001; Milatovic ve ark., 2006; Dettbarn ve ark., 2006; Kovacic, 2003).

Serbest radikallerin hücrede proteinler, lipitler, karbonhidratlar, enzimler, nükleik asitler ve DNA üzerine önemli etkileri olduğu rapor edilmiştir (Büyükkokuroğlu ve ark., 2001; Hermes-Lima ve Zenteno-Savin, 2002; Damien ve ark., 2004, Song, 2004). Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi arasındaki bu dengenin serbest radikaller yönüne kayması durumunda oksidatif stres meydana gelir (Serafini ve Del Rio, 2004; Mercan, 2004).

Antioksidanlar endojen ve ekzojen kaynaklı olup, hem doğrudan hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanser yapıcı ve toksik radikallerin istenmeyen etkilerine karşı organizmayı koruyan maddelerdir. Bu antioksidan

maddelerin başında vitamin C, A, E, β-karoten, metallotionein, melatonin, bilirubin gibi moleküllerle, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutation peroksidaz (GSH-Px) ve glutation reduktaz (GSH-Rd) gibi enzimler gelmektedir (Mercan, 2004).

Birçok canlı grubunda olduğu gibi böceklerde gelişme ve üremelerini devam ettirebilmek için protein, karbonhidrat ve lipit gibi temel besin maddelerine gereksinim duymaktadır (House, 1962, 1972, 1974; Dadd, 1973; Thompson ve Hagen, 1999). Glikojen böcekler tarafından ana enerji kaynağı olarak kullanılırken (Dadd, 1985), proteinin böceklerde üreme performansını doğrudan etkilediği bilinmektedir (Tsiropoulos, 1980, 1983; Ferro ve Zucoloto, 1991; Chang ve ark., 2001, Chang, 2004).

Parazitoidlerin birçoğu karbonhidrat bakımından zengin besinlerle beslenmekte ve bu besin kaynağını doğada nektar, polen ve bitki özsuyundan sağlamaktadırlar (Idris ve Grafius, 1995, 1997; Jacob ve Evans, 2004). Yüksek enerji kaynağı olan bu bileşiklerin parazitoidlerin ömür uzunluğu ve üreme performansına olumlu etkilerinin bulunduğu da bilinmektedir (Jacob ve Evans, 1998; Dyer ve Landis, 1996).

Böceklerin büyüme ve gelişmeleri için gerekli olan proteinlerin yapı taşı olan amino asitler, bu özelliklerinin yanında sinirsel iletimde, fosfolipitlerin sentezinde, enerji üretiminde ve morfogenetik işlemlerde önemli bir biyolojik role sahiptir (Chen, 1985).

Pimpla turionellae biyolojik kontrol programlarında kullanılabilirliği olan ergin hayat devresi oldukça uzun, Hymenoptera ordosuna ait endoparazitoit bir türdür. Birçok lepidopter, coleopter ve hymenopter türünü parazitleme yeteneğine sahip olduğu için önemli bir biyolojik kontrol ajanıdır (Thompson, 1957). Hymenopter türlerinin hayatta kalabilmeleri ve üreyebilmeleri için gerekli olan protein, lipit, karbonhidrat, vitamin, madensel tuzlar ve diğer besin bileşenlerini bitki özsuyu, polen veya konak hemolenfinden karşılamaları gerekmektedir (Emre, 1988). Bu nedenle zararlılarla mücadele için kullanılan insektisitlerden hem oral hem de dermal yollarla etkilenmeleri muhtemeldir

Pestisitlerin subletal dozlarının parazitoidlerin parazitleme gücünü azaltması ve buna ilaveten parazitoid çıkış oranını düşürmesi biyolojik kontrol programlarında negatif bir faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Bununla beraber bu etkilerin türden türe farklılık gösterebileceği de göz önünde bulundurulmalıdır.

Biyolojik kontrol programlarında amaca ulaşılabilmesi için bu tür biyolojik kontrol ajanlarının maksimum sayıda ve etkin bir şekilde üretilmesi ve ekosisteme dâhil edilmesi gerekmektedir. Bunun için de zararlı türünün olduğu kadar onların doğal düşmanlarının da fiziksel, biyokimyasal ve davranışsal özelliklerinin de iyi bilinmesi gerekmektedir.

Yukarıda verilen bilgiler doğrultusunda yapılması planlanan çalışmada farklı diazinon konsantrasyonlarının *Pimpla turionellae'*nin eşey oranı, bazı antioksidan enzim aktiviteleri ve protein ve glikojen miktarına etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

1.1. Oksidatif Stres

Serbest radikaller organizmalarda sürekli olarak oluşturulan ve antioksidan savunma sistemi tarafından düzenli olarak ortadan kaldırılan moleküllerdir. Bu mekanizmada serbest radikallerin oluşumu ile bunların antioksidan sistem tarafından ortadan kaldırılması arasında bir denge söz konusudur ki bu dengeye oksidatif denge adı verilir. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmez. Antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kalması veya serbest radikal oluşumunun artması nedeniyle oksidatif dengenin serbest radikaller yönüne kayması durumunda oksidatif stres meydana gelir (Serafini ve Del Rio, 2004; Hermes-Lima ve Zenteno-Savin, 2002).

Az miktarda serbest radikal oluşumu bazı durumlarda, örneğin bakterilerin nötrofiller tarafından oksijen radikalleri ile öldürülmesi gibi, organizmaya yararlı olabilir. Bunun yanında fazla miktarda serbest radikal oluşumu sonucu oluşan oksidatif stres ile hücrede DNA, proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve enzimlerin zarar görmesine yol açabilir (Song, 2004; Nordberg ve Arner, 2001).

Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (ROT); süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$), peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$) ve radikal olmayan hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerini oluştururlar (Babior, 2000).

1.1.1. Serbest Radikaller

Atomların çekirdeklerini çevreleyen ve içinde elektronların bulunduğu boşluklara orbital adı verilmektedir. Her bir orbitalde spinleri birbirine ters yönde olan iki elektron bulunur. Bu elektronlara eşlenmemiş veya ortaklanmamış elektronlar denir (Halliwell, 1984).

Serbest radikaller, dış orbitallerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron bulunduran reaktif atom veya moleküllerdir (Mercan, 2004). Bu elektronlar üst kısımlarına konulan nokta ile ifade edilirler (Akkuş, 1995). Serbest radikallerin reaktivitesi karşı spin yönünün bir elektron kazanma isteğinden dolayı oluşur (Deaton ve Marlin, 2003).

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_3 gibi atom kombinasyonları radikaller olarak sınıflandırılmaktadır. Negatif yüklü, pozitif yüklü veya nötral olabilen serbest radikaller dış orbital konfigürasyonunun yanı sıra termodinamik yapıları ve lokal kinetik aktiviteleri göz önünde bulundurularak değerlendirilir (Akkuş, 1995; Sen, 1995; Yurdakul, 2004; Halliwell ve Gutteridge, 2000).

Serbest radikaller başlıca 3 yolla oluşur (Cheesman ve Slater, 1993; Wu ve Cederbaum, 2003).

1. Kovalent bağların homolitik bölünmesiyle; kovalent bağlı molekülün bölünme sonrasında her bir parçasında ortak elektronlardan bir kalır.
2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesiyle; Radikal özelliği bulunmayan bir molekülden tek bir elektron kaybı sırasında dış orbitalinde ortaklanmamış elektron kalarak radikal formu oluşturur.

3. Normal bir moleküle elektron transferiyle; Radikal özelliği bulunmayan bir molekül, tek elektron transferi ile dış orbitalinde ortaklanmamış elektron içeren radikal formuna dönüşür.

Biyolojik sistemlerde serbest radikaller en fazla elektron transferi sonucu oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1999), ve reaktif oksijen türleri, reaktif nitrojen türleri (RNT) ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba ayrılır (Song, 2004).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir (Mates, 2000).

Çizelge 1.1. Biyolojik Önemi Olan Bazı Serbest Radikaller (Halliwell ve Gutteridge, 2000)

Radikaller	**Non- radikaller**
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit, H_2O_2
Hidroksil, $OH^{\cdot}$	Hipokloröz asit, HOCl
Peroksil, RO_2	Ozon, O_3
Alkoksil, RO	Singlet oksijen, O^{-}
Hidroperoksit, HO_2	Peroksinitrit, $ONOO^{-}$
Nitrik oksit, NO	Hidroperoksid, L(R)OOH

1.1.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Oksijen, canlı organizmaları oluşturan moleküllerin yapısına girmesi, besin kaynağı olan maddelerde temel element olması, aerobik canlılardaki oksidasyon redüksiyon reaksiyonları ve solunumda rol oynaması nedeniyle önemlidir (Thurnam, 1990; Erenel ve ark. 1992).

Moleküler oksijen taşıdığı iki ortaklanmamış elektrondan dolayı bir diradikal olarak değerlendirilir (Mates, 2000). Vücuttaki moleküler oksijenin %95-98'i enzimatik yollarla suya çevrilirken, geri kalan kısmı elektron eklenmesi sonucu hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştiren, membranda oksidatif yıkıma neden olan reaktif oksijen türevlerini meydana getirir. Oksijenden oluşan önemli

serbest radikaller arasında superoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali ve singlet oksijen yer almaktadır. (Ünlü ve Akaya, 1999; Barnes, 1990; Wickens, 2001).

Oksijen elektron alarak en son suya indirgenir. Oksijene bir elektron eklenmesi sonucu süperoksit anyonu, iki elektron eklenmesi sonucu hidrojen peroksit, üç elektron eklenmesi sonucu hidroksil radikali ve en son dört elektron eklenmesi ile su oluşur (Wickens, 2001; Halliwell, 1994; Halliwell ve Guttendge, 1984) (Reaksiyon 1.1, 1.2, 1.3, 1.4)

$O_2 \xrightarrow{e^-}$ süperoksit anyon radikali $O_2^{\cdot-}$ (1.1)

$O_2^{\cdot-} \xrightarrow{e^-}$ hidrojen peroksit (H_2O_2) (1.2)

$H_2O_2 \xrightarrow{e^-}$ hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) (1.3)

$OH^{\cdot} \xrightarrow{e^-}$ su (H_2O) (1.4)

Oksijen radikalleri endojen (nötrofil fagositoz sistemi vb.) ve eksojen (x ışınları, sigara, pestisitler ve ilaçlar vb.) kaynaklı olabilirler. Serbest oksijen radikalleri hücrelerin lipit, protein, karbohidrat ve DNA gibi yapılarına etki ederler (Hermes-Lima ve Zenteno- Savin, 2002; Song, 2004; Serafini ve Del Rio, 2004).

Bu oksijen metabolizması ürünlerinin uzaklaştırılması enzimatik (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz) ve enzimatik olmayan (glutatyon, vitamin A, C, E, melatonin, albumin, bilirubin, ürik asit vb.) hücresel savunma mekanizmaları ile kontrol edilmektedir (Wickens, 2001).

ROT terimi, okside edici etkileri olan hem oksijen türlerini hem de bazı nonradikal bileşikleri ifade eden geniş bir terimdir. Tüm oksijen radikalleri ROT tur, ancak tüm ROT lar oksijen radikali değildir (Halliwell, 2006).

1.1.2.1. Süperoksit Anyon Radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Moleküler oksijen dış orbitalinde paylaşılmamış iki elektron bulundurur. Bu elektronlar paylaşılmadığında, ayrı orbitallerde bulunduklarında ve spinleri aynı yönde olduğunda en düşük enerji seviyesindedir. Bu dış orbitallerden her biri birer

elektron daha alabilir. Bu orbitallerin tek bir elektron alması sonucu süperoksit radikali oluşur (Fridovich, 1975). Bu olay oksijeni kullanan hücrelerin hemen hepsinde gerçekleşebilir. En büyük kaynağı elektron transport zinciridir (Halliwell, 1999, Halliwell ve Gutteridge, 1990).

Moleküler oksijene bir elektron bağlanmasıyla oluşan süperoksit anyonu bir serbest radikal olmasına karşın çok reaktif değildir. Lipit mebranlarının geçirgenlik yeteneğini azaltır bu nedenle üretildiği yerde çevrili olarak kalır (Nordberg ve Arner, 2001).

Süperoksit radikalleri başlıca şu yollarla oluşabilir: (Sies, 1991; Yurdakul, 2004).

1- İndirgeyici özellikteki biyomoleküller oksijene tek elektron verip kendileri yükseltgenirken süperoksit radikali oluşur. Hidrokarbonlar, flavinler, tiyoller, katekolaminler, ferrodoksinler, indirgenmiş nükleotidler gibi biyolojik moleküller yükseltgenirken süperoksit oluşumuna neden olurlar.

2- Başta çeşitli dehidrojenazlar ve oksidazlar olmak üzere enzimlerin katalitik etkisi sırasında süperoksit radikali bir ürün olarak oluşabilir.

3- Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında kullanılan oksijene NADH-dehidrojenaz ve koenzim A gibi elektron taşıyıcılarından elektron transferinden dolayı tüketilen oksijenin % 1–5 kadarı süperoksit oluşumuna neden olur.

4- Aktive edilen fagositik lökositler süperoksit üreterek fagozomlar içine ve bulundukları ortama verilirler. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal üretimi daha reaktif türlerin oluşumunu da katalizler.

Süperoksit radikali hem oksidan hem de indirgendir. Bu özelliği ile adrenalin, dopamin, aksorbat veya hidroksil amini oksitler, nitroblue tetrazolium vaya sitokrom C yi indirgerler (Bast ve ark., 1991).

Süperoksit bir radikal olmakla birlikte çok zararlı değildir. Ancak H_2O_2 kaynağı olması ve geçiş metallerini indirgeyebilmesinden dolayı oldukça önemlidir. İki molekül süperoksit proton alarak hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene dönüşür (Nodberg ve Arner, 2001) (Reaksiyon 1.5).

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (1.5)$$

1.1.2.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması veya süperoksit anyonunun bir elektron alması sonucu peroksit molekülü meydana gelir. Peroksit molekülü de iki hidrojen atomuyla birleşerek hidrojen peroksiti meydana getirir (Cheesman ve Slater, 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Hidrojen peroksitin oluşmasına neden olan bir diğer olay da kendiliğinden veya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenen dismutasyon tepkimesidir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşturabilirler (Reaksiyon 1.6).

$$O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \xrightarrow{SOD-Spontan} H_2O_2 + O_2 \qquad (1.6)$$

Spontan olarak gerçekleşen dismutasyon için optimum pH: 4.8' dir, ancak süperoksit dismutaz (SOD) enziminin katalizlediği reaksiyonlar daha geniş bir pH aralığında gerçekleşebilir. Hidrojen peroksit birçok bileşiği oksitleyici bir ajandır. Proteinleri, tiyol grubu içeren enzimleri, fosfolipidleri, karbohidratları ve DNA yı hedef alıp fenton reaksiyonu aracılığıyla hasara neden olabilir (Winterbourn, 1995).

H_2O_2 bir serbest radikal değildir ancak yapısında su bulundurmasından dolayı biyolojik membranlardan geçebildiği için çok önemli bir moleküldür. Başta hidroksil ve hipokloröz asit olmak üzere birçok oksidanın oluşmasına yol açar (Deaton ve Marlin, 2003).

Hidrojen peroksitin önemli bir görevi de intrasellüler iletişim molekülü olarak görev yapmasıdır (Rhee, 1999; Nordberg ve Arner, 2001). İnsan metabolizmasında bir saat içerisinde yaklaşık olarak $3x10^9$ toksik hidrojen peroksit molekülü oluşmaktadır (Wickens, 2001).

1.1.2.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$)

Hidroksil radikali biyolojik sistemlerde yaklaşık olarak 10^{-9} saniye yarılanma ömrü olan son derece güçlü bir oksidandır. Bilinen en toksik radikaldir ve lipitler,

proteinler ve nükleik asitler dâhil hemen hemen bütün biyolojik molekülleri okside edebilir (Fantel, 1996). Biyomoleküllerle olan güçlü aktivitesinden dolayı hidroksil radikali ($OH^{\bullet}$) diğer reaktif oksijen türlerine (ROT) nazaran biyolojik sistemlere çok daha fazla hasar vermektedir (Betteridge, 2000).

Hidroksil radikali hidrojen peroksitin geçiş metalleri varlığında indirgenmesi ile (Fenton Reaksiyonu), Hidrojen peroksitin süperoksit radikali ile reaksiyonu (Haber-Weiss Reaksiyonu) ve suyun yüksek enerjili iyonize edici radyasyona maruz kalması sonucunda meydana gelir (Cheesman ve Slater, 1993; Halliwell, 1999; Song, 2004).

Fenton ve Haber- Weiss Reaksiyonları:

Hidrojen peroksidin Fe^{+2} ve diğer geçiş elementleri (Cu, Zn, Mn, Cr, Co, Ni, Mo) varlığında indirgenmesi (Fenton Reaksiyonu) ile veya süperoksit radikali ile reaksiyonu sonucunda **(**Haber-Weiss Reaksiyonu) hidroksil radikali oluşur (Fridovich, 1997; Nordberg ve Arner, 2001; Deaton ve Marlin, 2003) (Reaksiyon 1.7, 1.8).

$$H_2O_2 + Fe^{+2} \longrightarrow OH^{\bullet} + OH^{-} + Fe^{+3} \quad \text{(Fenton Reaksiyonu)} \qquad (1.7)$$

$$Fe^{+2} + O_2^{\cdot-} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{+3} + OH^{\bullet} + OH^{-} \quad \text{(Haber-Weiss Reaksiyonu)} \qquad (1.8)$$

1.1.2.4. Singlet Oksijen ($^1O_2$)

Singlet oksijen ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür. Oksijenin yüksek enerjili ve mutajenik formudur. Oksijenin eşleşmemiş elektronlarından birinin verilen enerji sonucu bulunduğu orbitalden başka bir orbitale veya kendi spin yönünün tersine yer değiştirmesi sonucunda oluşur (Cross ve ark, 1987; Ames ve ark,. 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999)

Singlet oksijen *in vivo* ortamda sitokrom P_{450}, endoperoksit sentetaz ve myeloperoksidaz reaksiyonlarıyla oluştuğu gibi iyonize radyasyonla da oluşabilir.

Serbest radikal reaksiyonları sonucunda meydana gelebilir veya serbest radikal reaksiyonlarına yol açabilir (Bast ve ark., 1991).

Singlet oksijenin delta ve sigma olmak üzere iki formu bulunmaktadır. Biyolojik olarak en önemli formu delta singlet oksijendir (Halliwell ve Gutteridge, 1990; Cheesman ve Slater, 1993, Sies, 1991).

1.1.2.5. Diğer Reaktif Oksijen Türleri

Reaktif oksijen türlerinin diğer bir grubu, organik peroksitler ($ROOH^{\bullet}$) ve bunların hemolitik yıkım ürünleri olan alkoksi ($RO^{\bullet}$) ve hidroksiperoksil ($ROO^{\bullet}$) veya indirekt olarak hidro ve semikinonlar veya nitroaromatlardır. Ayrıca karbon merkezli organik radikaller ($R^{\bullet}$), tiyil radikalleri (RS) gibi önemli radikaller vardır (Cheesman ve Slater, 1993; Mruk ve ark., 2002; Valavanidis ve ark., 2006).

1.1.3. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller organizmalarda normal metabolik aktivitede meydana gelen oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları sırasında, organizmada yabancı maddelerin (ksenobiyotiklerin) metabolize edilmesinde veya organizmanın radyasyon gibi dış etkilere maruz kalması sonucunda oluşabilir (Kehrer, 1993; Wickens, 2001).

Organizmada serbest radikal kaynakları başlıca iki grupta toplanabilir.

1.1.3.1. Biyolojik Kaynaklar

Aktifleşmiş fagositler, antineoplastik ajanlar (Kanser ilaçları, örneğin; bleomisin, doxurobisin, andriamisin), radyasyon, alışkanlık yapan maddeler (alkol, uyuşturucu), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasallar, pestisitler, sigara dumanı, anestezikler), stres (streste artan katekolamin sonucu katekolaminlerin oksidasyonu), bunlara örnek olarak verilebilir (Kappus, 1987; Akkuş, 1995; Mohammad ve ark., 2004, Oruc Ozcan ve ark., 2004).

1.1.3.2. İntrasellüler Kaynaklar

Küçük moleküllerin oksidasyonu (tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler), enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dehidrojenaz, hemoglobin), mitokondrial elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum (ER) ve nükleer membran transport sistemi (sitokrom P_{450}, sitokrom b5), peroksizomlar (oksidazlarflavoproteinler), plazma membranı (lipooksijenaz, lipid peroksidasyonu, fagositlerde NADPH oksidaz), oksidatif stres yapıcı durumlar (iskemi, travma, intoksikasyon) bunlara örnek olarak verilebilir (Cheesman ve Slater, 1993; Akkuş, 1995; Özkan ve Fışkın, 2004).

1.1.4. Serbest Radikallerin Yol Açtığı Hasarlar

Serbest radikaller, genelde iç ve dış etkenlere bağlı olarak üretimindeki artış ve antioksidan sistemin yetersizliğine bağlı olarak başta membran lipidleri olmak üzere, proteinler, karbonhidratlar ve DNA ya önemli zararlar verebilmektedirler. Bu zararlar hücrenin cinsine, maruz kalınan strese ve şiddetine bağlı olarak (Vaca ve ark., 1987; Freeman ve Crapo, 1982), toksik, mutajenik veya karsinojenik olabilir (Nordberg ve Arner, 2001).

1.1.4.1. Lipitler Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin zararlı etkilerinden en çok etkilenen yapı membran lipidleridir (Cheesman ve Slater, 1993). Hücre membranındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikellerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona neden olurlar (Weiss ve Lobuglio, 1982; Freeman ve Crapo, 1982; Halliwell ve Gutteridge, 1999). Bunun sonucunda membran akışkanlığında bozulma ve permeabilite değişiklikleri meydana gelir (Kavas, 1989).

Peroksidasyon bir metilen grubundan bir hidrojen atomunu yerinden çıkaran herhangi bir radikal tarafından başlatılabilir. Oksijen peroksil radikalini oluşturmak için karbon radikaline eklenir ve sonuçta diğer lipit molekülünden bir H atomunu

çıkararak lipit hidroksili oluşturur. Bu yeniden düzenleme ile endoperoksitler daha ileri derecede oksidasyon sonucunda ise melandialdehit (MDA) oluşabilir (Erenel ve ark., 1992; Sinclair ve ark., 1990).

MDA hücre membranlarında iyon alışverişine etki ederek bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişimi gibi olumsuz sonuçlar meydana gelir (Moslen, 1994).

1.1.4.2. Proteinler Üzerine Etkileri

Proteinlerin serbest radikal hasarlarından ne derece etkileneceği proteinin aminoasit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi daha yüksek olduğundan triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi aminoasitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenmektedirler (Nordberg ve Arner, 2001; Netto ve ark. 2002).

"Hem" proteinleri de serbest radikallerin oluşturduğu hasarlardan büyük ölçüde etkilenirler, özellikle oksihemoglobin süperoksit ve hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek methemoglobini oluşturur (Rice-Evans ve ark., 1991; Brantley, 1993; Akkuş, 1995, Domigan ve ark., 1995).

Proteinlerin tiyol gruplarının oksidasyonu, enzim fonkisyonundaki kayıplara, membran iyon ve metabolit transportunda aksamalara ve kontraktil fonksyonlarda bozulmalara neden olmaktadır (Shacter, 2000).

Serbest radikallerin proteinler üzerinde neden olduğu başlıca değişiklikler şunlardır (Erenel ve ark., 1992);

- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- Proteinlerin fragmantasyonu,
- Proteinlerin agregasyonu ve çapraz bağlanmalar,

1.1.4.3. Karbonhidratlar Üzerine Etkileri

Serbest radikallerin etkisiyle, monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksit ve okzoaldehid yapısında ürünler meydana gelir. Okzoaldehidler, DNA, RNA ve proteinlere bağlanabilme ve aralarında çapraz bağ oluşturabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Bu yüzden kanser ve yaşlanma gibi olaylarda etkili oldukları düşünülmektedir (Thornaley ve Vasak, 1985).

1.1.4.4. DNA Üzerine Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikallerin mutajenik etkilerinden dolayı DNA üzerinde önemli hasarlara neden olduğu bilinmektadir (Halliwell, 1994; Marnett, 2000). DNA'nın yarılması, DNA-protein çapraz bağları, purinlerin otooksidasyonu gibi bazı durumlar reaktif oksijen türlerinin özellikle de hidroksil radikalinin neden olduğu hasarlardır (Gümrükçüoğlu, 2009; Mates ve ark. 1999). Ayrıca aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit, membrandan geçerek hücre çekirdeğinde hasarlara yol açabilmektedir (Halliwell, 1994; Ames ve ark., 1993; Cheesman ve Slater, 1993; Lunec ve Blake, 1990). Eğer hidroksil radikali DNA'nın yakınlarında oluşursa purin ve primidin bazlarına etki ederek mutasyona neden olur. Singlet oksijenin nükleik asitlerle tepkimeye girme yeteneği daha sınırlıdır. Süperoksit anyonu güçlü bir oksitleyici olduğundan guanin gibi yüksek elektron yoğunluklu bölgeler içeren moleküllerle daha kolay tepkimeye girerler (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

1.2. Antioksidan Savunma Sistemleri

Normal fizyolojik şartlarda, hücreler oluşan serbest radikal ürünlerinin belirli bir düzeyin altında tutulması ve dolayısıyla onların neden olduğu oksidatif hasarların engellenmesi için enzimatik ve nonenzimatik yapılardan oluşan antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Hücreler bu sayede serbest radikallerden ve lipit

peroksidasyonundan korunurlar (Thomas, 1995; Gutteridge ve Halliwell, 2000; Mates, 2000; Urso ve Clarkson, 2003; Deaton ve Marlin, 2003;Valavanidis ve ark, 2006).

Özellikle enzimatik savunma sistemleri reaktif oksijen türevleri, reaktif nitrojen türevleri (RNT) ve bunların ara ürünlerini ortadan kaldırma, nötralize etme ya da süpürme yeteneğine sahip molekülleri içerirler (Mruk ve ark., 2002).

Antioksidanlar etkilerini başlıca iki şekilde gösterirler; (Winston, 1991; Murray ve ark., 1993; Hermes-Lima ve ark., 2001).

1- Serbest radikal oluşumunun engellenmesi

a- Başlatıcı reaktif türevleri uzaklaştırarak

b- Oksijeni uzaklaştırarak veya konsantrasyonunu azaltarak

c- Katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak

2- Oluşan serbest radikallerin etkisiz hale getirilmesi

a- Toplayıcı etki: ROT lerini etkileyerek onları tutmaya ve daha az reaktif başka moleküllere çevirmeye yönelik etki (enzimler).

b- Bastırıcı etki: ROT leri ile etkileşip onlara bir proton ekleyerek aktivite kaybına neden olan etki (flavinoidler, vitaminler).

c- Onarıcı etki

d- Zincir kırıcı etki: ROT lerini ve zincirleme reaksiyon başlatacak olan diğer maddeleri kendilerine bağlayıp reaksiyon zincirini kırarak fonksiyonlarını önleyici etki (hemoglobin, seroplazmin, mineraller, vitaminler).

Çeşitli özellikteki serbest radikaller için hidrofilik ve lipofilik antioksidanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Hidrofilik özellikteki antioksidanlar sitozol ve ekstasellüler sıvılarda, lipofilik özelliktekiler ise membranda ve lipoproteinlerde yer almaktadırlar (Blokhina ve ark., 2003).

Antioksidanlar enzimatik ve nonenzimatik olarak sınıflandırılırlar. Hücresel seviyede etkili olan enzimatik sistemler içinde birincil olan antioksidan enzimler arasında süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon proksidaz (GSH-Px), yer alır. Bu birincil savunma enzimlerinden başka dolaylı olarak antioksidan sistem içinde yer alan glutatyon redüktaz (GSH-Rd) ve glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) enzimleride vardır ve bunlara ikincil antioksidan enzimler denilmektedir. Non

enzimatik antioksidan savunma sistemleri ise başlıca glutatyon (GSH), vitamin A, C, E, melatonin, albümin, bilirubin, ürik asit vb. den meydana gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Aydın ve ark., 2001).

1.2.1. Enzimatik Antioksidanlar

1.2.1.1. Süperoksit Dismutaz (Süperoksit: süperoksit oksidoredüktaz) (SOD) (EC.1.15.1.1)

İlk olarak 1968 yılında McCord ve Fridovich tarafından tanımlanan süperoksit radikallerinin katalitik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen ve lipit peroksidasyonu inhibe eden bir metalloenzimdir (McCord ve Fridovich, 1969; Moscone, 1988; Murray ve ark., 1993) (Reaksiyon (1.9)

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (1.9)$$

Bu reaksiyon kendiliğinden gerçekleşebildiği gibi, SOD katalizörlüğünde 4000 kat daha hızlı gerçekleşmektedir (Akkuş, 1995).

Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit radikali üretilmesine rağmen intrasellüler süperoksit miktarı SOD sayesinde düşük tutulmaktadır.

Reaksiyon sonucunda membrandan geçemeyen süperoksit radikali membrandan geçebilen hidrojen peroksite dönüşmektedir. Hidrojen peroksit, geçiş metalleri iyonlarının varlığında Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile son derece reaktif olan hidroksil radikallerine dönüşmektedir (Rigo ve ark., 1977; Deaton ve Marlin, 2003) bu nedenle SOD aktivitesindeki artışın oluşturabileceği aşırı H_2O_2 birikmesinin ancak CAT ve GSH-Px enzimlerinin artan aktiviteleri ile kontrol edilebileceği ileri sürülmektedir.

Süperoksit dismutazlar, merkezlerinde bulunan geçiş metallerine göre, Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe-SOD olmak üzere üç sınıfa ayrılır (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Fridovich, 2001).

1.2.1.1.(1). Cu/Zn-SOD

1939 yılında Mann ve Keilin, sığır kanından bakır içeren mavi-yeşil renkte hemokuprein olarak adlandırılan bir protein izole etmişlerdir. 1953 de benzer bir protein at karaciğerinden izole edilmiş ve buna da hepatokuprein denilmiştir. 1970 yılında eritrositlerdeki bu proteinin bakır yanında çinko da içerdiği anlaşılmıştır. Başlangıçta bu proteinin enzimatik özellik taşımadığı sadece metal depolayan bir yapı olduğu ileri sürülmüştür. 1969 da McCord ve Fridovich bu proteinin eritrositlerde süperoksit radikalini katalitik olarak yıktığı ve SOD aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuşlardır (McCord ve Fridovich, 1969; Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Cu/Zn-SOD toplam 32 kDa molekül ağırlığına sahip iki eşit molekül ağırlıklı alt üniteden oluşur ve her alt ünitesinde bir bakır ve bir çinko atomu içerir ve hücrelerde en bol bulunan SOD izomeridir (Mruk ve ark., 2002).

Cu/Zn-SOD enziminde bulunan bakır iyonları oksidasyon ve redüksiyona uğrayarak dismutasyon reaksiyonlarında görev alırken, çinko enzimin stabilizitesinde önemlidir (Fridovich, 1995) (Reaksiyon 1.10)

$$SOD\text{-}Cu^{+2} + O_2^{\cdot-} \longrightarrow SOD\text{-}Cu^{+} + O_2$$

$$SOD\text{-}Cu^{+} + O_2^{\cdot-} + 2H^{+} \longrightarrow SOD\text{-}Cu^{+2} + H_2O_2$$

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^{+} \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (1.10)$$

Hayvan hücrelerinde Cu/Zn-SOD' lar daha çok sitosolde yerleşmekle beraber lizozomlarda, çekirdekte ve iç ve dış mitokondrial membran boşluklarında bulunmaktadır (Fridovich, 2001). Siyanür iyonları Cu/Zn-SOD' lar için güçlü bir

inhibitördür, bunun yanında dietilditiyokarbamatlar enzimin aktif bölgesindeki bakırı bağlayarak aktif bölgeden uzaklaştırır böylece enzimi etkisiz hale getirebilir (Heikkila ve ark., 1976).

1.2.1.1.(2). Mn-SOD

İlk kez *Echerichia coli*'den izole edilen Mn-SOD' ın Cu/Zn-SOD'dan tamamen farklı olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu enzimin mavi-yeşil renk yerine pembe renkte olduğu, siyanür veya dietilditiyokarbamatlarla inhibe olmadığı, moleküler kütlesinin 32 kDa yerine 80 kDa olduğu, kloroform-etanole karşı dayanıklı olduğu ve aktif bölgesindeki metalin Mn^{+3} olduğu bulunmuştur. Bu farklılıklara karşın Cu/Zn-SOD'lar gibi aynı reaksiyonu katalize ettiği bilinmektedir (Fridovich, 1995; Halliwell ve Gutteridge, 1999) (Reaksiyon 1.11)

$$Mn^{+3} + O_2^{\cdot-} \longleftrightarrow [Mn^{+3}\text{-}\, O_2^{\cdot-}] \longrightarrow Mn^{+2} + O_2$$

$$Mn^{+2} + O_2^{\cdot-} \longleftrightarrow [Mn^{+2}\text{-}\, O_2^{\cdot-}] + 2H^+ \longrightarrow Mn^{+3} + H_2O_2$$

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longleftrightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (1.11)$$

pH 7.0 da Mn-SOD ların süperoksiti dismutasyon oranı Cu/Zn-SOD' larla aynıdır, fakat yüksek pH larda bu oran Cu/Zn-SOD'dan daha azdır. Ayrıca Mn-SOD'lar ısıya ve kimyasallara karşı daha dayanıksızdır (Fridovich, 1995).

Mn-SOD lar bakteri, bitki ve hayvan dokularında bulunabilir. Mitokondrial bir protein olup kovalent bağ oluşturamayan eşit molekül ağırlıklı dört alt üniteye sahiptir (Orbea ve ark., 2000). Mn-SOD aktivitesi bulunduğu dokulara ve türe göre değişiklik göstermektedir (Aydın ve ark.,2001).

1.2.1.1.(3). Fe-SOD

Toplam 41 kDa ağırlığında iki protein alt ünitesi içerir ve her proteinde bir ya da iki demir atomu bulunur. Enzim normal haldeyken demir iyonu +3 değerliklidir, katalitik döngüde ise Fe^{+3} ile Fe^{+2} arasında dönüşüm gerçekleşir. Diğer SOD tiplerine göre süperoksitin dismutasyon oranı düşüktür. Mn-SOD lar gibi yüksek pH larda aktivitesi düşüktür ve siyanürle inhibe edilemez (Yost ve Fridovich, 1973) (Reaksiyon 1.12).

$$Fe^{+3} + O_2^{\cdot-} \longleftrightarrow [Fe^{+3}\text{-}O_2^{\cdot-}] \longrightarrow Fe^{+2} + O_2$$

$$Fe^{+2} + O_2^{\cdot-} \longleftrightarrow [Fe^{+2}\text{-}O_2^{\cdot-}] + 2H^+ \longrightarrow Fe^{+3} + H_2O_2$$

$$2O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2 \qquad (1.12)$$

SOD'nin vücut sıvısı ve organellerdeki aktivitesini belirlemek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlardan en sık kullanılanlar, test ortamında enzimatik ve nonenzimatik olarak oluşturulan süperoksit radikallerinin indikatör bir madde ile reaksiyonuna dayanan yöntemdir. Örnekteki SOD aktivitesi indikatör ile süperoksit radikalinin reaksiyonunun SOD tarafından inhibisyonuna oranına göre hesaplanmaktadır.

Bu amaçla geliştirilen yöntemlerden en sık kullanılan ksantin-ksantin oksidaz sistemidir. Bu sistemde süperoksit indikatörü olarak, nitrobluetetrazolium (NBT), tetranitrometan, hidroksilamin, ve sitokrom C nin reduksiyonundan yararlanılmaktadır (Beuchamp ve Fridovich, 1971; Aust ve ark., 1972; Dechatelet ve ark., 1974; Peeters-Joris ve ark., 1975; Kono, 1978; Geller ve Winge, 1982; Sun ve ark., 1988, Chen ve Pan, 1996; Ukeda ve ark., 1997).

Ayrıca süperoksit radikali oluşturucu diğer kaynaklar olarakta epinefrin, pirogallo, 6-hidroksidopamin de kullanılmaktadır (Misra ve Fridovich, 1972; Marklund ve Marklund, 1974; Henry ve ark., 1976; Heikkila ve Cabbat, 1976; Misra ve Fridovich, 1977; Sun ve Zigman, 1978).

Süperoksit radikalinin doğrudan izlenmesine dayalı SOD ölçüm yöntemleri ise pulse radyoliz tekniği, polorografik teknikler ve hızlı dondurma EPR tekniğidir, bunun yanında daha spesifik immünokimyasal yöntemlerde kullanılmaktadır (Marklund, 1976; Bolann ve Ulvik, 1993; Okado-Matsumuto ve Fridovich, 2001).

1.2.1.2. Katalaz (hidrojen-peroksit: hidrojen-peroksit oksidoredüktaz) (CAT) (EC: 1.11.1.6)

Katalaz, 1937 yılında Sumner ve Dounce tarafından sığır karaciğerinden izole edilmiştir. Molekül ağırlığı 240 kDa civarında olup, aktif kısmında dört tane ferrihem grubu (Fe^{3+}-protoforfilin) bulunduran bir hemoproteindir. Her alt ünite aynı zamanda enzimi kendi substratı H_2O_2 ye karşı koruyan ve etkinliğini artıran NADPH içerir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Aydın ve ark., 2001; Nordberg ve Arner, 2001).

SOD aracılığıyla oluşan H_2O_2 bir radikal olmamasına karşın, Cu ve Fe iyonlarının katalizörlünde Fenton reaksiyonu ile H_2O_2 den en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikalini getirdiği için önemlidir (Cheung ve ark., 2001).

Katalaz, kataliz görevini iki farklı yolla gerçekleştirir (Mavelli ve Rotilio, 1984).

1- H_2O_2 in parçalanması (katalitik reaksiyon)

2- Alifatik alkollerin peroksidasyonu (peroksidik reaksiyon)

Katalaz, SOD a benzer bir dismutasyon mekanizması ile hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene parçalayarak biyolojik sistemleri H_2O_2'nin zararlarına karşı korurlar (Aebi, 1984; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Nordberg ve Arner, 2001) (Reaksiyon 1.13).

$$2H_2O_2 \longleftrightarrow O_2 + H_2O \qquad (1.13)$$

Ayrıca katalaz enzimi hidrojen peroksit varlığında peroksidaz etkisi ile metanol ve etanol gibi alkolleri, formaldehid ve asetaldehide oksitlerler (Aydın ve ark., 2001) (Reaksiyon 1.14).

$$AH_2 + H_2O_2 \longleftrightarrow A + 2H_2O \quad (1.14)$$

Katalaz aktiviteisinin tayininde en çok kullanılan yöntem H_2O_2 yıkımının spektrofotometrik yöntemle 240 nm de izlenmesidir. Birim zamanda absorbsiyondaki fark katalaz aktivitesinin ölçütüdür. Analiz esnasında enzimin inaktivasyonunu önlemek için düşük konsantrasyonlarda substrat kullanmak gereklidir. Diğer yöntemler ise reaksiyon sonucunda oluşan O_2 miktarını ölçmeye dayalı oksijen elektrodu veya polografi ile yapılan tayinlerdir (Sinha, 1972; Austin ve ark., 1988; Johanson ve Borg, 1988, Wheeler ve ark., 1990). Bununla birlikte katalaz enziminin aktivitesinin dokular ve hücreler arasında farklılıklar gösterdiği belirtilmektedir (Murray ve ark., 1993; Orbea ve ark., 2000).

1.2.1.3. Glutatyon Peroksidaz (glutatyon:hydrojen peroksit oksidoredüktaz) (GSH-Px) (EC: 1.11.1.9)

Glutatyon peroksidaz enzimi ilk kez Mills tarafından 1957 yılında hayvan eritrositlerinden izole edilmiş bir enzimdir (Arteel ve Sies, 2001). Genellikle yüksek yapılı bitkilerde ve bakterilerde bulunmamakla birlikte bazı alg ve mantarlarda bulunduğu bildirilmiştir (Mills, 1957; Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Glutatyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutatyonu kullanarak hidrojen peroksit ve organik hiperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu bir enzimdir. Mitokondri, sitozol ve hücre membranlarında bulunur (Deaton ve Marlin, 2003).

Bu enzimin iki ana tipi tanımlanmıştır. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenosistein formunda kovalent bağlı selenyum içeren selenyuma bağımlı GSH-Px (Se-GSH-Px) dir. Se-GSH-Px, organik hidroperoksitler ve H_2O_2'e karşı aktiftir. Diğeri ise GST olarak adlandırılan, katalizleme işlemi için selenyuma bağımlı olmayan H_2O_2'ye karşı ihmal edilebilir bir aktivite gösteren, daha çok organik hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumlu olan tiptir (Guemori ve ark. 1991; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Cnubben ve ark. 2001).

Se-GSH-Px, her ünite aktif bölgesinde selenosistein formunda Se atomu içeren dört protein alt ünitesinden oluşur ve molekül ağırlığı yaklaşık 85 kDa dur.

Se-GSH-Px ler, H_2O_2'de dahil çeşitli hidroperoksitlerin yıkımını, GSH'ın oksidasyonu yoluyla katalizler. Okside glutatyon (GSSG) ise GSH-Rd enzimi yardımıyla tekrar GSH'a indirgenir (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Aydın ve ark. 2001) (Reaksiyon 1.15, 1.16).

$$H_2O_2 \ (ROOH) + 2GSH \longleftrightarrow GSSG + 2H_2O(ROH) \qquad (1.15)$$

$$GSSG + NADPH + H^+ \longleftrightarrow 2GSH + NADP^+ \qquad (1.16)$$

Selenyuma bağımlı peroksidazların bir diğer formuda fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PL-GSH-Px) dir. Molekül ağırlığı yaklaşık olarak 20 kDa olan enzim bir selenyum atomu içerir ve fosfolipid hidroperoksitleri alkollere indirgeyerek membran bağımlı en önemli antioksidan olan E vitamini eksikliğinde membranı peroksidasyona karşı korur (Halliwell ve Gutteridge, 1999) (Reaksiyon 1.17).

$$ROOH + 2GSH \longleftrightarrow ROH + H_2O + GSSG \qquad (1.17)$$

Selenyuma bağımlı olmayan GSH-Px'ler glutatyon ile konjugasyon reaksiyonlarında glutatyon transferaz olarak aktivite gösterirler (Lawrence ve Burk, 1976).

GSH-Px enzim aktivitesinin tayininde en fazla tercih edilen yöntemlerin esası substrat olarak H_2O_2, kümen hidroperoksit ve tersiyer butil hidroperoksitin kullanıldığı ortamda GSH'un oksidasyonu sonucu oluşan GSSG'un glutatyon reduktaz ve NADPH'ın varlığında indirgenmiş forma dönüşmesine ve bu dönüşüm esnasında NADPH'ın oksidasyonunun spektrofotometrik ve flourometrik ölçümüne dayanır. Enzim aktivitesi dakikada okside olan NADPH üzerinden hesaplanır. Ayrıca reaksiyon esnasında hidroperoksitlerin ve GSH'un tüketimi esas alınarak yapılan tayinlerde mevcuttur (Lawrence ve Burk, 1976; Paglia ve Valentine, 1967; Flohe ve Gunzler, 1984)

1.2.1.3.(1). Glutatyon redüktaz (glutatyon:NADP$^+$ oksidoredüktaz) (GSH-Rd) (EC: 1.8.1.7)

Hidrojen peroksitin detoksifikasyonu reaksiyonunda okside formuna dönüşen glutatyonun tekrar kullanılabilmesi için redükte GSH a dönüştürülmesi gerekmektedir. Glutatyon redüktaz NADPH varlığında glutatyon disülfiti tekrar redükte glutatyona (GSH) çevirir (Hermes-Lima ve ark. 2001) (Reaksiyon 1.18).

$$GSSG + NADPH + H^+ \longleftrightarrow 2GSH + NADP^+ \qquad (1.18)$$

1.2.1.3.(2). Glutatyon–S-Transferaz (RX:glutatyon R-transferaz) (GST) (EC: 2.5.1.18)

GST ler iki protein alt biriminden oluşmaktadır. Genel olarak 3 sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere 4 ana gruba ayrılırlar. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroksiperoksitleri olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı GST ler Se-bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi gösterirler (Storey, 1996).

1.2.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1.2.2.1. Glutatyon (GSH)

Çok önemli bir antioksidan olan glutatyon, glutamik asit, sistein ve glisinden meydana gelen düşük molekül ağırlıklı bir tripeptiddir (Akkuş, 1995; Halliwell ve Guttreidge, 1999). Hücrede en fazla sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunur. Hücre içi glutatyonun büyük bir kısmı indirgenmiş olarak (tiyol), daha az bir kısmı da okside glutatyon (GSSG) formunda bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Dickinson ve Forman, 2002; Mytilineou ve ark., 2002).

GSH a antioksidan özelliğini tiyol grubu sağlar. Glutatyon hidroksil ve singlet oksijen gibi reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi olmakla beraber, diğer

serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreyi oksidatif hasarlara karşı korurlar. Bundan başka proteinlerdeki –SH gruplarını redükte halde tutarak protein ve enzimlerin inaktivasyonunu engellerler (Murray ve ark., 1993, Burton, 1994).

Potansiyel olarak bazı zehirli ksenobiyotikler GSH ile konjuge olmadıklarında hücre proteinleriyle kovalent bağ oluşturarak DNA, RNA ve proteinlere zarar verebilirler. Bu ksenobiyotiklerin GSH ile reaksiyonları tiyoeter (merkaptürik asit ve N-asetil sistein türevleri) oluşumu ile sonlanır ve bu ürünler idrarla dışarı atılırlar (Murray ve ark., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Mytilineou ve ark., 2002).

Ayrıca GSH, mebran geçirgenliğinin sağlanması, protein konformasyonu ve enzim aktivitesinin ayarlanması gibi görevlerde de rol almaktadır (Akkuş, 1995; Klaassen ve Watkins, 2003).

1.2.2.2. Vitamin E (Tokoferol)

İlk olarak 1922 yılında izole edilen e vitamini, α, β, γ, δ-tokoferol olarak adlandırılan bileşiklere verilen genel bir isimdir. Bu bileşikler arasında doğal dağılım olarak ve biyolojik aktivitesi en yüksek olan α-tokoferoldür. Yapısında bulunan fenolik hidroksil grubu içeren aromatik halka vitaminin aktif kısmını oluşturur. Membranca zengin olan mitokondri ve mikrozom gibi yapılarda yoğun olarak bulunmaktadır. Bitkisel yağlar ve tohumlar vitamin E bakımından oldukça zengindirler (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Packer ve ark., 2001).

α-Tokoferol, süperoksit, hidroksil, singlet oksijen, lipid peroksil radikalleri ve diğer bazı serbest radikallerin temizlenmesinde rol oynar (Chow, 1991; Blokhina ve ark., 2003). Lipit peroksidasyonunun erken safhalarında membranda serbest radikal toplayıcı etkisiyle, hücre membranında bulunan doymamış yağ asitlerini (PUFA) serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyarak, lipit peroksidasyonuna karşı ilk savunma hattını oluşturur (Mayes, 1993).

α-Tokoferolün OH grubundaki H atomu kolayca uzaklaştırılabildiği için lipit peroksidasyonu sırasında oluşan peroksil ve alkoksil radikalleri komşu bir yağ asidi ile birleşmeden doğrudan α-tokoferol ile birleşir. Bu olay zincir reaksiyonunu

sonlandırdığı için lipit peroksidasyonu da sonlanmış olur. α-Tokoferol bu etkisinden dolayı zincir kırıcı bir antioksidan olarak adlandırılır (Murray ve ark., 1993; Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blokhina ve ark., 2003) (Reaksiyon 1.19).

$$ROO^{\cdot} + \alpha\text{-Tokoferol-OH} \longleftrightarrow ROOH + \text{Tokoferol-}O^{\cdot} \qquad (1.19)$$

Reaksiyon sonucunda α-tokoferol yine bir radikal olan tokoferol-$O^{\cdot}$ (kromonoksil) radikalini oluşturur. Bu radikal zayıf bir reaktiviteye sahip olduğu için lipit peroksidasyunu devam edemez (Halliwell ve Gutteridge, 1999; Blokhina ve ark., 2003).

GSH-Px ve α-tokoferol birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki gösterirler. α-Tokoferol peroksitlerin oluşumunu engellerken, GSH-Px oluşmuş olan peroksitleri ortadan kaldırır (Aydın ve ark., 2001).

1.2.2.3. Vitamin C (Askorbik asit)

Vitamin C kapalı formülü $C_6H_8O_6$ olan bir katekolaktondur. Organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici olarak görev yapar (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Çok güçlü bir indirgeyici olan askorbik asit semihidroaskorbat radikal ara ürünü aracılığıyla kolaylıkla dehidroaskorbik aside okside olur. Süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolaylıkla reaksiyona girerek bu radikallerin temizlenmesinde görev yapar (Murray ve ark., 1993).

C vitamininin diğer bir özelliği de antioksidan özelliğinin yanı sıra oksidan olarak da görev yapmasıdır. Çünkü vitamin C ferri demiri ferro demire indirger böylece fenton reaksiyonunda H_2O_2 ile etkileşmeye uygun olan ferro demir oluşur. Reaksiyon sonucunda ise süperoksit radikalinin oluşmasına yol açar. Bu özelliğinden dolayı bir prooksidan olarak değerlendirilir (Bendich ve ark., 1986; Lunec ve Blake, 1990).

1.2.2.4. Vitamin A

A vitaminin metabolik ön maddesi olan β-karoten son derece güçlü bir singlet oksijen temizleyicisidir. Ayrıca hidroksil, peroksil ve alkoksil radikalleri ile de doğrudan reaksiyona girerek lipit peroksidasyon zincir reaksiyonunun önlenmesinde rol alır. β-Karoten düşük oksijen seviyelerinde etkili olduğundan daha yüksek oksijen seviyelerinde etkili olan vitamin E nin antioksidan etkisinin tamamlayıcısıdır (Murray ve ark., 1993; Akkuş, 1995).

1.2.2.5. Melatonin

Pineal bez hormonu olan melatonin (N-asetil-5 metoksitriptamin), hidroksil radikalini temizleyen en güçlü ajanlardan biridir. Hidroksil radikalleri ile reaksiyona girdikten sonra indolil katyon radikaline dönüşür buda ortamdaki süperoksit radikalini tutarak antioksidan aktivite gösterir (Reiter, 1993; Akkuş, 1995).

Lipofilik olması nedeniyle hemen tüm hücre organellerine ve birçok dokuya kolaylıkla girip daha geniş bir alanda etki gösterebilir, hücre çekirdeğine girerek DNA yı oksidatif hasarlara karşı koruyabilir, yüksek konsantrasyonlarda dahi toksik etki göstermez ve prooksidan aktiviteye sahip değildir. Bu özelliklerinden dolayı diğer antioksidan maddelere göre daha fazla etkiye sahiptir (Delibaş ve Özcankaya, 1995; Reiter, 1997)

Ayrıca glutatyon peroksidazı sitümüle eder ve hidroksil radikali için öncül olan hidrojen peroksidin suya çevrilmesini katalizler. Yaşa bağlı olarak üretiminde azalma olduğu bildirilmiştir (Akkuş, 1995).

1.2.2.6. Bilirubin

Hem proteinlerinin yıkım ürünü olan bilirubin aynı zamanda etkili bir lipit antioksidandır. Peroksil radikallerini etkileyerek zincir kırıcı bir etki gösterir (Gutteridge, 1995).

1.2.2.7. Albumin

Plazmanın zincir kırıcı antioksidan etkisine yol açan plazma sülfhidril gruplarının majör bileşenidir. Hipokloröz asidin güçlü bir temizleyicisidir (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

1.2.2.8. Ürik asit

Hidrofilik özellikte olup süperoksit, hidroksil ve peroksil radikallerini temizleyici özelliktedir. Geçiş metalleri ile bağ yaparak vitamin C nin oksitlenmesini engeller (Cereser ve ark., 2001).

1.3. Pestisitler

Pestisitler pest adı verilen zararlılarla mücadelede kullanılan kimyasal ve biyolojik maddelerdir. Veteriner hekimlikte ve tarımsal mücadelede çeşitli pestisitler iç ve dış parazitlere karşı koruyucu amaçlarla yaygın olarak kullanılmaktadır. (Ekebaş ve ark., 2000). Pestisit kelime olarak yabancı kaynaklı olup, pest (=zararlı), cide (=öldürücü) olmak üzere zararlı öldürücü anlamında bir bileşik kelimedir (Öncüer, 2000).

Zararlılarla mücadelede kullanılan bu pestisitlerin sınıflandırılmasında genellikle etkili olduğu canlı grubuna bağlı olarak yapılan sınıflandırma ön planda tutulur (Güler ve Çobanoğlu, 1997) (Çizelge 1.2).

1.3.1. İnsektisitler

Zararlı böceklerle mücadelede 4 temel insektisit grubu yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar; (a) Organoklorinler (Organik Klorlular), (b) Pyretroidler, (c) Karbamatlar ve (d) Organofosfatlar (Organik Fosforlular) olarak gruplandırılabilir (Ishaaya, 2000).

Organoklorin (OC) Grubu Insektisitler: Bileşimlerinde karbon, hidrojen ve klor bulunduğu için bu isimle adlandırılırlar. Böceklerde temas ve kısmen solunum yolu ile etkilidirler. Birinci derecede etki yerleri böceklerin sinir sistemidir. Diklorodifeniltrikloretan (DDT), Dieldrin, Aldrin, Lindan gibi insektisitler bu gruba girer. Fakat bu insektisitler çok kalıntı yapar. İnsan ve hayvan yağ dokularında yıllarca kalırlar. Organoklorin grubu insektisitlerin kullanımı sınırlandırılmış olup, Türkiye'de yasaktır. (Yavuz ve Şanlı, 1999).

Çizelge 1.2. Pestisitlerin Etkiledikleri Canlı Gruplarına Göre Sınıflandırılması (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Pestisit Türü	**Etkilediği Canlı Grubu**
İnsektisitler	Böcekler
Akarisitler	Akarlar
Nematisit	Nematodlar
Mollussisit	Yumuşakçalar
Rodentisit	Kemirgenler
Avisit	Kuşları
Afisit	Yaprakbitleri
Fungisit	Mantarlar
Bakterisit	Bakteriler
Herbisit	Otlar
Algisit	Algler

Pyretroid Grubu İnsektisitler: Tip 1 (Permetrin, Tetrametrin, Piretrinler v.b.) ve Tip 2 (Sipermetrin, Deltametrin v.b.) olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Genelde temas yolu ile etkilerini gösterirler. Hedef dışı canlılarda zehirliliği nispeten az olması, bu grubun ağırlıklı olarak kullanılmasına neden olmaktadır. (Yavuz ve Şanlı, 1999).

Karbamat Grubu İnsektisitler: Bu grupta bulunan insektisitlerin memeli hayvanlara karşı zehirlilikleri genelde düşüktür. Sindirim, temas ve solunum yoluyla

etkilerini gösterirler. Organik fosforlular gibi kolinesterazı etkilerler. Fakat organofosforlu bileşiklerden ayıran en önemli özellikleri kolin esteraz enziminin anyonik yanı ile kompleks oluşturabilen kuaterner veya bazik nitelikli bir azot grubuna sahip olması ve kolin esteraz enzimi üzerine etkilerinin belirgin ölçüde geri dönüşümlü olmasıdır. Bu grup bileşiklere karbaril, karbofuran, karbosulfan, propoxur örnek verilebilir. (Yavuz ve Şanlı, 1999).

Organofosfat Grubu Insektisitler: Organik fosforlu (OP) bileşikler içlerinde bulunan bir veya daha fazla fosfor atomları nedeniyle organik fosforlu bileşikler grubu olarak adlandırılırlar. Bu grubun bileşenleri orijinalde geniş ölçüde zirai amaçlarla kullanılmış olmasına rağmen organoklorlulara karşı gelişen vektör direncinden dolayı aynı zamanda günümüzde halk sağlığı uygulamalarında kullanılmaktadır. Geliştirilmeleri II. Dünya Savaşı sırasında sinir gazlarıyla ilgili olarak Almanya'da araştırmalar yürüten Gerald SCHRADER tarafından başlatılmıştır. Bütün organik fosforlu bileşikler asetilkolin esteraz etkili insektisitlerdir. En önemli özellikleri hedef enzim niteliğindeki kolinesteraz enzimi ile yapısal bütünleşmeye giderek enzimi inhibe etmeleridir. Bunlar kolinesteraz enziminin substratı olan asetilkolini taklit ederler. Temas, sindirim ve solunum yoluyla etkilerini gösterirler. OP'lu bileşikler, düşük fototoksisitesi ve çabuk bozulma oranına sahip olması, memeli ve kuşlarda düşük toksik etkiye sahip olması nedeniyle 1960'lardan bu yana geniş ölçüde kullanılmaktadır. Aynı zamanda OC'lu insektisitlere oranla kalıcılıkları daha azdır. Çoğu OP'lu insektisitler organik olarak fosforik ya da fosforik asit bağlı ester veya amidlerden meydana gelmiştir. Malathion, parathion, diklorvas, diazinon organofosfatlı insektisitlerdendir (Yavuz ve Şanlı, 1999).

1.3.1.1. Diazinon ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$)

Diazinonun kimyasal adı, O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-pyrimidinyl) phosphorothioate'dir. Diazinon saf olduğunda renksizdir. Teknik ürün olarak, kahverengi tonlarında ve en az %95 saflıkta bir sıvıdır. Suda, oda ısısında çözünebilmektedir. 120^{o}C'nin üzerinde yıkılmaya başlar ve oksidasyona

karşı hassastır. Suda ve seyreltik asidik ortamda yavaş bir şekilde hidrolize olur ancak bazik ortamda stabildir. Oral, dermal ve inhalasyon yolları ile emilip toksisite oluşturabilmektedir. Maruz kalındıktan sonra vücutta oksijen analoğu olan diazoksine dönüşerek kolinesteraz inhibisyonu yapar (Diazinon. 2008, WHO, 2006; Gallo ve Lawryk, 1991)

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bailey ve ark. (1980), %0.01 propoksur çözeltisi uygulanmış *Anopheles albimanus* yumurtalarında dişilerin elemine olduklarını göstermiştir.

Ahmad ve Pardini (1990), böceklerin memelilerle karşılaştırıldığında daha yüksek oranda katalaz aktivitesine sahip olduklarını ve bu nedenle oksidatif stres oluşturan dış etkenlerin bu aktiviteyi nadiren değiştirdiğini, böceklerde katalaz aktivitesinin dış etkenlerden çok iç etkenlere ve besinsel faktörlere bağlı olarak değişebileceğini belirtmişlerdir.

Bolter ve Chefurka (1990), fosfin insektisitine maruz kalan *Sitophilus granariusta'*larda SOD aktivitesinin arttığını, bununla birlikte CAT ve peroksidaz aktivitelerinin azaldığını rapor etmişlerdir.

Zaman ve ark. (1994), *Musca domestica*'da civa toksisitesi ile oluşan oksidatif stres sonucu SOD ve CAT aktivitelerinin arttığını bildirmişlerdir.

Ahmad ve ark. (1995), *Spodoptera eridania*'de dichlorenin oksidatif stres oluşturduğunu ve bunun antioksidatif enzim aktivitesini arttırdığını göstermişlerdir.

Nath ve ark. (1997), organofosforlu insektisitlerin *Bombix mori'*de hemolenf protein miktarını azalttığını bildirmiştir.

Özkan ve Emre (1997), Organofosforlu bir insektisit olan malationla yaptıkları çalışmada düşük dozdaki malationun (0,001 ppm) *P. turionellae*'de toplam yumurta sayısını %50 oranında arttırmasına rağmen, 0,05 ve 0,01 ppm lik malation konsantrasyonun yaşam süresini ve yumurta verimini önemli ölçüde düşürdüğünü göstermişlerdir.

Hardersen ve Wratten (1998), karbarilin *Xanthocnemis zealandica'*da ergin çıkışı ve dalgalanan asimetriye etkilerini incelemiş, 100 ppb lik karbaril uygulamasının ergin çıkışını %90 dan fazla azalttığını göstermiştir.

Lee ve ark. (1998), subletal dozdaki deltametrin ve propoksur'un *Blattella germanica'*da verimliliği önemli ölçüde düşürdüğünü göstermiştir.

Seslija ve ark. (1999), yaşlanmaları geciktirilmiş *Acanthoscelides obtecus'ta* SOD ve CAT aktivitelerini araştırmış, yaşlı böceklerde kontrol grubuna göre SOD

aktivitesinin artmasına rağmen katalaz aktivitesine yaşlanmanın önemli bir etkisi olmadığını göstermişlerdir.

Hardersen (2000), son larval evredeki *Xanthocnemis zealandica'* ya farklı dozlarda (40, 2 ve 0.1ppb) karbaril uygulamış, ergin çıkışının pestisit konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini göstermiştir.

Nath (2000), Organofosforlu insektisitlerin *Bombix mori'*de hemolenf ve yağ dokuda karbohidrat metabolizmasına etkilerini incelemiş ve bu insektisitlerin toksik stres oluşturarak karbohidrat metabolizmasını etkilediklerini göstermiştir.

Delpuech ve Meyet (2003), klorpirifosun *Trichogramma brassicae* de ömür uzunluğu ve yavruların eşey oranına etkilerini incelemişler, fertil yumurtaların sayısının azalmasından dolayı, dişi çıkışının azaldığını belirtmişlerdir.

Shafeek ve ark. (2004), azadiraktin uyguladıkları hamam böceklerinin sinir sisteminde asetilkolin esteraz ve elektriksel aktivite değişimlerini inceledikleri araştırmalarında topikal olarak uygulanan subletal dozdaki azadiraktinin ACHe aktivitesi üzerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığını söylemişlerdir.

Tucker ve ark. (2004), *Bombix mori*'de kromun hemolenf katalaz aktivitesini artırdığını, bunun kromun etkisiyle larvaların oksijen tüketiminde meydana gelen değişmelerden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Baykal ve ark., (2005), Organofosforlu bir insektisit olan malationun *P.turionellae*'de yumurta üretimi ve açılımına olan etkilerini incelemişler, malationa bağlı olarak tüm konsantrasyonlarda (0.001, 0.010, 0.100 ve 1.000 ppm) yumurta açılım oranının azaldığını belirtmişlerdir. Bunun yanında 0.100 ppm malation konsantrasyonunda yumurta üretiminin 25 ile 40. günler arasında ortalama %43 oranında azaldığını, 0.010 ppm malation konsantrasyonunda ise 10 ile 40. günler arasında yumurta üretiminin ortalama %14 oranında arttığını göstermişlerdir.

Li ve ark. (2005), kadmiyum uygulanmış *Oxya chinensis'*de antioksidan enzimleri araştırmış, tüm gruplarda katalazın kuvvetli bir detoksifikant etki gösterdiğini, gulutatyon peroksidaz aktivitesinin artan Cd konsantrasyonuna bağlı olarak azaldığını, SOD aktivitesinin arttığını söylemişler, katalazın kuvvetli bir detoksifikasyon etkisi olduğu, SOD'nin orta derecede ve glutatyon peroksidaz ise düşük detoksifikasyon etki gösterdiği yorumunu yapmışlardır.

Büyükgüzel (2006), yaptığı çalışmada *Galleria mellonella*'da malation ile oksidatif stres oluşturmuş ve konukçusu olan *P. turionellae'de* ergin çıkışı, ömür uzunluğu ve oksidatif ve antioksidatif etkilerini incelemiştir. 100 ppm malation konsantrasyonunun *G. mellonella'*da pupa oluşturma oranını ve ergin *P. turionellae* çıkışını önemli ölçüde azalttığını, hem konakta hem de konukçuda MDA düzeyinin arttığını göstermiştir. Aynı çalışmada düşük dozdaki malation konsantrasyonunun (0,01, 0,1 ve 1 ppm) SOD aktivitelerini kontrole göre önemli ölçüde arttığını ve ergin ömür uzunluğu ve fertilite ile SOD arasında pozitif bir ilişki olduğunu söylemiştir.

Sak ve ark. (2006), *Pimpla turionellae'*da sipermetrinin toplam vücut ağırlığı, glikojen, protein ve lipit bileşimine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında dişi böceklerin sipermetrinden daha fazla etkilendiğini, tüm gelişim evrelerinde protein, lipit ve glikojen düzeylerinin kontrole göre önemli ölçüde azaldığını belirtmişlerdir.

Etebari ve ark. (2007). Priproksifen uygulanmış ipekböceği larvalarında hemolenfteki biyokimyasal değişiklikleri incelemişler, 24 saat sonra elde edilen verilerde glikoz, üre, ürik asit, kolesterol, total protein, alanin aminotransferaz ve alkalin fosfataz'ın tüm dozlarda (1, 10, 75, 150 ve 500 ppm) önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir.

Dubovskiy ve ark. (2008), *Galleria mellonella*'da bakteriyel infeksiyon sonucu antioksidan enzim aktivitesi ve lipit peroksidasyon seviyelerini araştırmışlar, enfeksiyon sonucu SOD, GST ve MDA düzeyinin enfeksiyonun ilk günü arttığını buna karşın CAT aktivitesinin etkilenmediğini söylemişlerdir.

Zibaee ve ark. (2008), Diazinonun *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae)'de bazı biyokimyasal karakteristiklerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında İran'da diazinonla ilaçlama yapılan üç farklı populasyondan (Go-Gourabzarmikh, Sh- Sheikhmahale, Ra-Rasht) topladıkları örneklerde, aspartat aminotransferaz, alanin aminotransferaz, α-amilaz, ATPase ve Laktat dehidrojenaz aktivitelerini incelemişler, α-amilaz, ATPase ve Laktat dehidrojenaz aktivitelerinin Go populasyonunda diğer iki populasyondan daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bunun yanında Go populasyonunda glikojen ve protein miktarlarının büyük

farklılıklar gösterdiğini ve Go populasyonunda diğer populasyonlara göre önemli ölçüde yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Gülfer ve ark. (2009), Organofosforlu bir insektisit olan malationun *P. turionellae'*nin eşey oranına etkilerini araştırdıkları çalışmalarında 0,001, 0.010, 0.100 ve 0.500 ppm malation konsantrasyonuna sahip sentetik besinle besledikleri *P. turionellae'* de oral yolla alınan yüksek dozdaki malationun (0.500 ppm) dişi birey çıkışını önemli ölçüde azalttığını belirtmişlerdir.

Sak ve Uçkan, (2009), Cypermethrin'in *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) nin pupalaşma ve ölüm oranına etkilerini araştırmışlar, ağırlıklarına göre 2 gruba ayırdıkları larvalarda pupalaşma ve ölüm oranının büyük oranda benzerlik gösterdiğini, sipermethrin dozunun arttıkça larval gelişim ve pupalaşma süresinin geciktiğini, pupalaşma yüzdesinin azaldığını ve ölüm oranının arttığını belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Böceklerinin Elde Edilmesi

Farklı diazinon [O,O-diethyl-O-(2-isopropyl-6-methyl-pyrimidine-4-pyrimidinyl) phosphorothioate] konsantrasyonlarının *P. turionellae* erginlerinin eşey oranı, antioksidan enzim aktiviteleri ile total protein ve glikojen miktarına olan etkilerinin araştırıldığı çalışmada kullanılan böcekler %50±5 bağıl nem içeren, 24±2^{o}C sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık fotoperiyodu uygulanan laboratuar koşullarında %50 bal çözeltisi ve *Galleria mellonella* hemolenfi ile beslenerek elde edilmiştir. Deneylerde stok kültür böceklerinin *G. mellonella* pupalarını parazitlemesi sonucu elde edilen parazitlenmiş pupaların laboratuar koşullarında açılmalarıyla elde edilen henüz besin almamış *P. turionellae* erginleri kullanılmıştır.

Deney böceklerinin elde edilmesi, beslenmesi, laboratuar koşullarının belirlenmesi sırasında Emre (1988) tarafından belirlenen yöntem ve teknikler kullanılmıştır.

3.1.2. Deney Besinlerinin Hazırlanması

Çalışmada kimyasal yapısı bilinen sentetik besin (Emre, 1988) kontrol besini olarak kullanıldı ve bu besinle hazırlanan 0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm konsantrasyonlara sahip diazinon (Hektaş: %96.2) içeren besinlerle *P. turionellae* erginleri beslendi.

3.1.2.1. Kontrol Besinin Hazırlanması

Deneylerde kontrol besini olarak kullanılan kimyasal yapısı bilinen sentetik besinin bileşimi Çizelge 3.1 de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Kontrol besininin bileşimi (Emre, 1988).

Besin Bileşeni	mg/100 ml besin	Besin Bileşeni	mg/100 ml besin
L-Amino asit karışımı	**3000.00**	**Suda çözünen vitamin karışımı**	**284.38**
Alanin	210.00	Askorbik asit	10.6105
Arjinin-HCl	150.00	Biotin	0.0379
Aspartik asit	195.00	Ca-Pentotenat	2.8042
Fenilalanin	165.00	Folik asit	0.1137
Glisin	192.00	Inositol	17.0526
Glutamik asit	315.00	Kolin klorür	246.3158
Hidroksipirolin	57.00	Nikotinik asit	5.6842
Histidin	120.00	Pridoksin -HCl	0.2842
Izolösin	156.00	Riboflavin	1.3263
Lizin	159.00	Tiamin-HCl	0.1516
Lösin	231.00		
Metionin	90.00	**İnorganik tuz karşımı**	**75.00**
Prolin	246.00	$CaCl_2$	3.6684
Serin	195.00	$CuSO_4$ $5H_2O$	0.6721
Sistein	39.00	$CoCl_3$ $6H_2O$	0.5798
Tirozin	120.00	$FeCl_3$ $6H_20$	2.1583
Treonin	165.00	K_2HPO_4	45.0129
Triptofan	60.00	$MgSO_4$ $7H_2O$	15.7853
Valin	135.00	$MnSO_4$ H_2O	6.2201
		Na_2HPO_4 $12H_2O$	0.0479
Lipit karışımı	**540.96**	$ZnCl_2$	0.8552
Kolesterol	138.8430		
Linoleik asit	8.0331	Ribonükleik asit	75.00
Linolenik asit	25.5537	Sükroz	14000.00
Oleik asit	10.5950	2N KOH	280.00
Palmitik asit	0.6777	2N K_2HPO_4*	14.03
Stearik asit	0.2314	Saf su	100 ml oluncaya kadar
Tween 80	357.0248		

* : Vitamin karışımı çözeltisine ilave edilmiştir

Çizelge 3.1 de verilen kimyasal yapısı belirli besini hazırlamada, önce besin bileşenlerinden L-amino asit karışımı, lipit karışımı, inorganik tuz karışımı ve vitamin karışımı çözeltileri stok çözelti ve karışımlar halinde hazırlandı. Bu stok karışım ve çözeltilerin hazırlanmasında aşağıdaki yöntemler uygulandı.

Amino Asit Karışımı: Nicel ve nitel bileşimi *G. mellonella* hemolenfi amino asit bileşimine dayanan bu karışım 100 gramlık stok halinde hazırlandı. Bu karışımda bulunan amino asitler gram olarak şu şekildedir. Alanin 7.0; arjinin-HCl 5.0; aspartik asit 6.5; fenilalanin 5.5; glisin 6.4;glutamik asit 10.5; hidroksiprolin 1.9; histidin 4.0; izolösin 5.2; lizin 5.3; lösin 7.7; metionin 3.0 prolin 8.2; serin 6.5; sistein 1.3; tirozin 4.0; treonin 5.5; triptofan 2.0; valin 4.5. Belirtilen miktarlarda alınan amino asitler bir porselen havan içinde ezilerek toz haline getirildi ve bu suretle karışımın homojen bir yapı kazanması sağlandı. Karışım ağzı sıkı bir şekilde kapanan renkli bir şişeye konularak saklandı. Yüz mililitrelik besine bu karışımdan 3,0 g katıldı.

Lipit Karışımı: Karışımda bulunan yağ asitleri ve kolesterol miktarı gram olarak şu şekildedir: Kolesterol 0,8400, linolenik asit 0,1546, linoleik asit 0,0486, oleik asit 0,0641, palmitik asit 0,0041 g, stearik asit 0,0014 g. Yağ asitleri ve kolesterol bir homojenizatör tüpüne kondu ve üzerine 2,16 g Tween 80 ve 32,00 ml sıcak su konulduktan sonra UltraTurrax T25 marka homojenizatörde 22.000 devirde 5 dakika süreyle karıştırıldı. Elde edilen karışım bir erlenmayere konuldu ve ağzı sıkıca kapatılarak kullanılıncaya kadar -10^{o}C de saklandı. Lipit karışımı kontrol besine katılmadan önce 40^{o}C deki su banyosuna kondu ve tekrar sıvı hale gelmesi sağlandı. Karışım daha sonra manyetik karıştırıcıda iki dakika süreyle karıştırılarak homejenliği sağlandı. 100 ml besine bu emülsiyondan 6 ml. ilave edildi.

Suda Çözünen Vitamin Karışımı Çözeltisi: Stok suda çözünen vitamin karışımı çözeltisi gram olarak şu vitaminleri içermektedir: Askorbik asit 0,1120, biotin 0,0004, Ca–pantotenat 0,0296, folik asit 0,0012, inozitol 0,1800, kolin klorür 2.6000, nikotinik asit 0,0600, pridoksin–HCl 0,0030, riboflavin 0,0140, tiamin-HCl 0.0016. Belirtilen miktarlarda tartılan vitaminler bir erlenmayer içine konuldu ve üzerine 90.00 ml saf su konularak manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözünmeleri sağlandı. Suda çözünen vitaminleri içeren bu çözeltiye daha sonra 0.850 ml 2N K_2HPO_4 ilave edilerek çözeltinin pH değerinin 6.5 olması sağlandı. Hazırlanan stok

çözelti kullanılıncaya kadar -10^{o}C de saklandı. Çözelti kontrol besine katılmadan önce oda sıcaklığına gelmesi sağlandı ve manyetik karıştırıcıda tekrar karıştırıldıktan sonra 100 ml besine 9 ml ilave edildi.

İnorganik tuz karışımı: Bu karışımı hazırlamak için 0.8580 g $CaCl_2$; 0.1572 g $CuSO_4.5H_2O$; 0.1356 g $CoCl_3.6H_2O$; 0.5048 g $FeCl_3.6H_2O$; 10.5280 g K_2HPO_4; 1.4548 g $Na_2HPO_4.12H_2O$; 3.6920 g $MgSO_4.7H_2O$; 0.0112 g $MnSO_4.H_2O$; 0.2000 g $ZnCl_2$, bir beher içine kondu ve üzerine 100 ml sıcak su ilave edilerek tuzların çözülmeleri sağlandı. Daha sonra bu çözelti 150^{o}C deki etüvde karışımın ağırlığı sabit oluncaya kadar bekletildi. Bu süre sonunda suyundan tamamen arınan tuz karışımı daha sonra bir porselen havana konularak dövüldü ve karışımın homojenliği sağlandı. Elde edilen stok karışım, ağzı sıkı bir şekilde kapanan renkli bir şişeye kondu ve kullanılıncaya kadar nem içermeyen bir ortamda saklandı. 100 ml'lik besine bu tuz karışımından 0.075 g katıldı.

Kontrol besinin hazırlanması: İlk olarak çizelge 3.1 de belirtilen miktarlardaki L-amino asit karışımı, inorganik tuz karışımı, RNA ve sükroz bir behere konuldu ve üzerine toplam su miktarının yarısı kadar 80^{o}C de saf su eklenmesi ile bu maddelerin çözünmesi sağlandı. Çözelti soğuduktan sonra üzerine lipit karışımı, vitamin karışımı ve pH'yı 6,5'e ayarlamak için 2N KOH ilave edildi. Bu işlemler sonunda elde edilen çözeltinin hacmi, saf su ilave edilerek 100 mililitreye tamamlandı. Böylece deneyde kullanılacak kontrol besini hazırlandı. Bu besin bir erlenmayer içerisinde ağzı sıkıca kapatılarak -10^{o}C de muhafaza edildi.

3.1.2.2. Diazinon İçeren Besinlerin Hazırlanması

Besinlerin hazırlanması için önce Hektaş firmasından sağlanan %96.2 saflıktaki diazinon kullanılarak 10 ppm lik stok diazinon emülsiyonu hazırlandı. Bu amaçla önce gerekli miktarda diazinon 1 ml Tween 80 içinde emülsiyon haline getirildi ve daha sonra saf su ile seyreltilerek stok karışım elde edildi. Deney besinleri, kimyasal yapısı bilinen sentetik besin içine bu karışımdan gerekli miktarlarda ilave edilmek suretiyle hazırlandı. Stok diazinon emülsiyonu ve deney besinleri birer haftalık periyotlarla taze olarak hazırlandı.

3.1.3. Enzim Aktivitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Böceklerin Beslenmesi

Enzim aktivitelerini belirlemek için her serinin her tekrarında 4 dişi ve 2 erkek birey 1000 ml lik beherlere konularak 24, 48, 72 ve 96 saatlik gruplar oluşturuldu. Böceklerin beslenmesi, 3x3 cm boyutundaki alüminyum folyo parçaları üzerine eşit miktarlarda damlatılan besinlerin böceklere verilmesi ile sağlandı. Böcekler 1 saat süre ile beslendi ve bu işlem deney periyodu sonuna kadar her gün aynı saatte tekrarlandı (Emre, 1988; Coskun ve ark. 2005). Deney böceklerinin dışkıları ile kirlenen beherler, mikroorganizmaların üremesini engellemek amacıyla her gün temizlendi.

Deney periyodu sonunda böcekler beherlerden alındı ve tartılarak biyokimyasal analizler yapılıncaya kadar -80^{o}C de saklandı.

3.1.4. Diazinonun Eşey Oranına Etkilerinin Belirlenmesi

Denenen diazinon konsantrasyonlarının eşey oranına etkilerini belirlemek amacıyla yumurtadan yeni çıkmış ve henüz besin almamış 10 adet dişi ve 5 adet erkek *P.turionellae* bireyleri 20x20x20 cm ölçülerindeki tel kafeslere alındı. 3x3 cm boyutundaki alüminyum folyo parçaları üzerine eşit miktarlarda damlatılan deney besinleriyle 31. güne kadar her gün aynı saatte beslenen böceklere 10. günden itibaren her üç günde bir 10 adet *G.mellonella* pupası verilerek parazitleme işlemi yapıldı. Parazitleme işlemi için hazırlanan pupalar deney böceklerinin pupa hemolenfleri ile beslenmesini engellemek amacıyla çift kat ince aralıklı kafes teli ile sarılarak 1 saat boyunca kafeslerde tutuldu. Parazitleme işlemi sonunda pupalar plastik bardaklara alınarak aynı laboratuar koşularında ergin çıkışı oluncaya kadar bekletildi.

3.2. Metod

3.2.1. Böceklerin Homojenizasyonu

Böcekler 1/20 oranında fosfat tamponu (pH 7.4) içerisinde 24000 devir/dk da homojenize edildi. Homojenat 10000 devir/dk da 30 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen supernatant enzim aktivitesi tayininde ve protein miktarının belirlenmesinde, dipteki pellet ve yaklaşık 0.2 ml süpernatant ise glikojen miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

3.2.2. Protein Miktarının Tayini

Protein miktarının tayininde Lowry ve arkadaşları (1951) tarafından gösterilen yöntem kullanılmıştır.

Prensip

Proteinlerin alkali $CuSO_4$ ilavesiyle fosfotungustik asit ile mavi renkli kompleks oluşturması ilkesine dayanır.

Kullanılan Çözeltiler

Çözelti A: [% 2 Na_2CO_3 (0.1 N NaOH içinde)] : 2 g Na_2CO_3 tartıldı ve 0.1 N NaOH içinde toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti B1: (%1 $CuSO_4.5H_2O$): 1 g $CuSO_4.5H_2O$ tartıldı ve çözelti bidistile saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti B2: (%2 Na-K-tartarat): 2 g Na-K-tartarat tartıldı ve çözelti bidistile saf su ile toplam hacim 100 ml olacak şekilde çözüldü.

Çözelti C: 50 hacim çözelti A, 1 hacim 1/1 oranındaki çözelti B1 ve B2 karışımı ile karıştırıldı.

Folin-ciocalteu çözeltisi: Kullanılmadan önce 1/1.5 oranında bidistile saf su ile seyreltildi.

Çizelge 3.2. Lowry ve ark. (1951) protein miktarı ölçüm prosedürü

	Kör	Standart	Numune
Saf su (ml)	0.3	-	-
Standart (ml)	-	0.3	-
Örnek (ml)	-	-	0.3
Çözelti C (ml)	3	3	3
	Karıştırılır ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilir		
Folin-ciocalteu (ml)	0.3	0.3	0.3

Protein miktarlarının ölçümünden önce 100 ml si 1 gr albümin (Sigma; A-2153) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bu çözeltiden seyreltme yöntemi ile 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 mg/ml albümin içeren standart çözeltiler elde edildi. Her bir standart çözeltiye Lowry ve ark.,(1951) protein tayini metodu kullanılarak spektrofotometrede (Cecil 5000) 750 nm de ışık absorbsiyon değerleri okundu ve verilerden aşağıdaki regresyon denklemi elde edildi.

$$\mathbf{y = 0,0857x + 0,0719 \ (R^2=0,9894)} \qquad (3.1)$$

Örneklerin protein miktarları okunan absorbansların bu regresyon denkleminde yerine konulmasıyla hesaplandı.

Protein miktarlarının belirlenmesi için kör tüpüne 0.3 ml bidistile saf su üzerine 3 ml çözelti C eklendi ve 15 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 0.3 ml Folin-ciocalteu ilave edildi. 30 dakika bekletildikten sonra 750 nm de okuma yapıldı. Örneklerin okunması için 0.3 ml örnek üzerine 3 ml çözelti C eklenerek oda sıcaklığında 15 dk bekletildi ve üzerine 0.3 ml Folin-ciocalteu ilave edilerek 30 dakika bekletildi. Daha sonra 750 nm de köre karşı absorbans değerleri okundu. Elde edilen ışık absorbsiyon değeri regresyon doğrusu denkleminde yerine konularak bir deney serisinin bir tekrarındaki böceklerin toplam protein miktarı elde edildi. Bu değer böcek sayısına bölünerek birey başına düşen protein miktarı saptandı. Yaş

ağırlığa göre birey başına düşen protein oranı ise birey başına düşen protein miktarının 100 ile çarpımının yaş ağırlığa bölünmesiyle elde edildi.

3.2.3. Glikojen Miktarının Tayini

Glikojen miktarının tayininde Van Handel'in (1985) geliştirmiş olduğu yöntem kullanıldı.

Kullanılan Çözeltiler:

Antron Çözeltisi: 750 mg antron tartıldı, 150 ml bidistile saf su ve 380 ml konsantre H_2SO_4 içerisinde çözüldü.

%2'lik Sodyum Sülfat (Na_2SO_4) çözeltisi: 2 gr Na_2SO_4 tartıldı ve son hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf su ile çözüldü.

Kloroform/metanol Karışımı (1/2): 10 ml kloroform ve 20 ml metanol erlenmayer içerisinde karıştırıldı ağzı sıkıca kapatılarak saklandı.

Çizelge 3.3. Van Handel (1985) glikojen miktarı ölçüm prosedürü

	Kör	Standart	Numune
Saf su (ml)	0.2	-	-
Standart (ml)	-	0.2	-
Örnek (ml)	-	-	0.2
Antron (ml)	1	1	1
90^oC de 15 dk bekletilir ve buzdolabında soğutulur			

Glikojen miktarının tayininden önce mililitresi 0.1 g saf glikojen (Sigma G-8751) içeren bir stok çözelti hazırlandı ve bundan seyreltme yöntemi ile 0.005, 0.010, 0.025, 0.050, ve 0.075 mg/ml glikojen standart çözeltileri elde edildi. Bu glikojen standardı serisine Van Handel (1985) metodu uygulanarak örneklerin ışık

absorbsiyon değerleri 625 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Cecil 5000) okundu ve verilerden regresyon denklemi elde edildi.

$$\mathbf{y = 0,363x + 0,188 \ (R^2=0,9980)} \qquad (3.2)$$

Örneklerin glikojen miktarlarının tayininde ise her bir tüpe önce 100 µl sodyum sülfat eklendi ve üzerine 900 µl kloroform-metanol (1:2) karışımı ilave edildikten sonra 15.000 devirde 4 dk santrifüj edildi. Dipte kalan pellet ve yaklaşık 0.2 ml süpernatant alınarak 90^{o}C de ki sıcak su banyosuna kloroform-metanolun tamamen uçması sağlandı. Tüpler soğutulduktan sonra üzerlerine 1 ml antron çözeltisi eklenerek tekrar 90^{o}C de 15 dakika bekletildi. Süre sonunda buzdolabında soğutulan tüplerin absorbansı 625 nm de okundu. Elde edilen absorbsiyon değerleri regresyon denkleminde yerine konularak örneğin 1 ml içindeki glikojen miktarı mg cinsinden elde edildi. Daha sonra bu değer o serideki böcek sayısına bölünerek birey başına düşen glikojen miktarı saptandı. Yaş ağırlığa göre birey başına düşen glikojen oranı ise birey başına düşen glikojen miktarının 100 ile çarpımının birey başına düşen yaş ağırlığa bölünmesiyle elde edildi.

3.2.4. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Tayini

SOD aktivitesinin belirlenmesinde Sun ve ark. (1988) tarafından geliştirilen yöntem kullanılmıştır.

Prensip

Yöntem reaksiyon ortamında enzimatik bir reaksiyonla üretilen süperoksit radikallerinin, ortamda bulunan nitroblue tetrazolium'u (NBT) indirgemesinin örnekteki SOD tarafından engellenmesi esasına dayanır. Yöntemde süperoksit radikali üretimi ksantin-ksantin oksidaz enzimatik reaksiyonu ile sağlanır. Bu şekilde oluşturulan süperoksit radikalleri NBT ile reaksiyona girerek maksimum absorbansını 560 nm de veren bir formazon oluşturur. Ortama ilave edilen enzimin üretilen radikalleri dismutasyona uğratması sonucunda NBT redüksiyon reaksiyonu

yavaşlar ve sonuçta spektrofotometrede okunan absorbans değeri düşer. Dolayısıyla formazon oluşumunun inhibisyonun tayiniyle SOD miktarı indirekt olarak saptanmaktadır.

Reaktif çözeltisinin bileşenleri

Ksantin çözeltisi (0,3 mM): 9.13 mg ksantin (Sigma; X7375) önce birkaç damla 1N NaOH ile çözüldü daha sonra hacim bidistile saf su ile 200 ml ye tamamlandı.

EDTA (0.6 mM): 22.3 mg EDTA ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2 2H_2O$) (Sigma: E-1644) toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

NBT (150 µg/l): 12.3 mg NBT (Sigma; N6876) toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

Na_2CO_3 (400 mM): 4.24 g Na_2CO_3 toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

BSA (1 g/l): 25 mg BSA toplam hacim 25 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

Reaktif çözeltisi (20 testlik): 20 ml ksantin çözeltisi, 10 ml EDTA çözeltisi, 10 ml NBT çözeltisi, 6 ml Na_2CO_3 çözeltisi ve 3 ml BSA çözeltisi alındı ve karıştırıldı.

Ksantin oksidaz [(EC:1.17.3.2) (Sigma; X1875) (167 U/l)] enziminden 48 µl alındı, 3 ml 2M buz soğukluğunda $(NH_4)_2SO_4$ de çözüldü.

2M $(NH_4)_2SO_4$: 2.643 g $(NH_4)_2SO_4$ toplam hacim 10 ml olacak şekilde bidistile saf su içerisinde çözüldü.

$CuCl_2.2H_2O$ (0.8 mM): 13,6 mg $CuCl_2.2H_2O$ toplam hacim 100 ml olacak şekilde bidistile saf suda çözüldü.

Çizelge 3.4. Sun ve ark. (1988) SOD aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör	Numune
Reaktif (ml)	1.425	1.425
Örnek (ml)	-------	0.05
Ksantin oksidaz (ml)	0.025	0.025
	Karıştırılır ve oda sıcaklığında 20 dk bekletilir	
$CuCl_2$ (ml)	0.05	0.05
Örnek (ml)	0.05	-------

SOD aktivitesinin tayini için her bir örnek için iki tüp alındı. Birinci tüp kör için ikinci tüp ise örnek için kullanıldı. Kör tüpüne 1.425 ml reaktif karışımı konuldu üzerine 0.025 ml ksantin oksidaz çözeltisi ilave edildi, karıştırılarak 20 dakika oda sıcaklığında bekletildi, süre sonunda 0.05 ml bakır klorür eklenerek reaksiyon durduruldu. Son olarak proteinden kaynaklanan absorbansın sonuçları etkilememesi için 0.05 ml örnek eklendi ve spektrofotometrede (Cecil 5000) 560 nm de saf suya karşı okuma yapıldı. Örnek tüpüne yine 1.425 ml reaktif karışımı üzerine 0.05 ml örnek ve 0.025 ml ksantin oksidaz ilave edildi ve 20 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra 0.05 ml bakır klorür ilave edilerek reaksiyon durduruldu ve 560 nm de absorbansları okundu.

Hesaplama:

$$\%\ \text{İnhibisyon} = \frac{(\text{Absorbans kör} - \text{Absorbans numune}) \times 100}{\text{Absorbans kör}} \quad (3.3)$$

$$\text{Aktivite (U/ml)} = \frac{\%\ \text{İnhibisyon}}{50 \times 0.1} \quad (3.4)$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/mg protein)} = \frac{\text{Aktivite (U/ml)}}{\text{Protein miktarı (mg/ml)}} \quad (3.5)$$

3.2.5. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini

Katalaz aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (1984) metodu kullanılmıştır.

Prensip

Katalazın hidrojen peroksiti (H_2O_2) nötralize etmesi esasına dayanmaktadır.

Kullanılan Çözeltiler

Fosfat tamponu (50 mM): 6.81 gr KH_2PO_4 ve 7.1 gr Na_2HPO_4 bidistile suda çözündükten sonra pH 1N NaOH ile 7.4 e ayarlandı ve son hacim bidistile su ile 1 litreye tamamlandı.

H_2O_2 (30 mM): %30 luk H_2O_2 den 0.34 ml alınarak fosfat tamponu ile 100 ml ye tamamlandı.

Çizelge 3.5. Aebi (1984) CAT aktivitesi ölçüm prosedürü

	Kör	Numune
H_2O_2 (ml)	2.8	2.8
Fosfat tamponu (ml)	0.2	-
Örnek (ml)	-	0.2

CAT aktivitesinin tayini için iki tüp alındı ve kör ve numune tüpü olarak ayrılan bu tüplerden kör tüpüne 2.8 ml 30 mM H_2O_2 ilave edildi ve üzerine 0.2 ml fosfat tamponu eklendikten sonra seri bir şekilde çalkalanarak spektrofotometrede (Varian, Carry 50) 240 nm de 30 saniye aralıklarla iki kez okundu. Örnek için kullanılan tüpe yine aynı miktar 30 mM H_2O_2 konuldu ve üzerine 0.2 ml örnek elenerek hızlı bir şekilde çalkalanarak 240 nm de absorbansları okundu. İlk okuma A1, ikinci okuma A2 olarak adlandırıldı.

Hesaplama:

$$U = \frac{2.3}{\Delta x} \times \log \frac{A_1}{A_2} \quad (3.6)$$

$$U = \frac{2.3}{30} \times \log \frac{A_1}{A_2} \quad (3.7)$$

Formülü ile hesaplanarak katalaz aktivitesi U/mg protein olarak ifade edildi.

3.2.6. Diazion'un Eşey Oranına Etkilerinin Hesaplanması

Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın eşey oranına ve antioksidan enzim aktivitelerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, eşey oranına etkilerinin araştırılması için plastik bardaklara konulan pupalardan çıkan ergin bireyler sayılarak dişi, erkek ve toplam ergin birey sayıları yüzde olarak değerlendirildi.

3.2.7. Verilerin Değerlendirilmesi

Deneyler değişik zamanlarda üç defa tekrar edildi. Deneylerden elde edilen verilerin istatistiki analizleri, SPSS 13.00 paket programı kullanılarak Student-Newman Keul's (SNK) testinin uygulanmasıyla yapıldı. Ortalamalar arasındaki fark 0.05 olasılık seviyesinde F değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

Farklı diazinon konsantrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm) ergin *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitelerine etkileri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 de gösterilmiştir.

Böceklerin farklı konsantrasyonlarda diazinon ile beslenmelerini takip eden 24 saatlik periyot sonunda kontrol grubunda 0.5918 U/mg protein olan SOD aktivitesi 0.01 ppm'lik diazinon dışındaki denenen tüm konsantrasyonlarda kontrole göre önemli düzeyde artmıştır. Besinin 0.25 ppm diazinon içermesi durumunda ise sözü edilen gün için aktivite denenen tüm konsantrasyonlara göre önemli düzeyde artarak maksimum değer olan 0.9237 U/mg proteine yükselmiştir.

Deney periyodunun 48. saatinde 0.01, 0.10 ve 0.25 ppm diazinon içeren besinlerle beslenen gruplarda SOD aktivitesi kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalırken, yüksek diazinon konsantrasyonlu besinlerle (0.50 ve 0.75 ppm) beslenen gruplarda istatistiki bakımdan önemsiz bir miktar artışın olduğu gözlenmiştir.

SOD aktivitesi deney periyodunun 72. saatinde kontrol grubunda 0.6683 U/mg protein olarak ölçülmüş, bu değer düşük diazinon konsantrasyonlarına sahip besinlerle beslenen gruplarda (0.01 ve 0.1 ppm) önemli düzeyde azalırken denenen diğer gruplarda (0.25, 0.50 ve 0.75 ppm) önemli ölçüde artarak sırasıyla 0.7712, 0.7723 ve 0.8711 U/mg protein olarak gerçekleşmiştir.

Deney periyodunun sonu olan 96. saatte denenen tüm diazinon konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli düzeyde bir artışlar meydana gelmiştir. Bu artış besinin 0.10 ve 0.50 ppm diazinon içermesi durumunda en yüksek düzeyde gerçekleşmiştir (sırasıyla 0.7913 ve 0.7768 U/mg protein).

0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'*nın SOD aktivitelerine zamana bağlı etkileri Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2 de verilmiştir.

Kontrol grubunda 24. saatte 0.5918 U/mg protein olan SOD aktivitesi 48 ve 72. saatlerde artarak sırasıyla 0.8395 ve 0.6683 U/mg protein düzeyine ulaşmıştır. 96. saatte ise önemli ölçüde azalarak 0.4075 U/mg protein olarak gerçekleşmiştir.

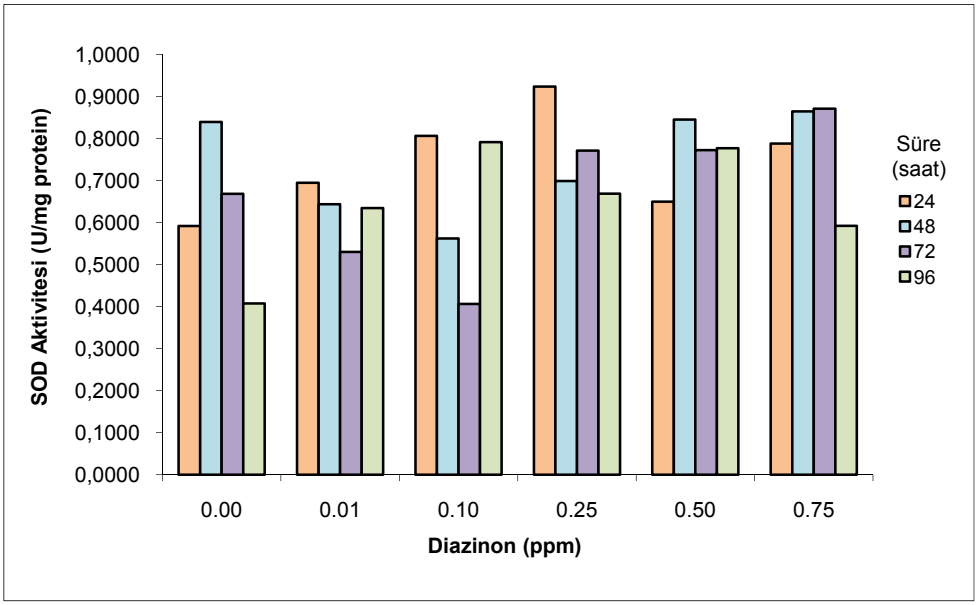
Çizelge 4.1. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitelerine etkileri

Diazinon (ppm)	SOD Aktivitesi (U/mg Protein) Süre (Saat) 24 ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$) *	48 ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$) *	72 ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$) *	96 ($\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$) *
0.00**	0.5918 ± 0.0042 d z	0.8395 ± 0.009 a x	0.6683 ± 0.014 c y	0.4075 ± 0.005 e t
0.01	0.6945 ± 0.0018 c d x	0.6435 ± 0.027 c x	0.5300 ± 0.010 d y	0.6346 ± 0.006 c x
0.10	0.8061 ± 0.0411 b x	0.5621 ± 0.011 d y	0.4064 ± 0.007 e z	0.7913 ± 0.016 a x
0.25	0.9237 ± 0.0400 a x	0.6988 ± 0.021 b z	0.7712 ± 0.008 b y	0.6687 ± 0.002 b z
0.50	0.6496 ± 0.0022 c z	0.8451 ± 0.008 a x	0.7723 ± 0.012 b y	0.7768 ± 0.003 a y
0.75	0.7881 ± 0.0150 b y	0.8647 ± 0.015 a x	0.8711 ± 0.006 a x	0.5921 ± 0.005 d z

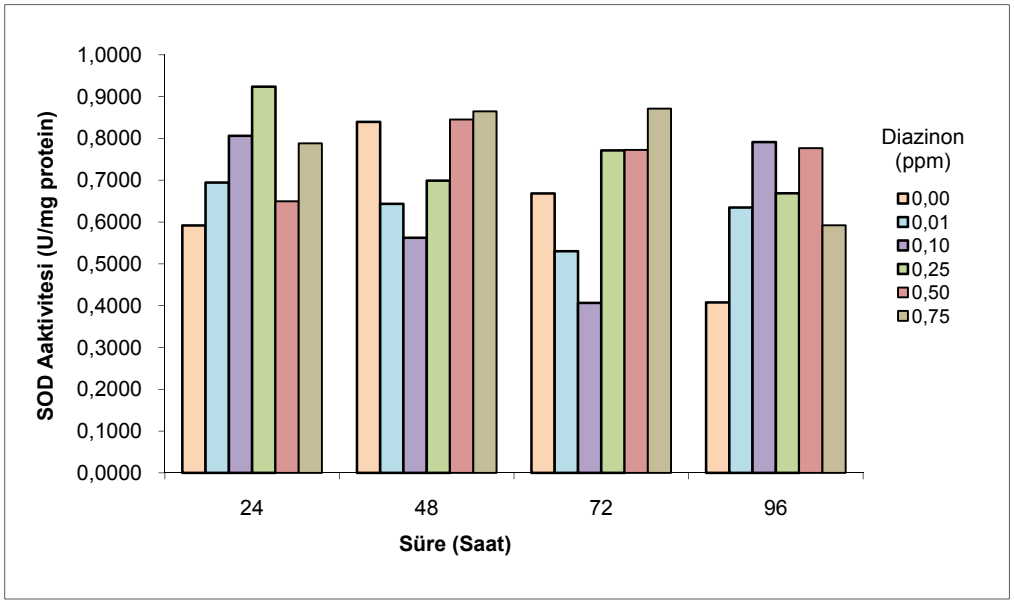
* : SNK: a, b, c, d, e harfleri konsantrasyonlar; x, y, z, t harfleri süreler arasındaki ayarımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Aynı harfi içeren veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayarım yoktur.

$\bar{X} \pm s_{\bar{X}}$: Aritmetik ortalama ±Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.1. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitesine etkileri



Şekil 4.2. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitesine süreye bağlı etkileri

0.01 ppm diazinon içeren besinle beslenen *P. turionellae* erginlerinde SOD aktivitesi 24, 48 ve 96. saatlerde etkilenmezken 72. saatte önemli ölçüde azalmış ve 0.5300 U/mg protein olarak tespit edilmiştir.

Besinin 0.10 ppm diazinon içermesi durumunda 24. saate 0.8061 U/mg protein olan SOD aktivitesi 48 ve 72. saatlerde önemli düzeyde azalarak sırasıyla 0.5621 ve 0.4064 U/mg protein olarak gerçekleşmiş, azalan bu aktivite 96. saatte tekrar artarak 0.7913 U/mg protein olarak gerçekleşmiştir.

Böceklerin 0.25 ppm diazinon içeren besinle beslenmesi durumunda 24. saatte 0.9237 U/mg proteinle sözü edilen konsantrasyon için maksimum değer olan SOD aktivitesi 48, 72 ve 96. saatlerde önemli ölçüde azalmıştır. 72. saatte gözlenen aktivite 48 ve 96. saattekilerden daha fazladır.

0.50 ppm diazinon içeren besinle beslenen grupta 24. saatte 0.6469 U/mg protein olan SOD aktivitesi denenen diğer saatlerde önemli ölçüde artmıştır. Bu deney serisinde en yüksek SOD aktivitesi 48. saate 0.8451 U/mg protein olarak gerçekleşmiş, 72. ve 96. saatlerde tekrar düşerek sırasıyla 0.7723 ve 0.7768 U/mg protein olarak gerçekleşmiştir.

Besindeki diazinon oranının 0.75 ppm olması durumunda 24. saatte 0.7881 U/mg protein olan SOD aktivitesi 48 ve 72. saatlerde önemli ölçüde artarken, 96. saatte SOD aktivitesi bu deney serisi için minimum değer olan 0.5921 U/mg protein düzeyine düşmüştür.

Farklı diazinon konsantrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm) ergin *P.turionellae* dişilerinin CAT aktivitelerine etkileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3 de verilmiştir.

Deney periyodunun 24. saatinde kontrol grubunda 21.21 U/mg protein olan katalaz aktivitesi, besinin 0.10 ve 0.25 ppm diazinon içermesi durumunda kontrol ve denenen diğer konsantrasyonlara göre önemli ölçüde artarak sırasıyla 23.37 ve 27.90 U/mg protein değerine ulaşmasına neden olmuştur. 0.50 ve 0.75 ppm diazinon içeren besinle beslenen gruplarda ise kontrole göre önemli bir artış söz konusu değildir.

Katalaz aktivitesi 48 saat sonunda en yüksek diazinon konsantrasyonuna sahip olan besinle beslenen grupta (0.75 ppm) kontrol ve diğer gruplara göre önemli

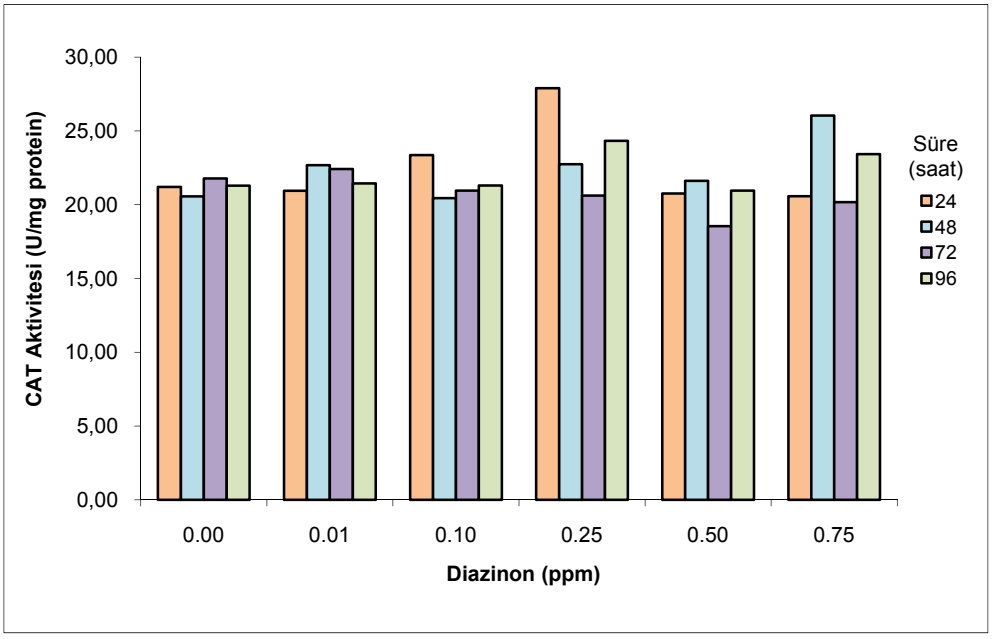
Çizelge 4.2. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae* dişilerinin CAT aktivitelerine etkileri

Diazinon (ppm)	CAT Aktivitesi (U/mg Protein) Süre (Saat) 24 ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *	48 ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *	72 ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *	96 ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *
0.00**	21.21 ± 0.200 c x	20.57 ± 1.040 b x	21.78 ± 0.550 a x	21.29 ± 0.653 b x
0.01	20.95 ± 0.430 c x	22.68 ± 0.529 b x	22.42 ± 0.901 a x	21.44 ± 0.628 b x
0.10	23.37 ± 0.691 b x	20.45 ± 0.354 b x	20.96 ± 0.940 a x	21.30 ± 0.702 b x
0.25	27.90 ± 0.904 a x	22.75 ± 0.551 b yz	20.62 ± 0.849 a z	24.33 ± 0.270 a y
0.50	20.76 ± 0.371 c x	21.62 ± 0.456 b x	18.55 ± 1.030 a x	20.96 ± 0.777 b x
0.75	20.58 ± 0.537 c z	26.04 ± 0.618 a x	20.18 ± 0.918 a z	23.43 ± 0.735 ab y

* : SNK: a, b, c harfleri konsantrasyonlar; x, y, z harfleri süreler arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Aynı harfi içeren veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayrım yoktur.

$\overline{X} \pm s\overline{x}$: Aritmetik ortalama ±Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.3. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin CAT aktivitesine etkileri

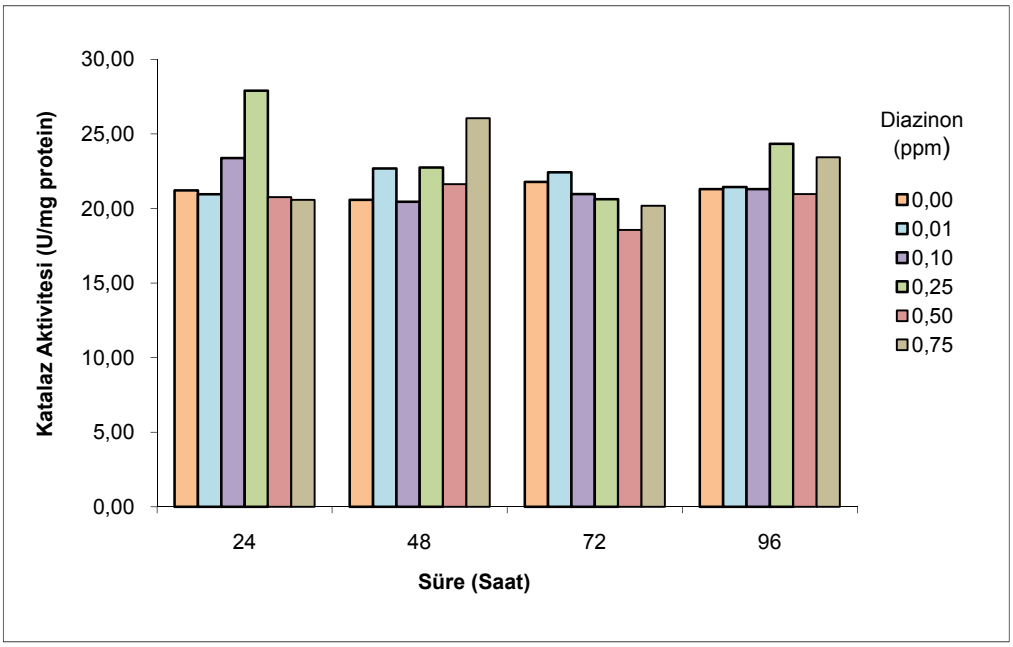
ölçüde artmıştır. Denenen diğer grupların kendi aralarında ve kontrole göre karşılaştırılmaları sonucunda istatistiki olarak bir fark görülmemiştir.

Deney periyodunun 72. saatinde gerek denenen grupların kendi arasında karşılaştırılmasında, gerekse kontrol grubuna oranla katalaz aktivitesinde istatistiksel olarak bir fark bulunamamıştır.

96. saatte denenen gruplar arasındaki 0.25 ve 0.75 ppm diazinon konsantrasyonlarına sahip besinlerle beslenen gruplarda kontrol grubuna oranla bir artış gözlenmiş fakat bu artış sadece 0.25 ppm diazinon içeren besinle beslenen grupta istatistiki bakımdan önemlidir. Bahsi geçen periyotta denenen diğer gruplar ile kontrol grubu arasında önemli bir fark bulunamamıştır.

Farklı diazinon konsantrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm), *P. turionellae'*nın CAT aktivitelerine zamana bağlı etkileri Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4 de sunulmuştur.

Besinin 0.00, 0.01, 0.10 ve 0.50 ppm diazinon içermesi *P. turionellae* dişilerinin katalaz aktivitesine denenen tüm sürelerde önemli bir etkide bulunmamıştır.



Şekil 4.4. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin CAT aktivitesine süreye bağlı etkileri

Besinin 0.25 ppm diazinon içermesi durumunda 24. saatte 27.90 U/mg protein olan CAT aktivitesi değeri 48., 72. ve 96. saatlerde önemli düzeyde azalmıştır.

Böceklerin 0.75 ppm diazinon içeren besinle beslenmeleri durumunda ise 24. saatte 20.58 U/mg protein olan katalaz aktivitesi, 48. saatte artarak 26.04 U/mg proteine yükselmiş, 72. saatte 20.18 U/mg protein ve 96. saatte 23.43 U/mg protein olarak gerçekleşmiştir.

Besindeki farklı diazinon konsatrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm), *P. turionellae* dişilerinin protein miktarına etkileri Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5 ve Şekil 4.6 de gösterilmiştir.

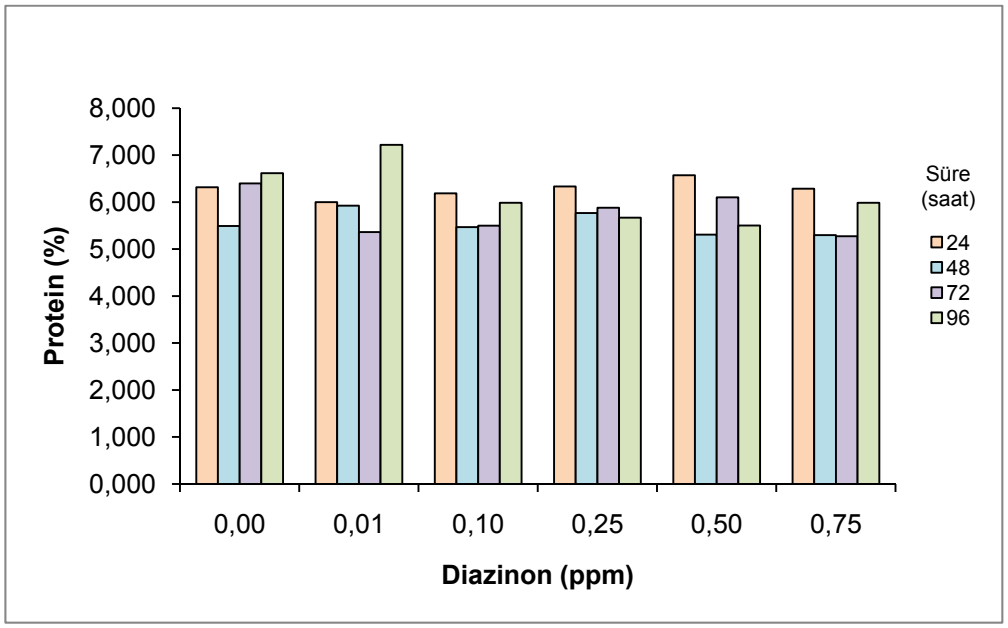
Besinin farklı diazinon konsatrasyonları içermesi durumunda *P. turionellae* dişilerinin protein miktarında gerek konsantrasyonlara gerekse süreye bağlı olarak elde edilen veriler arasında istatistiksel olarak bir ayrım gözlenmemiştir.

Çizelge 4.3. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. furionellae* dişilerinin protein miktarlarına etkileri

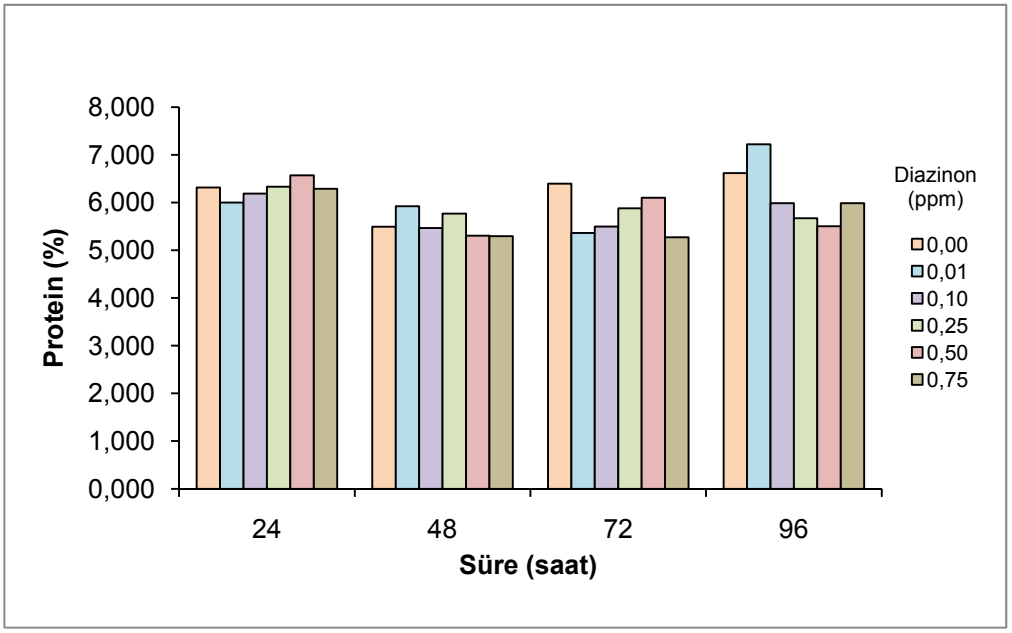
Protein Miktarı (%)								
	Süre(Saat)							
Diazinon (ppm)	Yaş Ağırlık (mg)	24 ($\bar{X} \pm sx$) *	Yaş Ağırlık (mg)	48 ($\bar{X} \pm sx$) *	Yaş Ağırlık (mg)	72 ($\bar{X} \pm sx$) *	Yaş Ağırlık (mg)	96 ($\bar{X} \pm sx$) *
0.00**	101.9	6.317 ± 0.457 a x	110.9	5.493 ± 0.371 a x	95.3	6.397 ± 1.123 a x	96.6	6.617 ± 0.315a x
0.01	101.5	6.000 ± 0.381 a x	108.4	5.923 ± 0.596 a x	115.2	5.363 ± 0.453 a x	95.1	7.220 ± 0.237 a x
0.10	102.6	6.187 ± 0.149 a x	109.3	5.467 ± 0.835 a x	105.4	5.497 ± 0.222 a x	102.7	5.987 ± 0.480 a x
0.25	97.0	6.333 ± 0.124 a x	106.6	5.767 ± 0.455 a x	107.8	5.880 ± 0.348 a x	114.7	5.670 ± 0.920 a x
0.50	106.4	6.570 ± 0.826 a x	102.1	5.307 ± 0.528 a x	99.3	6.100 ± 0.010 a x	109.2	5.503 ± 0.347 a x
0.75	107.5	6.287 ± 0.415 a x	105.9	5.297 ± 0.645 a x	112.1	5.273 ± 0.324 a x	131.7	4.987 ± 0.728 a x

* : SNK'ya, harf(konsantrasyonlar;x, harf(süreler arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Aynı harfi içeren veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayırım yoktur.

$\bar{X} \pm sx$: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.5. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin protein miktarına etkileri



Şekil 4.6. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin protein miktarına süreye bağlı etkileri

Farklı diazinon konsantrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm), *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına olan etkileri Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7 de sunulmuştur.

Deney periyodunun 24. saatinde kontrol grubunda %0.854 olan glikojen miktarı besinin 0.01 ppm diazinon içermesi durumunda önemli ölçüde etkilenmezken, denenen diğer konsantrasyonlarda önemli derecede azalmıştır.

48. saatte kontrol grubunda gözlenen glikojen miktarı (%0.918) ile 0.50 ppm diazinon içeren grup (%0.646) hariç diğer gruplar arasında istatistiksel bir ayırım gözlenmezken, 0.50 ppm diazinon içeren besinle beslenen grupta glikojen miktarı kontrol grubuna göre önemli ölçüde artarak %1.558 değerine ulaşmıştır.

Deney periyodunun 72 ve 96. saatlerinde *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarı farklı diazinon konsantrasyonlarından önemli ölçüde etkilenmemiştir.

Besindeki farklı diazinon konsantrasyonlarının (0.01, 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm), *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına zamana bağlı etkileri Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8 de gösterilmiştir.

Besinin 0.00 (kontrol) ve 0.01 ppm diazinon içermesi durumunda glikojen miktarında 24., 48 ve 72. saatlerde istatistiksel bir ayrım gözlenmezken 96. saatte önemli ölçüde artarak sırasıyla %1.775 ve %1.694 değerine ulaşmıştır.

Besindeki diazinon konsatrasyonunun 0.10, 0.25, 0.50 ve 0.75 ppm olması durumunda 24.saatte gözlenen minimum glikojen değerleri 48., 72., ve 96. saatlerde önemli ölçüde artmıştır (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8).

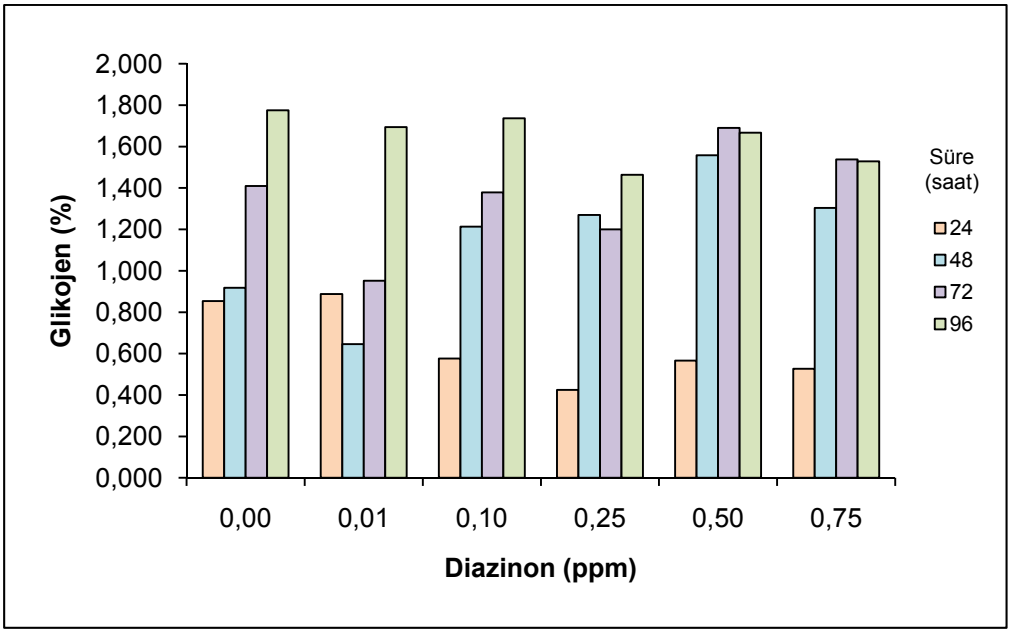
Çizelge 4.4. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae* dişilerinin glikojen miktarına etkileri

	Glikojen Miktarı (%)							
	Süre(Saat)							
Diazinon (ppm)	Yaş Ağırlık (mg)	24 ($\bar{X} \pm sx$) *	Yaş Ağırlık (mg)	48 ($\bar{X} \pm sx$) *	Yaş Ağırlık (mg)	72 ($\bar{X} \pm sx$) *	Yaş Ağırlık (mg)	96 ($\bar{X} \pm sx$) *
0.00**	101.9	0.854 ± 0.049 a y	110.9	0.918 ± 0.091 bc y	95.3	1.410 ± 0.309 a xy	96.6	1.775 ± 0.178 a x
0.01	101.5	0.888 ± 0.074 a y	108.4	0.646 ± 0.037 c y	115.2	0.952 ±0.124 a y	95.1	1.694 ±0.167 a x
0.10	102.6	0.576 ± 0.027 b y	109.3	1.213 ± 0.172 ab x	105.4	1.379 ±0.171 a x	102.7	1.737 ±0.947 a x
0.25	97.0	0.425 ± 0.042 b y	106.6	1.270 ± 0.140 ab x	107.8	1.200 ±0.070 a x	114.7	1.464 ±0.122 a x
0.50	106.4	0.566 ± 0.060 b y	102.1	1.558 ± 0.064 a x	99.3	1.690 ±0.174 a x	109.2	1.667 ±0.070 a x
0.75	107.5	0.527 ± 0.006 b y	105.9	1.304 ± 0.103 ab x	112.1	1.538 ±0.750 a x	131.7	1.529 ±0.197 a x

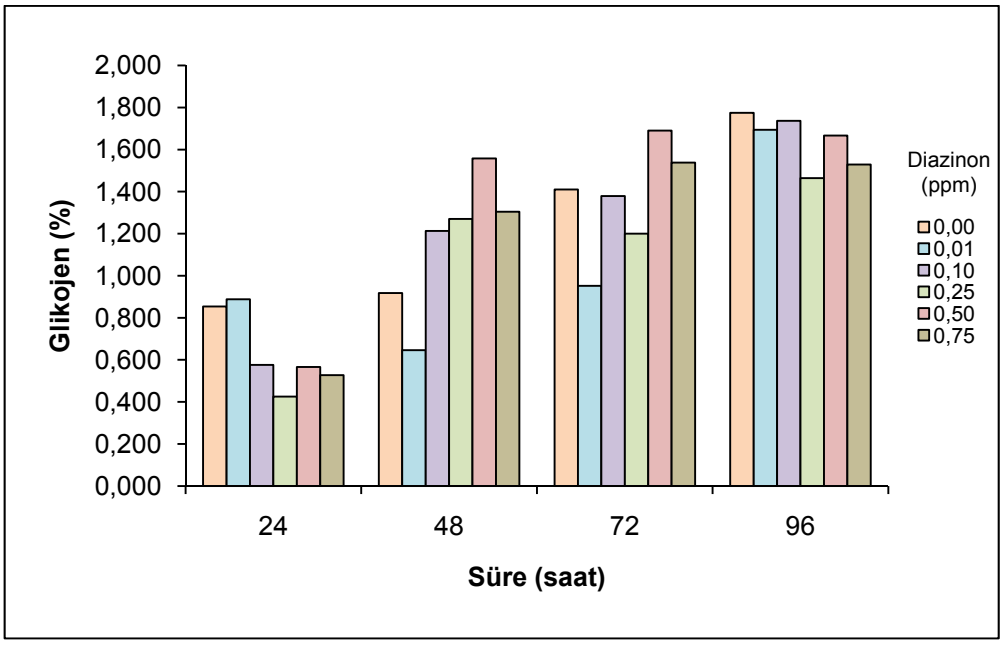
* : SNK: a, b, c harfleri konsantrasyonlar; x, y, harfleri süreler arasındaki aynımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Aynı harfi içeren veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik aynım yoktur.

$\bar{X} \pm sx$: Aritmetik ortalama ±Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.7. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına etkileri



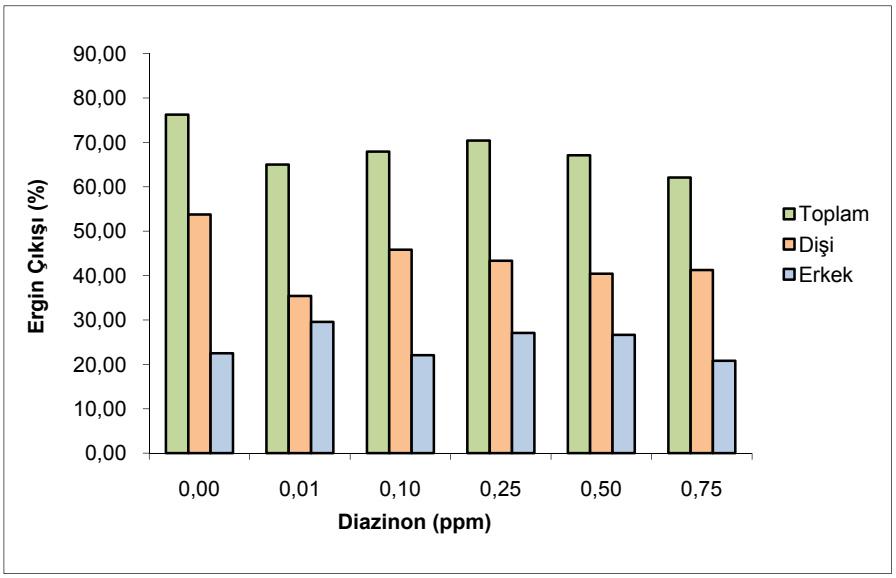
Şekil 4.8. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarına süreye bağlı etkileri

Besindeki farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın eşey oranına etkileri Çizelge 4.5 ve Şekil 4.9 de gösterilmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'*nın deney sonu toplam eşey oranına etkileri

Diazinon (ppm)	Ergin çıkışı (%) Toplam ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *	Dişi ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *	Erkek ($\overline{X} \pm s\overline{x}$) *
0.00**	76.25 ± 2.16 a	53.75 ± 2.60 a	22.50 ± 2.16 a
0.01	65.00 ± 1.90 b	35.42 ± 3.97 b	29.58 ± 2.92 a
0.10	67.92 ± 3.25 ab	45.83 ± 1.67 ab	22.08 ± 4.80 a
0.25	70.42 ± 2.53 ab	43.33 ± 2.92 b	27.08 ± 2.20 a
0.50	67.08 ± 3.25 ab	40.42 ± 3.00 b	26.67 ± 1.10 a
0.75	62.08 ± 1.10 b	41.25 ± 0.72 b	20.83 ± 1.50 a

* : SNK: Aynı sütunda aynı harfi içeren veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayırım yoktur.
$\overline{X} \pm s\overline{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata
** : Kontrol



Şekil 4.9. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın eşey oranına etkileri

Kontrol grubunda %76.25 olan toplam ergin çıkışı 0.01 ve 0.75 ppm diazinon içeren besinle beslenen böceklerde önemli ölçüde azalarak sırasıyla %65.00 ve %62.08 olarak gerçekleşmiştir. Denenen diğer konsantrasyonların kendi aralarında ve yukarıda bahsi geçen konsantrasyonlarla karşılaştırılması sonucunda istatistiki bir fark bulunamamıştır.

P. turionellae dişi birey çıkışı besinin 0.10 ppm diazinon içermesi durumunda kontrole göre etkilenmezken, denenen diğer konsantrasyonlarda kontrole göre önemli ölçüde azalmıştır.

Erkek birey çıkışı denenen diazinon konsantrasyonlarından önemli bir şekilde etkilenmemiştir.

Denenen her bir diazinon konsantrasyonunun *P.turionellae*'nın ergin birey çıkış oranına günlere etkileri Çizelge 4.6 ve Şekil 4.10 da verilmiştir.

Besinin diazinon içermemesi (kontrol) 25., 28. ve 31. günlerde denenen diğer günlere göre (10. gün hariç) istatistiki bakımdan önemli ölçüde düşmesine neden olmuştur. Bu deney serisinde en yüksek çıkış oranı %96.67 ile 13. günde tespit edilmiştir.

Besinin 0.01 ppm diazinon içermesi durumunda 10. ve 31. günlerde gözlenen ergin birey çıkışı 16., 19. ve 22. günlerde gözlenenden önemli düzeyde düşük gerçekleşmiştir. Denenen diğer günler arasında bu konsantrasyonda önemli bir etki gerçekleşmemiştir.

Böceklerin 0.10 ppm diazinon içeren besinle beslenmesi 13. günde ergin birey çıkışının maksimum düzeyde gerçekleşmesine neden olmuştur. Denenen diğer günlerde ergin birey çıkışı düşmüş, 31. günde ise %53.00 oranıyla en düşük değer elde edilmiştir.

Diazinonu 0.25 ppm oranında içeren deney serisinde ergin birey çıkışı %86.67 ile 10. günde maksimum düzeye ulaşırken, minimum ergin çıkışı %53.33 ile 25. günde gerçekleşmiştir. Sözü edilen günler arasındaki fark istatistiki bakımdan önemli düzeydedir.

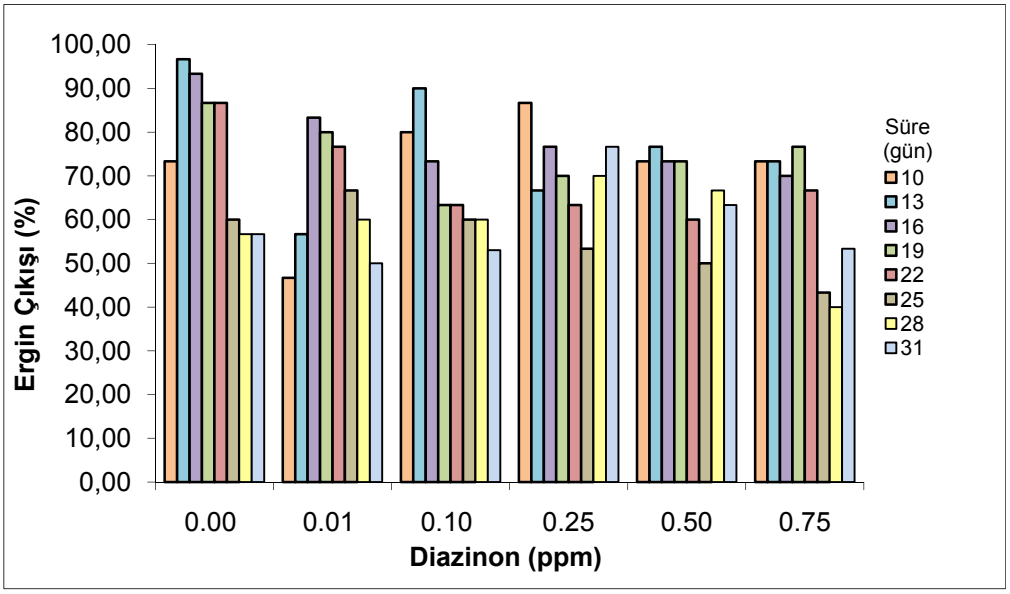
Çizelge 4.6. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae'* nin günlere göre ergin birey çıkış oranına etkileri

	TOPLAM ERGİN ÇIKIŞI (%)					
	Diazinon (ppm)					
Gün	0.00** ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.01 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.10 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.25 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.50 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.75 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
10	73.33 ± 8.81 ab xy	46.67 ± 3.33 b y	80.00 ± 5.77 ab x	86.67 ± 8.81 a x	73.33 ± 3.33 ab xy	73.33 ± 6.67 ab xy
13	96.67 ± 3.33 a x	56.67 ± 8.81 ab z	90.00 ± 0.00 a xy	66.67 ± 8.81 ab yz	76.67 ± 3.33 a xyz	73.33 ± 3.33 ab xyz
16	93.33 ± 3.33 a x	83.33 ± 6.67 a x	73.33 ±12.01 ab x	76.67 ± 3.33 ab x	73.33 ± 6.67 ab x	70.00 ± 5.77 ab x
19	86.67 ± 3.33 a x	80.00 ± 5.77 a x	63.33 ± 6.67 ab x	70.00 ±10.00 ab x	73.33 ± 3.33 ab x	76.67 ± 8.81 a x
22	86.67 ± 8.81 a x	76.67 ± 3.33 a x	63.33 ± 6.67 ab x	63.33 ± 3.33 ab x	60.00 ± 5.77 ab x	66.67 ± 8.81 abc x
25	60.00 ± 5.57 b x	66.67 ± 8.81 ab x	60.00 ± 5.77 ab x	53.33 ± 6.67 b x	50.00 ± 5.77 b x	43.33 ± 6.67 bc x
28	56.67 ± 3.33 b x	60.00 ± 5.77 ab x	60.00 ±10.00 ab x	70.00 ± 5.77 ab x	66.67 ± 8.81 ab x	40.00 ± 0.00 c x
31	56.67 ± 3.33 b y	50.00 ± 0.00 b y	53.00 ± 3.33 b y	76.67 ± 3.33 ab x	63.33 ± 3.33 ab xy	53.33 ± 8.81 abc y

* : SNK: a, b, c harfleri süreler; x, y, z harfleri konsantrasyonlar arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Aynı harfi içeren veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayırım yoktur.

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama ± Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.10. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın ergin birey çıkışına etkileri.

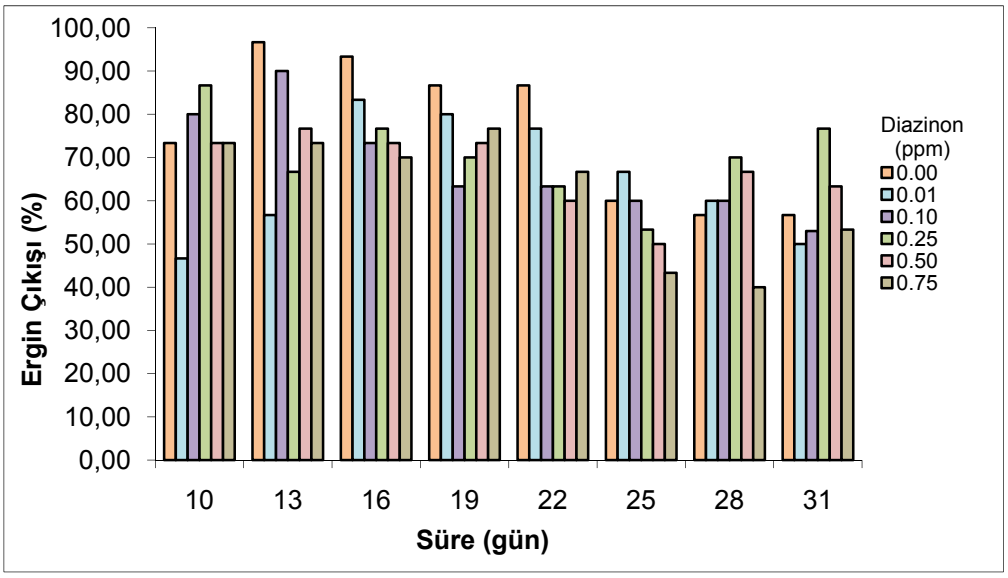
Diazinon konsantrasyonunun 0.50 ppm olması durumunda minimum ergin birey çıkışı %50.00 ile 25. günde elde edilmiştir. Maksimum ergin çıkışı ise 13. günde gözlenmiştir. Bu iki gün arasındaki fark önemli düzeyde olup denenen diğer günlerde önemli bir etki gözlenmemiştir.

Besinin 0.75 ppm diazinon içermesi 25. ve 28. günler dışında denenen günler arasında ergin birey çıkışını etkilememiştir. En düşük ergin birey çıkış oranı bu deney serisinde %40.00 ile 28. günde gözlenmiş, bunu %43.33 ile 25. gün izlemiştir.

Denenen her bir gündeki farklı diazinon konsantrasyonlarının P. turionellae'nın ergin birey çıkış oranına etkileri Çizelge 4.6 ve Şekil 4.11 de sunulmuştur.

16., 19., 22., 25. ve 28. günlerde diazinon konsantrasyonları böceğin ergin çıkış oranı üzerine önemli bir etkide bulunmamıştır.

10. günde ergin birey çıkışı kontrol grubu ile denenen diğer konsantrasyonlar arasında önemli düzeyde etkilenmemiştir. Bu deney serisinde maksimum ergin birey çıkışı 0.25 ppm diazinon düzeyinde elde edilmiş, minimum ergin birey çıkışı ise 0.01 ppm diazinonda gözlenmiştir. 0.01 ppm ile 0.10 ve 0.25 ppm diazinon arasındaki etki önemli düzeydedir



Şekil 4.11. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın ergin birey çıkışına günlere göre etkileri

Deney periyodunun 13. gününde kontrol grubunda %96.67 olan ergin birey çıkışı 0.01 ve 0.25 ppm diazinon içeren besinle beslenen böceklerde önemli ölçüde azalarak sırasıyla %56.67 ve %66.67 olarak gerçekleşmiştir. 0.10 ppm diazinon içeren besinle beslenen böceklerde ergin çıkışı %90.00 düzeyinde olmuş, besinin 0.50 ve 0.75 ppm diazinon içermesi 13. günde eşey oranına önemli bir etkide bulunmamıştır.

Bu deney serisinin 31. gününde maksimum ergin çıkışının gözlendiği 0.25 ppm ile 0.50 ppm arasında önemli bir etkileşim olmaz iken denenen diğer diazinon konsantrasyonları ergin birey çıkışının önemli derecede düşmesine neden olmuştur.

Farklı diazinon konsantrasyonlarının dişi birey çıkış oranına günlere göre etkileri Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12 de verilmiştir.

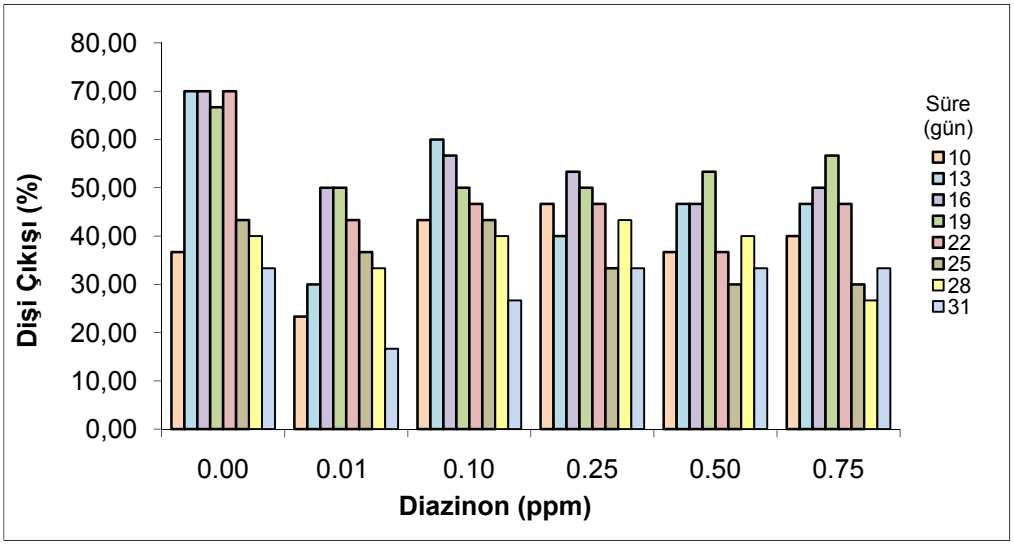
Çizelge 4.7. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P.turionellae*'nin günlere göre dişi birey çıkış oranına etkileri

	DİŞİ ÇIKIŞI (%)					
	Diazinon (ppm)					
Gün	0.00** ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.01 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.10 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.25 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.50 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	0.75 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *
10	36.67 ±3.33 b x	23.33 ± 3.33 bc x	43.33 ± 6.67 ab x	46.67 ± 6.67 a x	36.67 ± 3.33 ab x	40.00 ± 5.77 abc x
13	70.00 ±5.77 a x	30.00 ± 5.77 abc z	60.00 ± 5.77 a xy	40.00 ± 5.57 a yz	46.67 ± 3.33 ab yz	46.67 ± 3.33 abc yz
16	70.00 ±5.77 a x	50.00 ± 5.77 a x	56.67 ± 8.81 a x	53.33 ± 3.33 a x	46.67 ± 3.33 ab x	50.00 ± 5.57 ab x
19	66.67 ±6.67 a x	50.00 ± 5.77 a x	50.00 ± 5.77 ab x	50.00 ± 5.77 a x	53.33 ± 3.33 a x	56.67 ± 3.33 a x
22	70.00 ±5.77 a x	43.33 ± 3.33 ab y	46.67 ± 3.33 ab y	46.67 ± 3.33 a y	36.67 ± 6.67 ab y	46.67 ± 3.33 abc y
25	43.33 ±3.33 b x	36.67 ± 3.33 abc x	43.33 ± 3.33 ab x	33.33 ± 6.67 a x	30.00 ± 5.77 b x	30.00 ± 5.77 bc x
28	40.00 ±0.00 b x	33.33 ± 3.33 abc x	40.00 ± 5.77 ab x	43.33 ± 3.33 a x	40.00 ± 5.77 ab x	26.67 ± 3.33 c x
31	33.33 ±3.33 b x	16.67 ± 8.81 c x	26.67 ± 3.33 b x	33.33 ± 6.67 a x	33.33 ± 3.33 ab x	33.33 ± 3.33 bc x

* : SNK: a, b, c harfleri süreler; x, y, z harfleri konsantrasyonlar arasındaki ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Aynı harfi içeren veriler arasında $P<0.05$ düzeyinde istatistik ayırım yoktur.

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama ±Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.12. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın dişi birey çıkışına etkileri.

Kontrol grubunda (0.00 ppm diazinon) 10. günde %36.67 olan dişi birey çıkış oranı 13., 16., 19. ve 22. günlerde önemli ölçüde artarak sırasıyla %70.00, %70.00, %66.67 ve %70.00 olarak gerçekleşmiştir. Takip eden günlerde dişi çıkış oranı önemli ölçüde tekrar azalarak 25. günde %43.33, 28.günde %40.00 ve 31. günde de %33.33 olarak gerçekleşmiştir.

Diazinon oranının 0.01 ppm olduğu besinle beslenen grupta 16. ve 19. günlerde %50.00 olan dişi çıkışı istatistiksel olarak sadece 10. ve 31. günlerde elde edilenlerle fark göstermiştir. 10. ve 13. günlerdeki dişi birey çıkış oranı sırasıyla %23.33 ve %16.67 olarak gerçekleşmiştir. Denenen diğer günlerde önemli bir etkileşim gözlenmemiştir.

Besinin 0.10 ppm diazinon içermesi durumunda 13. ve 16. günlerde gözlenen maksimum dişi birey çıkışı ile 31. günde gözlenen minimum dişi birey çıkış oranı arasında istatistiki fark önemlidir. Diğer günlerde elde edilen veriler arasında önemli bir ayrım gözlenmemiştir.

Böceklerin 0.25 ppm diazinon içeren besinle beslenmeleri dişi birey çıkışına önemli bir etkide bulunmamıştır.

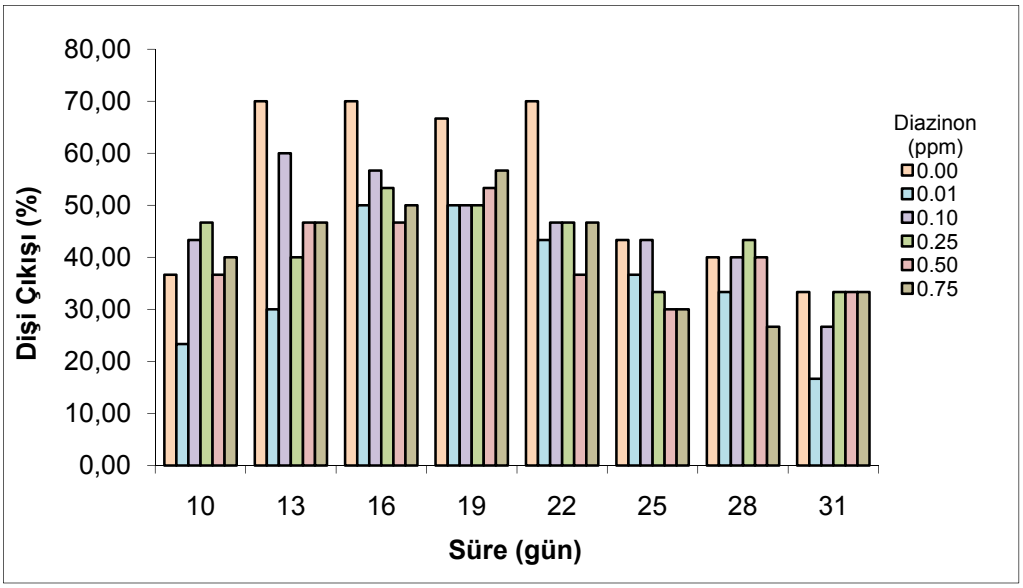
Diazinon oranının 0.50 ppm olduğu besinle beslenen grupta dişi birey çıkışı 19. (maksimum; %53.33) ve 25. (minimum; %30.00) günler arasında önemli düzeydedir. Denenen diğer günlerde dişi birey çıkışı diazinonun bu konsantrasyonundan etkilenmemiştir.

Besinin 0.75 ppm diazinon içermesi durumunda 25. 28. ve 31. günlerde 19. güne oranla dişi birey çıkışında önemli bir düşüş gözlenmiştir. Benzer şekilde 28. gündeki dişi çıkışı (%26.67) ile 16. gündeki dişi çıkışı (%50.00) arasında da önemli bir fark respit edilmiştir. Denenen diğer günlerde bu diazinon konsantrasyonu dişi birey çıkışını etkilememiştir.

Denenen her bir gündeki farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın dişi birey çıkış oranına etkileri Çizelge 4.7 ve Şekli 4.13 da sunulmuştur.

10., 16., 19., 25., 28. ve 31. günlerde *P. turionellae* dişi bireylerinin çıkış oranını denenen diazinon konsantrasyonları etkilememiştir.

13. gününde maksimum birey çıkışı %70.00 ile kontrolde elde edilmiş, bunu %60.00 ile 0.10 ppm diazinon içeren besin izlemiştir. Denenen diğer konsantrasyonlar sözü edilen günde önemli bir etkide bulunmamışlardır.



Şekil 4.13. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın dişi birey çıkışına günlere göre etkileri

Farklı diazinon konsantrasyonlarının erkek birey çıkış oranına günlere göre etkileri Çizelge 4.8 ve Şekil 4.14 da verilmiştir.

Denenen diazinon konsantrasyonlarından 0.50 ppm hariç diğerleri erkek birey çıkışına önemli bir etkide bulunmamıştır.

0.50 ppm diazinon içeren besinle beslenen grupta 10. günde %36.67 olan erkek birey çıkışı, 19. ve 25. günlerde önemli düzeyde azalarak %20.00 oranına düşmüştür. Denenen diğer günlerde önemli bir etki gözlenmemiştir.

Denenen her bir gündeki farklı diazinon konsantrasyonlarının erkek birey çıkış oranına etkileri Çizelge 4.8 ve Şekil 4.15 de sunulmuştur.

Deney periyodunun 10., 13., 16., 19., 22., 28. ve 31. günlerinde besinlerin farklı konsantrasyonlarda diazinon içermesi erkek birey çıkışını önemli ölçüde etkilemezken 25. günde istatistiksel olarak fark 0.01 ppm diazinon içeren besinle beslenen grup (%30.00) ile 0.75 ppm diazinon içeren besinle beslenen grup (%13.33) arasında meydana gelmiştir. Sözü edilen günde denenen diğer konsantrasyonların gerek kontrol ile gerekse kendi aralarında karşılaştırılması sonucunda istatistiki olarak bir fark gözlenmemiştir.

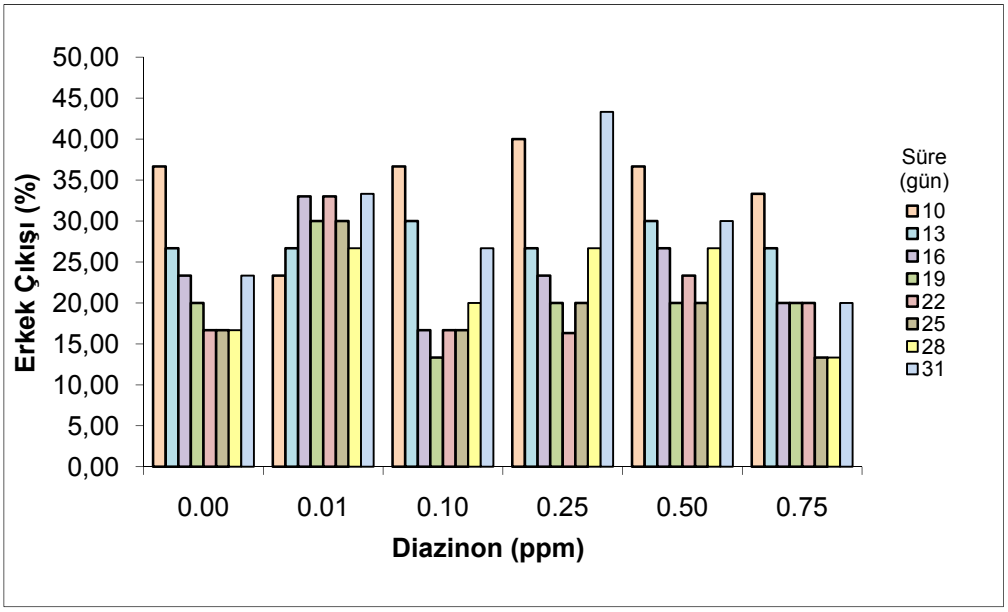
Çizelge 4.8. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın günlere göre erkek birey çıkış oranına etkileri

	ERKEK ÇIKIŞI (%)									
	Diazinon (ppm)									
Gün	0.00** ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *		0.01 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *		0.10 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *		0.25 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *		0.50 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *		0.75 ($\bar{X} \pm s\bar{x}$) *	
10	36.67 ±6.67	a x	23.33 ± 3.33	a x	36.67 ± 8.81	a x	40.00 ± 5.77	a x	36.67 ± 3.33	a x	33.33 ± 3.33	a x
13	26.67 ±6.67	a x	26.67 ± 6.67	a x	30.00 ± 5.77	a x	26.67 ±12.00	a x	30.00 ± 0.00	ab x	26.67 ± 6.67	a x
16	23.33 ±3.33	a x	33.33 ± 8.81	a x	16.67 ± 6.67	a x	23.33 ± 3.33	a x	26.67 ± 3.33	ab x	20.00 ± 5.77	a x
19	20.00 ±5.77	a x	30.00 ± 5.77	a x	13.33 ± 3.33	a x	20.00 ± 5.77	a x	20.00 ± 5.77	b x	20.00 ± 5.77	a x
22	16.67 ±3.33	a x	33.33 ± 3.33	a x	16.67 ± 3.33	a x	16.33 ± 5.77	a x	23.33 ± 3.33	ab x	20.00 ± 5.77	a x
25	16.67 ±3.33	a xy	30.00 ± 5.77	a x	16.67 ± 3.33	a xy	20.00 ± 0.00	a xy	20.00 ± 0.00	b xy	13.33 ± 3.33	a y
28	16.67 ±3.33	a x	26.67 ± 5.77	a x	20.00 ± 5.77	a x	26.67 ± 3.33	a x	26.67 ± 3.33	ab x	13.33 ± 3.33	a x
31	23.33± 3.33	a x	33.33 ± 8.81	a x	26.67 ± 6.67	a x	43.33 ± 3.33	a x	30.00 ± 0.00	ab x	20.00 ± 5.77	a x

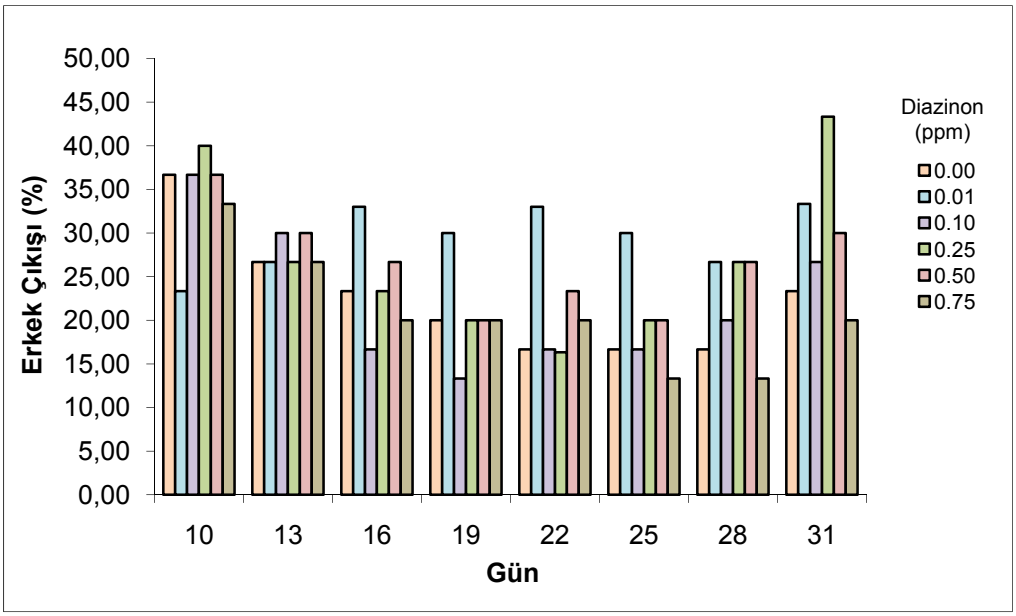
* : SNK: a, b, c harfleri sütunlar; x, y, z harfleri konsantrasyonlar arasındaki ayrımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır.
Aynı harfi içeren veriler arasında P<0.05 düzeyinde istatistik ayrım yoktur.

$\bar{X} \pm s\bar{x}$: Aritmetik ortalama ±Standart hata

** : Kontrol



Şekil 4.14. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın erkek birey çıkışına etkileri



Şekil 4.15. Farklı diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae*'nın erkek birey çıkışına günlere göre etkileri

5. TARTIŞMA

Sunulan çalışmada organofosforlu bir insektisit olan diazinonun farklı subletal konsantrasyonlarının *P. turionellae'*nın SOD ve CAT aktiviteleri, protein ve glikojen miktarları ile eşey oranı üzerine olan etkileri meridik bir besin kullanılarak araştırılmıştır.

Organizmalarda serbest radikal üretimi ile bunların antioksidan savunma sistemleri tarafından ortadan kaldırılması arasında bir denge söz konusudur. Serbest radikal üretiminin artması veya antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz kalması durumunda bu dengenin serbest radikaller yönünde kayması sonucu oksidatif stres oluşur ve bu da organizmada çeşitli hasarlara yol açar (Mercan, 2004; Serafini ve Del Rio, 2004).

Serbest radikal oluşumunun ana kaynağı organizmaya giren ksenobiyotikler ve bunların biyoaktivasyonu sonucu oluşan ürünlerdir. Birçok maddenin serbest radikal oluşturarak oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir. Ksenobiyotikler arasında önemli bir grubu oluşturan pestisitlerin neden olduğu toksik etkilerin ortaya çıkarılmasında, serbest radikal oluşumunun önemli rol oynadığını da unutmamak gerekir (Mercan, 2004). Organofosforlu insektisitler serbest radikal oluşumunu artırmakta ve antioksidan enzimlerin yapılarında değişikliğe yol açarak oksidatif strese neden olmaktadırlar (Gültekin ve ark., 2001; Kovacic, 2003; Birkhoj ve ark., 2004; Milatovic ve ark., 2006; Dettbarn ve ark., 2006).

Birçok canlı türünde, örneğin *Oxya chinensis* (Li ve ark., 2005), *Sitophilus granarius* (Bolter ve Chefurka, 1990), *Musca domestica* (Zaman ve ark., 1994), *Spodoptera eridania* (Ahmad ve ark., 1995), *Oreochromis mossombicus* (Venkateswara Rao, 2006), deneysel olarak oluşturulan oksidatif stres sonucunda enzim aktivitelerinin değiştiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.

Sunulan çalışmada *P. turionellae* dişilerinin SOD aktivitesi, genel olarak denenen diazinon konsantrasyonlarında önemli ölçüde artmıştır. Gözlenen bu aktivite artışı, diazinonun neden olduğu oksidatif stres sonucu artan süperoksit radikallerinin ortamdan uzaklaştırılabilmesi için SOD aktivitesinin arttığını açıkça göstermesi

açısından dikkat çekicidir. Diğer taraftan gözlenen bu durumun organofosforlu insektisit toksisitesi karşısında *Spodoptera exigua* ve *Tenebrio molitor* (Adamski ve ark., 2003), *G. mellonella* (Büyükgüzel 2009) larvalarında gözlendiği gibi *P. turionellae*'da da ilk tepki olarak ortaya çıkmasını desteklemesi açısından da önemlidir. Buna karşın SOD aktivitesinin 48. ve 72. saatlerde özellikle düşük konsantrasyonlarda azalma göstermesi dikkat çekicidir. Bu durum, organizmalarda pestisite karşı oluşan adaptasyonun bir sonucu olabileceği gibi az miktarda oluşan serbest radikallerin zararlı bir etki göstermediği ve hatta bazı durumlarda yararlarının da olduğu (Song, 2004; Nordberg ve Arner, 2001), balıklarda olduğu gibi az miktarda serbest radikal oluşumunun enzimin bazal aktivitesiyle ortamdan uzaklaştırılabildiği (Mitchelmore ve ark. 1996) görüşünün deney böceğimiz için de geçerli olabileceği fikrini vermektedir.

Sunulan çalışmada elde edilen verilerin zamana bağlı olarak değerlendirilmesi, gözlenen SOD aktivite değerlerinin genelde böceğin diazinona maruz kalma süresinin uzamasına bağlı olarak azalma gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durum antioksidan enzimlerin yaşlanmaya bağlı olarak azaldığı yaygın görüşünü desteklemektedir. (Karaduman, 1998).

Katalaz, hidrojen peroksiti su ve moleküler oksijene indirgeyerek hücreleri oksidatif hasarlara karşı koruyan bir enzimdir (Aebi, 1984; Nordberg ve Arner, 2001). Katalaz aktivitesi, hidrojen peroksitin hücresel konsantrasyonu ile yakından ilişkili olup (Fornazier ve ark., 2002) enzimin yüksek bir Km değerine sahip olması, düşük hücresel H_2O_2 konsantrasyonlarında bu radikalin uzaklaştırılmasında yetersiz kalmasına neden olabilmektedir (Ahmad ve ark., 1991, Felton ve Duffey, 1992, Ahmad, 1992). Sunulan çalışmada da katalaz aktivitesinin denenen diazinon konsantrasyonlarından genel olarak etkilenmediği gözlenmiştir. Bu durum diazinonun oluşturduğu oksidatif stres karşısında meydana gelen H_2O_2 konsantrasyonunun katalaz aktivitesini arttıracak düzeyin altında olduğu fikrini vermektedir.

Diğer taraftan böceklerde düşük H_2O_2 konsantrasyonunda bu radikalin uzaklaştırılmasında dehidro askorbik asit redüktaz (DHAR), askorbat peroksidaz (APOX) gibi enzimlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir (Summers ve Felton,

1993; Felton ve Summers, 1995). *P. turionellae*'nın da düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında sözü edilen antioksidan sistemleri kullanabildiğini söylememiz yapılacak ayrıntılı çalışmalar sonucunda mümkün olabilecektir.

Serbest radikallerin hücrede proteinler, lipitler, karbonhidratlar, enzimler, nükleik asitler ve DNA üzerine önemli etkileri olduğu bilinmektedir (Büyükkokuroğlu ve ark., 2001; Hermes-Lima ve Zenteno-Savin, 2002; Damien ve ark., 2004, Song, 2004). Sipermetrin uygulanmış *P. turionellae* (Sak ve ark., 2006) ve fenitrotion ve ethion uygulanmış *B. mori* (Nath ve ark., 1997) bireylerinde protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Ribeiro ve ark. (2001), böceklerde gözlenen protein miktarındaki düşüşü pestisitlerin böcekler üzerinde oluşturduğu strese karşı koyma amacıyla protein katabolizmasının uyarılmasıyla sonuçlanan bir fizyolojik adaptasyon olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca bu azalmanın, stres karşısında zarar gören hücre ve doku organellerinin tamirinde kullanılmak üzere lipoprotein oluşumunun artmasına da bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (Sancho ve ark., 1998; Rambabu ve Rao, 1994). Sunulan çalışmada her ne kadar denenen diazinon konsantrasyonlarının *P. turionellae* bireylerinin protein miktarı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ortaya konulmuşsa da, elde edilen verilerin incelenmesinden protein miktarında zamana bağlı olarak düşük de olsa bir azalmanın olduğu açıkça görülmektedir.

Glikojenin böceklerde ana enerji kaynağı olmasının yanında (Dadd, 1985), glikojen düzeyindeki değişimlerin kirliliğin belirlenmesinde önemli bir parametre olarak gösterilmiş olması (Lagadic ve ark., 1994), bu bileşiğin önemini daha da arttırması açısından dikkat çekicidir. Sunulan çalışmada *P. turionellae* dişilerinin glikojen miktarı, diazinondan proteine göre daha fazla etkilenmiştir. Özellikle bu etkilenme ilk 24 saatlik periyot sonunda konsantrasyon artımına bağlı olarak glikojen miktarında önemli azalma şeklinde kendini göstermiştir. Azalmanın erken evrede ortaya çıkması, böceğin gereksinim duyduğu enerjiyi karşılamada vücut depolarını kullanma yolunu tercih ederek glikogenolizin hızlanmasının bir sonucu olabilir. Bu da böceğin besindeki insektisitin neden olabileceği besin almayı engelleyici etkisinin bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Benzer bulgular *Locusta migratoria* (Alaoui ve ark., 1994), *Periplaneta americana* (Orr ve Downer, 1982), *P. turionellae* (Sak ve

ark., 2006) ve *B. mori* (Nath, 2003; Etebari ve ark., 2007) de farklı insektisit uygulaması sonucunda da gözlenmiştir.

Sunulan çalışmada 48. saatte bazı gruplarda gözlenen glikojen miktarındaki artış ağır metal stresi sonucu *Lymantria dispar* da gözlenen glikogenezin stimüle edilmesi (Ortel, 1996) sonucu oluşan artışa benzer bir mekanizma ile böceğin adaptif bir tepkisinin sonucu olabileceği fikrini uyandırmıştır. Bu adaptif tepki *P. turionellae* dişilerinde diazinon konsantrasyonu artışına ve zamana bağlı olarak 48. saatten sonra glikojen miktarlarını etkilememesi şeklinde kendini göstermiştir.

Biyolojik kontrol programlarında kullanılabilirliği olan endoparazitoid bir hymenopter türü olan *P.turionellae'* nin laboratuar koşullarında üretilebilmesi için gerekli tekniklerin ortaya konulması kadar bu türlerin üretimindeki olumsuz faktörlerin ortaya konulup gerekli önlemlerin alınması biyolojik mücadelenin etkili bir şekilde yapılabilmesi için çok önemlidir. Singh (1977), doğal çevrenin korunmasında biyolojik kontrolün önemine değinmiş ve bu amaçla kullanılan biyolojik kontrol ajanlarının yüksek kalitede ve çok sayıda üretilmesinin önemini vurgulamıştır. Diğer birçok endoparazitoid hymenopter türünde olduğu gibi *P.turionellae* populasyonunun devamlılığı, dişi böcek tarafından konukçu pupasına bırakılan çok sayıda yumurtadan birinin açılmasıyla gerçekleşir. Bu nedenle biyolojik mücadelede kullanılmak üzere üretilmesi amaçlanan biyolojik kontrol ajanlarının istenilen seviyede avantaj sağlayabilmesi için populasyondaki dişi birey sayısının yüksek düzeyde tutulması önemlidir (Coskun ve ark., 2005).

İnsektisitlerin böceklerde üreme performansını (Haynes, 1988; Moriarty, 1969; Zalizniak ve Nugegoda, 2006), yumurta bırakma davranışlarını ve yumurta açılımını (Hoskins, 1940; Fujiwara ve ark. 2002), eşey oranını (Couty ve ark. 2001), verimliliği (Liu ve Trumble, 2005), gelişmeyi (Cripe ve ark., 2003), etkiledikleri bilinmektedir.

Sunulan çalışmada toplam ergin ve dişi birey çıkışı diazinon konsantrasyonlarından önemli ölçüde etkilenerek azalmıştır. Diğer taraftan *P. turionellae* erkek birey çıkışı diazinon konsantrasyonlarından etkilenmemiştir. Hymenopter türlerinin birçoğu haplodiploid eşey belirleme sistemine sahiptir. Döllenmiş yumurtadan (diplodi) dişi, döllenmemiş yumurtalardan (haploid) ise erkek

bireyler meydana gelir (Goodfray, 1994). Yumurtaların döllenip döllenmeyeceği çevresel faktörlere bağlı olarak dişi tarafından sinir sistemi ile kontrol edilebilir (Goodfray, 1994; Greeff, 1996; Flanagan ve ark., 1998). Diğer organofosforlu insektisitlerde olduğu gibi diazinon da sinir sistemi üzerine etkili bir insektisittir. Dişilerdeki bu kontrol mekanizması merkezi sinir sisteminde diazionun neden olduğu bir deformasyon sonucu inhibe edilmiş olabileceği gibi, insektisitin neden olduğu dişilerdeki parazitleme davranışındaki bir değişmeden de kaynaklanıyor olabilir. *Trichogramma brassicae* de klopirfosun böceklerin sinirsel iletimini etkilediği için dişi ve erkeklerin seks feromonlarına karşı oluşturdukları cevapların azaldığı bilinmektedir (Delpuech ve ark. 1998). Farklı insektisit uygulanmış *Anopheles albimans*'da (Bailey ve ark., 1980), *Xanthocnemis zealandica* (Hardersen ve Wratten, 1988), *Blattella germanica* (Lee ve ark., 1998), *Trichogramma brassicae* (Delpuech and Meyet, 2003) ve *P. turionellae*'da (Gülfer ve ark., 2009) da ergin birey çıkışında önemli azalmaların olduğu gözlenmiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Biyolojik mücadelenin başarısı açısından ekosistemdeki zararlı türlerin yanı sıra onların doğal düşmanlarının da biyolojik özelliklerinin iyi bilinmesi gerekmektedir. Zararlı populasyonları ortadan kaldırmak için kullanılan kimyasal mücadelede bir yandan zararlı türün bağışıklık kazanmasına neden olurken bunun yanında faydalı türlerin bu kimyasallardan etkilenerek yok olması biyolojik mücadelenin başarısını engelleyen en önemli faktörlerden biridir.

Sunulan çalışmada zararlılarla mücadelede kullanılan organofosforlu bir insektisit olan diazinonun biyolojik mücadelede kullanılabilirliği olan bir hymenopter türü olan *P.turionellae'* nin antioksidan enzim aktivitelerine üzerine önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Bu da *P.turionellae'* nin biyolojik kontrol yanında enzim çalışmalarında model organizma olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Çalışmada *P. turionellae* de glikojen miktarının protein miktarından daha fazla ve çabuk etkilendiği sonucu ortaya çıkmıştır. bu da glikojenin biyokimyasal toksisite çalışmalarında bir belirleyici olarak kullanılabileceğini göstermiştir.

Bunun yanı sıra diazinon açık bir şekilde *P.turionellea'*nın toplam ergin birey çıkışını ve eşey oranını etkilediği ortaya çıkmıştır. *P.turionellae* populasyonunda üreme dişi böcek tarafından konağa bırakılan yumurtalardan birinin erginleşmesiyle meydana geldiği ve zararlılarla mücadelede dişinin parazitleme yoluyla aktif bir rol üstlendiği göz önünde bulundurulduğunda diazinonun bu böceğin populasyonunun devamlılığı ve biyolojik mücadele açısından negatif bir etkisinin olduğu açıktır.

Ancak bu etki mekanizmalarının tam olarak açıklanabilmesi için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır. Bunun için zararlılarla mücadelede kullanılan bu tip insektisitlerin yararlı türler üzerine moleküler düzeyde etkilerine ilişkin yapılacak çalışmalar faydalı olabilir.

KAYNAKLAR

ADAMSKI, Z., ZIEMNICKI, K., FILA, K., ZIKIC, R. and STAJN, A. 2003. Effects of Long-term Exposure to Fenitrothion on *Spodoptera exigua* and *Tenebrio molitor* Larval Development and Antioxidant Enzyme Activity. Biol. Lett. 40, 43-52.

AEBI, H., 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol., 121-126.

AHMAD, S. 1992. Biochemical Defenses of Prooxidant Plant Allelochemicals by Herbivorous Insects. Biochem Systematic Ecol. 20, 269-296.

AHMAD, S., DUVAL, D.L., WEINHOLD, L.C. and PARDINI, R.S. 1991. Cabbage Looper Antioxidant Enzymes. Tissue Specificity. Insect Biochem. 21, 563-572.

AHMAD, S. and PARDINI, R.S., 1990. Mechanisms for Regulating Oxygen Toxicity in Pyhtophagous Insects. Free Radic. Biol. Med., 8, 401-403.

AHMAD, S., ZAMAN, K., MACGILL, R.S., BATCABE, J.P. and PARDINI, R.S., 1995. Dichlone-Induced Oxidative Stres in a Model Insect Species, *Spodoptera eridania*. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 29(4), 442-448.

AKKUS, I., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, 38, Kuzucular Ofset, Konya-Türkiye.

ALAOUI, A., GOURDOUX, L., ATAY, Z.K. and MOREAU, R., 1994. Alterations in Carbohyrate Metabolism Induced in *Locusta migratoria* After Poisoing with the Pyrethroid Insecticide Deltamethrin. Pestic. Biochem. Physiol., 50, 183-190.

AMES, B.N., SHIGENAGA, M.K. and HAGEN, T.M., 1993. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. Proc. Natl. Acad. Sci., Sep 1; 90(17), 7915-7922.

ARTEEL, G.E., and SIES, H., 2001. The Biochemistry of Selenium and the Glutathione System. Environ. Toxicol. Pharmacol., 10, 153–158.

AUST, S.D., ROERIG, D.L. and PEDERSON, T.C., 1972. Evidence for Superoxide Generation by NADPH-Cytochrome C Reductase of Rat Liver Microsomes. Biochem. Biophys. Res. Commun., 47, 1133-1137.

AUSTIN, L., ARTHUR, H., de NIESSE, M., GURUSINGHE, A. and BAKER, M.S., 1988. Micromethods in Single Muscle Fibers. Determination of Catalase and Superoxide Dismutase. Anal. Biochem., 174, 568–574.

AYDIN, A., SAYAL, A. ve IŞIMER, A., 2001. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi, Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı.

BABIOR, B.M., 2000. Phagocytes and Oxidative Stres. Am. J. Med., 109 (1), 33–44.

BAGCHI, D., BAGCHI, M., HASSOUN, E.A. and STOHS, S.J., 1995. *In Vitro* and *In vivo* Generation of Reactive Oxygen Species, DNA Damage and Lactate Dehydrogenase Leakage by Selected Pestisides. Toxicology, 104, 129-140.

BAILEY, D.L., LOWE, R.E., DAME, D.A. and SEAWRIGHT, J. A., 1980. Mass Rearing the Genetically Altered Macho Strain of *Anopheles albimanus* Wiedemann. Am. J. Trop. Med. Hyg., 29, 141-149.

BARNES, P.J., 1990. Reactive Oxygen Species and Airway Inflammation. Free Radic. Biol. Med., 9, 235–243.

BAST, A., HAENEN, G.R.M.M. and DOELMAN, C.J.A., 1991. Oxidants and Antioxidants: State of the Art. Am. J. Med., 91, Suppl., 3C, 2-13.

BAYKAL, M., COSKUN, M., OZALP, P., SULANC, M. and EMRE, I., 2005. Effects of Malathion on the Egg Production and Hatchability of *Pimpla turionellae* L., Hymenoptera: Ichneumonidae. Fresenius Environ. Bull., 15(5), 418-421.

BEAUCHAMP, C. and FRIDOVICH, I., 1971. Superoxide Dismutase: Improved Assays and an Assay Applicable to Acrylamide Gels, Anal. Biochem., 44, 276-287.

BENDICH, A., MARCHLIN, L.J., SCANDURRA, O., BURTON, G.W. and WAYNER, D.D.M., 1986. The Antioxidant Role of Vitamin C. Adv. Free Radical Bio., 2, 419–444.

BETTERIDGE, D.J., 2000. What is Oxidative Stress? Metabolism, 49, 3–8.

BIRKHOJ, M., NELLEMANN, C., JARFELT, K., JACOBSEN, H., ANDERSEN, H.R., DALGAARD, M. and VINGGAARD, A.M., 2004. The Combined Antiandrogenic Effects of Five Commonly Used Pesticides. Toxicol. Appl. Pharmacol., 201, 10-20.

BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E. and FAGERSTEDT, K.V., 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: A Review. Ann. Bot., 91, 179–194.

BOLANN, B. and ULVIK, R.J., 1993. Stimulated Decay of Superoxide Caused by Ferritin-Bound Copper. FEBS Letters. Elseiver, 328(3), 263-267.

BOLTER, C.J. and CHEFURKA, W., 1990. The Effect of Phosphine Treatment on Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase in the Granary Weevil, *Sitophilus granarius*. Pestic. Biochem. Physiol., 36 (1), 52-60.

BRANTLEY, R.E., 1993. The Mechanism of Autoxidation of Myoglobin. J. Biol. Chem., 268, 6995–7010.

BURTON, G.W., 1994. Vitamin E: Molecular and Biological Function Proceedings of the Nutrition Society, 53(2), 251–262.

BUYUKGUZEL, E. 2009. Evidence of Oxidative and Antioxidative Responses by *Galleria mellonella* Larvae to Malathion. J. Econ. Entomol. 120(1). 152-159.

BUYUKGUZEL, K., 2006. Malathion-Induced Oxidative Stress in a Parasitoid Wasp: Effect on Adult Emergence , Longevity and Oxidative and Antioxidative Response of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). J. Econ. Entomol., 99(4), 1225-1234.

BUYUKKOROGLU, M.E., GULCIN, I., OKTAY, M. and KUFREVIOGLU, O.I., 2001. *In vitro* Antioxidant Properties of Dantrolene Sodium. Pharmacol. Res., 44, 491–495.

CERESER, C., GUICHARD, J., DRAI, J., BANNIER, E., GARCIA, I., BOGET, S., PARVAZ, P. and REVOL, A., 2001. Quantitation of Reduced and Total Glutathione at the Femtomole Level by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection: Application to Red Blood Cells and Cultured Fibroblasts, J. Chromatogr. B, 752, 123- 132.

CHANG, C.L., 2004. Effect of Amino Acids on Larvae and Adults of *Ceratitis capitata* (Diptera:Tephritidae). Ann. Entomol. Soc. Am., 9(3), 529-535

CHANG, C.L., ALBRECHT, C., S.S.A. EL-SHALL and KURASHIMA, R., 2001. Adult Reproductive Capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) on a Chemically Defined Diet. Ann. Entomol. Soc. Am., 94, 702-706.

CHEESEMAN, K.H. and SLATER, T.F., 1993. An Introduction to Free Radical Biochemistry. Br. Med. Bull., Jul; 49(3), 481-93.

CHEN, C.N. and PAN, S.M., 1996. Assay of Superoxide Dismutase Activity by Combing Electrophoresis and Densitometry. Bot. Bull. Acad. Sin., 37, 107-117.

CHEN, P. S., 1985. Amino Acid and Protein Metabolism In: G. A. Kerkut and L. I. Gilbert (eds), Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, Vol. 10, Pergamon press, pp. 177–219.

CHEUNG, C.C.C., ZHENG, G.J., LI, A.M.Y., RICHARDSON, B.J. and LAM, P.K.S., 2001. Relationship Between Tissue Concentrations of Polycylic Aromatic Hydrocarbons and Antioxidative Responses of Marine Mussels, *Perna viridis*. Aquatic Toxicol., 52, 189-203.

CHOW, C.K., 1991. Vitamin E and Oxidative Stress. Free Radic. Biol. Med., 11(2), 215-232.

CNUBBEN, N.H.P., RIETJENS, I.M.C.M., WORTELBOER, H., VAN-ZANDEN, J. and VAN BLADEREN, P.J., 2001. The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. Environ. Toxicol. Pharmacol., 10, 141-152.

COSKUN, M., OZALP, P. and EMRE, I., 2005. Effects of Vitamin E Concentrations on Sex Ratio of *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Adults. Ann. Entomol. Soc. Am., 98(3), 336-339.

COUTY, A., DE LA VINA, G., CLARK, S.J., KAISER, L., PHAM-DELE` GUE, M.H. and POPPY, G.M., 2001. Direct and Indirect Sublethal Effects of Galanthus Nivalis Agglutinin (GNA) on the Development of a Potato-Aphid Parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae). J. Ins. Physiol., 47, 553–561.

CRIPE, G.M., MCKENNEY, C.L., HOGLUND JR., M.D. and HARRIS, P.S., 2003. Effects of Fenoxycarb Exposure on Complete Larval Development of the Xanthid Crab, *Rhithropanopeus harrisii*. Environ. Pollut., 125, 295–299.

CROSS, C. E., HALLIWELL, B., BORISH, E., PRYOR, W., AMES, B N., SAUL, R., MC CORD, J.M. and HARMAN, D., 1987. Oxygen Radicals and Human Disease. Ann. Intern.Med., 107, 526- 545.

ÇAKIR, Ş. ve YAMANEL, Ş., 2005. Böceklerde İnsektisidlere Direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi. Cilt 6 Sayı. 1 21-29.

COMELEKOGLU, U., MAZMANCI, B. and ARPACI, A., 2000. Erythrocyte Superoxide Dismutase and Catalase Activities in Agriculture Workers who Have Been Chronically Exposed to Pesticides. Turk. J. Biol., 24, 483–488.

DADD, R.H., 1985 Nutrition: Organisms, in Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, ed by Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I., 8, 313-390, Pergamon-Press.

———., 1973. Insect Nutrition Current Developments and Metabolic Implication. Ann. Rev. Ent., 18, 381-420.

DAMIEN, C., CHANTAL, V.H., PIROUZ, S., ZERIMECH, F.H., LAURENCE, J. and JEAN, M.H., 2004. Cellular Impact of Metal Trace Elements in Terricolous lichen *Diploschistes muscorum* (Scop.) R. Sant.–Identification of Oxidative Stress Biomarkers. Water Air Soil Pollut., 152, 55–69.

DEATON C.M. and MARLIN D.J., 2003. Exercise-Associated Oxidative Stress, Clin. Tech. Equine Pract, Vol 2, No 3, 278-291.

DECHATELET, L.R., MCCALL, C.E., McPHAIL, L.C. and JOHNSTON. JR. R.B., 1974. Superoxide Dismutase Activity in Leukocytes. J. Clin. Invest., 53, 1197-1201.

DELİBAŞ, N. ve ÖZCANKAYA, R., 1995. Serbest Radikaller. S.D.Ü Tıp Fakültesi Dergisi, 2(3), 11-17.

DETTBARN, W.D., MILATOVIC, D. and GUPTA, R.C., 2006. Oxidative Stress in Anticholinesterase-Induced Excitotoxicity. In: R.C. Gupta, Editor, *Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds*, Academic Press/Elsevier, Amsterdam, 511–532.

DELPUECH, J.M. and MEYET, J., 2003. Reduction in the Sex Ratio of the Progeny of a Parasitoid Wasp (*Trichogramma brassicae*) Surviving the Insecticide Chlorphrifos. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 45, 203-208.

DELPUECH, J.M., GAREU, E., TERRIER, O. and FOUILLET, P. 1998. Sublethal Effects on Insecticide Chlorphyrifos on the Sex Pheromonaal Comminication of *Trichogramma brassicae.* Chemosphere, 36(8), 1775-1785.

DIAZINON.

Erişim: http://www.inchem.org/documents Erişim Tarihi: 22.12.2008.

DICKINSON, D.A. and FORMAN, H.J., 2002. Cellular Glutathione and Thiols Metabolism. Biochem. Pharmacol., 64, 1019-1026.

DOMIGAN, N.M., CHARLTON, T.S., DUNCAN, M.W., WINTERBOURN, C.C. and KETTLE, A.J., 1995. Chlorination of Tyrosyl Residues in Peptides by Myeloperoxidase and Human Neutrophils. J. Biol. Chem., 270, pp. 16542–16548.

DUBOVSKIY, I.M., MARTEMYANOV, V.V., VORONTSOVA, Y.L., RANTALA, M.J., GRYZANOVA, E.V. and GLUPOV, V.V. 2008. Effect of Bacrterial Infection on Antioxidant Activity and Lipid Peroxidation in the Midgut of *Galleria mellonella* L. Larvae (Lepidoptera, Pyralidae). Comp. Biochem. Physiol., Part C, 148, 1-5.

DYER, L. E. and LANDIS, D. A., 1996. Effects of Habitat, Temperature, and Sugar Availability on Longevity of *Eriborus terebrans* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Environ. Entomol., 25, 1192–1201.

EKEBAS, S., CAKIR, S., ERTUGRUL, O. and KENCE, A., 2000. The Detection of Mutagenic Activity of Some Chemicals (Azamethypos, Dichlorvos, Methyl parathion, Aflatoxin B1) by the SMART Test in *Drosophila melanogaster*, Turk. J. Vet. Anim. Sci., 24, (6) 563-569.

EMRE, İ., 1988. Meridik bir Besinin *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) Ergin Dişilerinin Yumurta Verimine Etkisi. Doğa Tu Biyol., 12(2), 101-105.

ERENEL, G., ERBAŞ, D. ve ARICIOĞLU, A., 1992. Serbest Radikaller ve Antioksidan Sistemler. Gazi Tıp Derg., 3, 243-250.

ETEBARI, K., BIZHANNIA, A.R., SORATI, R. and MATINDOOST, L., 2007. Biochemical Changes in Haemolymph of Silkworm Larva due to Pyriproxyfen Residue. Pestic. Biochem. Physiol., 88, 14-19.

FANTEL, A.G., 1996. Reactive Oxygen Species in Developmental Toxicity: Review and Hypothesis. Teratology, 53, 96–217.

FELTON, G.W. and DUFFEY, S.S., 1992. Ascorbate Oxidation Reduction in *Helicoverpa zae* as a Scavenging System Against Dietary Oxidants. Arch. Insect. Biochem. Physiol. 19, 27-37.

FELTON, G.W. and SUMMERS, C.B. 1995. Antioxidant System in Insects. Arch. Insect Biochem. Physiol. 29, 187-197.

FERRO, M. I. T. and ZUCOLOTO, F. S. . 1991. Influence of Amino Acid Deletion on Egg Prodution and Egg Laying by *Ceratitis Capitata*. Rev. Bras. Biol., 51(2), 407-412,

FHOLE, L. and GUNZLER, W.A., 1984. Assays of Glutathione Peroxidase. Methods Enzymol., 105, 114-115.

FLANAGAN, K.E., WEST, S.A. and GODFRAY, H.C.L., 1998. Local Mate Competition, Variable Fecundity and Information Use in a Parasitoid. Anim. Behav., 56, 191-198.

FORNAZIER, R.F., FERREIRA, R.R., PEREIRA, G.J.G., MOLINA, S.M.G., SMITH, R.J., LEA, P.J. and AZEVEDO, R.A., 2002. Cadmium Stress in Sugar Cane Callus Cultures: Effect on Antioxidant Enzymes. Plant Cell Tissue Organ Cult., 71, 125-131.

FREEMAN, B.A. and CRAPO, J.D., 1982. Free Radicals and Tissue Injury. Lab. Invest., 47, 412-426.

FRIDOVICH, I., 1975. Superoxide Dismutase. Ann. Rev. Biochem., 44, 147-159.

———., 1995. Superoxide Radical and Superoxide Dismutase. Annu. Rev. Biochem., 64: 97-112.

———., 1997. Superoxide Anion Radical, Superoxide Dismutases and Related Matters. J. Biol. Chem., 272(30), 18515-18525.

———., 2001. Oxidative Stress. Encyclopedia of Life Sciences, Nature Publishing Group, www.els.com, 1-5.

FUJIWARA, Y., TAKAHASHI, T., YOSHIOKA, T. and NAKASUJI, F., 2002. Changes in Egg Size of the Diamondback Moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Yponomeutidae) Treated with Fenvalerate at Sublethal Doses and Viability of the Eggs. Appl. Entomol. Zool., 37, 103–109.

GALLO, M.A. and LAWRYK, N.J., 1991. Organic Phosphorus Pesticides. In *Handbook of Pesticide Toxicology: Classes of Pesticides*, Vol. 2 (W. J. Hayes, Jr. and E. R. Laws, Jr., Eds.), pp. 917–1123. Academic Press, New York.

GELLER, B.L. and WINGE, D.R., 1982. Rat Liver Cu, Zn-Superoxide Dismutase. Subcellular Location in Lysosomes. J. Biol. Chem., 257, 8945-8952.

GIORDANO, G., AFSHARINEJAD, Z., GUIZETTI, M., VITALONE, A., KAVANAGH, J.T. and COSTA, G.L., 2007. Organophosphorus Insecticides Chlorphyrifos and Diazinon and Oxidative Stress in Neuronal Cells in a Genetic Model of Glutathione Deficiency. Toxicol. Appl. Pharmacol., 219, 181-189.

GODFRAY, H.C.J., 1994. Parasitoids: Behavioral and Evolutionary Ecology. Princeton University Press. Princeton NJ.473 pp.

GREEFF, J.M., 1996. Alternative Mating Strategies, Partial Sibmating and Split Sex Ratios in Haplodiploid Species. J. Evo. Biol., 9, 477-488.

GUEMOURI, L., ARTUR, Y., HERBETH, B., JEANDEL, C., CUNY, G. and SIEST, G., 1991. Biological Variability of Superoxide Dismutase, Glutathione peroxidase, and Catalase in Blood. Clin. Chem., 37(11), 1932-1937.

GULFER, B., COSKUN, M., KAYIS, T. and EMRE, I., 2009. Impact of Organophosphorus Insecticide, Malathion on the Progeny Sex Ratio of *Pimpla turionellae* L.. J. Environ. Biol., 30(5), 727-730.

GULTEKIN, F., DELIBAS, N., YASAR, S. and KILINÇ, I., 2001. *In vivo* Changes in Antioxidant Systems and Protective Role of Melatonin and a Combination of Vitamin C and Vitamin E on Oxidative Damage in Erythrocytes Induced by Chlorpyrifos-Ethyl in Rat. Arch. Toxicol., 75, 88-96.

GUTTERIDGE, J.M. and HALLIWELL, B., 2000. Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000. A Historical Look to the Future. Ann. N. Y. Acad. Sci., 899, 136-147.

GUTTERIDGE, J.M., 1995. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Tissue Damage. Clin. Chem., 41: 1819-1828.

GÜLER, Ç. ve ÇOBANOĞLU, Z., 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, No: 52 Ankara.

GÜMRÜKÇÜOĞLU, A. Serbest Radikaller.

Erişim: genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller 28.01.2009

HALLIWELL, B., 1984. Oxygen Radicals; A Commonsense Look at Their Nature and Medical Importance. Med. Biol., 62, 71-77.

———., 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. Nutr. Rev. 52, 253-265.

———., 1999. Antioxidant Defence Mechanisms: From the Beginning to the end (of the beginning). Free Radic. Res., 31, 261-272.

———., 2006. Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life. Plant. Physiol., 141, 312-322.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1984. Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Disease. Biochem. J., 219, 1-14.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1990. Role of Free Radicals and Catalytic Metal Ions in Human Disease. Methods Enyzmol., 280, 1-85.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 1999. Free Radicals in Biology and Medicine. Third Edition, Oxford University Pres. Inc., New York, 936s.

HALLIWELL, B. and GUTTERIDGE, J.M.C., 2000. Free Radicals in Biology and Medicine, 3.ed. Oxford New York.

HARDERSEN, S., 2000. Effects of Carbaryl Exposure on the Last Larval Instar of *Xanthocnemis zealandica*- Fluctating Assymetry and Adult Emergence. Ent. Exp. Appl., 96, 221-230.

HARDERSEN, S. and WRATTEN, S.D., 1998. The Effects of Carbaryl Exposure of the Penultimate Larval Instars of *Xanthocnemis zealandica* on Emergence and Fluctating Assymetry. Ecotoxicology, 7, 297-304.

HAYNES, K.F., 1988. Sublethal Effects of Neurotoxic Insecticides on Insect Behavior. Ann. Rev. Entomol., 33, 149-168.

HAZARIKA, A., SANKAR, A.N., HAJARE, S., KATARIA, M. and MALIK, J.K., 2003. Influence of Malathion Pretreatment on Toxicity of Anilofos in Male Rats: A Biochemical Interaction Study. Toxicology, 185, 1-8.

HEIKKILA, R.E., CABBAT, F.S. and COHEN, G., 1976. *In vivo* Inhibition of Superoxide Dismutase in Mice by Diethyldithiocarbamate. J. Biol. Chem., 251, 2182-2185.

HEIKKILA, R.E. and CABBAT, F.S. 1976. A Sensitive Assay for Superoxide Dismutase Based on the Autoxidation of 6-Hydroxydopamine, Anal. Biochem., 75, 356-362.

HENRY, L.E.A., HALLIWELL, B. and HALL D.O., 1976. The Superoxide Disutase Activity of Various Photosynthetic Organisms Measured by a New and Rapid Assay Technique. FEBS Lett, 66, 303–306.

HERMES-LIMA, M., STOREY, J.M., and STOREY, K.B., 2001. Antioxidant Defenses and Animal Adaptation to Oxygen Availability During Environmental Stress. In: Storey K.B., Storey J.M. (Eds), Cell and Molecular Responses to Stress,. Elsevier Press, Amsterdam, pp. 263-287.

HERMES-LIMA, M. and ZENTENO-SAVIN, T., 2002. Animal Response to Drastic Changes in Oxygen Availability and Physiological Oxidative Stress. Comp. Biochem. Physiol. Part C, 133, 537–556.

HOSKINS, W.M., 1940. Recent Contributions of Insect Physiology to Insect Toxicology and Control. Hilgardia, 13, 307-386.

HOUSE, H.L., 1962. Insect Nutrition. Ann. Rev. Biochem., 31, 653-672.

———., 1972. Insect Nutrition , In Biology of Nutrition , Edited by R.N. Fiennes. Chapter 12, 513-573

———., 1974. Nutrition. in the Physiology of Insecta, ed. M. Rocktein, New York, Academic Press, 5, 1-62.

IDRIS, A. B. and GRAFIUS, E., 1995. Wildflowers as Nectar Sources for *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a Parasitoid of Diamondback Moth (Lepidoptera: Yponomeutidae). Environ. Entomol., 24, 1726–1735.

IDRIS, A. B. and GRAFIUS, E., 1997. Nectar Collecting Behavior of *Diadegma insulare* (Hymenoptera: Ichneumonidae), a Parasitoid of Diamondback Moth (Lepidoptera: Plutellidae). Environ. Entomol., 26, 114–120.

ISHAAYA, I., 2000. Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance, Springer- Verlag Berlin Heidelberg, New York, 342p.

JACOB, H.S. and EVANS, E.W., 1998. Effects of Sugar Spray and Aphid Honeydew on Field Populations of the Parasitoid *Bathyplectes curculionis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Environ. Entomol., 27, 1563–1568.

JACOB, H.S. and EVANS, E.W., 2004. Influence of Different Sugars on The Longevity of *Bathyplectes curculionis* (Hym., Ichneumonidae). J. Appl. Entomol., 128(4), 316-320.

JOHANSSON, L.H. and BORG, L.A. 1988. A Spectrophotometric Method for Determination of Catalase Activity in Small Tissue Samples. Anal. Biochem., 174, 331- 336.

KAPPUS, H., 1987. A Survey of Chemicals Inducing Lipid Peroxidation in Biological systems. Chem. Phys. Lipids, 45, 105–115.

KARADUMAN, A., 1998. Serbest Radikaller ve Yaşlanma. T. Klin. Kozmetoloji, 1, 21-26.

KAVAS, G.Ö., 1989. Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri. Türkiye Klinikleri, 9, 1-8.

KEHRER, J.P., 1993. Free Radicals as Mediators of Tissue Injury and Disease. Crit. Rev. Toxicol., 23, 21–48.

KLAASSEN, C.D. and WATKINS, J.B., 2003 Caserett&Doull's Essentials of Toxicology, 3rd (Eds). New York, McGraw-Hill, USA.

KONO, Y., 1978. Generation of Superoxide Radical during Autoxidation of Hydroxylamine and an Assay for Superoxide Dismutase. Arch. Biochem. Biophys., 186,189–195.

KOVACIC, P., 2003. Mechanism of Drug and Toxic Actions of Gossypol: Focus on Reactive Oxygen Species and Electron Transfer. Curr. Med. Chem., 10, 2711-2718.

LAGADIC, L., CAQUET, T. and RAMADE, F., 1994. The Role of Biomarkers in Environmental Assesment. Invertebrate Populations and Communities. Ecotoxicol., 3(5), 193-208.

LAWRANCE R.A. and BURK R.F., 1976. Glutathion Peroxidase Activity in Selenium Defficient Rat Liver, Biochem. Biophys. Res. Com., 71(4), 952–958.

LEE, C.Y., YAP, H.H and CHONG, N.L., 1998. Sublethal Effects of Deltamethrin on Longevity and Reproduction of German Cockroaches, *Blattella germanica*. Ent. Exp. Appl., 89, 137-145.

LI, L., LUI, X., GUO, Y. and MA, E., 2005. Activity of the Enzymes of the Antioxidative System in Cadmium-Treated *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidae). Environ. Toxicol. Pharmacol., 20, 412-416.

LIU, D.G., TRUMBLE, J.T., 2005. Interactions of Plant Resistance and Insecticides on the Development and Survival of *Bactericerca cockerelli* [Sulc] (Homoptera: Psyllidae). Crop Prot., 24, 111–117.

LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L. and RANDALL, R.J., 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. J. Biol. Chem., 193(1), 265–75.

LUNEC, J. and BLAKE, D., 1990. Oxygen Free Radicals: Their Relevance to Disease Processes. In: Cohen R.D., Lewis, B., Albert, K.G.M.M. The Metabolic and Moleculer Basis of Acquired Disease. Balliere Tindall, London, 189-212.

MARKLUND, S., 1976. Spectrophotometric Study of Spontaneous Disproportionation of Superoxide Anion Radical and Sensitive Direct Assay for Superoxide Dismutase. J. Biol. Chem., 251, 7504–7507.

MARKLUND, S. and MARKLUND, G., 1974. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. Eur. J. Biochem., 47, 469–474.

MARNETT, L.J., 2000. Oxyradicals and DNA Damage. Carcinogenesis, 21, 361-370.

MATES, J.M., PEREZ-GOMEZ, C. and NUNEZ DE CASTRO, I., 1999. Antioxidant Enzymes and Human Diseases. Clin. Biochem., 32, 595-603.

MATES, J.M., 2000. Effects of Antioxidant Enzymes in the Molecular Control of Reactive Oxygen Species Toxicology. Toxicology, 153, 83-104.

MAVELLI, I. and ROTILIO, G., 1984. Enzymatic Protection against Intracellular Oxidative Processes, Advances on Oxygen Radicals and Radioprotectors, Edizioni Scientifiche, 65-80

MAYES, P.A., 1993. Structure and Function of the Water-Soluble Vitamins. In: Murray, D.K., Mayes, P.A-Rodwell, V.W. Harper's Biochemistry 23. ed. Lange Medical Publication, London, 573-578.

McCORD, J.M. and FRIDOVICH, I., 1969. Superoxide Dismutase. An Enzymic Function for Erithrocuprein (Hemocuprein). J. Biol. Chem., 244, 6049-6055.

MERCAN, U., 2004. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Vet. Fak. Derg., 15 (1-2), 91-96.

MILATOVIC, D., GUPTA, R.C. and ASCHNER, M., 2006. Anticholinesterase Toxicity and Oxidative Stress. Sci.World J., 6, 295-310.

MILLS, G.C., 1957. Hemoglobin Catabolism. I. Glutathione Peoxidase, an Erythrocyte Enyzme which Protects Hemoglobin from Oxidative Breakdown. J. Biol. Chem., 229,189.

MISRA, H. P. and FRIDOVICH, I., 1972. The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epihephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase. J. Biol. Chem., 247(10), 3170-3175.

MISRA, H. P. and FRIDOVICH, I., 1977. Superoxide Dismutase: Positive Spectrofphotometric Assays. Anal. Biochem., 79, 533-560.

MITCHELMORE, C.L., CHIPMAN, J.K., CARCIA-MARTINEZ, P., LEMAIRE, P., PETERS, L.D. and LIVINNGSTONE, D.R., 1996. Normal Status of Hepatic 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) Activity, Antioxidant Enzymes and DNA Oxidation in Turbot *(Scophthalmus maximus)* and Other Flatfish Species Following Exposure to Nitroaromatic Compounds. Mar. Environ. Res., 42(1-4), 329-333.

MOHAMMAD, A., AKRAM, R., SHAHIN, S., SHEKOUFEH, N. and ALI, R., 2004. Pesticides and Oxidative Stress: A Review. Med. Sci. Moni, 10(6), 141-147.

MORIARTY, F., 1969. The Sublethal Effects of Synthetic Insecticides on Insects. Biol. Rev., 44, 321-357.

MOSCONE, D., 1988. Determination of Superoxide Dismutase Activity with an Electrochemical Oxygen Probe. Analytica Chemica Acta., 211, 195-204.

MOSLEN, M.T., 1994. Reactive Oxygen Species in Normal Physiology, Cell Injury and Phagocytosis: In Free Radicals in Diagnostic Medicine. A systems Approach to Laboratory Technology, Clinical Correlations, and Antioxidant Therapy, Amstrong, D. (ed.), pp. 17-27. Plenum Pres, New York.

MRUK, D.D., SILVESTRINI, B., MENG-YUN, M.O. and CHENG, C.Y., 2002. Antioxidant Superoxide Dismutase -a Review: Its Function, Regulation in the Testis, and Role in Male Fertility. Contraception, 65, 305-311.

MURRAY, R.K., MAYES, P.A., GRANNER, D.K. and RADWELL, V.W., 1993. Harper'in Biyokimyası. Çevirenler: Prof. Dr. Gülriz Mentes, Prof.Dr. Biltan Ersöz. Barıs Kitabevi.

MYTILINEOU, C., KRAMER, B.C. and YABUT, J.A., 2002. Glutathione Depletion and Oxidative Stress. Parkinsonism Relat. D, 8, 385-387.

NATH, S.B., 2000. Changes in Carbohydrate Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm *Bombix mori* L., Exposed to Organophosporus Insecticides. Pestic. Biochem. Physiol., 68, 127-137.

———., 2003. Shifts in Glycogen Metabolism in Hemolymph and Fat Body of the Silkworm, *Bombix mori* (Lepidoptera:Bombycidae) in Response to Organophosphorus Insecticides Toxicity. Pestic. Biochem. Physiol., 74, 73-84.

NATH, S.B., SURESH, A., MAHENDRA VARMA, B. and KUMAR, R.P., 1997. Changes in Protein Metabolism in Haemolymph and Fat Body of the Silk Worm, *Bombix mori* L., in Response to Organophosporous Insecticides Toxicity. Ecotoxicol. Environ. Saf., 36, 169-173.

NETTO, L.E.S., KOWALTOWSKI, A.J., CASTILHO, R.F. and VERCESI, A.E., 2002. Thiol Enzymes Protecting Mitochondria against Oxidative Damage. Methods Enzymol., 348, 260-270.

NORDBERG, J. and ARNÉR, E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, and the Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biol. Med., 31, 1287–1312.

OKADO-MATSUMOTO, A. and FRIDOVICH, I., 2001. Subcellular Distribution of Superoxide Dismutases (SOD) in Rat Liver: Cu,Zn-SOD in Mitochondria. J. Biol. Chem., 276, 38388–38393.

ORBEA, A., FAHIMI, H.D. and CAJARAVILLE, M.P., 2000. Immunolocalization of Four Antioxidant Enzymes in Digestive Glands of Molluscs and Crustaceans and Fish Liver. Histochem. Cell. Biol., 114, 393–404.

ORR, G.L. and DOWNER, R.G.H., 1982. Effect of Lindane (γ-Hexachlorocyclohexane) on Carbohydrate and Lipid Reserves in the American Cockroach, *Periplaneta americana* L.. Pestic. Biochem. Physiol., 17, 89.

ORTEL, J., 1996. Metal Supplemented Diets After Carbohydrate-Levels in Tissue and Hemolymph of Gypsy-Moth (*Lymantria dispar* L., Lymantriidae, Lepidoptera). Environ. Toxicol. and Chem., 15(7), 1171–1176.

ORUC OZCAN, E., SEVGILER, Y. and UNER, N., 2004. Tissue-specific Oxidative Stress Responces in Fish Exposed to 2,4-D and Azinphosmethyl. Comp. Biochem. Physiol., Part C, 137, 43-51.

OZKAN, F. and EMRE, I., 1997. Effects of Orally Administrated Malathion, an Organophosphate Insecticide, on Longevity, Egg Production and Hatchability of Adult Female *Pimpla turionellae* L.. Tr. J. of Zoology, 21, 309–313.

OZKAN, A. and FISKIN, K., 2004. Free Radicals, Carcinogenesis and Antioxidant Enzymes. Tr. J. Hem. Oncol., 14, 52-60.

ÖNCÜER, C., 2000. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları No: 13, Genişletilmiş 4. Baskı, Aydın, 379s.

PACKER, L., WEBER, S.U. and RIMBACH, G., 2001. Molecular Aspects of Alpha-Tocotrienol Antioxidant Action and Cell Signalling. J. Nutr., 31, 369-373.

PAGLIA, D.E. and VALENTINE, W.N., 1967. Studies on the Quantitative and Qualitative Characterization of Erythrocyte Glutathione Peroxidase. J. Lab. Clin. Med., 70(1),158-69.

PEETERS-JORIS, C., VANDEVOORDE, A.M. and BAUDHUIN, P., 1975. Subcellular Localization of Superoxide Dismutase in Rat Liver. Biochem, J., 150, 31-39.

RAJDEEP, K. and SANDHU, H.S., 2008. *In vivo* Changes in Antioxidant System and Protective Role of Selenium in Chlorpyrifos-Induced Subcronic Toxicity in *Bubalus bubalis*. Environ. Toxicol. Pharmacol., 26, 45-48.

RAMBABU, J.P. and RAO, M.B., 1994. Effect of Organochlorine and Three Organophosphate Pesticides on Glucose, Glycogen, Lipid and Protein Contents in Tissues of the Freshwater Snail *Bellamya dissimilis* (Müller). Bull. Environ. Contam. Toxicol., 53, 142-148.

REITER, R.J., 1993. Interactions of the Pineal Hormone Melatonin with Oxygen-Centered Free Radicals. Brazilian J. Med. Biol. Res., 26, 1141-1155.

———., 1997. Antioxidant Actions of Melatonin. Adv. Pharmacol., 38, 103-110.

RHEE, S.G., 1999. Redox Signaling: Hydrogen Peroxide as Intracellular Messenger. Exp. Mol. Med., 31, 53-59.

RIBERIO, S., SOUSA, J.P., NOGUEIRA, A.J.A. and SOARES, A.M.V.M., 2001. Effect of Endosulfan and Parathion on Energy Reserves and Physiological Parameters of the Terrestrial Isopod *Porcellio dilatatus*. Ecotoxicol. Environ. Saf., 49, 131-138.

RICE-EVANS, C.A., DIPLOCK, A.T. and SYMONS, M.C.R., 1991. Tecniques in Free Radicals Research. Elsevier, Amsterdam, vol 22. (14p) pp.1-278.

RIGO, A., STEVANATO, R., FINAZZI-AGRO, A. and ROTILIO, G., 1977. An Attempt to Evaluate the Rate of the Haber-Weiss Reaction by Using OH Radical Scavengers. FEBS Lett 1977; 80, 130-132.

SAK, O. and UÇKAN, F., 2009. Cypermethrinin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)' nin Puplaşma ve Ölüm Oranına Etkisi. U. Arı Derg. 9(3), 88-96.

SAK, O., UCKAN, F. and ERGIN, E., 2006. Effects of Cypermetrin on Total Body Weight, Glycogen, Protein, and Lipid Contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera:Ichneumonidae). Bel. J. Zool., 136(1), 53-58.

SANCHO, E., FERNANDO, M.D., FERNANDEZ, C. and ANDREU, E., 1998. Liver Energy Metabolism of *Anguila anguila* After Exposure to Fenitrothion. Ecotoxicol. Environ. Saf., 41, 168-175.

SEN, C.K., 1995. Oxidants and Antioxidants in Exercise. J. Appl. Physiol., 79 (3), 675-686.

SERAFINI, M. and DEL RIO, D. 2004. Understanding the Association Between Dietray Antioxidants, Redox Status and Disease: Is the Total Antioxidant Capacity the Right Tool?. Redox Report, 9 (3), 145-152.

SESLIJA, D., BLAOGJEVIC, D., SPASIC, M. and TUCIC, N., 1999. Activity of Superoxide Dismutase and Catalase in the Bean Weevil (*Acanthoscelides obtecus*) Selected for Postponed Senencence. Exp. Gerontol., 34, 185-195.

SHACTER, E., 2000. Protein Oxidative Damage. Methods Enzymol. 319, 428-436.

SHAFEEK, A., JAYA PRASANTHI, R.R., HARIPHASAD REDDY, G., CHETTY, C.S. and RAJARAMI REDDY, G., 2004. Alterations in Acetylcholinesterase and Electrical Activity in the Nervous System of Cocroach Exposed to the Nemm Derivative, Azadiractin. Ecotoxicol. Environ. Saf., 59, 205-209.

SIES, H., 1991. Oxidative Stress: From Basic Research to Clinical Application. Am. J. Med., 91 (suppl 3C), 31-38.

SINCLAIR, A.J., BARNETT, A.H. and JUNEC, J., 1990. Free Radicals and Antioxidant Systems in Health and Disease. Brit. J. Hos. Med,. 43, 334-344.

SINGH, P., 1977. Artificial Diets for Insects. Mites and Spiders, Plenum Press, New York. pp. 594.

SINHA, A.K., 1972. Colorimetric Assay of Catalase. Anal. Biochem., 47 389- 394.

SONG, O., 2004. Oxidative Stress: A Theoretical Model or Biological Reality?. C. R. Biologies., 327, 649-662.

STOREY, B.K., 1996. Oxidative Stres: Animal Adaptations in Nature**.** Brazil. J. Med. Biol. Res., 29, 1715-1733.

SUMMERS, C.B. and FELTON, G.W. 1993. Antioxidant Role of Dehydroascorbic Acid Reductase in Insects. Biochim. Biophys. Acta. 1156, 235-238.

SUN, M. and ZIGMAN, S., 1978. An Improved Spectrophotometric Assay for Superoxide Dismutase Based on Epinephrine Autoxidation. Anal. Biochem., 90, 81- 89.

SUN, Y., OBERLEY, L.W. and LI, Y., 1988. A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. Clin. Chem., 34(3), 497–500.

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.

THOMPSON, S.N. and HAGEN, K.S., 1999. Nutrition of Entomophagous Insect and Other Arthropods, in the Handbook of Biological Control, ed. by Thomas et all., Chapter 22, 594-652, Academic Press, NewYork.

THOMPSON, W.R., 1957. A Catalogue of the Parasites and Predators of Insect Pests. Section 2, Part 4. CIBC Ottawa, 333–651.

THORNALEY, P.J. and VASAK M., 1985. Possible Role of Metallothionein in Protection against Radiation-Induced Oxidative Stress: Kinetics and Mechanism of Its Reaction with Superoxide and Hydroxyl Radicals, Biochem. Biophys. Acta., 827, 35–44.

THURNHAM, D.I., 1990. Antioxidants and Prooxidants in Malnourished Populations. Proceedings Nutr. Society, 49, 247–259.

TSIROPOULOS, G.J., 1980. The Importance of Vitamins in Adult *Dacus olea* (Gmel) Nutrition. Ann. Entomol. Soc. Am., 73, 705-707.

———., 1983. The Importance of Dietary Amino Acids on the Reproduction and Longevity of Adult *Dacus olea*. Arch. Intern. Physiol. Bioch., 91, 159-164.

TUCKER, F.B., WANG, K.X., FANG, J. and LU, S.L. 2004. Effect of Chromium on Hemolymph Catalase Activity and Cocoon Quality of Two Mulberry Silkworm (*Bombix mori* L.) Races. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 73, 443-447.

UKEDA, H., MAEDA, S., ISHII, T. and SAWAMURA, M., 1997. Spectrophotometric Assay for Superoxide Dismutase Based on Tetrazolium salt 3'{1[(phenylamino)-carbonyl]-3,4-tetrazolium}-bis(4-methoxy-6-nitro) Benzenesulfonic Acid Hydrate Reduction by Xanthine-Xanthine Oxidase. Anal Biochem, 251, 206–209.

URSO, M.L. and CLARKSON, P.M., 2003. Oxidative Stress, Exercise, and Antioxidant Supplementation. Toxicology, 189, 41–54.

ÜNLÜ, M. ve AKKAYA, A., 1999. Reaktif Oksijen Metabolitleri ve Akciğer Hastalıkları. Solunum Hastalıkları, 10, 207–211.

VACA, C.E., WILHELM, J. and HARMS-RINGDAHL, M., 1987. Interactions of Lipid Peroxidation Products with DNA. A review. Mutat. Res., 195, 137–149.

VALAVANIDIS, A., VLAHOGIANNI, T., DASSENAKIS, M. and SCOULLOS, M., 2006. Molecular Biomarkers of Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Toxic Environmental Pollutants, Ecotoxicol. Environ. Saf., 64, 178–179.

VAN HANDEL, E., 1985. Rapid Determination of Glycogen and Sugars in Mosquitoes. J. Am. Mosq. Control. Assoc., 1, 199-301.

VENKATESWARA RAO, J. 2006. Toxic Effects of Novel Organophosphorous Insecticide (RPR-V) on Certain Biochemical Parameters of Euryhaline Fish, *Oreochromis mossambicus*. Pestic. Biochem. Physiol. 86, 78-84.

WEISS, S.J. and LOBUGLIO, A.F., 1982. Phagocyte-Generated Oxgen Metabolites and Cellular Injury. Lab. Inves., 47, 5–18.

WHEELER, C.R., SALZMAN, J.A. ELSAYED, N.M., OMAYE, S.T. and KORTE, D. W., 1990. Automated Assays for Superoxide Dismutase, Catalase, Glutathione Peroxidase and Glutathione Reductase Activity. Anal. Biochem., 184, 193–199.

WICKENS, A.P., 2001. Ageing and Free Radical Theory. Respiration Physiology, 128, 379–391.

WINSTON, G.W., 1991. Oxidants and Antioxidants in Aquatic Animals. Comp. Biochem. Physiol., 100C, 173–176.

WINTERBOURN, C.C., 1995. Toxicity of Iron and Hydrogen Peroxide: The Fenton Reaction. Toxicol. Lett., 82–83, 969–974.

WU, D. and CEDERBAUM, A.I., 2003. Alcohol, Oksidative Stres and Free Radical Damage. Alcohol Res. Health., 27(4), 277–284.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2006. Pesticides and Their Application.

YAVUZ, O. ve ŞANLI, Y., 1999. Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisid Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri, I. Seminer. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı. Ankara

YOST, F.J. and FRIDOVICH, I., 1973. An Iron-Containing Superoxide Dismutase from *Escherichia coli*. J. Biol. Chem., 248, 4905-4908.

YURDAKUL, Z. 2004. Oksijen ve Canlılar. http://www.biyokimya.8m.net/oksijen.html.

ZALIZNIAK, L. and NUGEGODA, D., 2006. Effect of Sublethal Concentrations of Chlorpyrifos on Three Successive Generations of *Daphnia carinata*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 64, 207–214.

ZAMAN, K., MACGILL, R.S., JOHNSON, J.E., AHMAD, S. and PARDINI, R.S., 1994. An Insect Model for Assessing Mercury Toxicity: Effect of Mercury on Antioxidant Enzyme Activities of the Housefly (*Musca domestica*) and the Cabbage Looper Moth (Trichoplusiani). Arch. Enciron. Contam. Toxicol., 26(1), 114-118.

ZIBAEE, A., SENDI, J.J., ETEBARI, K., ALINIA, F. and GHADAMYARI, M., 2008. The Effect of Diazinon on Some Biochemical Characteristics of Chilo Suppressalis Walker (Lepidoptera: Pyralidae), Rice Striped Stem Borer. Mun. Ent. Zool. 3(1), 255-265.

ÖZGEÇMİŞ

22/09/1980 yılında Adana'nın Kozan ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimimi burada tamamladıktan sonra 1998 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı. 2002 yılında Biyolog olarak mezun olduktan sonra aynı yıl Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2005 yılında Yüksek Lisansı bitirdikten sonra aynı enstitüde doktora eğitimine başladı.