

**T.C.
ADYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ALPHA CYPERMETHRİN VE
DELTAMETHRİN PESTİSİTLERİN ETKİSİ**

HALUK ULUCA

KİMYA ANABİLİM DALI

2014

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ALPHA CYPERMETHRİN VE
DELTAMETHRİN PESTİSİTLERİN ETKİSİ**

Haluk ULUCA

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Bu tez 11/08/2014 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ
BAŞKAN (DANIŞMAN)

Doç.Dr. Adnan KURT
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ
ÜYE

Doç. Dr. Ramazan GÜRBÜZ
Enstitü Müdürü

Bu çalışma Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No:FEFYL/2013-0009

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KATALAZ AKTİVİTESİ ÜZERİNE ALPHA CYPERMETHRİN VE DELTAMETHRİN PESTİSİTLERİN ETKİSİ

Haluk ULUCA

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

Yıl: 2014, Sayfa Sayısı: 48

Jüri

: Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ

: Doç.Dr. Adnan KURT

: Yrd. Doç. Dr. Mehmet GÜVENÇ

0 ppm'den 500 ppm'e artan deltamethrin ve alpha cypermethrin pestisit derişimi ile sığır karaciğer katalaz aktivitesi inhibisyona uğramıştır. Deltamethrin'in 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 7,3; 16,9; 25,5; 40,7 ve 62,7 ppm olduğu hesaplanmıştır. Alpha cypermethrin'in 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde CAT enzim aktivitesindeki yüzde azalışların sırasıyla 2,3; 3,0; 10,2; 13,8 ve 16,3 olduğu hesaplanmıştır. Deltamethrin ve alpha cypermethrinin CAT'ı yarışmasız (non-kompetitif) olarak inhibe ettiği bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Deltamethrin, Alpha cypermethrin, İnhibisyon, Pestisit ve Katalaz.

ABSTRACT

Master Thesis

EFFECT OF ALPHA CYPERMETHRIN AND DELTAMETHRIN PESTICIDES ON CATALASE ACTIVITY

Haluk ULUCA

Adiyaman University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ
Year: 2014, Number of Pages: 48
Jury : Asst. Prof. Dr. Hasan KARADAĞ
: Assoc. Prof. Dr. Adnan KURT
: Asst. Prof. Dr. Mehmet GÜVENÇ

From 0 ppm to 500 ppm with increasing deltamethrin and alpha cypermethrin pesticides concentrations, bovine liver catalase (CAT) activity were inhibited. Under the exposure of 10, 25, 100, 250 and 500 ppm deltamethrin concentrations, percent of CAT enzyme activity decreases were calculated as 7,3; 16,9; 25,5; 40,7 and 62,7 respectively. Under the exposure of 10, 25, 100, 250 and 500 ppm alpha cypermethrin concentrations, percent of CAT enzyme activity decreases were calculated as 2,3; 3,0; 10,2; 13,8 and 16,3 respectively. Deltamethrin and alpha cypermethrin inhibited CAT non-competitively.

KeyWords: Deltamethrin, Alpha cypermethrin, Inhibition, Pesticide and Catalase.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgilerinden istifade ettiğim, insani ve ahlaki değerleri ile de örnek edindiğim, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Hasan KARADAĞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Tezin hazırlanması aşamasında bana kapısını sürekli açık tutan, tez bulgularının istatistik değerlendirmelerinde yol gösteren ve manevi desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Özgür FIRAT'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli abim Yrd. Doç. Dr. Ünal ULUCA'ya, aileme ve dostlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Adıyaman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Biriminin FEFYL/2013-0009 sayılı proje olarak tezime sağlamış oldukları destekten dolayı Adıyaman Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ	1
1.1. Enzimler	2
1.1.1. Enzimlerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması	3
1.1.2. Enzim inhibisyonu	4
1.1.2.1. Geri-dönüştürülebilir inhibisyon.....	4
1.1.2.2. Geri-dönüştürülebilir olmayan inhibisyon.....	4
1.1.2.2.1. Kompetitif inhibisyon	5
1.1.2.2.2. Nonkompetitif inhibisyon	6
1.1.2.2.3. Unkompetitif inhibisyon	7
1.2. Katalaz.....	7
1.3. Pestisitler	9
1.3.1. İnsektisitler	10
1.3.1.1. İnsektisitlerin sınıflandırılması.....	10
1.3.1.2. Böceklerde insektisit detoksifikasyonu	11
1.3.1.2.1. Faz I reaksiyonları	11
1.3.1.2.2. Faz II reaksiyonları	12
1.3.1.3. İnsektisidal direncin biyokimyasal mekanizması	12
1.3.1.4. P450 enzimi	13
1.3.1.5. GST enzimi	14

1.3.1.6. İnsektisitlerin detoksifikasyonunda görev alan hidrolaz enzimleri	15
1.3.1.7. Esteraz enzimleri	16
1.3.1.8. Karboksilesterazlar	16
1.3.1.9. Asetilkolinesterazlar	16
1.3.2. Piretrinler ve piretroidler	17
1.3.2.1. Doğal piretrinler	19
1.3.2.2. Yapay piretroidler	19
1.3.2.2.1. Cyhalothrin	19
1.3.2.2.2. Lambda-cyhalothrin	19
1.3.2.2.3. Cypermethrin	20
1.3.2.2.4. Beta- cypermethrin	20
1.3.2.2.5. Permetrin	20
1.3.2.2.6. Fenvalerate	20
1.3.2.2.7. Zeta- cypermethrin	21
1.3.2.2.8. Alpha cypermethrin (α -CM).....	21
1.3.2.2.9. Deltamethrin	22
1.4. Çalışmanın Amacı	23
2. MATERYAL VE YÖNTEM	24
2.1. Materyal	24
2.1.1. Kimyasal maddeler.....	24
2.1.2. Kullanılan cihazlar.....	24
2.2. Yöntem	24
2.2.1. CAT aktivitesinin ölçülmesi	25
2.2.2 Protein tayini	26
2.2.3. İstatistik	27
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	28
3.1. Bulgular	28
3.1.1. Deltamethrin'in CAT ile etkileştirilmesi	28
3.1.2. Deltamethrin'in inhibisyon türü	29
3.1.3. Alpha cypermetrin'in CAT ile etkileştirilmesi	31

3.1.4. Alpha cypermethrin'in inhibisyon türü	32
3.1.5. Deltametrin ve alpha cypermetrin'in CAT aktivitesi üzerine etkisinin karşılaştırılması	34
3.2. Tartışma	36
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	40
4.1. Sonuçlar.....	40
4.2. Öneriler.....	40
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Alpha cypermethrin (α -CM) genel özellikleri	21
Çizelge 3.1. Farklı deltamethrin derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi	28
Çizelge 3.2. CAT için farklı deltamethrin ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri.....	29
Çizelge 3.3. Farklı alpha cypermetrin derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi	31
Çizelge 3.4. CAT için farklı alpha cypermethrin ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri.....	33
Çizelge 3.5. Deltamethrin ve alpha cypermethrin ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % değerleri	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kompetitif inhibitörlü tepkimede Michael-Menten ve Linewear-Burk grafiği	5
Şekil 1.2. Nonkompetitif inhibitörlü tepkimede Michael-Menten ve Linewear-Burk grafiği	6
Şekil 1.3. Unkompetitif inhibitörlü tepkimede Michael-Menten ve Linewear-Burk grafiği	7
Şekil 1.4. Chrysanthemum cinerariaefolium	17
Şekil 1.5. Alpha cypermethrin'in kimyasal yapısı	21
Şekil 1.6. Deltamethrin kimyasal yapısı	22
Şekil 2.1. Standart protein grafiği	27
Şekil 3.1. Deltamethrin ile etkileştirilen CAT'ın aktivite grafiği	28
Şekil 3.2. Deltamethrin ile etkileştirilen CAT'ın Lineweaver-Burk grafiği	30
Şekil 3.3. Alpha cypermetrin ile etkileştirilen CAT'ın aktivite grafiği	32
Şekil 3.4. Alpha cypermethrin ile etkileştirilen CAT'ın Lineweaver-Burk grafiği	33
Şekil 3.5. Deltamethrin ve alpha cypermethrin ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % değerleri grafiği	35

SİMGELER VE KISALTMALAR

AChE	: Asetilkolinesteraz
ACh	: Asetilkolin
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DDT	:Dikloro Difenil Trikloroethan
EMEA	:European Medicines Agency
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon-S-Transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
K _i	: İnhibisyon sabiti
K _m	: Michealis-Menten hız sabiti
LPO	: Lipid peroksidasyonu
MDA	: Malondialdehit
SOD	: Süperoksit dizmutaz
USEPA	:United States Environmental Protection Agency
V ₀	: İlk Hız
V _{max}	: Doygun substrat konsantrasyonunda enzimin ulaşabileceği maksimum hız
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Enzim olarak tanımlanan protein yapılı bazı moleküllerin biyolojik aktivite göstermeleri ve reaksiyonlarda kataliz etkisi göstermeleri son derece ilginçtir. Hem yumurtanın yapısında bulunan albumin hem de pepsin protein yapısında olmalarına karşın, pepsinin yumurta albuminini katalize ettiği bilinmektedir. Her ikisi de protein olan bu moleküllerin neden farklı davrandıkları kesin olarak bilinmemekle birlikte amino asit diziliminin ve enzimin sahip olduğu üç boyutlu yapının buna sebep olduğuna inanılmaktadır (Gözükara 2001).

Louis Pasteur şekerin maya yardımıyla alkole fermentasyonunun fermentler aracılığıyla katalizlendiği sonucuna ulaştı. Pasteur'un bu çalışmaları vitalizm fikrinin uzun bir süre ön planda tutulmasına sebep oldu. Vitalizm görüşünün çürütülmesi üzerine biyokimya biliminin gelişiminin önü açılmış oldu. James Sumner'in 1926 da üreazı izole edip kristallendirmesi enzim çalışmalarında yeni bir dönemin ortaya çıkmasını sağlamıştır (Cox ve Nelson 2005).

Biyokimya tarihinde yapılmış olan bilimsel araştırmaların çoğu enzimlerin incelenmesi ile ilgilidir. Kataliz olayı ile ilgili ilk çalışmalar 1760-1825 yılları arasında midede gerçekleşen enzimatik sindirim üzerinde gerçekleştirilmiştir (Keha ve Küfrevioğlu 2000).

Günümüzde 2000'in üzerinde enzim saflaştırılarak tanımlaması yapılmış, enzimlerin kinetik değerleri incelenmiş ve 200'ün üzerinde enzimin kristal hali elde edilmiştir (Keha ve Küfrevioğlu 2000). Bazı enzimler vücudun antioksidan savunma sisteminde görev alır ve metabolizmada bulunan serbest radikallerin organizmaya zarar vermeyecek hale getirilmesine yardımcı olurlar. Bu enzimlerden biri olan katalaz enzimi hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalar ve zararlı etkisini ortadan kaldırır (Akkuş 1995).

Pestisit kullanımı, hem halk sağlığı hem de açlıkla savaşta besinlerin korunması açısından ekonomik anlamda önemli faydalar sağlamaktadır. Ama pestisitlerin kontrolsüz, denetimsiz ve bilinçsiz kullanımı toprakta, suda ve havada kirlenmelere sebep olmaktadır. Kalıntı şeklinde gerçekleşen bu kirlenme de hem ekolojik dengenin bozulmasına sebep olmakta, hem de insan sağlığını ciddi şekilde tehdit edebilecek boyutlara ulaşabilmektedir. Pestisitlerin bir kısmı spesifik olarak sadece hedef canlı türü

için zehirleyici etki gösterirken (selektif toksisite), bazı pestisitler ise insanlara ve diğer yararlı canlılara da zarar verebilmektedirler (Vural 1984, Özmen 2004, Delen ve vd. 2005, Biçici ve vd. 2007).

Bütün bu bilgiler ışığında bu çalışmamızda yapay piretroidler grubunda yer alan α -Cypermethrin ve deltamethrin insektisitlerin katalaz aktivitesi üzerinde gösterdikleri etki araştırılmıştır.

1.1. Enzimler

Metabolizma'da gerçekleşen biyolojik kataliz ilk kez mide salgılarıyla yapılan çalışmalarda keşfedilmiştir. Sonrasında 1800'lerde tükürük salgısı ve bazı bitki özütleriyle nişastanın şekere dönüştürülmesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Sumner üreaz enziminin proteinden oluştuğunu keşfetmiş ve bütün enzimlerin proteinden meydana geldiğini iddaa etmiştir. John Northrop ve Moses Kunitz'in 1930 yıllarında pepsin ve tripsin gibi sindirim enzimlerinin de proteinden oluştuklarını bulmaları üzerine Sumner'in fikri daha yaygın olarak kabul edilmiştir. Günümüzdeki enzim anlayışının temelini Haldane oluşturmuştur. Haldane enzim ve substrat arasındaki zayıf etkileşimlerin substratı değişime uğrattığını ve tepkime esnasında kataliz olayında kullanılmış olabileceklerini ortaya atmıştır (Cox ve Nelson 2005).

Katalitik RNA moleküllerinin çok az bir kısmının dışında kalan bütün enzimler protein yapısındadır. Enzimlerin katalitik etkileri protein konformasyon yapılarının sağlamlığı ile yakından ilişkilidir. Enzimlerin proteinden oluşan yapısı amino asitlere dönüştürülürse katalitik etkileri ortadan kalkmaktadır. Bu yüzden enzimlerin yapılarını teşkil eden birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları katalitik aktivite açısından temel oluşturmaktadır. Enzimlerin molekül ağırlıkları diğer proteinlerde olduğu gibi 12000'den 1000000'a kadar değişebilen aralıktadır. Bazı enzimler amino asitlerin oluşturduğu protein yapı dışında aktivite için kimyasal yapılara ihtiyaç duymamaktadır. Bu enzimlerin dışında kalan enzimler kofaktör adı verilen Fe^{+2} , Mg^{+2} , Mn^{+2} vb. bir veya birden çok anorganik iyon veya kompleks organik veya metalorganik moleküllere ihtiyaç duymaktadır. Enzimlerle birlikte bulunan bu kompleks organik veya metalorganik moleküllere koenzim denmektedir. Koenzimler enzimin protein yapısına kovalent bağlarla bağlanmışlarsa prostetik grup adını almaktadır. Metal iyonları veya

koenzimle katalitik aktivite gösteren enzimlere holoenzim denmektedir. Haloenzimlerin protein kısmına apoenzim veya apoprotein denir (Cox ve Nelson 2005).

1.1.1. Enzimlerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması

Enzimlerin çoğu aktivitelerini belirten ifadelerle veya etkiledikleri substratın sonuna -az eki getirilerek adlandırılmaktadır. Örneğin; ürenin hidrolizini sağlayan enzim üreaz adını, DNA'nın polimerleşmesini sağlayan enzimler DNA polimeraz adını almaktadır. Bazı Enzimler ne substratlarına göre nede tepkimelerine göre adlandırılmaktadır. Örneğin; Pepsin ve Tripsin gibi. Bazı Enzimlerin birden fazla adı varken bazı farklı enzimler aynı ad ile anılabilmektedirler. Bu da enzimlerin adlandırılmasında bazı zorluklara sebep olmaktadır. Bu yüzden enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması amacıyla uluslararası bir sistem oluşturulmuştur. Bu sisteme göre bütün enzimler 6 temel gruba ayrılmaktadır. Her enzimin katalizlediği tepkimeyi belirten 4 sayılı bir numara ve sistematik bir isim verilmektedir.

Örneğin;



Tepkimesini ATP : Glukoz fosfotransferaz enzimi katalizlemektedir. Bu enzimin enzim komisyonu numarası ("Enzim Comission" Number) 2.7.1.1'dir (Cox ve Nelson 2005).

Enzim Komisyonu enzimleri aşağıdaki gibi 6 gruba ayırmaktadır.

1-Oksidoredüktazlar

2-Transferazlar

3-Hidrolazlar

4- Liyazlar

5-İzomerazlar

6-Ligazlar

1- Oksidoredüktazlar = Oksidasyon-Redüksiyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimlere denir.

2- Transferazlar = Bir Moleküldeki foksiyonel grubun, başka bir moleküle taşınmasını katalizleyen enzimlere denir.

3- Hidrolazlar = Moleküllere su molekülü sokarak bağ yapısını kıran enzimlerdir.

- 4- Liyazlar = Çif bağ yapan veya çift bağları kıran enzimlerdir.
- 5- İzomerazlar = Bir molekülü izomerlerine dönüştüren enzimlerdir.
- 6- Ligazlar = İki molekülün birbirine bağlanmasını katalizleyen enzimlerdir (Gözükara 2001).

1.1.2. Enzim inhibisyonu

Enzimlerin katalizlediği reaksiyonların hızları inhibitör olarak adlandırılan maddeler tarafından azaltılmaktadır. Çünkü inhibitörler enzim-substrat kompleksinin normal şekilde oluşmasına engel olurlar. H₂S ve HCN toksik maddeler olup, toksisite etkileri enzim inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. Enzimler tarafından gerçekleştirilen reaksiyonların mekanizmaları aktif merkezde rol oynayan fonksiyonel gruplar, aktif merkezin yapısı ve enzimin substrat spesifikliği ile açıklanabilmektedir (Pamuk 2000).

1.1.2.1. Geri-dönüşsüz inhibisyon

Enzimatik reaksiyonlarda bazen inhibisyona neden olan madde enzime çok güçlü kovalent bağlarla bağlanarak enzimin yapısını değiştirir. Bu değişimlerde diyaliz vb. yöntemlerle enzim aktivitesinin geri kazanılması mümkün değildir. Bu tür inhibisyonlara geri dönüşsüz inhibisyon denir. Örneğin; siyanit ve asetil kolin esteraz mitokondride bulunan sitokrom oksidaz enzimine kovalent bağla bağlanır ve elektron taşınım tepkimelerini geri dönüşsüz olarak inhibe eder (Yıldız 2007).

1.1.2.2. Geri-dönüşlü inhibisyon

Geri dönüşlü inhibisyonda enzime bağlanan inhibitörler enzimden, seyreltme veya diyaliz gibi yöntemlerle kolay bir şekilde ayrıştırılabilmekte ve enzim aktivitesi geri kazanılabilmektedir. Geri-dönüşlü inhibisyonda inhibitör ve enzim çabuk bir şekilde dengeye ulaşmaktadırlar (Yıldız 2007).

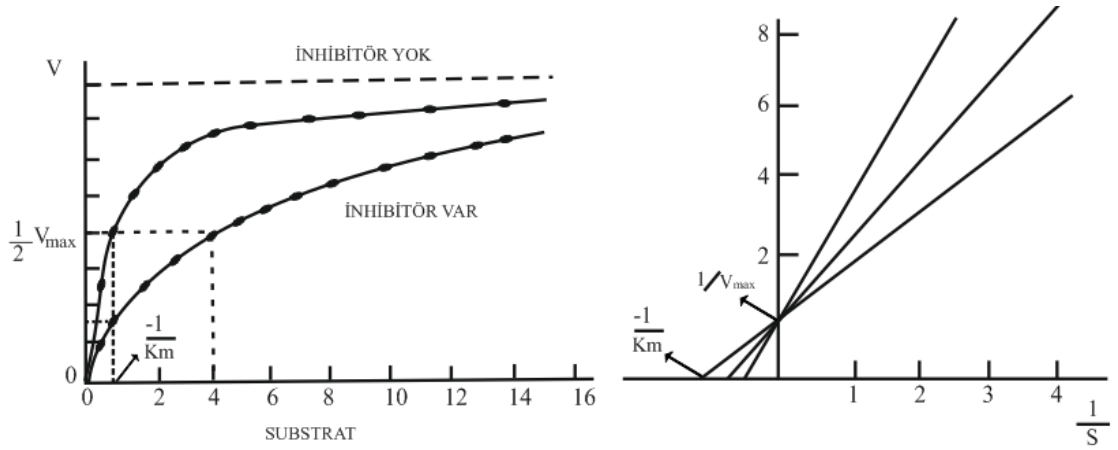
1.1.2.2.1. Kompetitif inhibisyon

Bazı inhibitörler substratın enzime bağlandığı bölgeye bağlanır. Bu tür inhibitörlere kompetitif inhibitör ve meydana getirdikleri inhibisyona da kompetitif inhibisyon denir (Gözükara 1997). Kompetitif inhibisyonda inhibitörle substrat arasında enzimin aynı aktif bölgesine bağlanmak için bir yarış vardır. Çünkü bu tür inhibisyonlarda inhibitör ya substrata yapısal veya konformasyonel olarak çok benzeyen bir molekül ya enzimin alternatif bir substratı veya katalizlenen enzimatik tepkimenin ürünüdür (Yıldız 2007).

Kompetitif inhibitörlerin meydana getirdiği inhibisyonun Linewear-Burk eşitliği;

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}}$$

şeklindedir (Gözükara 2001).



Şekil 1.1. Kompetitif inhibitörlü tepkimedeki Michael-Menten ve Linewear-Burk grafiği (Gözükara 2001)

1.1.2.2.2. Nonkompetitif inhibisyon

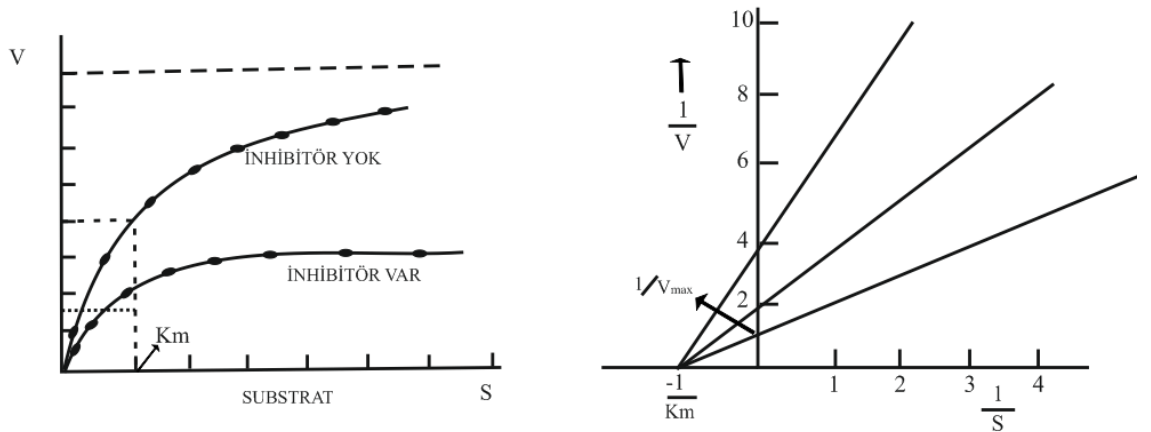
İnhibisyona sebep olan madde (inhibitör) aktif merkezin dışında bir nokta üzerinden enzime bağlanarak inhibisyona neden oluyorsa bu tür inhibitörlere nonkompetitif inhibitör, bu tür inhibisyonlara ise nonkompetitif inhibisyon denir. Nonkompetitif inhibisyonunda genellikle enzimin 3 boyutlu yapısının bozulması sonucu inhibisyon gerçekleşir. Nonkompetitif inhibisyon geriye dönüşümlü olabileceği gibi geri dönüşümsüz de olabilir (Gözükara 2001).

Nonkompetitif inhibisyonunda inhibitör ile substrat enzimin farklı bölgelerine bağlanır. Bu yüzden inhibitör ile substrat arasında bir yarışma söz konusu değildir. İnhibitör substratın enzime bağlanmasını etkilemediği gibi substrat da inhibitörün enzime bağlanmasını etkilemez. Fakat meydana gelen enzim-substrat-inhibitör kompleksinden ürün oluşmaz (Yıldız 2007).

Nonkompetitif inhibitörlerin meydana getirdiği inhibisyonun Linewear-Burk eşitliği;

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}} \left(+ \frac{[I]}{K_i}\right)$$

şeklindedir (Pamuk 2000).



Şekil 1.2. Nonkompetitif inhibitörlü tepkimede Michael-Menten ve Linewear-Burk grafiği (Gözükara 2001)

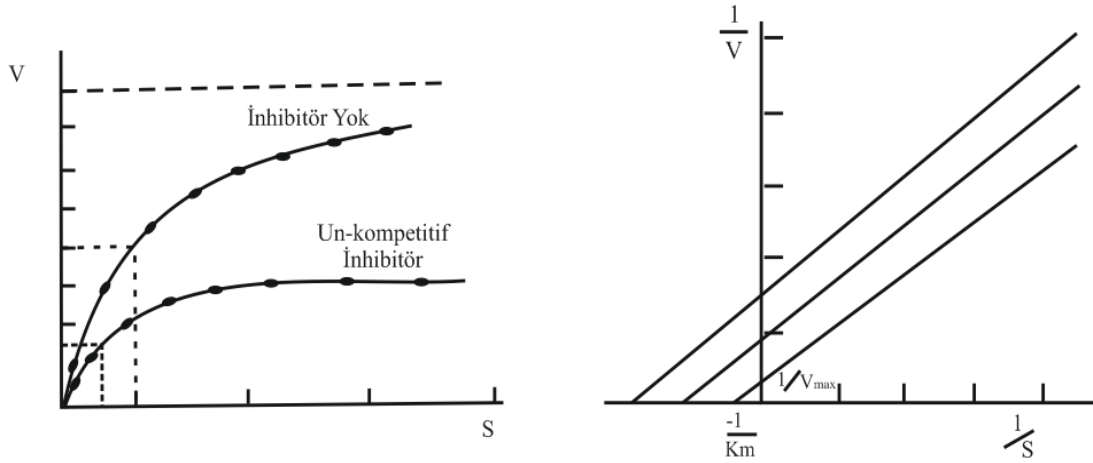
1.1.2.2.3. Unkompetitif inhibisyon

İnhibisyon serbest enzim üzerinden değil de enzim-substrat kompleksi üzerinden gerçekleşiyorsa bu tür inhibitörlere unkompetitif inhibitör, bu tür inhibisyonlara ise unkompetitif inhibisyon denir (Gözükara 2001). Unkompetitif inhibisyonda kompleksin yapısı bozulduğundan ürün oluşumu gözlenmez. Enzim substrat kompleksinin bir kısmına inhibitör bağlanacağından daha az ürün meydana gelir ve maksimum hız azalır. İnhibitör konsantrasyonu arttıkça maksimum hızın azalması da fazlalaşır (Pamuk 2000).

Unkompetitif inhibisyon için Linewear-Burk eşitliği

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

şeklindedir (Gözükara 2001).



Şekil 1.3. Unkompetitif inhibitörlü tepkimede Michael-Menten ve Linewear-Burk grafiği (Gözükara 2001)

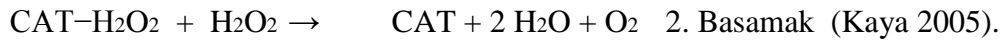
1.2. Katalaz

H₂O₂ hücrede gerçekleşen birçok reaksiyon sonucunda oksijenin iki elektronla indirgenmesiyle veya O₂⁻ nin dismutasyonu sonucunda oluşur. H₂O₂ makrofaj aktivitelerinin ve tiroit hormonunun biyosentezi gibi birçok metabolik olayda görev almakta ve özellikle de mitokondri içinde oksidatif elektron taşınımı sırasında meydana

gelmektedir. H_2O_2 hücrelerin yapısında çok küçük miktarlarda bulunmaktadır. H_2O_2 radikalik özellik göstermesine rağmen okside edici özelliğe sahiptir. H_2O_2 'in NO ile reaksiyonundan hidroksit iyonu ve peroksinitritler oluşur. Hidrojen peroksit metabolik olarak toksik etki gösterdiğinden hemen parçalanarak detoksifiye edilmesi gerekmektedir (Shackelford 2000).

Katalaz bütün hücre çeşitlerinde farklı konsantrasyon oranlarında bulunabilen, yapısında hem bulunduran bir enzimdir. Karaciğer dokusu ve eritrositler en bol bulunduğu yerlerdir. Katalaz enzimi sitoplazmada %20 ve peroksizomlarda ise %80 oranında lokalize halde bulunur. Eğer molekül alt birimleri ayrılırsa enzim inaktive olur. En yüksek katalitik dönüşüm hızı enzimler arasında katalaza aittir. Katalaz enziminin aktivasyonu için demir gereklidir. (Yemişen 2008)

Katalaz her dokuda farklı bir enzim aktivitesi gösterir. En yüksek aktiviteyi karaciğer ve böbrekte gösterirken destek dokuda aktivitesi en düşüktür. Katalaz oluşan hidrojen peroksidi direkt olarak suya dönüştürür. Bu reaksiyon iki basamakta meydana gelir. İlk basamak kompleks-I olarak adlandırılan ara ürünün olduğu basamaktır. Kompleks-I ara ürünü hidrogen peroksidin katalaza bağlanması sonucu oluşur. Kompleks-I ikinci hidrojen peroksit molekülü ile etkileştiğinde su ve moleküler oksijen meydana gelir.



Katalaz hidrojen peroksidin dezenfektan olarak kullanıldığı endüstride de kullanılan bir maddedir. Son zamanlarda hidrojen peroksit klorin bazlı kimyasalların yerine beyazlatıcı olarak kullanılmak üzere test edilmektedir. Katalaz aynı zamanda gıda endüstrisinde sütün peynir yapılmasından önce pastörize amaçlı kullanılmaktadır (Chen 2007).

1.3. Pestisitler

İnsanlar pestisitleri çok uzun zaman önce kullanmışlardır. Örneğin; fethedilen yerlerin küllerini "non-selective" herbisit olarak M. Ö. 1200 yıllarında ve kükürdü insektisit ve fungusit olarak M. Ö. 1000 yıllarında kullanmışlardır. (Öztürk ve Özge 1978). M.Ö. 1500'lü dönemlere ait bir papirüs fosili üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı insektisitlerin hazırlanışı ile ilgili bilgiler bulunmuştur. 19.yy'da zararlılara karşı inorganik pestisitler kullanılmış, 1940'lardan sonra pestisit üretiminde organik kimyadan faydalanılmış, DDT ve diğer iyi bilinen insektisit ve herbisidler keşfedilmiştir. Bugüne kadar 6000 kadar sentetik bileşik patent almasına karşın, bunlardan 600 kadarı ticari kullanım olanağı bulmuştur (Arslan ve Balkaya 2004, Kaya 2007).

Pestisitler etkidikleri parazit çeşidine göre insektisitler, akarisitler, afisidler, rat zehirleri, fungusidler, nematosidler, molluskisidler, algisidler ve herbisidler olarak sınıflandırılırlar. Türkiye'de tarım ilaçları kullanımı, pestisitler yönüyle değerlendirildiğinde, en önemli grubun %45 ile insektisitler olduğu, bunu %24 ile herbisitlerin izlediği, fungusitlerin ise %16 payı olduğu görülmektedir (Arslan ve Balkaya 2004, Kaya 2007).

Tarım ilaçlarının tüketiminde aşırı ilaç kullanımına paralel olarak ürün miktarının da artacağı kanısı, gereğinden fazla miktarda pestisit kullanımına neden olmaktadır. Oysa ilaçlama dönemi hasada yakın bir dönemde veya hasat sırasında yapıldığında ürünlerdeki pestisidal kalıntı da artmakta ve elde edilen mamul gıda maddesinde de belli bir düzeyin üzerinde pestisit kalıntısı tespit edilmektedir (Artık ve Ekşi 1993).

Piretrum çiçeklerinde bulunan piretrin I ve II ile sinerin I ve II etkin maddeleri 100 yılı aşkın bir süredir insektisit olarak kullanılmaktadır (Uğurlu 2001). Piretrinler mükemmel sayılabilecek derecede insektisidal etkiye sahip olmakla beraber memelilere yönelik toksisiteleri de oldukça düşüktür. Buna karşın, ışık karşısında kolaylıkla parçalanarak etkinliklerini kaybederler. Doğal piretrinlerde karşılaşılan bu sakıncaların giderilmesi amacıyla yapılan araştırmalar sonucunda güneş ışığına dayanıklı cypermethrin, deltamethrin, permetrin gibi piretroidler sentezlenmiştir. Piretroidler insektisidal özellikleri yönünden doğal piretrinlere çok benzerler. Birden fazla

piretroidi kendi aralarında veya diğer bileşiklerle kombine etmek suretiyle daha çabuk yere serici ve daha güçlü öldürücü etki elde edilebilir. Piretroid insektisitler, doğal piretrinlere benzer şekilde, temas ve mide zehri olarak etkirler. En dikkat çekici özellikleri insektler üzerinde hızla gelişen yere serici etkinliğe sahip olmalarıdır. Yağda çözünme özellikleri sayesinde insekt kütikulasından hızla emilerek toksik etkilerini gösterirler (Uğurlu 2001).

1.3.1. İsektisitler

1.3.1.1. İsektisitlerin sınıflandırılması

İsektisitler organik klorlular, organik fosforular, karbamatlılar ve piretroitler şeklinde dört sınıfta incelenebilir. Organik fosforular ve karbamatlılar grubu insektisitler asetilkolinesteraz (AChE) enzimini inhibisyona uğratarak etkili olmaktadır. Bu insektisitler sinir sistemindeki nöronlarda bulunan sinapsislerde elektriksel sinir uyarılarının iletimini bozmakta ve böceğin ölümüne sebep olmaktadır. Organik klorluların ve piretroidlerin ise (AChE) enzimini inhibisyona uğratmadıkları ancak sinir sistemi üzerinde etkili oldukları bilinmektedir. Organik klorlular ve piretroidler sodyum kanallarının iyon döngüsünü bloke ederek sinirsel iletimi bozmakta ve organizmanın ölümüne sebep olmaktadır (Uğurlu 2001). Böcekler piretroid insektisitlere karşı bir direnç gösterirler. Knockdown direnç olarak bilinen bu direnç türü böcekteki sinir sisteminin duyarlılığının eksilmesine neden olmaktadır (Akgünlü 2005). Dünyada son çeyrek asırda insektisitlere karşı böceklerin oluşturduğu direnç mekanizmaları biyokimyasal yöntemlerle oldukça yaygın bir şekilde kullanılmakta ve direnç değerleri belirlenebilmektedir. Özellikle enzimlerin in-vitro koşullarda biyokimyasal çalışmalar için elverişli olması ve çok daha kısa sürede sonuç alınabilmesi biyoassay çalışmalarında in-vivo yöntemlere karşı oldukça güçlü avantajlar oluşturmuştur. Biyokimyasal çalışmalarda böcek direncinin gücü erkenden belirlenerek gerekli önlemler alınabilmektedir.

İsektisitlerin iyon kanallarına yaptıkları insektisidal etkiler üç grupta sınıflandırılabilir.

a) İyon kanalı üzerine agonist etki (Uyarılma)

- b) İyon kanalı üzerine antagonist etki (İnhibisyon)
- c) İyon kanal modülasyonu (Raymond-Delpech 2005)

1.3.1.2. Böceklerde insektisit detoksifikasyonu

Böcekler yaşamları boyunca hem sentetik insektisitler hem de bitkiler tarafından üretilen allelokimyasallar gibi insektisit türevi toksinlere (xenobiotik) maruz kalırlar. Böceklerde bulunan P450, GST ve hidrolaz gibi enzimler insektisitlerin böcek metabolizmasına girmesi sonucunda bu kimyasalların zehirliliğini tolere etmektedirler (Tsagkarakou ve vd. 2009).

Insektisitler böcek vücuduna dahil olduklarında hızla toksisiteleri giderilir. İnsektisitlerin toksisitelerinin giderilmesi faz I ve faz II olmak üzere iki aşamada gerçekleşmektedir (Yu 2008). Faz I olarak bilinen aşamada oksidasyon, hidroliz ve indirgenme aşamalarını bulunur. Faz I reaksiyonunda kutupsuz yapıdaki zehirli moleküller bazı fonksiyonel grupların eklenmesi ile zehirliliği daha az olan ara maddelere dönüştürülmektedir. Faz I reaksiyonları apolar yapıdaki zehirli molekülleri bazı fonksiyonel gruplar ekleyerek daha az zehirli hale getirir. Bu fonksiyonel gruplar 2 kısma ayrılmaktadır:

a) Elektrofilik: Epoksidaz fonksiyonel grupları ve α , β karbonil grupları elektrofilik karbonlu yapılardır. Böcek vücuduna dahil olan bazı insektisitler bir süre sonra elektrofilik fonksiyonel gruplar yardımıyla aktivitesi düşük maddelere dönüşürler.

b) Nükleofilik: Fenolik hidroksil grupları ve alkolik hidroksil grupları, amino grupları ve karboksil grupları bu sınıftadır. Böcek vücuduna dahil olan bazı insektisitler bir süre sonra nükleofilik fonksiyonel gruplar yardımıyla aktivitesi düşük maddelere dönüşürler. (Soderlund 1997).

1.3.1.2.1. Faz I reaksiyonları

Faz I reaksiyonları içinde oksidasyon en önemlisi olarak kabul edilir. Oksidatif reaksiyonlardan, P450 adıyla bilinen kompleks bir enzim grubu sorumludur ve bu enzim sistemi tarafından yürütülür. İnsektisit metabolizması P450 enzim sistemi aracılığıyla farklı şekillerde gerçekleştirilmektedir. Hidroksilasyon, O-, N-,

sdealkylation olayları sonucunda elektrofilik ya da nükleofilik eklenmeler sayesinde daha az toksisiteye sahip ara maddeler meydana gelmektedir (Krieger 2001, Yu 2008).

Organik fosforlular, karbamatlılar, piretroidler hidrolize karşı duyarlı olan ester bağları ihtiva ederler. Hidrolaz grubunda bulunan insektisit detoksifikasyonu olaylarında en önemli enzim kabul edilen esterazlar asit ve alkol gruplarının su molekülü ile etkileşmesi sonucu oluşan hidrolazlardır.



İnsektisit metabolizmasında görev alan esteraz enzimleri 3 sınıfa ayrılabilirler. A-esterazlar organik fosforlu insektisitler üzerinde engelleyici etkiye sahip değildirler ancak organik fosforlu insektisitleri hidrolize uğrattırır. B-esterazlar organik fosforlu insektisitleri inhibe ederler. C-esterazlar , organik fosforlu insektisitleri inhibe etmezler ancak indirgeyerek etkileşirler (Soderlund 1997).

Böcek familyasında insektisitlerin indirgenmesi nitro redüksiyon, azo redüksiyon ve aldehit / keton redüksiyon olmak üzere 3 çeşit indirgenme türü içerir.

1.3.1.2.2. Faz II reaksiyonları

İnsektisitler faz I reaksiyonları sonunda hidroksil, karboksil ve epoksidaz gibi fonksiyonel gruplar alırlar. İnsektisitler bu fonksiyonel grupların eklenmesiyle daha büyük moleküllere dönüşmektedirler. Bu moleküller arasında amino asit, glutatyon, gibi maddeler de bulunmaktadır. Kutupsuz halden kimyasallar arıcılığıyla kutuplu hale dönüşen bu moleküller daha az zehirlidir. Faz II'de fonksiyonel gruplar eklenerek meydana getirilen bu daha az zehirli maddeler organizmadan atılmaktadır (Kranthi 2005).

1.3.1.3. İnsektisidal direncin biyokimyasal mekanizması

Böceklerin geliştirdikleri fizyolojik direnç gerçekleşirken böcekte bulunan

- a) Monooksijenazlar (Sitokrom P450)
- b) Glutatyon S-transferazlar (GST)
- c) Hidrolazlar
- Karboksilesterazlar

-Asetilkolinesterazlar

enzim ve enzim sistemlerinin aktif oldukları bilinmektedir.

1.3.1.4. P450 enzimi

P450 enzimi böceklerdeki hormon, steroit veya insektisit gibi maddelerin yapım ve yıkımını düzenleyen önemli metabolik bir enzim sistemdir (Feyereisen 1999). P450 enzimi böceklerden kuşlara, bakterilerden memelilere kadar oldukça geniş bir yelpazede canlı sınıfının organizmalarında bulunur. Ökaryot canlılarda mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunan P450 sistemi içerisinde temel oksidaz işlemleri meydana gelmektedir. İnektlerde toplam P450 değeri ilk olarak 1967 yılında tespit edilmiştir. (Scott 1999). Şimdiye kadar yüzlerce böcek türünde P450 monooksijenazlar saptanmıştır. Bu enzim sisteminin ilk saflaştırılma işlemi böceklerde ev sineklerinden saflaştırılmış ve böceklerden elde edilen P450 ile memeli canlılarda bulunan P450 arasında büyük benzerlikler olduğu belirlenmiştir (Hodgson ve Wilson 1971). P450 enziminin inektlerdeki görevi çok geniş bir spektruma yayılmıştır. Bu görevler arasında gelişme, büyüme insektisidal direnç ve tolerans gibi son derece önemli görevler vardır (Pottelberge ve vd. 2008). Bazı feromonların ve gençlik hormonu olarak bilinen hormonun sentezinde P450 enzimine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yüzden P450 sisteminin engelleyicileri hormon anabolizmasını etkiledikleri için böceklerin biçim, gelişim ve yaşam sürelerinde değişimlere sebep olurlar (Soderlund 1997). Böceklerin başta barsak ve malpigi tüpü olmak üzere birçok dokusunda P450 varlığı saptanmıştır. Böceklerde P450 enzim seviyesi canlının larva ve yumurta döneminde yükselme gösterirken, pupa döneminde azalma gösterir. Ergin dönemde ise P450 enzim seviyesi yüksektir (Feyereisen 1999). Böcek türlerinin bazılarında, piretrin, imidakloprid ve karbaril gibi insektisitlerin etki mekanizmasının kısıtlanması sırasında monooksijenaz seviyesinde artış olduğu ifade edilmiştir. İnektisitlerin en çok kullanılan sınıfı olan organik fosforlu insektisitler sınırlandırıldıklarında P450 detoksifikasyonu etkili olmaktadır (Dong ve Hollingworth 2008).

Hem omurgalı canlılarda hem de böceklerde P450 enzimi organizmaya giren yabancı maddelerin biyolojik taşınmasında rol almaktadırlar. Belli başlı enzimler böcek

vücuduna girdiğinde popülasyonda gerçekleşen seleksiyon ve biotransformasyon neticesinde detoksifikasyon oluşabilmektedir (Krieger 2001).

Monooksijenazlar piretroitler, karbamat grubu insektisitler ve organo-fosforlu insektisitlerin zehirli etkilerinin giderilmesinde görev almaktadırlar (Dong ve Hollingworth 2008). İnsektisit direnci üzerine P450 enziminin etkisinin belirlenmesi için sinerjistler kullanılmaktadır.

1.3.1.5. GST enzimi

GST enzimi böcek, bitki balık, omurgalı-omurgasız canlılarda, oksijenli solunum yapan tek hücrelilerde ve kuşlarda bulunan bir enzimdir (Konanz ve Nauen, 2004). GST enzimi canlı vücuduna giren yabancı bileşiklerin zehirli etkilerinin giderilmesinde çok önemli rol oynayan bir enzimdir. GST enziminin insektisit metabolizması olaylarındaki önemi ilk olarak organik fosforlu insektisitlerin detoksifikasyonunda anlaşılmış daha sonra GST enziminin hem organik klorlu hem de siklodien insektisitler üzerine etkileri incelenmiştir. GST enzimi insektlerde organik fosforlu insektisitlere karşı geliştirilen dirençte de önemli bir görev yapar (Susurluk 2008).

GST'lar Lepidoptera, Coleoptera ve Hymenoptera gibi kelebek türlerinden saflaştırılmıştır. Böceklerden saflaştırılan GST enzimi miktar olarak 19000-35000 Da moleküler ağırlığındadır. Bu enzimin homodimer ve heterodimer yapısında iki farklı kısmı vardır. Böceklerde bulunan GST enzimi detoksifikasyonda görev almakla birlikte, hücre membranlarının oksidatif yıkımdan korunmasında da görev alırlar. Böceklerde GST enzimi insektisit detoksifikasyonun yanı sıra hücresel membranların oksidatif yıkımlara karşı korunmasını da sağlamaktadır (Yu 2008). GST enzimi GSH enziminin konjugasyonunda rol alan fonksiyonel bir enzimdir. GST elektrofilik substrat aracılığıyla GSH'ın konjugasyonunu katalizler. GST enzimi GSH'da grupların yer değiştirmesi, grupların eklenmesi ve koparılması gibi çok sayıda olayı yürütmekte görev alır. Memeli, bitki ve böceklerde GST metabolizmasından sorumlu 40'in üzerinde gen olduğu tespit edilmiştir (Dong ve Hollingworth 2008). Böceklerden saflaştırılan GST enzimleri Delta ve Sigma olmak üzere iki sınıfta toplanmıştır. Son çalışmalarda bazı

böcek türlerinde Epsilon olarak isimlendirilen bir GST sınıfı da belirlenmiştir (Kranthi 2005).

Böceklerdeki GST enzimi faz 1'den sonra insektisitlerin detoksifikasyon katalizinde görev almaktadır. İsektlerde bulunan GST seviyesi ile organik fosforlu ve organik klorlu insektisit direnci arasında ilişki vardır. Tarımsal ve evsel zararlı böcekler üzerinde yapılan çalışmalarda GST enzim aktivitesindeki artışın insektisitlere karşı gelişen direnç ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Özellikle organik klorlu bir insektisit çeşidi olan DDT üzerine yapılan çalışmalar sonucunda sivrisinekte GST aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (Vontas ve vd. 2000).

GST enziminin dokularda kararlı halde bulunabilmesi böcek türlerinin çoğunda karakterizasyonunu ve saflaştırılmasını mümkün kılmıştır. Böceklerdeki GST biyokimyası ile ilgili en geniş bilimsel birikim ev sinekleriyle yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir. İçerisinde dipetra ve lepidoptera böcek türlerinin de bulunduğu bu çalışmalarda GST1 ve GST2 adıyla birbirinden farklı iki GST enzimi saflaştırılabilmektedir. Bu çalışmalar sonucu saflaştırılmış GST enzim çeşitlerinin elektroforetik değişkenlik değerlerinin yanısıra katalitik aktivite değerleri ve substrat aktivite değerlerinde farklılıklar saptanmıştır. Aynı böcek türlerinde direnci yüksek popülasyonlar ile daha hassas popülasyonlardan saflaştırılmış olan GST enzimleri kıyaslandığında, direnci fazla olan popülasyonun daha yüksek değerlerde GST bulundurduğu belirtilmiştir. DDT'ye karşı dirençli olan *A. gambiae* türünde hassas *A. Gambia* popülasyonuna nazaran daha yüksek seviyede GST muhtevası tespit edilmiştir (Soderlund 1997).

1.3.1.6. İsektisitlerin detoksifikasyonunda görev alan hidrolaz enzimleri

Hidrolaz enzimleri insektisitleri katalizlerken yapılarındaki ester, amid ve fosfat gruplarının alkol ve asit kısımlarına su ekleyerek katalizleme yaparlar. Hidrolaz enzimleri yüksek yapılı canlıların (hayvan, böcek ve bitki) büyük bir bölümünde bulunan bir enzim sistemidir (Dong ve Hollingworth 2008). İsektisidal direnci yüksek olan popülasyonların hidrolaz aktiviteleri de daha yüksektir. Piretroid insektisitler, karbamat grubu insektisitler ve organofosforlu insektisitler içerdikleri ester amid ve

fostat yapıları sayesinde hidrolazlar tarafından çok çabuk detoksifike edilirler. Esterazlar hidrolazların en önemli enzim grubudur (Yu 2008).

1.3.1.7. Esteraz enzimleri

Esterazlar böceklerin feromon ve hormon metabolizmaları, sindirim, sinir iletimi, üreme ve insektisidal direnç gibi birçok önemli biyolojik olayda görev alır. Esterazların böceklerdeki direnç gelişimi açısından en önemli üyeleri organik fosforların engellenmesinde önemli rol alan asetilkolinesteraz ve karboksilesterazlardır (Baffi ve vd. 2005).

1.3.1.8. Karboksilesterazlar

İnsektisitlerin kullanımıyla seleksiyona uğratılan böcek topluluklarının büyük bir bölümünde karboksilesteraz enziminin miktarında artış oluşmaktadır. Karboksilesteraz sayesinde insektisitler sinir sistemindeki kanallara varmadan detoksifikasyona uğrar, bu sayede böcekler biyolojik fonksiyonlarını sürdürürler. *Myzus persicae*'de karboksilesteraz aktivitesinde meydana gelen artış insektisit direncini de arttırmaktadır. İnsektisit popülasyonunun direncindeki artış ile karboksilesteraz enziminin miktarı arasında kurulmuş bir hipotez yoktur (Devonshire 1977). *M. persicae* karboksilesteraz enziminin insektisit direncinde rol oynadığı anlaşıldıktan sonra, bu enzimin yaprakbiti canlılarında tayin edilmesi önemli hale gelmiştir. Yaprakbitlerinin duyarlı ve dirençli olanları birbirlerinden toplam karboksilaz enzimlerinin aktiviteleri ile ayrılabilir (Toros ve Velioğlu 2006).

1.3.1.9. Asetilkolinesterazlar

Asetilkolinesteraz (AChE), canlı dokularında serbest veya fosfolipidlere bağlanmış bir şekilde bulunabilen lipotropik etkisi olan asetilkolini hidrolizleyen özelleşmemiş bir enzimdir. Bunun yanında asetilkolinesterazlar hem sinir hem de kas hücrelerinde biyoelektriksel akımın sağlanmasında çok önemli rolü olan esterlerdir. Organizmanın maruz kaldığı insektisit veya kimyasal maddeler asetilkoline bağlanarak

asetilkolinin reseptörlere bağlanmasını engellerler (Alon ve vd. 2008). İnsektisitler ve türevi maddeler sinir ve kasların sahip oldukları taşıyıcı sistemleri bazı şekillerde etkilerler. Asetilkolinesterazı inhibe ederek asetilkolinesterazın sinir ve kasların birleşme yerlerinde uzun süre bulunarak kasların sinirsel cevaplarında gecikmeye sebep olurlar. İnsektisit ve bazı kimyasalların çok yaygın kullanılması daha dirençli böceklerin ortaya çıkmasını sağlarken organizmanın sinir sistemi ve kas fonksiyonlarında dengesizlik meydana gelmesine sebep olurlar (Anazawa ve vd. 2003).

Asetilkolin hidrolize uğrar ama insektisitlerin, enzim-substrat kompleks yapısı değişime uğramaz. İnsektisitlerin AChE'i engellemesi sonucu sinir iletimlerinin transmisyonu bloke olur ve ACh reseptörlerinde uyuşmaya sebep olur (Dong ve Hollingworth 2008). Sinapsis bölgesinde yoğunlaşan asetilkolin konsantrasyonu veya uyarılma durumunun normalden daha yüksek olması böceklerde merkezi sinir sisteminin fonksiyonunu bozar ve böceğin ölümü gerçekleşir (Çakır ve Yamanel 2005).

1.3.2. Piretrinler ve piretroidler

Piretrinler *Chrysanthemum cinerariaefolium* bitkisinin (Şekil 1.4) çiçeklerinin kurutulması ile elde edilen piretrum çiçeğinden elde edilirler (Barr ve Needham 2002).



Şekil 1.4. *Chrysanthemum cinerariaefolium*(www.guidetogreenliving.net/flowers_plants)

Piretrin I ve II ile sinerin I ve II etkin maddeleri piretrum çiçeklerinden elde edilerek 100 yılı aşkın bir süredir insektisit olarak kullanılmaktadır. Piretrinler mükemmel derecede insektisidal etkiye sahip olmakla beraber, memelilere yönelik zehirleyici etkileri de o ölçüde düşüktür. Piretrinler bu avantajlarını karşılık, ışık karşısında kolaylıkla parçalanıp etkilerini kaybedebilmektedirler (Balcıoğlu ve vd. 2004). Doğal piretrinlerde karşılaşılan bu sakıncaların giderilmesi amacıyla yapılan araştırmalar sonucunda güneş ışığına daha dayanıklı cypermethrin, deltamethrin, permetrin gibi piretroidler sentezlenmiştir. Piretroid insektisitler, insektisidal özellikler yönünden doğal piretrinlere oldukça benzemektedirler. Birden fazla piretroidi kendi aralarında veya diğer bileşiklerle kombine etmek suretiyle daha çabuk yere serici ve daha güçlü öldürücü etki elde edilebilir. Piretroid insektisitler, doğal piretrinlere benzer şekilde, temas ve mide zehiri olarak etkirler. En dikkat çekici özellikleri insektler üzerinde hızla gelişen yere serici etkinliğe sahip olmalarıdır. Yağda çözünme özellikleri sayesinde insekt kütikulasından hızla emilerek toksik etkilerini gösterirler (Balcıoğlu ve vd. 2004).

Aktif piretrinlere hem yapı olarak hem de insektisidal etkileri bakımından benzeyen sentetik maddelere piretroidler denir. Bu bileşikler de piretrinler gibi insektlerin kitinden oluşan dış iskeletini pasif difüzyonla geçerek sinir ve kas hücrelerinde hücre zarının sodyum kanallarının kapanmasını engelleyerek depolarizasyona neden olur. Bunun sonucunda insektleri felç ederek öldürürler. Piretroidler kimyasal olarak stabil olduklarından pedikulosid ve skabisid olarak daha çok tercih edilirler (Balcıoğlu ve vd. 2004).

Piretroid grubu insektisitlerin, insektisidal spektrumları oldukça geniştir. Bu spektrum sivrisinek, karasinekler, hamamböcekleri, tahtakuruları, pireler gibi zararlıları kapsar. Bilinen üstün özellikleri açısından piretroidler, son yıllarda açık ve kapalı alanlarda sinek ve sivrisinek vektör kontrolü çalışmalarında geniş bir kullanım alanı bulmuştur.

Piretroidler, en yaygın kullanılan insektisit grubudur. Bu derece yoğun kullanılmalarının sebebi hedef dışı canlılarda zehirliliğini diğer pestisitlere göre daha az olmasıdır. Genelde temas yolu ile etkilerini gösterirler. Piretroidleri iki gruba ayırmak mümkündür.

1.3.2.1. Doğal piretrinler

Doğal piretrinler pire otu (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) bitkisinden elde edilen pestisitlerdir. İçeriklerinde Piretrin I-II, Cinerin I-II ve Jasmolin I-II bulunur. Hem hava teması ile hem de ışığa maruz kaldıklarında kolayca parçalanırlar. Sinerjit eklendiğinde insektisidal etkileri de artar. Rat çalışmalarında akut oral LD₅₀ değeri 200-4910 mg/kg aralığındadır. Zehirlilik sınıfı: WHO ve USEPA II (EMEA 1998).

1.3.2.2. Yapay piretroidler

Yapay pretroidler sentetik piretroidler olarak da adlandırılırlar. Piretrinlerin alkol ve asit kökleri üzerinde gerçekleşen değişimlerle oluşturulmuşlardır. Piretinlere nisbeten daha kalıcıdırlar. Yere serici (düşürücü) etkilerinin yanısıra öldürücü etkileri de vardır. bYapay piretroid grubunda λ -cyhalothrin, cypermethrin, deltamethrin, permetrin ve fenvalerat en çok bulunan ve en yaygın kullanılanlardır.

1.3.2.2.1. Cyhalothrin

(RS)- α -cyano-3-phenoxybenzyl{Z}-(1RS,3RS)-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprophenyl) -2,2- dimethylcyclopropanecarboxylate. Cyhalothrin'in tip 2 piretroid insektisit ve akaricid olduğu ve yağda çözünürlüğünün çok yüksek olduğu belirtilmiştir. Fare ve ratlarda akut oral ÖD₅₀ değerinin 37-62 mg/kg arasında olduğu bildirilmiştir. Sistemik olmayıp, temas ve mide yolu ile etkisini gösterir. Kaçırıcı, hızlı bayıltıcı ve uzun süre kalıcıdır. Zehirlilik sınıfı: WHO II (EMEA 2001a).

1.3.2.2.2. Lambda cyhalothrin

(S)- α -cyano-3- phenoxybenzyl (Z)-(1S,3S)-2-chloro-3,3,3-trifluoropro- phenyl)-2, 2 - dimethylcyclopropanecarboxylate ve {R}- α -cyano- 3-phenoxybenzyl(Z)-(1R3R)- (2-chloro-3,3,3-trifluoroprophenyl)-2,2dimethyl cyclo propane carboxylate (C₂₃H₁₉ClF₃NO₃). Sıçanlarda akut oral ÖD₅₀ değeri 56 mg/kg'dır. Sistemik olmayıp,

temas ve mide yolu ile etkisini gösterir. Kaçırıcı,hızlı bayıltıcı ve uzun süre kalıcıdır. Zehirlilik sınıfı: WHO II (EMEA 2001a).

1.3.2.2.3. Cypermethrin

(RS) α - (cyano- 3 - phenoxybenzyl (1RS3RS, 1RS3SR) -3-(2,2- dichlorovinyl)- 2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate (C₂₂H₁₉C₁₂NO₃). Sıçanlarda akut oral ÖD₅₀ değeri 250 mg/kg'dır. Sistemik olmayıp, temas ve mide yolu ile etkisini gösterir. Bayıltıcı ve uzun süre kalıcıdır. Zehirlilik sınıfı: WHO ve USEPA II (EMEA 2004).

1.3.2.2.4. Beta cypermethrin

(2:3 oranında S ve R cypermethrin reaksiyon karışımı): Sıçanlarda akut oral ÖD₅₀ değeri 166 mg/kg'dır. Sistemik olmayıp, temas ve mide yolu ile etkisini gösterir. Zehirlilik sınıfı: WHO ve USEPA II (EMEA 2004).

1.3.2.2.5. Permetrin

3-phenoxybenzyl(1RS3RS,1RS3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethyl cyclopropanecarboxylate (C₂₁H₂₀Cl₂O₃) (Şekil 1.4). Sistemik olmayıp, kaçırıcı etkiye sahiptir temas ve mide yolu ile etkilidir. Sıçanlarda akut oral ÖD₅₀ değeri 500 mg/kg'dır. Zehirlilik sınıfı: WHO II, USEPA II,III (EMEA 2000).

1.3.2.2.6. Fenvalerate

α - cyano- 3 - phenoxybenzyl α - (4 - chlorophenyl) isovalerate (C₂₅H₂₂ClNO₃) (Şekil 1.4). Ratlarda ÖD₅₀ değerinin 310 ile 3200 mg/kg arasında değiştiği bildirilmiştir. Fenvalerate'nin farelerde damar içi ÖD₅₀ değeri ise 65 mg/kg'dır. Zehirlilik sınıfı: WHO ve USEPA III (EMEA 2002).

1.3.2.2.7. Zeta cypermethrin

Stereoisomerlerin karışımı. Sıçanlarda akut oral $ÖD_{50}$ değeri 106 mg/kg'dır. Temas ve mide yolu ile etkisini gösterir. Zehirlilik sınıfı: WHO II (EMEA 2004).

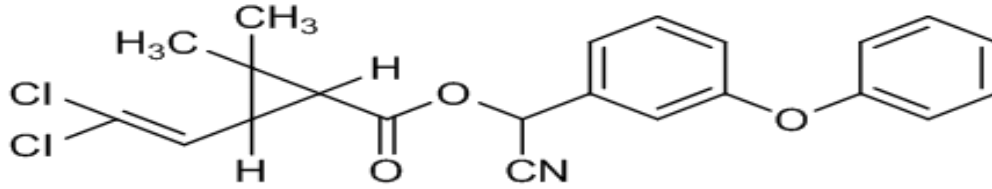
1.3.2.2.8. Alpha cypermethrin (α -CM)

Alpha Cypermethrin, sentetik pyrethroid sınıfından olan popüler bir insektisittir. Bu yeni insektisit olan alpha cypermethrin, ürün koruma amacıyla tarımda, veterinerlikte ve evle ilgili böcekleri öldürmede büyük miktarlarda kullanılmaktadır (Krechniak ve Wielgomas 2007).

Alpha cypermethrin bitkilerden asma, patates kabakgiller, marul, dolmalık biber, domates, tahıllar, soya fasülyesi, pamuk, kahve, kakao, pirinç, ceviz, kolza, şeker pancarı, süs bitkileri, orman bitkileri, sivrisinek, karasinek, hamamböceği ile mücadelede kullanılmaktadır. Bu yönüyle bakıldığında Alpha cypermethrinin oldukça geniş bir yelpazede etkili olduğu görülmektedir. Alpha cypermethrin aynı zamanda ekto parazitist olarak kullanılır (<http://www.essencechem.com/product> 2014).

Çizelge 1.1. Alpha cypermethrin (α -CM) genel özellikleri (EMEA 2004)

$ÖD_{50}$ değeri	79 mg/kg
Etki şekli	Sistemik olmayıp, temas ve mide yolu ile etkisini gösterir.
Zehirlilik sınıfı	WHO ve USEPA II



Şekil 1.5. Alpha cypermethrin'in kimyasal yapısı

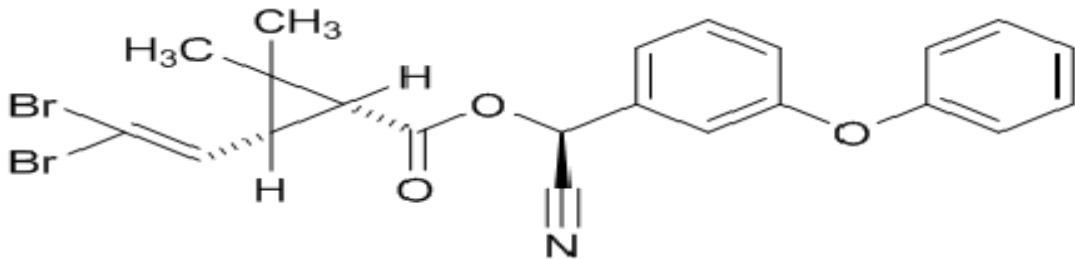
Halk sağlığı ilaçları kapsamında hem kullanımı hem de uygulaması oldukça kolay başarılı bir formüldür. Dünya Sağlık Örgütü tarafından onaylanmıştır. Uygulandığı ortamda kalıcılığını etkili bir şekilde devam ettirme süresi 12 hafta kadar olduğunda uzun süreli kalıcılığı ile aynı zamanda böceklerdeki ani yere serici etkisi ile yüksek performansa sahiptir. Oldukça seyreltik olarak uygulandığında bile etkili olduğundan oldukça ekonomiktir. Buharlaşmaması ve zemin tarafından emilmemesi ev veya iř yerlerinde ideal bir insektisit olmasını sağlamaktadır.

1.3.2.2.9. Deltamethrin

(S) α -cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)- 2,2- dimethyl cyclopropanecarboxylate (C₂₂H₁₉Br₂NO₃) (şekil 1.6). Sıçanlarda akut oral ÖD₅₀ değeri 135 mg/kg'dır. Sistemik olmayıp, temas ve mide yolu ile etkilidir. Zehirlilik sınıfı: WHO ve USEPA II (EMEA, 2001b).

Deltamethrin fiziksel hal olarak kristal halde bulunan renksiz bir insektisittir. Son derece hızlı etki gösteren deltamethrin, temas ve midede etkili olmaktadır. Arılar ve balıklar üzerinde zehirleyici etki gösterir. Sineklerde öldürücü etkiye sahiptir (Stelzer, 1984).

Deltamethrinin kullanıldığı başlıca alanlar zeytin sineği, buğday sünesi, buğday kımılı, pamukta bulunan çizgili yaprak kurdu, elma kurdu, elma ađ kurdu, testereli arı, yaprak galeri güvesi, salkım güvesi, patates böceği, mercimek, mısırdaki koan kurdu, ayçiçeğinde ayır tırtılı, fındıkta kır tırtılı, şeker pancarında pancar piresi, kalkan böceği ile mücadele olarak sıralanabilir (Hopa 2010).



şekil 1.6. Deltamethrin Kimyasal yapısı

1.4. Çalışmanın Amacı

Piretroid insektisitler olan alpha cypermetrin ve deltamethrin hem tarımda hem de halk sağlığı için oldukça yaygın olarak kullanılan insektisitlerdir. Bu enzimlerin gıdalarda kalan rezidüleri canlı organizmalarında bir çok biyokimyasal parametre üzerinde olduğu gibi katalaz aktivitesi üzerinde de bazı etkileri vardır. Katalaz doğal endojen bir enzimdir. Vücuttaki görevi organizmadaki H_2O_2 'nin oksijen ve suya dönüştürülmesini sağlamaktır. Bu çalışmada sığır karaciğerinden elde edilmiş ve kristalleştirilmiş olan katalaz enzimi alpha cypermetrin ve delta metrin ile doğrudan etkileştirilerek enzim aktivitesi ölçülmüş ve enzimin kinetik parametreleri tayin edilmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kimyasal maddeler

Alpha cypermethrin, Deltamethrin, Sığır Karaciğer Katalazı, Etil Alkol, Sığır Serum Albumin, Sodyum Hidroksit, Hidroklorik Asit, Sodyum Klorür, Bakır iki sülfat pentahidrat, Folin-Ciocalteu, Potasyum hidrojen fosfat, Potasyum dihidrojen fosfat, Hidrojen peroksit, Sodyum karbonat, Trisodyum sitrat.

2. 1.2. Kullanılan cihazlar

Magnetik Karıştırıcı, pH Metre, Vorteks, Etüv, Otomatik Pipet, Analitik Terazî, UV-Vis Spektrofotometre (Perkin Elmer).

2.2. Yöntem

1M HCl Çözeltisi: Önce biraz saf su üzerine 8,3 ml HCl (stok, derişik) eklenip daha sonra elde edilen asit- saf su çözeltisi yine saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

1M NaOH Çözeltisi: NaOH katısından 4 g alınıp 100 ml saf su içerisinde çözünmesi sağlanmıştır.

Fosfat Tamponu: Fosfat tamponu hazırlamak için 5,8 g K_2HPO_4 ve 2,273 g KH_2PO_4 bir balon joje içerisine alınmıştır. Bu kimyasalların üzerine 1L'den biraz az olacak şekilde saf su eklenerek bir beher içine alınmıştır. Magnetik karıştırıcı üzerinde daha önce hazırlamış olduğumuz 1M HCl ve 1M NaOH çözeltilerinin yardımıyla çözeltinin pH değerinin 7,5 olması sağlanmıştır. pH değeri 7,5 olduktan sonra üzerine saf su eklenerek 1L'ye tamamlanmıştır.

Katalaz Çözeltisi (0,5mg/ml): Analitik terazi yardımıyla 0,025 g CAT tartılarak üzeri daha önce hazırlamış olduğumuz fosfat tamponu ile 50 ml'ye tamamlanmıştır.

Serum Fizyolojik (%0,9 NaCl): NaCl'den 0,9 g tartılarak üzeri saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Standart Protein Çözeltisi: Sığır albümününden 0,025 g tartılarak üzerine daha önce hazırlanmış olduğumuz serum fizyolojik çözeltisi ile 50 ml'ye tamamlanmıştır. Serum fizyolojik albümin üzerine eklenirken yavaşça karıştırılmalıdır, böylece çözeltinin köpürmesi engellenmiş olur.

Alpha Cypermethrin ve Deltamethrin Pestisit Çözeltileri: Analitik terazide 0,0100 g pestisit alınıp üzerine 2 mL etil alkol eklenerek 5000 ppm (mg/L) pestisit çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra bu çözeltilerden 0, 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm derişimlerde enzim-pestisit çözeltileri hazırlanmıştır.

2.2.1. CAT aktivitesinin ölçülmesi

Katalaz aktivitesinin ölçülmesi Aebi, H. (1974) tarafından önerilen Lartillot, S. ve vd. (1988) tarafından geliştirilmiş olan metoda göre yapılmıştır. Enzimatik aktivite tayini için H₂O₂'in 240 nm'deki absorbans değerinin enzimle etkileşmesi sonucu zamanla azalmasına bağlı olarak gerçekleştirilmiştir. Hidrojen peroksit için molar ekstinksiyon katsayısı 0,0396 cm²/μmol'dür. CAT aktivitesinin ölçülmesi yönteminde substrat olarak 50 mmol/L fosfat tamponu içerisinde 10 mmol/L H₂O₂ olacak şekilde hazırlanmıştır. Deney tüpü içerisinde 2,5 mL substrat üzerine 20 μL test edilecek olan enzim çözeltisi eklenmiştir. İki dakika sonra 0,5 ml 1M HCl çözeltisi eklenerek enzim substrat reaksiyonunun durması sağlanmıştır ve 240 nm'de absorbans değeri ölçülmüştür (Lartillot ve vd. 1988).

0,5 ml 1M HCl ve 2,5 ml 50 mmol/L fosfat tamponu (pH=7,5) içeren çözelti kör çözelti olarak kullanılmıştır. H₂O₂'in başlangıçtaki absorbansını (As) belirlemek için 2,5 ml substrat ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülmüştür. Proteinin neden olacağı absorbansı (At) belirlemek için 20 μL enzim çözeltisi, 2,5 ml fosfat tamponu ve 0,5 ml 1M HCl içeren çözeltinin absorbansı ölçülür. Enzimatik aktiviteden dolayı absorbans (A) değışimi;

$$A = (As + At) - Ar$$

Enzim aktivitesinin IU/mL cinsinden hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır.

$$Akt = \frac{A \cdot Vt}{\epsilon \cdot t \cdot Ve}$$

Vt= Toplam reaksiyon hacmi (mL)

Ve= Kullanılan enzim çözeltisinin hacmi (mL)

ϵ = H₂O₂'nin molar ekstinksiyon katsayısı (0,0396 cm²/μmol)

t= Reaksiyon zamanı (dakika)

Her örnekteki protein miktarı belirlenerek aktivite μmol H₂O₂ mg prot⁻¹.dak⁻¹ olarak hesaplanmıştır (Lartillot ve vd. 1988).

2.2.2. Protein tayini

Protein tayini metodu Lowry ve ve vd. (1951) tarafından önerilen yöntemle yapılmıştır. Protein tayinini yapmak için aşağıda özellikleri belirtilen 1, 2 ve 3 çözeltileri hazırlanmıştır.

ÇÖZELTİ 1: 2 g Na₂CO₃, 0,1 M NaOH çözeltisi içerisinde çözülerek ve aynı çözelti ile son hacim 100 ml'ye seyreltilerek hazırlanmıştır.

ÇÖZELTİ 2: 0,5 g CuSO₄.5H₂O, %1'lik Na₃C₆H₅O₇ 2 H₂O çözeltisinde çözülerek son hacim aynı çözelti ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

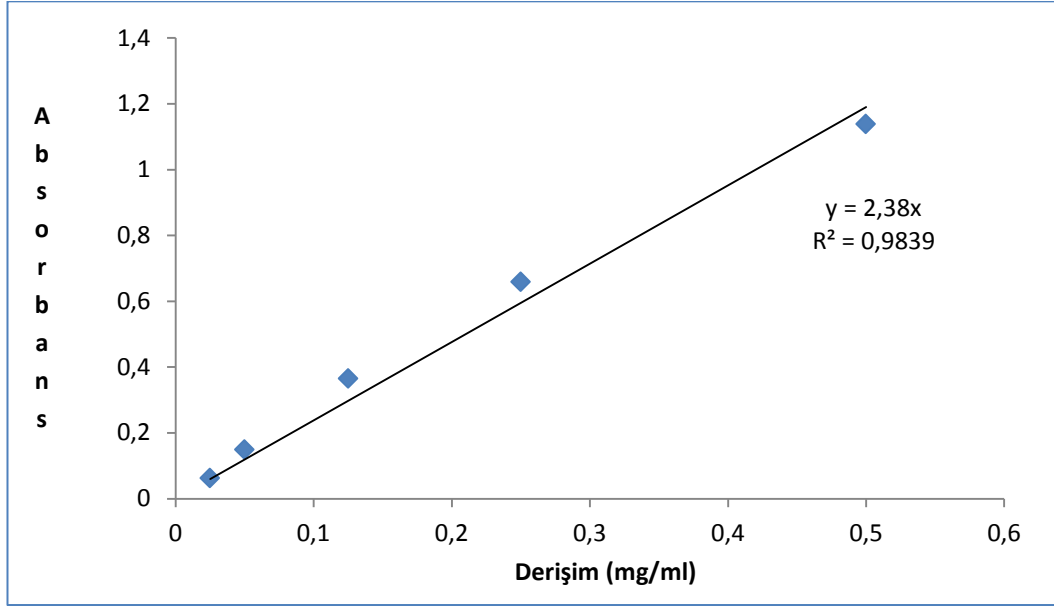
ÇÖZELTİ 3: 1 ml 2. çözeltilerden ve 50 ml birinci çözeltilerden alınarak karıştırılmıştır.

FOLİN-CİOCALTEU ÇÖZELTİSİ: Folin-Ciocalteu 1:1 oranında saf su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

STANDART PROTEİN ÇÖZELTİSİ: %0,9'luk NaCl (serum fizyolojik) çözeltisiyle 1 ml'sinde 0,5 mg. sığır albümini olacak şekilde hazırlanmıştır.

STANDART PROTEİN EĞRİSİNİN ÇİZİMİ: 6 adet deney tüpüne standart protein çözeltisinden (0,5 mg/ml) sırasıyla 0; 50; 100; 250; 500; 1000 μl eklenerek serum fizyolojik ile 1 ml'ye tamamlanmıştır. Bu tüplerdeki protein derişimleri sırasıyla 0; 0,025; 0,05; 0,125; 0,25; 0,5 mg/ml'ye tekabül eder. Her tüpe 5 ml C çözeltisi ilave edilip, 10 dakika oda sıcaklığında bekletildikten sonra her tüpe 1:1 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisinden 0,5 ml eklenmiştir. 30 dakika oda sıcaklığında bekletilip tüp içeriklerinin absorbanları kör çözeltiliye karşı 750 nm'de okunmuştur. Okunan bu

absorbanslar standart protein derişimlerine karşı grafiğe geçirilmiştir (Lowry ve ve vd. 1951).



Şekil 2.1. Standart protein grafiği

2.2.3. İstatistik

Deney sonuçlarından elde edilen çıktıların istatistik analizi için SPSS 21 bilgisayar paket programı kullanılmıştır. Her bir pestisit etkisinde derişimler arasındaki aktivite düzeylerini karşılaştırmak için SNK (Student Newman Keul's) testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Bulgular

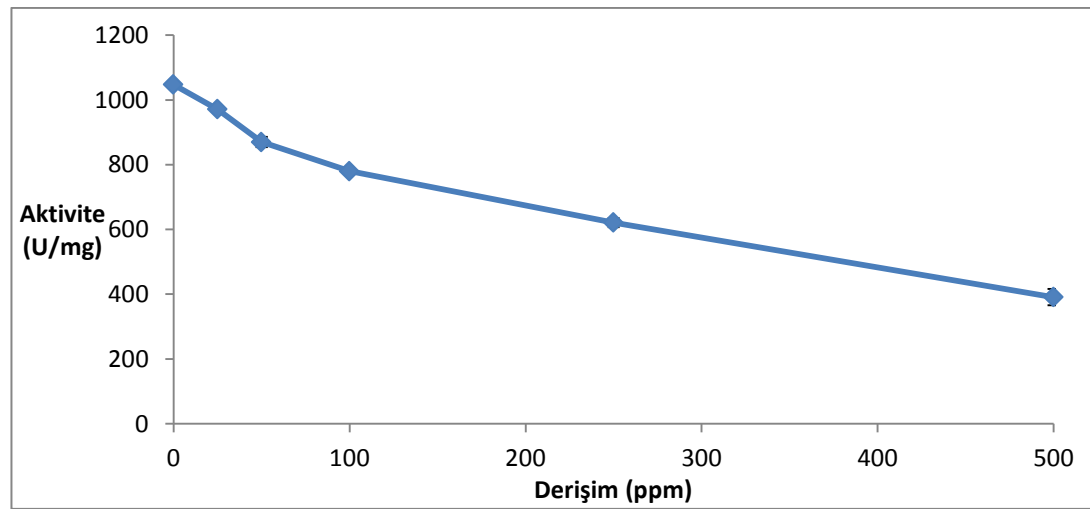
3.1.1. Deltamethrin'in CAT ile etkileştirilmesi

Farklı derişimlerde hazırlanan deltamethrin CAT enzimi ile etkileştirilerek, CAT enziminin aktivitesi ölçülerek elde edilen veriler çizelge 3.1'de verilmiş olup, aktivite derişim grafiği şekil 3.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Farklı deltamethrin derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi

Derişim (ppm)	Aktivite±Standart Hata (U/mg)
0	1047±0a
25	971±3b
50	870±16c
100	780±5d
250	621±14e
500	391±25f

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Çizelgedeki "a, b, c, d, e ve f" harfleri derişimler arasındaki aktivite düzeylerinin ayrımını belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayrım vardır ($P<0.05$, $n=3$).



Şekil 3.1. Deltamethrin ile etkileştirilen CAT'nin aktivite grafiği

Çizelge 3.1. ve Şekil 3.1. incelendiğinde artan deltamethrin pestisit derişimi ile katalaz enziminin aktivitesini kaybederek inhibisyona uğradığı saptanmıştır. Kontrol

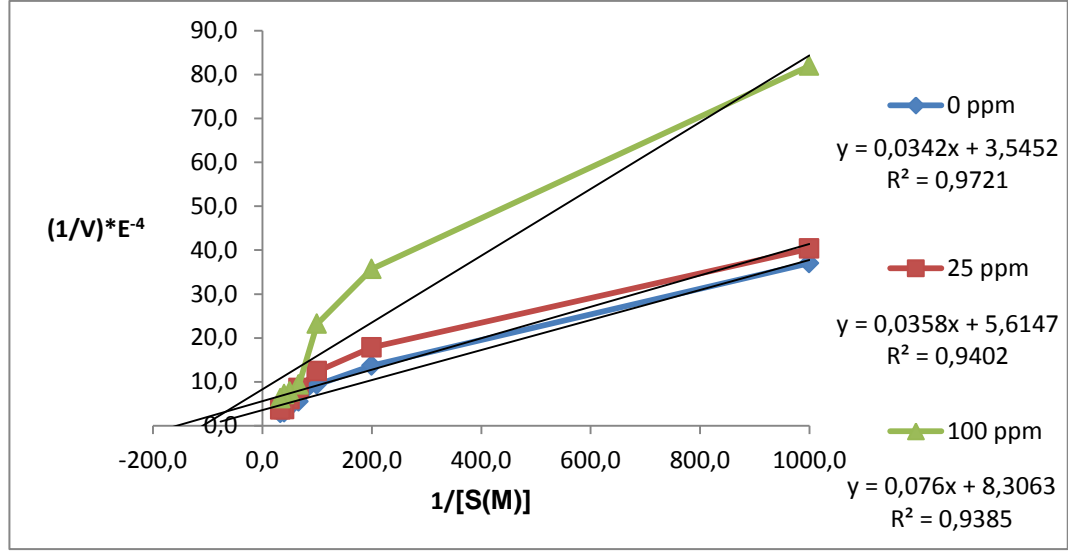
grubuyla karşılaştırıldığında deltamethrin ile etkileştirilen katalaz enzimi aktivitesindeki inhibisyon değerlerinin istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır. ($P < 0.05$, $n=3$). Deltamethrin'in 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde katalaz enzimi aktivitesindeki yüzde azalışlarının sırasıyla 7,3; 16,9; 25,5; 40,7 ve 62,7 olduğu hesaplanmıştır.

3.1.2. Deltamethrin'in inhibisyon türü

CAT enzimi için farklı derişimlerde hazırlanan substrat (H_2O_2 : 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM ve 30 mM) ve Deltamethrin (0 ppm, 50 ppm ve 100 ppm) derişimlerinde CAT aktivitesine bakılmıştır. Deltamethrin'in CAT'ı yarışmasız olarak inhibe ettiği bulunmuş olup, aktivite değerleri çizelge 3.2'de verilmiş, şekil 3.2'te de grafiği çizilmiştir.

Çizelge 3.2. CAT için farklı deltamethrin ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri

H_2O_2	0 ppm	25 ppm	100 ppm
$1/[S]$ (1/M)	$1/V$ (U/mg prot) ⁻¹ $\times 10^{-4}$	$1/V$ (U/mg prot) ⁻¹ $\times 10^{-4}$	$1/V$ (U/mg prot) ⁻¹ $\times 10^{-4}$
1000,0	37,0	40,3	82,0
200,0	13,7	17,9	35,7
100,0	9,3	12,4	23,2
66,7	5,5	8,6	9,3
50,0	4,3	6,0	7,7
40,0	3,0	3,7	7,2
33,3	2,9	3,7	6,3



Şekil 3.2. Deltamethrin ile etkileştirilen CAT'ın Lineweaver-Burk grafiği

Lineweaver-Burk grafiğinden deltamethrin'in, CAT enzimini yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır.

Şekil 3.2'de grafiğe aktarılmış olan verilerden yararlanılarak V_{max} , K_m ve K_i (inhibisyon sabiti) bulunmuştur. Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon için Lineweaver-Burkeşitliği:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \text{ den } K_i \text{ bulunabilir.}$$

0 ppm Deltamethrin için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{max} = 2821 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 9,65 \times 10^{-3} \text{ M,}$$

$$K_i = 0,00 \text{ M}$$

25 ppm Deltamethrin için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{max} = 1781 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 6,38 \times 10^{-3} \text{ M,}$$

$$K_i = 4,73 \times 10^{-9} \text{ M}$$

100 ppm Deltamethrin için V_{max} ve K_m değerleri;

$$V_{max}=1204 \text{ U/mg,}$$

$$K_m=9,15 \times 10^{-3} \text{ M,}$$

$$K_i=8,91 \times 10^{-9} \text{ M}$$

Deltamethrinde K_m değerlerinin birbirine yakın, V_{max} değerlerinin azaldığı belirlenmiştir.

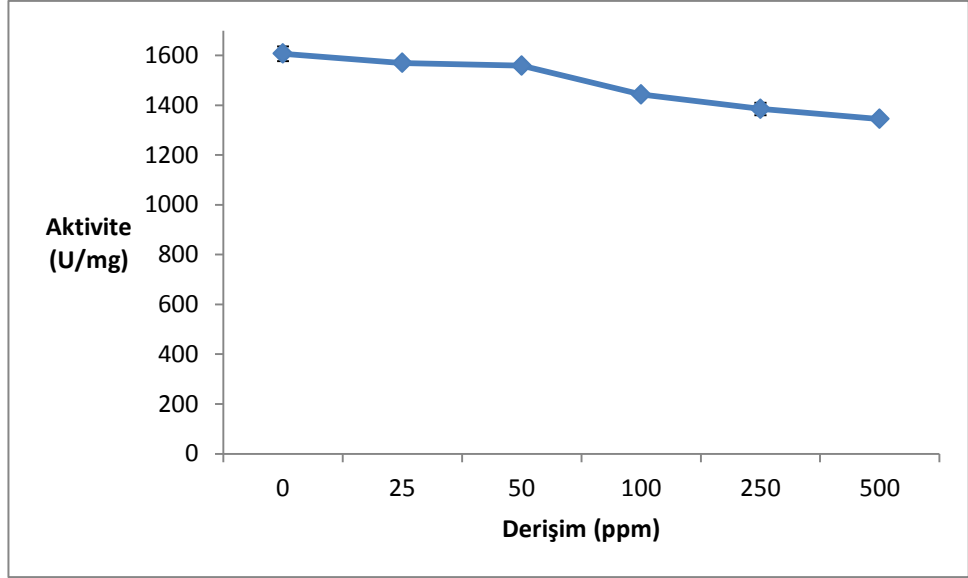
3.1.3. Alpha cypermetrin'in CAT ile etkileştirilmesi

Farklı derişimlerde hazırlanan alpha cypermetrin CAT enzimi ile etkileştirilmiş, CAT enziminin aktivitesi ölçülerek elde edilen veriler çizelge 3.3'de verilmiş olup, aktivite derişim grafiği şekil 3.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.3. Farklı alpha cypermetrin derişimlerinin CAT aktivitesi üzerine etkisi

Derişim (ppm)	Aktivite±Standart Hata (U/mg)
0	1607±30a
25	1570±0a
50	1559±5a
100	1443±4b
250	1385±25c
500	1345±3c

Veriler Aritmetik ortalama ± Standart hata şeklinde verilmiştir. Çizelgedeki "a, b ve c" harfleri derişimler arasındaki aktivite düzeylerinin ayırımı belirlemek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında istatistiksel ayırım vardır ($P<0.05$, $n=3$).



Şekil 3.3. Alpha cypermetrin ile etkileştirilen CAT'ın aktivite grafiği

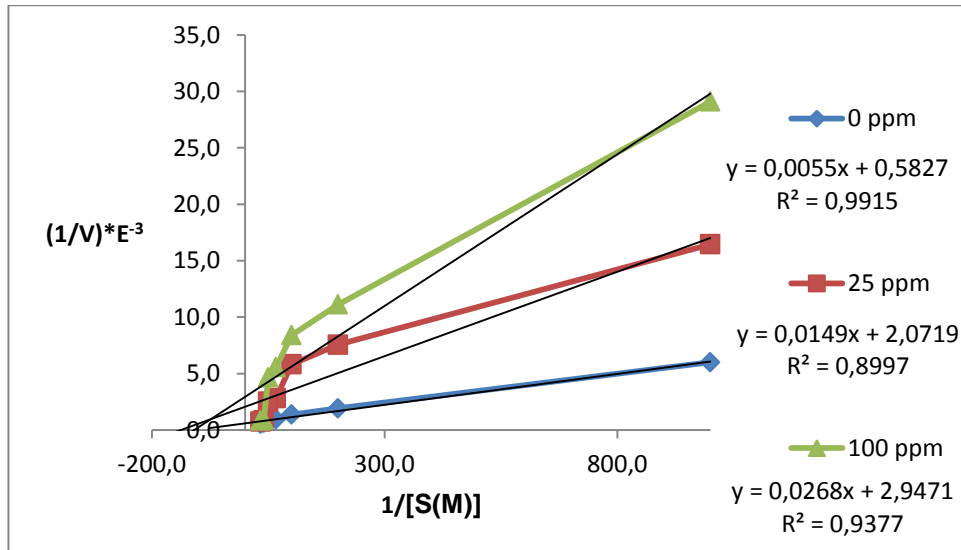
Çizelge 3.3. ve Şekil 3.3. incelendiğinde artan alpha cypermethrin pestisit derişimi ile katalaz enziminin aktivitesini kaybederek inhibisyona uğradığı saptanmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında alpha cypermetrin ile etkileştirilen katalaz enzimi aktivitesindeki inhibisyon değerlerinin istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$, $n=3$). Alpha cypermethrin'in 25, 50, 100, 250 ve 500 ppm etkisinde katalazenzim aktivitesindeki yüzde azalışlarının sırasıyla 2,3; 3,0; 10,2; 13,8 ve 16,3 olduğu hesaplanmıştır.

3.1.4. Alpha cypermethrin'in inhibisyon türü

CAT enzimi için farklı derişimlerde hazırlanan substrat (H_2O_2 : 1 mM, 5 mM, 10 mM, 15 mM, 20 mM, 25 mM ve 30 mM) ve alpha cypermethrin (0 ppm, 50 ppm ve 100 ppm) derişimlerinde CAT aktivitesine bakılmıştır. Alpha cypermethrin'in CAT'ı yarışmasız olarak inhibe ettiği bulunmuş olup, aktivite değerleri çizelge 3.4.'de verilmiş, şekil 3.4.'te de grafiği çizilmiştir.

Çizelge 3.4. CAT için farklı Alpha Cypermethrin ve substrat derişimlerinde ölçülen aktivite değerleri

H ₂ O ₂	0ppm	25 ppm	100 ppm
1/[S] (1/M)	1/V (U/mg prot) ⁻¹ ×10 ⁻³	1/V (U/mg prot) ⁻¹ ×10 ⁻³	1/V (U/mg prot) ⁻¹ ×10 ⁻³
1000,0	6,0	16,4	29,1
200,0	1,9	7,6	11,1
100,0	1,4	5,8	8,4
66,7	0,9	2,8	5,6
50,0	0,8	2,5	4,7
40,0	0,6	0,9	0,9
33,3	0,6	0,7	0,8



Şekil 3.4. Alpha cypermethrin ile etkileştirilen CAT'ın Lineweaver-Burk grafiği

Lineweaver-Burk grafiğinden alpha cypermethrin'in, CAT enzimini yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği anlaşılmıştır.

Şekil 3.4'de grafiğe aktarılmış olan verilerden yararlanılarak V_{max} , K_m ve K_i (inhibisyon sabiti) bulunmuştur. Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyon için Lineweaver-Burkeşitliği:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{mak}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

$$\text{Eğim} = \frac{K_m}{V_{\max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \text{ den } K_i \text{ bulunabilir.}$$

0 ppm Alpha cypermethrin için V_{\max} ve K_m değerleri;

$$V_{\max} = 1716 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 9,44 \times 10^{-3} \text{ M,}$$

$$K_i = 0,00 \text{ M}$$

25 ppm Alpha cypermethrin için V_{\max} ve K_m değerleri;

$$V_{\max} = 483 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 7,19 \times 10^{-3} \text{ M,}$$

$$K_i = 2,22 \times 10^{-8} \text{ M}$$

100 ppm Alpha cypermethrin için V_{\max} ve K_m değerleri;

$$V_{\max} = 339 \text{ U/mg,}$$

$$K_m = 9,09 \times 10^{-3} \text{ M,}$$

$$K_i = 4,93 \times 10^{-8} \text{ M}$$

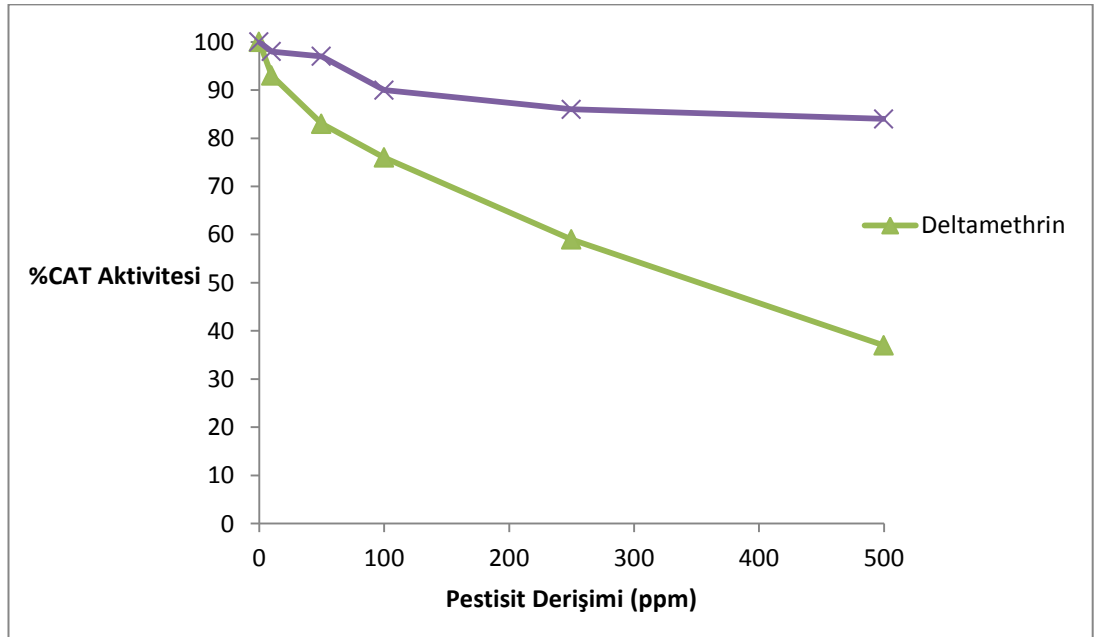
Alpha cypermethrin K_m değerlerinin birbirine yakın, V_{\max} değerlerinin azaldığı belirlenmiştir.

3.1.5. Deltamethrin ve alpha cypermethrinin CAT aktivitesi üzerine etkisinin karşılaştırılması

Çizelge 3.5. ve Şekil 3.5. incelendiğinde deltamethrin ile etkileştirilen katalaz enziminin aktivitesindeki düşüşün, alpha cypermethrin ile etkileştirilen katalaz enziminin aktivitesindeki düşüşten belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu görülmektedir. Yani aynı oranda artan pestisit derişimlerinde deltamethrin, alpha cypermethrine göre katalaz aktivitesini daha güçlü bir şekilde düşürmüştür. 500 ppm'deki derişimler incelendiğinde katalaz aktivitesi, deltamethrine maruz bırakılan ölçümde aktivitesini % 37 oranında koruyabiliyorken, alpha cypermethrine maruz bırakılan ölçümde % 84 oranında korumuştur.

Çizelge 3.5. Deltamethrin ve alpha cypermethrin ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % değerleri

Pestisit Derişimi (ppm)	Deltamethrinile etkileştirilen CAT Enziminde % Aktivite	Alpha cypermethrin ile etkileştirilen CAT Enziminde % Aktivite
0	100	100
25	93	98
50	83	97
100	76	90
250	59	86
500	37	84



Şekil 3.5. Deltamethrin ve alpha cypermethrin ile etkileştirilen katalaz enzim aktivitesinin % değerleri grafiğı

Sonuç olarak katalaz üzerinde, deltamethrinin alpha cypermethrine göre daha güçlü bir inhibisyona sebep olduğu belirlenmiştir.

3.2. Tartışma

Bu çalışmada piretiroid insektisit grubunda bulunan deltamethrin ve alpha cypermethrin pestisitlerin katalazenzimi ile etkileşmesi sağlanarak enzim aktivitesinin değişimi belirlenmiştir.

25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm ve 500 ppm derişimlerinde deltamethrin, katalaz ile etkileştirildiğinde enzim aktivitesindeki azalış sırasıyla % 7,3, % 16,9, % 25,5, % 40,7, ve %62,7 olarak tespit edilmiştir. Bu azalış değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında test edilen tüm derişimlerde katalaz aktivitesinin istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır ($P<0.05$, $n=3$). Deltamethrin için 0ppm, 25 ppm, ve 100 ppm derişimlerde V_{max} (2821 U/mg, 1781 U/mg, ve 1204 U/mg) ve K_m ($9,65 \times 10^{-3}$ M, $6,38 \times 10^{-3}$ M, ve $9,15 \times 10^{-3}$ M) değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler ışığında artan deltamethrin pestisit derişimleri ile katalaz enziminin aktivitesini önemli ölçüde kaybederek inhibisyona uğradığı tespit edilmiştir.

25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 250 ppm ve 500 ppm derişimlerinde alpha cypermethrin,katalaz ile etkileştirildiğinde enzim aktivitesindeki azalış sırasıyla % 2,3, % 3,0, % 10,2, % 13,8, ve % 16,3 olarak tespit edilmiştir. Bu azalış değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında test edilen tüm derişimlerde katalaz aktivitesinin istatistiksel olarak önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır ($P<0.05$, $n=3$). Alpha cypermethrin için 0ppm, 25 ppm, ve 100 ppm derişimlerde V_{max} (1716 U/mg, 483 U/mg, ve 339 U/mg,) ve K_m ($9,44 \times 10^{-3}$ M, $7,19 \times 10^{-3}$ M, ve $9,09 \times 10^{-3}$ M) değerleri hesaplanmıştır. Bu veriler ışığında artan alpha cypermethrin pestisit derişimleri ile katalaz enziminin aktivitesini önemli ölçüde kaybederek inhibisyona uğradığı tespit edilmiştir.

Oliveira ve vd. (2012), karideslerin karaciğer ve diğer dokularındaki antioksidan parametreleri araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, karidesleri deltamethrine maruz bırakmışlar ve 39 ng L^{-1} deltamethrine maruz kalan karideslerin sindirim bezlerinde katalaz aktivitesinde önemli bir azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Bu durumun yüksek seviyelerde lipid peroksidayona eşlik eden bir antioksidan savunma sistemi bozukluğuna işaret ettiğini ileri sürmüşlerdir.

Yonar ve Sakin (2011), deltamethrinin zehirleyici etkisine karşı lycopenin iyileştirici etkisini araştırmak amacıyla balıklar üzerinde yaptıkları çalışmada, deltamethrine maruz kalan balıklarda, antioksidan savunma elemanlarından biri olan katalaz aktivitesinde önemli azalmalar gözlemlenmiştir.

Sayeed ve vd. (2003), tatlı su balıkları üzerinde yaptıkları çalışmada, balıklara laboratuvar koşullarında tek doz deltamethrin (0.75 mg/L) uygulamış ve 48 saat sonunda böbrek ve karaciğerde biyokimyasal parametreleri değerlendirmişlerdir. Balıklar üzerine yaptıkları çalışmalarda her iki dokudaki katalaz aktivitesinde de önemli düşüşler gözlemlenmiştir.

Sakr ve Al-Amoudi (2012), fesleğenin deltamethrine karşı koruyucu etkisini araştırmak için deltamethrine maruz bırakılan memelilerin böbrek dokularında meydana gelen histopatolojik değişimleri incelemişlerdir. Bu incelemeler sonucunda deltamethrine maruz kalan memelilerin böbrek dokularında malondialdehit (MDA) konsantrasyonunda önemli bir artış, superoksit dismutaz (SOD) ve katalaz aktivitesinde azalma gözlemlenmiştir.

Sharma ve Ansari (2013) öldürücü olmayan dozlarla 16 günlük periyotlarda zebra balıklarını deltamethrine maruz bırakmışlardır. Deltamethrine maruz kalan zebra balıklarının beyin ve kas dokularında katalaz, lipid peroksidasyon (LPO) ve glutatyon (GSH) biyokimyasal parametrelerini incelemişlerdir. Bu alışmalar sonucunda beyin ve kas dokularındaki biyokimyasal parametrelerde önemli değişimler gözlemlenmiştir. Beyin dokusunda LPO değerlerinde bütün pestisidal konsantrasyonlarda önemli ($p < 0,05$) artışlar gözlemlenmiştir. Katalaz değerlerinde en yüksek azalma ($p < 0.001$) 8. günde kaydedilmiştir. Kas dokusunda GSH değerlerinde ortalama % 69'a kadar ani bir artış, beyin hücrelerinde de önemli artış ($p < 0.05$) kaydedilmiştir.

Rehman ve vd. (2006), farelerde deltamethrinin oksidatif stres üzerine etkileri ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Farelere oral yollarla 15 gün boyunca farklı dozlarda (5.6 ve 18 mg/kg (B.W)) deltamethrin vermişler ve böbrek ve karaciğerdeki biyokimyasal parametrelerin değişimini saptamışlardır. 15. günün sonunda her iki dokuda ve her iki dozda katalaz aktivitesinde önemli düşüş gözlemlenmiştir.

Manna ve vd. (2006), alpha cypermethrin'i dimetilsülfoksitte çözüp, 1/10 LD50 (14,5 mg/kg) oranında 60 gün boyunca farelere vermişlerdir. Kontrole göre karaciğer katalaz ve süperoksit dismutaz aktivitelerinde düşüş kaydetmişlerdir.

Manna ve vd. (2004), alpha cypermethrinin LD₅₀ doz seviyesindeki antioksidan aktiviteler, biyokimyasal parametreler ve histopatolojik özellikler üzerine akut etkilerini araştırmak için, sıçanlara oral yolla vücut ağırlıkları baz alınarak 145 mg/kg alpha cypermethrin vermişlerdir. Yaptıkları çalışmalar sonucunda alpha cypermethrinin dokulardaki katalaz aktivitesini düşürdüğünü gözlemlemişlerdir.

Daha önce yapılan çalışmalar incelendiğinde hem deltamethrin hem de alpha cypermethrin pestisitlerin genellikle katalaz enzimi üzerinde inhibisyona sebep olduğu görülmektedir. Dolayısıyla daha önce elde edilmiş bulguların bizim çalışmamız sonucu elde edilen bulgularla paralellik gösterdiğini söylemek mümkündür.

Ancak, Wielgomas ve Krechniak'ın (2007), çalışması da yaptığımız çalışmayla kısmen uyumsuz görünmektedir. Wielgomas ve Krechniak (2007), yaptıkların çalışmada sıçanlar üzerinde organofosfat, klorpirifos ve alpha cypermethrinin etkilerini araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada 5mg/kg B.W ve 10mg/kg B.W dozlarda, 14 ve 28 günlük periyotlarda hayvanlara pestisit vermişler ve 14 günün sonunda eritrositlerdeki katalaz aktivitesinde yükselme gözlemlemişler ancak karaciğer dokusundaki katalaz aktivitesinde önemli düşüş gözlemlemişlerdir. Bu sonuç alpha cypermethrin ve diğer insektisitlerin inhibisyon etkisinin eritrositlerde tolere edilmiş olabileceğini düşündürmektedir. Karaciğer dokusunda ise beklenildiği üzere katalaz aktivitesinde önemli bir düşüş saptanmıştır.

Oliveira ve vd. (2012), yaptıkları çalışmada 19 ng L⁻¹ dozajında deltamethrin ile yaptıkları uygulamada katalaz aktivitesinin önemli ölçüde artması yaptığımız çalışma ile tezat göstermektedir. Çünkü bizim yaptığımız çalışmada deltamethrinin bütün derişimlerde katalaz aktivitesini düşürerek inhibisyona sebep olduğu saptanmıştır. Bu tezatın oluşmasının sebebi karideslerde detoksifikasyona sebep olan enzimlerin etkisi olabilir. Bu durum ayrı bir araştırma konusu olarak düşünülebilir.

Çalışmamızda deltamethrin ve alpha cypermethrinin katalazenzim aktivitesini azaltarak yarışmasız olarak inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Canlı dokulara alınan pestisitler H₂O₂'yi su ve oksijene parçalayarak etkisiz hale getiren katalazenzimini inhibe ederek vücuttaki H₂O₂ miktarının artmasına sebep olmaktadır. Bunun sonucunda

da dokulardaki radikallerin artacağı düşünölmektedir. Ayrıca daha önce yapılan çalışmalardan da pestisitlerin oksidatif stresi arttırdıkları anlaşılmaktadır. Bu nedenle yukarıda literatur araştırması yapılmış olan çalışmalar bu çalışmamızı desteklemektedir.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1. Sonuçlar

Yapılan deneyler sonucunda aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

- 1) 0 ppm'den 500 ppm'e kadar artan deltamethrin derişimleri ile etkileştirilen katalaz(CAT) enziminin aktivitesinde azalma gözlenmiştir.
- 2) Deltamethrin'in katalazı (CAT) yarışmasız (nonkompetitif) olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir.
- 3) 0'dan 500 ppm'e kadar artan alpha cypermethrin derişimleri ile etkileştirilen CAT enziminin aktivitesinde azalma gözlenmiştir.
- 4) Alpha cypermethrin'in katalazı (CAT) yarışmasız(non-kompetitif) olarak inhibe ettiği tespit edilmiştir.
- 5) Deltamethrin'in alpha cypermethrine oranla katalazenziminin aktivitesini daha fazla azalttığı anlaşılmıştır.

4.2. Öneriler

- 1) Katalazenzimi ile başka pestisitler de etkileştirilebilir.
- 2) Deltamethrin ve alpha cypermethrinile başka enzimler etkileştirilebilir.
- 3) Enzim olarak sadece sığır karaciğerinden elde edilen katalaz yerine başka canlı dokularından elde edilen katalaz enzimi kullanılabilir.
- 4) Katalazın (CAT) diğer pestisitler tarafından inhibisyona uğrayıp uğramadığı, inhibisyona uğruyorsa ne tür bir inhibisyon gerçekleştiği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

- Akgünlü, F. Z., (2005). *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)'nin Değişik Popülasyonlarının Sentetik Pyretroidli İlaçlara Karşı Meydana Getirdiği Direncin İzlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 41, Ankara.
- Akkuş, İ., (1995). Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Sağlık Dizisi 5, Mimoza Basım Yayım Dağıtım, Konya.
- Alon, M., Alon F., Nauen R. and Morin S., (2008). Organophosphates Resistance in the Biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is Associated with a Point Mutation in an Ace1-type Acetylcholinesterase and Overexpression of Carboxylesterase, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38: 940–949.
- Anazawa, Y., Tomita T., Aiki Y., Kozaki T. and Konoa Y., (2003). Sequence of a cDNA Encoding Acetylcholinesterase from Susceptible and Resistant Two-spotted Spider Mite, *Tetranychus urticae*, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 33: 509–514.
- Baffi, M. A., Pereira C. D., Souza G. R., Bonetti A. M., Ceron C. B. and Gouurlart L. R., (2005). Esterase Profile in a Pyrethroid-Resistant Brazilian strain of the Cattle Tick *Boophilus microplus* (Acari, Ixodidae), *Genetics and Molecular Biology*, 28(4): 749-753.
- Balcıoğlu, İ. C., Kurt, Ö., Özbilgin, A., (2004). Anti Paraziter İlaçlar, *ANKEM*, 18(4): 240.
- Barr, D. B., Needham, L. L., (2002). Analytical Methods for Biological Monitoring of Exposure to Pesticides, *Journal of Chromatography B*, 777: 5-29.
- Balkaya, N., Arslan, A., (2004). Sulu Çözeltilerdeki Pestisidlerin Güneş Işığı Etkisiyle Bozunumu, *Ekoloji dergisi*, 14(53): 18-24.
- Biçici, M., Elekçioğlu, H. İ., Atakan, E., (2007). Tarımsal Mücadelede Kullanılan Pestisitler ve Çevresel Etkileri, I. Çukurova'da Sanayileşme ve Çevre Sempozyumu Bildirileri Adana.
- Chen, J., Wang, Q., Hua, Z., Du, G., (2007). Research and application of biotechnology in textile industries in China, *Enzyme and Microbial Technology*, 40(7): 1651-1655.
- Çakır, Ş. ve Yamanel Ş., (2005). Böceklerde İnektisitlere Direnç, Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi, 6(1): 21-29.
- Devonshire, A. L., (1977). The Properties of a Carboxylesterase from the Peach-Potato Aphid, *Myzus persicae* (Sulz.), and its Role in Conferring Insecticide Resistance. *Biochemical Journal*, 167: 675-683.

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Gungör, N., Gurcan, A., Turgut, C., Burçak, A., (2005). Türkiye’de Pestisid Kullanımı, Kalıntı Ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre, Ankara.

Ekşi, A., Artık, N., (1993). Gıdalarda Pestisid Kalıntıları ve Limitleri, Gıda Teknoloji Derneği, Ankara.

EMA, (1998). Committee For Veterinary Medicinal Products, Chrysanthemi Cinerarıfolu Flos and Pyrethrum Extract, Summary Report, EMA/MRL/362/98-Final.

EMA, (2001a). Committee For Veterinary Medicinal Products, Cyhalotrin Summary Report, EMA/MRL/699/99-Final.

EMA, (2001b). Committee For Veterinary Medicinal Products, Deltamethrin, Summary Report (3), EMA/MRL/779/01-Final.

EMA, (2004). Committee For Veterinary Medicinal Products, Cypermethrin (Extrapolation to all ruminants), Summary Report (4), EMA/MRL/890/03-Final.

Feyereisen, (1999). Insect P450 Enzymes, Annual Review of Entomology, 44: 507–33.

Giray, H., (1977). Böceklerin İnsektisitlere Karşı Dayanıklılığı, Türkiye Bitki Koruma Dergisi, 1 (1): 29-38.

Gözükara, E., (2001). Biyokimya, 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Hollingworth, R. M. and Dong K., (2008). The Biochemical and Molecular Genetic Basis of Resistance to Pesticides in Arthropods , (Global Pesticide Resistance in Arthropods, Ed: Whalaon, M.E., Mota-Sanchez, D. And Hollingworth, R.M.), 40-90, Cromwell, UK.

Hopa, E., (2010). İnsan eritrositlerinden glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enziminin saflaştırılması, bazı kumarin ve pestisitlerin etkilerinin araştırılması, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji anabilim dalı, Balıkesir.

Kaya, E., (2005). Klorprifos ve Deltamethrin’in Kan ve Beyin Lipid Peroksidasyon ve Antioksidan Enzim Aktivitelerine Etkileri, Yüksek lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya A.B.D., Isparta .

Kaya, S., (1998). Pestisidler, Veteriner hekimliğinde toksikoloji, Editörler: Kaya, S., Pirinççi, İ., Biligili A., Medisan Yayın Serisi 35, 211-282 Ankara.

Keha, E. E., Küfrevioğlu Ö. İ., (2000). Biyokimya, 2. Baskı, Aktif Yayınevi, İstanbul.

Kranthi, K. R., (2005). Insecticide Resistance Monitoring, Mechanisms and Management Manual, Central Institute for Cotton Research 51-87.

Krieger, R. I., (2001). Handbook of Pesticide Toxicology Second Edition, Academic Pres, 531-554.

Manna, S., Bhattacharyya, D., Basak, D. K., Mandal, T. K., (2004). Single oral dose toxicity study of α -cypermethrin in rats, Indian J Pharmacol, 36(1): 25-28.

Manna, S., Bhattacharyya, D., Mandal, T. K. And Das, S., (2006). Sub-Chronic Toxicity Study of Alfa-Cypermethrin in Rats, Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics, 5(2): 163-166.

Nelson, D. L., Cox, M. M., (2005). Lehninger Biyokimyanın İlkeleri (Çeviri: Kılıç N.), 3. Baskı, Palme Yayınları, 245-248 Ankara.

Oliveira, C., Almeida, J., Guilhermino, L., Amadeu, M.V.M. S., Gravato, C.,(2012). Acute effect of deltamethrin on swimming velocity and biomarkers of the common prawn *Palaemon serratus*, Aquatic Toxicology, 124– 125: 209– 216

Özmen, Y., (2004). Türkiye’de Tarım İlaçlarının Kullanımı ve Üretimi, <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/044yilmazozmen.pdf>

Öztürk, S., ve Özge, N. (1978). Bİtki Koruma İlaçları, Eser Matbaası, 331, Ankara.

Pamuk, F., (2000). Biyokimya, 1. Baskı, Gazi Kitabevi, Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi, Ankara.

Pottelberge, S. V., Leeuwen T. V., Amermaet K. V. and Tirry L., (2008). Induction of Cytochrome P450 Monooxygenase Activity in the Two-spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* and Its Influence on Acaricide Toxicity, Pesticide Biochemistry and Physiology, 9: 128–133.

Raymond-Delphac, V., Matsuda, K., Sattelle, B. M., Rauh, J. J., Sattelle D. B., (2005). Ion Channels: molecular targets of neuroactive insecticides, Invert Neurosci, 5(3-4): 119-33.

Rehman, H., Ali, M., Atif, F., Kaur, M., Bhatia, K., Raisuddin, S., (2006). The modulatory effect of deltamethrin on antioxidants in mice, Clinica Chimica Acta, 369: 61 – 65.

Sayed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R. And Raisuddin, S., (2003). Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56: 295–301.

Shackelford, R. E., Kaufmann, W. K., Paules, R. S., (2000). Oxidative Stress And Cell Cycle Checkpoint Function, *Free Radical Biology & Medicine*, 28(9): 1387–1404.

Scott, J. G., (1999). Cytochromes P450 and Insecticide Resistance, *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 29: 757-777.

Soderlund, D. M., (1997). Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance (Molecular Mechanisms of Resistance to Agrochemicals, Volume Ed: Sjut, V., Chemistry of Plant Protection, Ed: Ebing, V.), Vol: 13, 21-73, Springer Germany.

Stelzer, K. J., Gordon, M. A., (1984). Effects of Phyrethroids on Lymphocyte Mitogenic Responsiveness, *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 46(1): 137-150.

Susurluk, H., (2008). İki Benekli Kırmızı örümcek *Tetranychus urticae* Koch (Acarina:Tetranychidae)'de Piretroid İsektisitlere Karşı Oluşan Direncin Moleküler Karakterizasyonu, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Ankara.

Tsagkarakou, A., Leeuwen, T. V., Khajehalit, A., Grispou, M., Williamsons, M. S., Tirry, L., and Vontas, J., (2009). Identification of Pyrethroid Resistance Associated Mutations in the Para Sodium Channel of the Two Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae), *Insect Molecular Biology*, 18(5): 583-593.

Uğurlu, S., (2001). *Heliothis armigera* (HUBN), (Lepidoptera: Noctuidae)'nin Değişik Popülasyonlarının Bazı İsektisitlere Karşı Duyarlılık Düzeylerinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar, Ankara Üniversitesi, Doktora Tezi, 86s, Ankara.

Velioğlu, S. ve Toros, S., (2006). *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae)'de İsektisitlere Direnç ile İlişkili Karboksilesterazın Spektrofotometre ve Elektroferez ile Belirlenmesi, *Bitki Koruma Bülteni*, 46(1-4): 1-12.

Wielgomas, B., Krechniak, J., (2007). Effect of α -Cypermethrin and Chlorpyrifos in a 28-Day Study on Free Radical Parameters and Cholinesterase Activity in Wistar Rats, *Polish J. of Environ. Stud.* Vol. 16, No. 1 (2007), 91-95.

Wilson, T. G. and Hodgson, E., (1971). Microsomal NADPH-Cytochrome C Reductase From The Housefly, *Musca Domestica*, Properties of The Purified Enzyme, *Insect Biochemistry*, 1: 19-26.

Vontas, J. G., Enayati, A. A., Small, G. J., Hemingway, J., (2000). A Simple Biochemical Assay for Glutathione S-Transferase Activity and Its Possible Field Application for Screening Glutathione S-Transferase- Based Insecticide Resistance, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 68: 184-192.

Vural, N., (1984). *Toksikoloji*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 56, Ankara.

Yemişen, E., (2008). Termal Deri Yanığında Silmarinin Karaciğer Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya A.B.D., İstanbul.

Yonar, E. M., Sakin, F., (2011). Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99: 226–231.

Yu, S. J., (2008). *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Pres Taylor-Francis Group, 250 pp.

Yıldız, S., (2007). *Enzimler*, 1. Baskı, Fakülte Kitabevi Yayınları, Isparta.

<http://www.essencechem.com/product/cypermethrin.html?gclid=CMXbmLbCvb8CFenItAoduXUADA>, Erişim tarihi: 11.07.2014

http://www.guidetogreenliving.net/flowers_plants/chrysanthemum_flowers.htm, Erişim tarihi 21.07.2014

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Haluk ULUCA
Doğum Yeri : Bozova
Doğum Tarihi : 22.02.1984
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce (Orta Seviye)

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Mehmet Güneş Anadolu Öğretmen Lisesi Şanlıurfa,
2002
Lisans : Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Kimya
Öğretmenliği Bölümü, Diyarbakır, 2011
Yüksek Lisans : Adıyaman Üniversitesi – Fen Bilimleri Enstitüsü.