

T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

THİACLOPRİDİN *Galleria mellonella*' NİN BAZI
BİYOKİMYASAL VE OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Halil Uğur AYTEKİN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Tamer KAYIŞ

ADİYAMAN, 2024

ÖZET

THIACLOPRİDİN *Galleria mellonella*’NİN BAZI BİYOKİMYASAL VE OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNE ETKİLERİ

Halil Uğur AYTEKİN

Biyoloji Anabilim Dalı

Adıyaman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Eylül 2024, Sayfa: 91

Danışman: Prof. Dr. Tamer KAYIŞ

Neonikotinoid insektisit thiaclopridin büyük balmumu güvesi (*Galleria mellonella*) larvalarının antioksidan enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) düzeyleri, hemosit sayısı, mikronükleus sayısı ve protein, lipid ve karbonhidrat düzeyleri üzerine etkileri araştırılmıştır. *G. mellonella* larvalarına 5, 10, 15, 20, 25 ve 30 µg thiacloprid dozları enjekte edilmiş ve 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar sonunda analizler yapılmıştır. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, test edilen tüm periyotlarda düşük thiacloprid dozlarında (5, 10 ve 15 µg) önemli ölçüde artarken, yüksek dozlarda (25 ve 30 µg) önemli ölçüde azalmıştır. Katalaz (CAT) aktivitesi bazı periyotlarda özellikle düşük thiacloprid dozlarında artışlar gösterirken, yüksek dozlarda kontrol ve negatif kontrollerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde azalmıştır. MDA miktarları tüm konsantrasyonlarda kontrol ve negatif kontrole göre önemli artışlar göstermiştir. Lipid ve karbohidrat miktarları özellikle yüksek thiacloprid dozlarında kontrol ve negatif kontrol gruplarına göre önemli ölçüde azalmıştır. Yüksek thiacloprid dozları *G. mellonella*’nın toplam hemosit sayılarında önemli azalmalara neden olurken, hemositlerde mikronükleus oluşumunun kontrol gruplarına göre önemli ölçüde artırmıştır. Elde edilen sonuçlar, ölçülen parametrelerin, thiacloprid maruziyetinden kaynaklanan oksidatif hasarı göstermek için güvenilir biyobelirteçler olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: İnsektisit, Neonikotinoid, Biyobelirteçler, Thiacloprid, *Galleria mellonella*

ABSTRACT

EFFECTS OF THIACTLOPRID ON SOME BIOCHEMICAL AND OXIDATIVE STRESS PARAMETERS OF *Galleria mellonella*

Halil Uğur AYTEKİN

Department of Biyology

Adiyaman University Graduate School of Education September 2024, Pages: 91

Supervisor: Prof. Dr. Tamer KAYIŞ

The effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on antioxidant enzyme activities, malondialdehyde (MDA) levels, hemocyte count, micronucleus count and protein, lipid and carbohydrate levels of greater wax moth (*Galleria mellonella*) larvae were investigated. *G. mellonella* larvae were injected with doses of 5, 10, 15, 20, 25 and 30 µg thiacloprid and analyses were performed at the end of 24, 48, 72 and 96 hours. Superoxide dismutase (SOD) activity increased significantly at low thiacloprid doses (5, 10 and 15 µg) in all tested periods, while it decreased significantly at high doses (25 and 30 µg). Catalase (CAT) activity showed increases in some periods especially at low thiacloprid doses, while it decreased significantly at high doses compared to control and negative controls. MDA amounts showed significant increases compared to control and negative control at all concentrations. Lipid and carbohydrate amounts decreased significantly especially at high thiacloprid doses compared to control and negative control groups. High thiacloprid doses caused significant decreases in total hemocyte counts of *G. mellonella*, while micronucleus formation in hemocytes increased significantly compared to control groups. The obtained results show that the measured parameters can be used as reliable biomarkers to indicate oxidative damage caused by thiacloprid exposure.

Keywords: Insecticide, Neonicotinoid, Biomarkers, Thiacloprid, *Galleria mellonella*

TEŞEKKÜR

Bir işte başarılı olabilmek için doğru, güvenilir, sorgulayıcı, sabırlı, destekçi, yardımsever ve en önemlisi anlaşılabileceğin kişileri bulabilmek başarının ilk adımı sayılır. Bu özelliklerin hepsini bulunduran Prof. Dr. Tamer KAYIŞ ve Prof. Dr. Mustafa COŞKUN gibi değerli iki hocaya sahip olmak benim için çok büyük bir şans oldu. Yapmış olduğumuz çalışmada takıldığımız yerlerde bizi sabırla dinleyen, yol gösteren, doğruyu bulabilmemiz için yeri geldiğinde soru cevap şeklinde bizi daha çok düşündürmeye ve araştırmaya sevk eden, ayrıca deneylerimizde yapmamız gereken işlemleri bize adım adım anlatan ve uygulamalarda yardımcı olan danışman hocam Prof. Dr. Tamer KAYIŞ ve Sayın Prof. Dr. Mustafa COŞKUN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın laboratuvar aşamasında bilgilerini bizden esirgemeyen, labaratuvar kullanımında dikkat edilmesi gereken hususlar ve uygulama aşamasında tecrübelerinden faydalandığımız Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Yusuf SEVGİLER'e, teşekkür ederim.

Doktoranın her anında yanımda olan bütün zorluklara ortak olan hayat arkadaşım Ayşe Müjde AYTEKİN ve gülüşleriyle bana pozitif enerji veren yaşam kaynaklarım olan biricik oğullarım Ege AYTEKİN ve Efe AYTEKİN'e teşekkür ederim.

Hayatım boyunca yanımda olan hem maddi hemde manevi desteklerini esirgemeyen hayatını çocuklarına adanmış olan annem Sevim AYTEKİN ve babam Memet AYTEKİN'e teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Adıyaman Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlâki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Halil Uğur AYTEKİN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BAŞLIK (İÇ KAPAK) SAYFASI	i.
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
GÖRSELLER DİZİNİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Pestisitler	1
1.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması	3
1.3. İnsektisitler	4
1.4. Thiocloprid	6
1.5. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller	7
1.6. Reaktif Oksijen Türleri.....	8
1.6.1. Süperoksit Radikalleri ($O_2^{\cdot-}$)	9
1.6.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	9
1.6.3. Hidroksil Radikali ($OH^{\cdot}$)	10
1.7. Antioksidan Savunma Sistemleri	10
1.7.1. Enzimatik antioksidan savunma Sistemi.....	11
1.7.1.1. Süperoksit dizmutaz (EC 1.15.1.1).....	11
1.7.1.2. Glutasyon peroksidaz (GPX, EC 1.11.1.9)	12
1.7.1.3. Glutasyon S transferaz (GST; EC 2.5.1.18)	12
1.7.1.4. Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2)	13
1.7.1.5. Katalaz (CAT; EC: 1.11.1.6)	13
1.7.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma Sistemi	14
1.7.2.1. Glutasyon (GSH).....	14

1.7.2.2. Melatonin.....	15
1.7.2.3. E Vitamini	15
1.7.2.4. Selenyum	16
1.7.2.5. Folik asit	16
1.7.2.6. Koenzim Q10.....	17
1.7.2.7. Vitamin C	17
1.8. Malondialdehit (MDA).....	17
1.9. Serbest Radikallerin Hücrelerde Oluşturduğu Hasarlar	18
1.10. Mikronükleus Oluşumu	19
1.11. Böcek Hemositleri.....	20
1.12. <i>Galleria mellonella</i> (Büyük balmumu güvesi)	21
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM	29
3.1. Stok Kültürünün Hazırlanması ve Deney Böceklerinin Elde Edilmesi.....	29
3.1.1. Thiacloprid LD ₅₀ değerinin belirlenmesi.....	29
3.1.2. Deney gruplarının oluşturulması	30
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. Biyokimyasal analizler için süpernatantların elde edilmesi	30
3.2.2. Total protein miktarı analizi	31
3.2.3. Total lipit miktarı analizi	32
3.2.4. Total karbohidrat miktarı analizi	33
3.2.5. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini	33
3.2.6. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini.....	33
3.2.7. Malondialdehid (MDA) miktarının belirlenmesi.....	34
3.2.8. Toplam hemosit sayılarının belirlenmesi	34
3.2.9. Mikronükleus sayılarının belirlenmesi.....	35
3.3. Sonuçların İstatistik Olarak Hesaplanması	36
4. BULGULAR	37
4.1. Thiacloprid'in Toplam Hemosit Sayısına Etkisi	37
4.2. Thiacloprid'in Mikronükleus Sayısına Etkisi.....	38
4.3. Thiacloprid'in SOD Enziminin Aktivitesine Etkileri.....	39
4.4. Thiacloprid'in CAT Enziminin Aktivitesine Etkileri.....	41
4.5. Thiacloprid'in MDA Düzeylerine Etkileri	42

4.6. Thiacloprid'in Toplam Protein Düzeyine Etkisi.....	43
4.7. Thiacloprid'in Toplam Lipit Düzeyine Etkisi.....	44
4.8. Thiacloprid'in Toplam Karbonhidrat Düzeyine Etkisi	46
5. TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇLAR.....	54
KAYNAKÇA.....	55
ÖZGEÇMİŞ	75



TABLÖLER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında total hemosit sayısına etkisi	37
Tablo 4.2. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında mikronükleus frekansına etkisi	38
Tablo 4.3. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında SOD aktivitesi üzerine etkisi	40
Tablo 4.4. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında CAT aktivitesi üzerine etkisi	41
Tablo 4.5. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında MDA düzeylerine etkisi.....	42
Tablo 4.6. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında toplam protein düzeyine etkisi	44
Tablo 4.7. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında toplam lipit düzeyine etkisi.....	45
Tablo 4.8. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında toplam karbonhidrat düzeyine etkisi.....	46
Tablo 4.9. <i>G. mellonella</i> larvalarına ait korrelasyon analizi	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1. Thiaclopridin kimyasal yapısı	6
Şekil 4.1. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında total hemosit sayısına etkisi.....	38
Şekil 4.2. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında mikronükleus frekansına etkisi.....	39
Şekil 4.3. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında SOD aktivitesi üzerine etkisi	40
Şekil 4.4. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında CAT aktivitesi üzerine etkisi	42
Şekil 4.5. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında MDA düzeylerine etkisi	43
Şekil 4.6. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında toplam protein düzeyine etkisi	44
Şekil 4.7. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında toplam lipit düzeyine etkisi	45
Şekil 4.8. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> larvalarında toplam karbonhidrat düzeyine etkisi	47

GÖRSELLER DİZİNİ

	Sayfa
Görsel 1.1. <i>Galleria mellonella</i> yumurta	21
Görsel 1.2. <i>Galleria mellonella</i> larva	22
Görsel 1.3. <i>Galleria mellonella</i> pupa.....	22
Görsel 1.4. <i>Galleria mellonella</i> ergin	23
Görsel 3.1. <i>Galleria mellonella</i> stok kültür	29
Görsel 3.2. Thiacloprid LD ₅₀ denemeleri	30
Görsel 3.3. Thiaclopridin <i>G. mellonella</i> 'ya enjeksiyonu	31
Görsel 3.4. Tüplerin su banyosunda bekletilmesi.....	32
Görsel 3.5. Neubaer Lamı.....	34
Görsel 3.6. Işık Mikroskobunda Hemositlerin Görünümü	35
Görsel 3.7. Preperatların boyanması.....	36
Görsel 3.8. Mikronükleuslu hücreler	36

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
O ₂	: Singlet oksijen
O ₂ ⁻	: Süperoksit radikal anyonu
OH	: Hidroksil radikalleri
μL	: Mikrolitre
μg	: Mikrogram
°C	: Santigrat derece

Kısaltmalar

AChE	: Asetilkolinesteraz
ACP	: Asit fosfataz
ALP	: Alkalın fosfataz
ALT	: Alanin aminotransferaz
APOX	: Askorbat peroksidaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
BSA	: Bovin serum xiiiort he
CAT	: Katalaz
DDT	: Diklorodifenil rikloroethan
DDVP	: Dimetil Dikloro -Vinil Fosfat
DHAR	: Dehidroksiaskorbat peroksidaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
GABA	: Gama aminobutirikasit
GPX	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutatyondan indirgenmiş glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon S transferaz
HSP	: Isı şok proteinleri
LC ₁₀	: Letal Konsantrasyon %10
LC ₂₀	: Letal Konsantrasyon %20
LC ₃₀	: Letal Konsantrasyon %30

LC ₄₀	: Letal Konsantrasyon %40
LD ₅₀	: Letal Konsantrasyon %50
MDA	: Malondialdehid
nAChR	: Nikotinik asetilkolin reseptörleri
NBT	: Nitroblue tetrazolium
RNA	: Ribonükleik asit
RNS	: Reaktif nitrojen türevleri
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
SNK	: Student Newman Keul's
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPSS	: Statistical Package xivort he Social Sciences
TBA	: Tiyoarbiturik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
µg	: mikrogram
µL	: mikrolitre

1. GİRİŞ

Pestisitler ve kimyasal gübrelerin kullanılması tarımsal verimliliği ve kaliteyi önemli ölçüde artırmasının yanı sıra gıda, yem bitkilerinin hastalık ve zararlılara karşı dayanıklılığını da arttırmaktadır. Pestisitler gelişmekte olan ülkelerde endemik hastalıklara karşı mücadelede de devrim yaratmışlardır. Fakat bu yaygın pestisit kullanımı yiyeceklerde kalıntı meydana getirmesi nedeniyle insanlar ve hayvanlar için potansiyel bir risk oluşturmaktadır (Elbert vd. 2001:186).

Pestisitlerin kullanımındaki artışın gerek sağlık gerekse de çevre için önemli riskler oluşturduğu belirlenmiştir. Bu durumun nedenleri olarak ortaya çıkan endüstriyel emisyonlar, yetersiz sanitasyon, yetersiz atık yönetimi, kirli su kaynakları ve biyokütle yakıtlarından kaynaklanan hava kirliliğine maruz kalma gibi geleneksel kirlilik kaynakları çok sayıda insanı etkilemekte olup, gelişmekte olan dünyada ciddi problemler oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde bile çevre kirliliği, özellikle de toplumun daha yoksul kesimleri arasında devam ettiği görülmüştür (Sexton ve Adgate, 1999:4; Association, 2001:357).

Kullanılan kimyasalların bir kısmı endokrin sisteminin yapısını bozarak sağlık için ömür boyu sürecek risk faktörlerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. İnsanların neden olduğu çevre kirliliği konusu kapsam ve ölçek bakımından küresel hale gelmiş olup bu duruma bağlı olarak sağlık risklerini tanıma ve acil olarak ele alınması gerekmektedir. Ayrıca etkili eylem, yalnızca sorunun büyüklüğünün değil; nedenlerinin ve altında yatan süreçlerin de anlaşılmasını gerektirir (Järup, 2003:168).

1.1. Pestisitler

Pestisitler, genel bir tanım olarak ifade edilecek olursa; tarım ürünlerine zarar veren (tarlada yada depolama aşamasında) organizmaları engellemek, zarar derecelerini kontrol altına almak ya da zararlarını tamamen ortadan kaldırmak amacıyla kullanılan büyük bir çoğunluğu kimyasal kökenli maddelerdir (Abdollahi vd. 2004: 142)

İnsanlar her gün çok sayıda tüketim ürününde sunulan binlerce kimyasal ile temas etmekte ve bu ürünlerin bazıları pestisit kalıntıları içermektedir. Maruziyet; çevreye bağlı olarak veya mesleki faaliyetler yoluyla yiyecek ve içeceklerin yoluyla gerçekleşir. Bu maruziyet, tüm toplum ve bu kimyasallara maruz kalan işçiler için önemli sağlık risklerini barındırmaktadır (Frenich vd.2007:430).

Pestisitler işyerlerinde, evlerde, okullarda, yiyeceklerde, içme ve yüzey suyunda, havada, toprakta bulunabilmektedir. Genellikle çim spreyleri ve evde tutulan böcek spreyleri gibi çeşitli şekillerde kullanılır ve çeşitli meyvelerde farklı miktarlarda bulunabilirler (Gilden vd. 2010:103).

Küresel ısınmaya bağlı olarak ortaya çıkan bölgesel iklim değişiklikleri tarımsal ürünlere talebin artmasına neden olmuştur. Ortaya çıkan bu durumda tarımda pestisitlerin yaygın bir şekilde kullanımına neden olmuştur. Bunun sonucu olarak topraktaki toksik madde birikimi artmıştır. Dünya üzerindeki en tehlikeli ve kalıcı organik kimyasallar (Aldrin, Klor-dane, Ddt, Dieldrin, Endrin, Heptaklor, Hekzaklo-robenzen, Mireks, Toksafen, Poliklorlu bifeniller, Dioksinler, Furanlar belirlenmiştir (Atuma ve Aune 1999: 8; Karlaganis vd. 2001:216; Shetty vd. 2008: 457).

Hastalıkları kontrol etmek için pestisitlerin yaygın bir şekilde uygulanması, artan mahsul verimi, yeni tarım arazilerinin açılması ve vektör kaynaklı hastalıkların görülme sıklığının azalması ile ilişkilidir. Bununla birlikte, tarım zararlılarının direncindeki bir artış, daha düşük mahsul verimi ve sıtma gibi vektör kaynaklı hastalıkların yeniden ortaya çıkması ile sonuçlandı. Ayrıca, yoğun pestisit kullanımının birçok sağlık sorununu ve çevresel maliyetin artmasına neden olmuştur (Eddleston vd. 2002:1163; Garrido vd. 2004:1755).

Benzer şekilde pestisitlerin yer altı sularına karışması ise yeraltı sularında kirliliğin artmasına neden olmuştur. Bundan dolayı pestisitlerin neden olduğu yeraltı suyu kirliliğinin risk değerlendirilmesi de önemlidir (Zhao ve Pei, 2012:1739).

Pestisitler adı altında toplanan herbisitlerin, insektisitlerin ve fungusitlerin genel kullanımı riskleri artırmış ve hem çevre (toprak, hava ve su) hem de insan sağlığı için doğrudan veya dolaylı zararlarla sonuçlanmıştır. Hedef dışı organizma maruziyetinin ve saha dışı hareketliliğin etkinliği büyük bir endişe konusu haline gelmiştir. Pestisitlerle az bir süre temasın, baş dönmesi, kusma, baş ağrıları, uyku sorunu, deri döküntüleri, kas krampları, grip benzeri ateş gibi durumların ortaya çıkmasına neden olduğu görülmüştür. Bunun tersine, pestisitlere uzun süreli maruz kalma, daha ciddi hastalıklara, yani kansere, çocuklarda beyin hasarına, düşük zeka seviyesine ve uzun süreli maruziyet nedeniyle kalıcı böbrek hasarına neden olabilir. Yüksek konsantrasyonda pestisitlere maruz kalmak ölümle sonuçlanabilir (Sharma vd. 2020: 201). Parçalanamayan pestisit kalıntıları besin zincirlerine hava, su ve toprak yoluyla girebilir ve insanlar dahil ekosistemlerdeki canlılarda çeşitli sağlık sorunlarına neden olabilir. Pestisitler kanserojen veya sitojenik olabilir ve kemik iliği

hastalıklarına, kısırlığa, sinir bozukluklarına, immünolojik ve solunum hastalıklarına neden olabilir. Toksikolojik ve epidemiyolojik araştırmalar, kanserin potansiyel sağlık risklerini, genetik malformasyonları, nöro-gelişimsel bozuklukları ve bağışıklık sisteminin hasarını ortaya koymuştur (Skinner vd. 1997: 112; Sanborn vd. 2004:166; McKinlay vd. 2008:117).

Pestisitlere mesleki olarak maruz kalma, orta ve uzun vadede, diğer sorunların yanı sıra çeşitli nörolojik hastalıklar, kanser, üreme bozuklukları ve sinir sistemi bozuklukları dahil olmak üzere çok sayıda bozukluğa bağlanmıştır. Maruz kalma genellikle pestisitlerin uygulama nakliyesi ve karıştırılmasıyla ilgilidir (Gangemi vd. 2016: 4475; Sharma vd. 2020: 201). Dünyada pestisitlerden kaynaklanan maruziyetin neden olduğu üç milyonun üzerinde zehirlenme durumu ve ortalama 300 bin civarında ölüm bildirilmiştir (Usha vd. 2017: 8).

1.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1975 yılında pestisitlerin toksisitelerine göre sınıflandırılması 28. Dünya Sağlık Meclisinde onaylanmış, o zamandan günümüze kadar geniş çapta kabul görmüştür (Copplestone, 1988: 545).

Pestisitlerin fiziksel, kimyasal ve özdeş özellikleri değerlendirildiğinde bir sınıftan diğerine farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle pestisit çalışmaları yapılırken kendi grupları ve sınıfları önemlidir. Sentetik pestisitler insan yapımı kimyasallar olup doğada oluşmazlar (Copplestone, 1988: 545; Drum, 1980).

Drum tarafından 3 popüler sınıflandırma yöntemi önerilmektedir. Pestisitlerin giriş şekline göre sınıflandırma, fonksiyonları ve etkili olduğu canlı grubuna göre sınıflandırma ve son olarak pestisit kimyasal bileşimine göre sınıflandırma yöntemi belirlenmiştir (Drum, 1980).

Pestisitler toksisitelerine göre sınıflandırılması her pestisit formülasyonu ve toksisitesi dayanması açısından pestisit az veya çok tehlikeli olmasının belirlenmesi açısından önemli bir kriterdir. Pestisitler bu özelliklere bağlı olarak hafif, orta, çok tehlikeli olmak üzere sınıflandırılırlar. Bunun yanı sıra ratlarda yapılan çalışmalarda oral toksisite ve dermal toksisitede önemli bir prosedür olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kimyasal yapı, maruziyet yolu, kalıcılık durumlarına göre herbisitler, insektisitler, fungusitler, fümigantlar ve diğer kategoriler gibi uygulama yöntemi dahil olmak üzere bir dizi parametrelere göre kategorize edilir (Copplestone, 1988: 545; Ecobichon, 2001: 28).

Pestisitler, hedef canlı grubuna göre; zararlı böceklerle karşı kullanılanlar insektisit, nematodlara karşı kullanılan nematisitler, mantarlara karşı kullanılan fungisitler, yabancı ot zararlılarına karşı kullanılan herbisit olarak sınıflandırılmıştır (Odukkathil ve Vasudevan, 2013:422).

1.3. İnsektisitler

İnsektisitler, zararlı böcekleri kontrol eden kimyasal veya biyolojik kökenli ajanlardır. Bu ajanlar böceklerin tarımsal zararlarını, hayvanlar üzerindeki olumsuz etkilerini ve yerleşim yerlerindeki olumsuz etkilerinin engellenmesi amacıyla kullanılır. İnsektisitler doğal veya insan yapımı olabilir ve sayısız formülasyon ve uygulanma sistemi şeklinde (spreyler, yemler, yavaş salınan difüzyon, vb.) zararlıları hedef almak için uygulanır (Ware ve Whitacre, 2004: 6).

İnsektisitlerin genel sınıflandırılması formüle ediliş şekilleri ve etken madde içeriğine göre yapılmaktadır ve bu grupta insektisitler başlıca organoklorlu bileşikler, organofosfat grubu, karbamat grubu, piretroit grubu ve neonikotinoid grubu olmak üzere beş önemli grup altında toplanırlar (Kovganko ve Kashkan, 2004:1709).

Organik klor içeren (Organoklorlu) insektisitler, nörolema üzerinde pozitif yüke sahip iyonların (Na ve Potasyum) zar içerisindeki hareketlerinde inhibisyona yol açarlar. Dolayısıyla nöronların giriş ve çıkışlarına engel olarak sinir hücrelerinde aşırı uyarılmalara neden olurlar. Bu gruptaki insektisitlerin en tanınmış olanları diklorodifeniltriokloroethan (DDT), aldrin ve dieldrin olup geçmişte yoğun olarak kullanılmışlardır (Simpson ve Schuman, 2002:1560; Smulders vd. 2003:140; Weiss vd. 2004:1030).

Organik fosfat içerenler (Organofosforlu) insektisitler ise nöronlarda impuls iletiminin sağlayıcısı olan asetilkolinesteraz (AChE) enziminin önemli bir inhibitörüdür. Bu enzimde oluşan inhibisyon neticesinde sinir uçlarında asetilkolin birikimi meydana gelir ve sinir hücreleri arasındaki impuls iletimi gerçekleşmez. Bu grubun en önemli temsilcileri malation, paration ve diazinondur (Simpson ve Schuman 2002:1560; Smulders vd. 2003:141; Weiss vd. 2004:1030).

Karbamatlı insektisitlerde de etki mekanizması organofosforlu insektisitler gibi asetilkolinesteraz enziminin inhibisyonuna yöneliktir. Yine sonuçta merkezi sinir sisteminde uyarılmaların sıklığı artar ve sinir hücreleri arasında impul geçişleri engellenir (Simpson ve Schuman 2002:1599; Smulders vd. 2003:140; Weiss vd. 2004:1030).

Bir diğerk insektisit grubu olan Piretroitler, halk arasında papatya adı verilen krizantem bitkisinden sentez edilen ve piretrum adı verilen doğal bir bileşige benzer etkideki, insektisit benzeri aktiviteye sahip kimyasallardır. Sinir zarlarındaki sodyum kanallarına etki ederler ve nörolemmada sodyum geçişini artırarak kontrolsüz iyon dağılımıyla membranda aşırı uyarılmalara neden olurlar. Bu grupta yaygın olarak bilinen Sipermetrin ve deltametrin gibi bileşikler yer alır (Ray ve Fry, 2006:174; Shafer vd. 2008:203).

Nikotin türevi insektisitler yani neonikotinoidler ise 1970'li yıllarda kurşun içerkli bileşiklerle yapılan çalışmalarda tesadüfi olarak bulunmuştur. Daha sonra yapılan çalışmalarla sentezi ilk gerçekleştiren nitiazinden sonra imidakloprid üretilmiş ve o yıllardan sonra yaygın olarak kullanılmıştır (Mencke ve Jeschke 2002:701; Kollmeyer vd. 1999:71). Organik klorlu ve organik fosforlu insektisitlere göre hedef olmayan canlı gruplarına karşı vadettiği düşük toksisite ve seçici zararlı grubu nedeniyle oldukça popüler olmuşlardır (Tomizawa ve Casida 2005:247; Ihara vd. 2006:35).

Merkezi sinir sistemine ait nikotinik asetilkolin reseptörlerine (nAChR) üzerine olan aşırı ilgileri ile nikotine benzer şekilde bir uyarım gerçekleştirirler ve iyon geçiş yollarında depolarizasyonu kuvvetli bir şekilde uyarırlar(Tomizawa ve Casida 2005:247).

Çalışmalar nikotinik asetilkolin reseptörlerinin alt birimlerindeki farklılıklardan kaynaklanan bir durum nedeniyle bu grup insektisitlerin hedef dışı canlılara (memeli ve kuşlar gibi) oranla böceklerle daha etkili olduğunu göstermiştir (Matsuda vd. 2001:573; Casida ve Quistad, 2006:81).

Neonikotinoidler, N-nitroguanidinler alt sınıfına ait üyeleri olan imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin ve N-siyanoaminidler alt sınıfına ait acetamiprid ve thiaclopridle temsil edilmektedir (Costa vd. 2009:40, Jeschke ve Nauen, 2008:1084). Avrupa Birliğince her iki gruba da ait bileşiklerden clothianidine, imidacloprid ve thiamethoxamın *Apis mellifera* (bal arısı) üzerine olan toksik etkileri nedeniyle kullanımları kısıtlıdır (Laycock vd. 2014:153; European Commission, 2013).

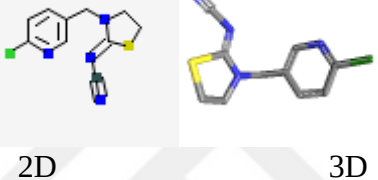
Tarım ürünlerinin korunması amacıyla, evlerde haşerelere karşı ve parazitleri kontrol etmek için evcil hayvanlarda neonikotinoid insektisitler geniş ölçüde kullanılmaktadır (Bredenberg, 2012; Mencke ve Jeschke, 2002:701).

Suda çözünürlüğü son derece yüksek olan neonikotinoidler su kaynaklarına kolayca karışabilmektedir (Wood ve Goulson, 2017:17285). Ayrıca koruma amaçlı uygulanan bitkiler tarafından kolayca absorbe edilebilmektedir (Gurur, 2013). Araştırmacılar

neonikotinoidlerin içme suyu kaynaklarında bulunabildiğini bildirmişlerdir (Kathryn vd. 2017:168).

1.4. Thiacloprid

Thiacloprid, böcekleri özellikle yaprak bitlerini ve küçük sinekleri kontrol etmek için tarımsal ürünler üzerinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Meyve ağaçları, asmalar, sebzeler, patatesler ve süs ağaçlarına zarar veren memelilere karşı ve böcek zararlılarına karşı kullanılan kontakt mide zehiri ve sistemik etkili bir insektisittir (Elbert vd. 2001:185; Yu vd. 2007:205; Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008:464).

Kimyasal Yapısı	 2D 3D
Molekül Formülü	C ₁₀ H ₉ ClN ₄ S
Moleküler Ağırlığı	252.72 g/mol
Erime Noktası	136 ° C (277 ° F; 409 K)
Sudaki Çözünürlük	20 ° C'de 185 mg / L'
Molar Kütle	252.72 G MOL -1
Görünüm	Sarımsı Kristalli Bir Katı
Yoğunluk	1.46 G CM -3 20 ° C'DE

Şekil 1.1. Thiaclopridin kimyasal yapısı
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiacloprid>)

Thiaclopridin tozu formu diklorometan, dimetilsülfoksit ve etanol gibi organik çözücüler içerisinde ve suda kolaylıkla çözünür. Thiacloprid 4-9 pH aralığında stabil olduğu için çözünürlük pH'dan etkilenmez. Düşük bölme katsayısı (logP=1.26) zayıf yağ çözünürlüğünü ve vücutta düşük emilim ve dağılım gösterir (Elbert vd. 2001:185; Öncüer ve Durmuşoğlu, 2008:464).

Thiacloprid, vücuda yakın temas veya yutma yoluyla girebilen insektisittir. Etki mekanizması, nikotin asetilkolin reseptörüne geri döndürülemez bağlanma ile kontrollü

sinaptik iletimin bozulmasına dayanır ve böceklerin sinir sistemine zarar verir (Yu vd. 2007:205). Fizyolojik pH aralığında omurgalıların nAChR'sine düşük afiniteye sahiptir; çünkü protonlanmamışlardır. Bu nednele memelilerde, balıklarda, kuşlarda ve kümes hayvanlarında düşük akut ve kronik toksisite gösterdiği belirtilmektedir (Singla ve Sandhu, 2015:147). Bunun yanında son yıllarda Thiacloprid'in balıklarda yüksek seviyelerde akut toksisite sahip olduğu (Osterauer ve Köhler, 2008: 485; Tomizawa ve Casida 2005:247), bal arılarında anten duyarlılığını, öğrenme ve hafıza permormansını etkilediği belirtilmiştir (Sülük vd. 2023:844) ve kırmızı toptak solucanın *Eisenia andrei*'de büyüme ve gelişmeyi etkilediği gösterilmiştir (Van loon vd. 2022:1686). Ayrıca thiaclopridin beyin ve karaciğer hücrelerinde ROT oluşumunu arttırdığı, lipid peroksidasyona yol açtığı ve hücreleri apoptoza sürüklediği, hücre döngüsünü durdurmasının yanında kromozom aberrasyonlarını, kardeş kromatin değişimini, mikronükleus oluşumunun arttırdığını ve insan hücrelerinde DNA hasarlarına neden olduğu belirtilmiştir (Schwarzbacherová vd. 2019: 104654; Galdikova vd. 2019: 61).

1.5. Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller

Serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki bir dengesizlik, proteinlerin, yağların, nükleik asitlerin ve karbonhidratların oksidatif hasarına yol açar. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır. Günümüzde oksidatif stres üzerine yapılan çalışmalar araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Atomik orbital üzerinde serbest elektrona sahip moleküller olarak tanımlanan serbest radikaller oksidatif strese neden olmaktadır (Prior ve Cao, 1999: 255; Azab vd. 2017: 235).

Antioksidanlar, vücudu serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyarak oksidatif stres oluşumunu engellemektedir (Robinson vd. 1997: 291; Azab vd. 2017: 235).

Düşük düzeyde ortaya çıkan oksifatif stres hücreler tarafından etkisiz hale getirilse bile çoğunlukla antioksidan enzim sisteminin aktif hale geçmesini neden olurlar. Eğer hücre içi savunma sistemi zayıflarsa reaktif oksijen molekülleri ve antioksidanlar arasında ilişki bozulur. Buna durum lipit, protein, DNA gibi yapıların hasarı ile sonuçlanır (Gutteridge, 1994: 133; Berger, 2005: 172; Zadák vd. 2009:13; Wildburger, 2009:189).

Reaktif oksijen türlerine karşı endojen antioksidan savunması, onları güçlendiren ve ROT'u nötralize ederek optimum dengeyi yeniden sağlayan doğal antioksidanlarla güçlendirilir (Al-Mamary vd. 2002: 1041; Azab vd. 2017: 235; Azab ve Albasha 2018:8).

1.6. Reaktif Oksijen Türleri

Dış orbitallerinde bir veya iki tane bağlanmamış elektron içeren moleküller serbest radikaller olarak adlandırılır. Moleküler oksijenin kısmen indirgenmesi sonucu oluşan kısa ömürlü oksijen metabolitleridir. Serbest oksijen radikalleri radikal olan veya olmayan moleküllerle tepkimeye girer. Bunun sonucunda moleküler düzeyde hücrede birçok etkiye neden olurlar. Endojen ve ekzojen radikallerin oluşumu engellenemez. Hem çevresel faktörler (sigara dumanı, hava kirliliği gibi) hem de metabolik faktörler(hücre solunum) gibi etmenlere bağlı olarak ortaya çıkabilir (Sen vd. 2010: 91; Gililand vd. 2013:30).

Reaktif oksijen türlerinin ana kaynağı, aerobik solunumda yan ürünler olarak elektron taşıma zinciri tarafından mitokondride üretilir. Elektronların çoğu, elektron taşıma sisteminin üçüncü pompasına varsada, yaklaşık % 1 ile % 3'ü oksijenle erken reaksiyona girerek süperoksit radikalini oluşturur (Adwas vd. 2019:43).

Serbest radikallerin üretimi vücutta önemli fizyolojik işlevlere neden olur. Bu işlevlerden biri de fagositoz sürecine yardımcı olan ve bu hücrelerin bakterileri yok etmesine yardımcı olan nötrofil ve makrofajların süperoksit ve nitrik oksit üretmesidir. Fagositik hücrelerdeki süperoksit radikalleri, seçici olmayan antibiyotikler olarak düşünülebilir, enfekte olan bakterileri öldürür ve belki de çevredeki doku hücrelerine zarar verir; çünkü bu radikaller iltihaplanma reaksiyonuna katkıda bulunur, bu serbest radikaller ayrıca hücre solunumunu da teşvik eder. Böylece dokular aşırı şekilde gelişerek lenfositlerin çoğalmasını oluşturabilir ve uyarabilir (Adwas vd. 2019: 43).

Endojen ve eksojen kaynaklarla reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) üretimi bu türlerin iltihaplanma mekanizmaları ve bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu, şiddetli egzersiz islemi, zihinsel aktivite stresi, kanserli ve bulaşıcı hastalıklar ve yaşlanma ile endojen üretimi ile sonuçlanır. Dış kaynaklı ROT kaynakları, hava ve su kirliliği, alkol içme, sigara, bazı ilaçlar, ağır metaller, bazı ilaçlar (takrolimus ve siklosporin), radyasyonlar, pişirme ve benzen gibi bazı çözücülerden kaynaklanmaktadır. Bu bileşikler vücuda girdikten sonra ROT'a ayrışır (Valko, vd. 2007: 44).

Reaktif oksijen türlerinin lipidler, proteinler ve nükleik asit gibi hücre solunum makromoleküller yapısını etkileyerek fonksiyonlarını bozmaktadır. ROT radikallerine bağlı olarak şeker hastalığı, kalp hastalıkları, ve kanserler gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Halliwell, 2007: 1147).

Hücreler arası doğru bir şekilde sinyal iletiminin gerçekleşmesi için bir dizi radikal temizleyici enzimin hücre içinde bir ROT eşik seviyesini muhafaza etmesi muhtemeldir. Bununla birlikte, ROT seviyesi bu eşiği aştığında, ROT üretimindeki bir artış, sinyal yollarındaki anahtar bileşenlere doğrudan hasar vermesinin yanı sıra hücrede aşırı sinyallere yol açabilir. Oksidatif stres, ROT oluşumu ve detoksifikasyon arasındaki denge, ROT seviyelerinde bir artışı desteklediğinde ortaya çıkar ve bu da hücresel işlevin bozulmasına yol açar. ROT ayrıca kanser oluşumunu başlatabilen DNA, protein ve lipidler gibi temel makromoleküler hedeflere geri dönüşü olmayan bir şekilde zarar verebilir. Bu nedenle ROT konsantrasyonları, aynı zamanda bir dizi antioksidan ve detoksifiye edici enzimi de içeren çeşitli savunma mekanizmaları tarafından kontrol edilmelidir (Imlay, 2003: 395).

Atmosferde O_2 moleküler oksijen veya dioksijenaz halinde bulunup, serbest radikallerin kaynağı olarak bilinir. Moleküler oksijen paralel spin durumunda eşlenmemiş iki elektrona sahip olup, ROT meydana gelmesinde önemli rol oynar. Oksijenin az bir kısmı mitokondri ve hücresel kompartmandaki metabolizma sırasında indirgenerek reaktif oksijen türlerini oluşturur. Başlıca reaktif oksijen türleri Hidroksil radikali ($OH\bullet$) ve Hidrojen peroksit (H_2O_2) Süperoksit radikali ($O_2\bullet$),'dir (Poljsak vd. 2013:11).

1.6.1. Süperoksit radikalleri ($O_2\bullet$)

Süperoksit radikali hücrelerde (O_2) molekülünün bir elektron alıp indirgenmesi sonucu oluşup, genellikle elektronca zengin iç mitokondri zarında, flavoenzim ve ksantin oksidazlarca endojen olarak elde edilip, yüksek derecede reaktif olmayan, direkt olarak zarar vermeyen radikallerdir. Bu radikallerin esas rolü hidrojen peroksit kaynağı olmasıdır. Memelilerde yaşamın kaynağı olarak bilinen mitokondriyal elektron taşıma sistemi ATP'nin esas kaynağını oluşturur. Enerji oluşumu sırasında ortaya çıkan hatalar Parkinson gibi çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur (Valko vd. 2004: 37; Kovacic vd. 2005: 2601).

1.6.2. Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Oksijen molekülünün iki elektron alması sonucu peroksit oluşur. Buna iki hidrojen molekülü eklenirse hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşur. ROT kapsamına giren hidrojen peroksit aslında serbest radikal değildir. Fakat ROT molekülerinin üretilmesinde önemli rol oynar. Bunun yanı sıra bulunduğu bölgeden membranlara ve sitozole geçerek burada uzun süre kalabilir. Süper oksitle tepkimeye girerek en reaktif ve tehlikeli hidroksi radikalini dönüşmek

üzere kolayca yıkılabilir. Yine aynı şekilde serbest Fe^{+2} tepkimeye girerken demir okside olur ve hidroksil radikali meydana gelir. Buda dokularda damarların genişlemesi veya oksijen yetmezliği gibi durumlar ortaya çıkabilir (Onat vd. 2002:666; Vincent vd. 2004: 612; Jomova ve Valko, 2011:65).

1.6.3. Hidroksil radikali (OH^-)

Yarılma ömrü çok kısa olan son derece reaktif radikal olan hidroksil radikali (OH^-) fosfolipitler, şekerler, organik asitler gibi birçok molekülle tepkimeye girme özelliğine sahip olan, ROT'lar arasında hücrede ciddi hasarlara neden olan radikallerden biridir. Fe^{+2} ve Cu^{+2} gibi diğer geçiş elementleri varlığında hidrojen peroksit (H_2O_2) indirgenerek hidroksil radikali (OH^-) dönüşür, oluşan reaksiyon fenton reaksiyonu olarak adlandırılır. Fenton reaksiyonu ile süperoksit radikali tepkimeye girerek elde edilen metal iyonlarının tekrardan kullanılmasını sağlar. Bu iki reaksiyona “Haber-Weiss reaksiyonu” adı verilir. Bu iki radikalden elde edilen hidroksil radikali reaktif olarak çok güçlü olup yağ asitleri ve tiyoller gibi farklı moleküllerden bir proton yükseltgenerek yeni radikallerin oluşmasını sağlayarak hücrede ciddi hasara yol açar (Young ve Woodside, 2001:176; Onat vd. 2002: 666; Vincent vd. 2004: 612; Cherubini vd. 2005: 841).

1.7. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanlar makromoleküllerin oksidasyonunu engelleme veya geciktirme özelliğine sahip moleküllerdir. Antioksidanların görevi serbest radikalleri ortadan kaldırmak veya inhibe olmasını sağlayarak bu zincir reaksiyonlarını azaltmasını veya sona ermesini sağlar. Bu yüzden antioksidanlar polifenoller veya tiyoller gibi indirgeyici maddeler olarak bilinir (Duarte ve Lunec, 2005:671).

Oksidasyon reaksiyonları hücreler için hayati olmasına rağmen, zararlı yanları vardır; bu nedenle bitkiler ve hayvanlar, C ve E vitaminleri ve glutatyon gibi çeşitli antioksidanlar ve farklı enzimatikler moleküller içerir.

Antioksidanlar hücre bölünmesinin kontrollü bir şekilde gerçekleşmesini sağlayarak ve oksidatif stresi önleyerek DNA'nın hasar görmesine de engel olur ve oluşabilecek kansere karşı koruyucu rol üstlenir (Özdem ve Şadan, 1994: 63; Akkuş, 1995: 157).

Antioksidan savunmanın ardından ortaya çıkan savunma yanıtı şunlardır: 1) Serbest radikallerin üretiminin engellenmesi 2) Oksidantların uzaklaştırılması 3) Toksik serbest

radikallerin daha az toksik maddelere dönüştürülmesi 4) İkincil toksik metabolitlerin ve inflamasyon araçlarının üretiminin engellenmesi 5) Sekonder oksidanların zincir yayılımı 6) Yaralı moleküllerin onarımı 7) Endojen antioksidan savunma sisteminin başlatılması ve güçlendirilmesi. Tüm bu savunma mekanizmaları, vücudun oksidatif stresten korunması için birlikte hareket eder. İnsan vücudundaki antioksidan sistemler, güçlü enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidanlardan oluşur (Halliwell, 2007:358).

Tüm vücut hücrelerindeki antioksidan enzimler, katalazlar, süperoksit dismutazlar (SOD) ve glutatyon peroksidazlar (GPX) olmak üzere üç ana antioksidan sınıfından oluşur ve bunların tümü hücrelerde homeostazın korunmasında çok önemli roller oynar. Bu enzimlerin indüksiyonu, kirlenici oksidatif strese spesifik bir tepkiyi yansıtır (Cheung vd. 2001: 189).

1.7.1. Enzimatik antioksidan savunma sistemleri

1.7.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD:EC 1.15.1.1)

SOD'nin görevi, süperoksit radikallerini ortadan kaldırarak bunları H_2O_2 'ye dönüştürmektir (McCord, 1969: 6069).

Süperoksit dismutaz, süperoksit anyonunun oksijen ve hidrojen peroksit olarak parçalanmasını aktive eder. Bir dismutasyon reaksiyonunu katalize ederek O_2 'yi uzaklaştırır. Böylece oksidatif strete önemli bir rol oynar ve tehlikeyi azaltır. Bu enzimin yokluğunda bu reaksiyon çok yavaştır (Nozik-Grayck vd. 2005: 2466). Metal katalizörlü reaksiyonlar yoluyla OH^- oluşumu SOD katalizörlü spontan reaksiyonlardan 10.000 kat daha hızlıdır (Bolwer vd. 1992: 83).

Hidroksil radikali, biyomoleküller ile etkileşime girer ve biyolojik sistemlere diğer ROT'lara göre daha fazla hasara neden olabilir. Sonuçta büyük hasarların ortaya çıkmasına neden olurlar (Halliwell, 1987:358; Betteridge, 2000:3).

Bulundukları yerlere göre 3 çeşit SOD metaloenzimi mevcuttur. Bunlardan başta gelen izoenzim, peroksizomla, stroma, sitozol ve kloroplast, apoplastta bulunan Cu/Zn-SOD'dur. Mn-SOD peroksizomlarda ve mitokondri eksprese edilir, hem apoplast hem de hücre duvarında da tespit edilirken, Fe-SOD daha az miktarda bulunur. Bunun yanı sıra bu 3 çeşit izoenzim bazı bitki türlerinin kloroplast stroması için sınırlandırılmıştır (Mittler vd. 2004:490).

1.7.1.2. Glutasyon peroksidaz (GPX, EC 1.11.1.9)

GPx her biri selenosistein bulunduran 4 alt ünitenden oluşur. GPx'in görevi, hidrojen peroksit, lipid hidroperoksitler ve diğer organik hidroperoksitlerin indirgenmesiyle ilgilidir. Bu şekilde hemoglobini ve membran lipidlerini serbest radikallerin etkisinden korumuş olur (Tappel vd. 1982: 945).

GPx çoğunlukla selenyuma bağlı olarak aktive olur. Bundan dolayı iki çeşit GPx vardır. Biri selenyuma bağlı olarak çalışan, diğeri selenyumdan bağımsız çalışan GPx olarak ikiye ayrılır. GPx en önemli görevi hücreyi oksidatif strese karşı korumaktır (Cnubben vd. 2001:141).

Tanımlanmış en az 8 tane GPx enzimi mevcut olup; GPx 1-8 genlerinin herbiri kromozomlarla eşlenmiştir. GPx1 çoğu dokuda selenyuma bağlı olarak bulunurken GPx2 gastrointestinal sistemde, GPx3 ekspresyonu böbrekte bulunmasına rağmen farklı dokularda eksprese edilir. Ayrıca glikoprotein yapısında hücre dışı sıvılara salgılanır. Fosfolipid hidroperoksitlerini azaltan GPx4 bu konuda tek enzim olup bunun yanı sıra sperm olgunlaşmasında ve oksidatif strese karşı mitokondiryal izofom yapısına sahiptir (Sanyal vd. 2009: 129).

GPx5 ve GPx6 her ikisinde selenyum içermez diye bilinsede yapılan insan gen çalışlarında GPx6 selenoprotein olarak ifade edilmiştir. GPx7 ve GPx8 hidrojen peroksit temizleyicisi olarak bilinen enzimler olup selenyumdan bağımsız aktive olurlar. Yapılan çalışmalar göstermiş olduğu sonuç GPx seviyesinin azalması antioksidan yapısının bozulmasına yol açmakta olup, buna bağlı olarak proteinlerde ve membran yağ asitlerinin yapısı bozulmakta, sonuç olarak nörotoksik hasar gelişerek antioksidan savunma sisteminin yapısının bozulduğu saptanmıştır (Chabory vd. 2009: 2074).

1.7.1.3. Glutasyon S transferaz (GST; EC 2.5.1.18)

Glutasyon-S-transferazlar (GST'ler), glutasyonun (GSH) çok çeşitli endojen ve eksojen elektrofilik bileşiklere konjugasyonunu katalize eden Faz II detoksifikasyon enzimlerinin bir ailesidir. GST'ler, zara bağlı mikrozomal ve sitozolik aile üyeleri üzere iki farklı gruba ayrılır. Mikrozomal GST'ler, tek bir aktif bölge oluşturmak için dimerize olmak yerine homo ve heterotrimerize olmaları nedeniyle sitozolikten yapısal olarak farklıdır. Mikrozomal GST'ler lökotrienlerin ve prostaglandinlerin endojen metabolizmasında kilit rol oynar. İnsan sitozolik GST'leri oldukça polimorfiktir ve altı sınıfa ayrılabilir: a, l, x, p, h ve

f. GST'lerin p ve l sınıfları, protein yoluyla hücrel hayatta kalma ve ölüm sinyallerine katılan mitojenle aktive olan protein (MAP) kinaz yolunda düzenleyici bir rol oynar. Hücrel strese tepki olarakc-Jun N-terminal kinaz 1 ile protein etkileşimleri (JNK1) ve apoptoz sinyal düzenleyici kinaz (ASK1) hücrel yanıt olarak aktive edilir. GST'ler kemoterapi ajanlarına karşı direnç gelişiminde önemli rol oynamıştır. GST'lerin, MAP kinaz yolunun bir inhibitörü olarak hareket etmenin yanı sıra, doğrudan detoksifikasyon yoluyla ilaç direncinin geliştirilmesinde iki farklı role hizmet etmesi akla yatkındır. GST'ler gelecekte tedavi edici olarak kullanılmak üzere ortaya çıkmıştır, çünkü spesifik izoenzimler farklı tümörlerde aşırı eksprese edilir ve Alzheimer, Parkinson, Prion, Motor nöron hastalıkları ve merkezi sinir sistemine bağlı hastalıkların nedenin anlaşılmasında önemli rol oynayabilir. Glutasyon-S-transferazlar (GST), hücrel detoksifikasyonda yer alan çok işlevli proteinlerin bir ailesini oluşturan önemli bir detoksifiye edici enzimler grubunu temsil eder; sitotoksik ve genotoksik bileşiklerin ve dokuların oksidatif hasara karşı korunmasında rol alır (Hayes ve Pulford, 1995:445; Townsend ve Tew, 2003: 7369).

1.7.1.4. Glutasyon redüktaz (GR, EC 1.6.4.2)

Glutasyon redüktaz, adenin, flavin, dinükleotid (FAD) bulunduran flavoprotein olup, hücre içinde redoks durumunun devam etmesi reaktiflerin ve serbest radikallerin etkisizleştirilmesinde görev yapan hücre için önemli bir enzimdir. Bunun yanı sıra GSH / GSSG oranının korunmasında hemoglobin yapında yer alan hemde ki oksijen taşınımı gen düzenlenmesindeönemli rol oynamaktadır. Esas olarak glutasyon hücrede indirgenmiş form olan (GSH) şeklinde yer alır. Hücredeki oksidatif stres durmunda hızlı bir şekilde GSSG'ye oksitlenebilir (Özkan ve Fışkın, 2004: 52; Krauth-Siegel vd. 2005:690; Sen vd. 2010: 91).

1.7.1.5. Katalaz (CAT; EC: 1.11.1.6)

Her bir zincir 500 amino asit uzunluğunda olan dört polipeptit zincirinden oluşur ve enzimin H_2O_2 ile reaksiyona girmesine izin veren dört porfirin heme (demir) grubu içerir. H_2O_2 'nin ayrışmasında katalazın enzimatik aktivite modları, katalitik aktivite modu ($2H_2O_2 + O_2 + 2H_2O$) ve peroksidatik aktivite ($H_2O_2 + AH_2 A + 2H_2O$) modudur. Katalazın devir hızı, diğer antioksidan enzimler arasında en yüksek olanıdır. H_2O_2 'nin katalazın katalitik aktivitesi ile ayrışması, birinci dereceden bir reaksiyon şeklini takip eder ve hızı, H_2O_2 konsantrasyonuna bağlıdır (Stryer vd. 2002:41).

Katalaz kofaktör, bir hidrojen peroksit molekülü tarafından oksitlenir ve bağlı oksijeni, substratın başka bir molekülüne aktarır (Hiner vd. 2002: 27).

Katalaz enzimi ökaryotik hücrelerin yanı sıra bakteri hücrelerinde de bulunur. Bunların çoğu, çeşitli H_2O_2 oksidazların yaratıldığı kırmızı kan hücreleri dışında her tür memeli hücresinin oksidatif partiküllerinde bulunur. H_2O_2 büyük miktarlarda hidroksil radikali oluşumunu sağlayan özel bir reaksiyon için substrat rolü gördüğünden, hücresel antioksidan savunma yanıtı olarak katalazın ilk rolünün H_2O_2 artışını düşürmek olduğu söylenebilir (Ho vd. 2004:32804).

Katalazın hücreleri ve dokuları oksidasyon etkisinden koruma görevi ayrıntılı bir şekilde araştırılmıştır. Katalazın aşırı artışı, hücreleri H_2O_2 toksisitesine ve oksidatif aracılı hasara daha dirençli hale getirir. Genetiği oynanmış farelerde, sıçanlara adriamisin uygulandıktan sonra parafin veya anjiyotensin ile muamele edildikten sonra yüksek tansiyon etkisi ve miyokardiyal enfarktüse karşı aşırı miktarda artan katalaz enzimleri tarafından yanıt verilerek korunur. *Streptococcus* ve *Pneumococcus* gibi peroksitler üreten bakterilerin yanı sıra bakteriyel bölgelerdeki fagositik hücrelerden kaynaklanan H_2O_2 'den kaynaklanan doku hasarına bağlı olarak artan oral kangren gelişimi eğilimi dışında doğal olarak oluşan katalaz eksikliği olan hastalarda ortaya çıkar (Yang vd. 2003:1).

1.7.2. Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri

Enzimatik olmayan antioksidanlar, serbest radikallerin etkisini kaybetmesini sağlayan veya bunları toksik olmayan moleküllere dönüştürebilen, endojen (vücutta oluşan yangı durumu veya mitokondride yapılan aerobik solunum sırasında), olarak meydana gelebilen melatonin, ürik asit gibi antioksidanlar yada besinlerde yer alan e vitamini, flavanoidler olmak üzere iki gruba ayrılır (Durmuş, 2005:20; Finaud vd. 2006:327).

1.7.2.1. Glutasyon (GSH)

Dokularda endojen olarak üretilen ve birçok dokuda çok miktarda mevcut olan, hücre içerisinde indirgen fomda (GSH) bulunan oksidatif stresin belirlenmesinde önemli belirteç olarak kullanılan, gen ekspresyonunda, hücre sinyal mekanizmasının doğru bir şekilde işleminde, detoksifikasyon sisteminin düzgün çalışmasında görev alan önemli bir antioksidan olarak görev yapmaktadır (Onat vd. 2002: 666; Memisoğulları vd. 2003:291; Vincent vd. 2004:612; Cherubini vd. 2005: 841).

Glutatyonun büyük bir kısmı stoplazmada yer alsada bazen burda üretildikten sonra çekirdek, mitokondri, peroksizom ve endoplazmik retikulumda da görülmüştür (Green vd. 2006:383; Kalinina vd. 2014: 1562).

Glutatyonun sentezlenmesi iki basamakta gerçekleşir. İlk basamakta glutamin-sistein ligaz (GCL) tarafından glutamin ve sisteini birbirine ekler ve γ -glutamilsisteini meydana gelir. İkinci basamakta glutatyon sentetaz (GSS) tarafından γ -glutamilsisteine glisini birbirine ekler ve GSH molekülünü oluştur. Glutamin-sistein ligaz, katalitik (GCLC) ve düzenleyici (GCLM) alt birimlerden meydana gelmektedir. Sistein ve glutaminin birbirine eklenmesinde glutamin-sistein ligazın katalitik alt birimi tarafından gerçekleşmektedir (Pei vd. 2013:33542; Lagman vd. 2015: e0118436).

1.7.2.2. Melatonin

Melatonin suda ve yağda çözünebilme özelliğine sahip olup hücrenin bütün organellerine ulaşabilen, genel olarak pineal bezden endojen olarak salgılandığı bir çok yerde üretilebilen ve dolaşım sistemine katılan bir antioksidan olarak tanımlanır. Melatonin serbest radikallerin reaktif türlerinden (hidroksil radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, nitrik oksit) ve yan formlarından hücreleri koruyarak zarar görmesini engeller. Bunun yanı sıra SOD, CAT, GPx ve GR içeren antioksidan enzimlerin bazılarını aktif hale gelmesini sağlar (Reiter vd. 2001: 200).

En reaktif radikal olan hidroksil radikali ile tepkimeye girmesi ile indolül katyon radikalini oluştur. İndolül katyon radikali süperoksit radikalinin etkisini kaybetmesini sağlar. Ayrıca elektron taşıma sisteminin sistemli bir şekilde çalışmasını sağlayarak elektron kaybının önüne geçer ve serbest radikal üretimini engellemiş olur. Böylece membran yapısı oksidatif stresin oluşturabileceği hasardan korunmuş olur (Cam vd. 2003:212; Guerrero-Romero ve Rodríguez-Morán, 2005:250).

1.7.2.3. E Vitamini

Membranlarda ve lipoproteinlerde bulunan yağda çözünebilir yüksek antioksidan özelliğine sahip bir proteindir. Membranlarda oksijen radikalinin etkisiz hale getirme, lipid peroksidasyon zincirinin kırılması ve membranların lipid peroksidasyonu hasarına karşı koruma, bunun yanı sıra nörolojik bozukluklar, prostat, göğüs ve kolon kanserine karşı koruma görevleri bulunmaktadır. Bozulan yapıları onarılması vücut savunma sisteminin

güçlendirilimesi açlık kan şekerinin ayarlanması gibi çok fonksiyonlu yapıya sahip bir antioksidan olarak bilinmektedir (Aydın, 2001; Gökkus vd. 2001: 377).

Vitamin E asimetrik bir bileşik olup 8 steizomere sahiptir. Bu formlar α , β , γ , δ tokoferol ve α , β , γ , δ tokPotrienol olarak adlandırılmaktadır. Bunlar içinde α -tokoferol, antioksidanlar en aktif olarak bilineni olup, serbest radikallerin etkisiz hale getirerek membranları oluşabilecek birçok hasardan korumada görev alır (Pham-Huy vd. 2008: 89).

1.7.2.4. Selenyum

Selenyum aktif olarak selonosisteinlerden oluşan hücre içi bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde görev yapan, bitkiler tarafından topraktan alındığından dolayı bölgeden bölgeye farklılık gösterebilen, beslenme yoluyla alınan önemli bir metabolik enzimdir (Brown ve Arthur, 2001:593).

Önemli bir antioksidan olan Glutasyon peroksidaz (GPx) önemli bir selenyum kaynağı olarak bilinir. Selenyum glutasyon peroksidaz enziminin etkisini daha iyi gösterebilmesi için eser miktarda gerekli bir elementtir. Bu iki enzim memeli hücrelerini oksidatif strese karşı koruyabilmek için birbirine bağlı olarak görev yapar. Selenyum insan hayatını korumak için önemli olmakla birlikte doza bağlı olarak toksik etki gösterebilir (Coskun vd. 2020: 9953; Sonet vd. 2018:11). Selenyum toksisitesinin en belirgin göstergesi olarak sinirlilik, saç dökülmesi, beyaz lekeler, yorgunluk, nefeste sarımsak kokusu sayabiliriz (Spiller ve Pfiefer, 2007: 67).

Son yıllarda sağlığın korunması için yeterli dozlarda selenyum alınması gerekliliği ortaya konulmuştur. Tiroid bezlerinin düzgün çalışması, kanserojen maddelerin etkisinin azaltılması, kalp sağlığı, mortalite ve bağışıklık sistemi için son derece önemlidir (Roy, 1993: 295).

1.7.2.5. Folik Asit

Suda çözünebilen bir vitamin üyesi olup, B vitaminin sentetik yapıda olan formu olan folik asit besinlerde doğal olarak folat formunda bulunur. Amino asitlerin birbirine dönüşmesinde, canlıların vücut işlevlerinin yerine getirmesinde, kan hücrelerinin yapımında, sinir sisteminin gelişiminde önemli rol oynar. Bunun yanı sıra DNA ve diğer genetik materyallerin sentezlenmesi, erkeklerde üreme hücrelerinin gelişimi, hücre

bölünmesinde önemli rol oynar (Luccock, 2004:211; Liu vd. 2010: 174; Hussein vd. 2012: 661; Ebaid vd. 2013:1).

Folat eksikliği olan kişilerde depresyona yatkınlık, kendini yorgun hissetme, vücut direncinde azalma, halsizlik gibi durumlar gözlenebilir. Bunların yanısıra Bipolar ve Şizofrenik bozukluklar, Alzheimer gibi nörolojik bozukluklar gözlenmiştir (Ulucan vd. 2013:378)

1.7.2.6. Koenzim Q10

Vücutta sentezlenebilen aynı zamanda besinlerde bulunan, yağda çözünbilme özelliğine sahip olan, dokularda Ubikinol-10 veya Ubikinon-10 formunda bulunan kalp, böbrek, karaciğer gibi organlarda bol miktar bulunan önemli bir antioksidant kaynağıdır. Koenzim Q10 hücre membran yapısının korunmasında, toksik ROT'ların etkisiz hale getirilmesinde, yüksek tansiyon ve migren gibi hastalıkların tedavisinde, elektron taşıma sisteminin düzgün çalışmasında, lipid peroksidasyonun önlenmesinde, bağışıklık sisteminin iyileştirilmesinde önemli rol oynar (Hughes vd. 2002: 132; Gürkan ve Dündar, 2005: 129).

1.7.2.7. Vitamin C

Askorbik asit olarak adlandırılan Vitamin C, nitrat, sitokrom a, sitokrom c, moleküler oksijen gibi bileşiklerin indirgenmesine yol açan sulu ortamda serbest radikallerle ilişkiye girebilen, kaslar, kemikler, kıkırdak dokuları, kan damarlarında bulunan, kollojen proteini oluşturmak için ihtiyaç duyulan vitaminler olarak bilinirler. Vitamin C'ler vücudun yaralanmalara karşı onarılmasında serbest radikal olarak adlandırılan sigara dumanı, toksik maddelere karşı vücudu korunması, LDL kolesterolünün oksidasyonunu engelleyerek damar sertliğinin önlenmesi, safra oluşumunda ve pekçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapmaları ve süperoksid ve hidroksil radikalleriyle etkileşime girip onların sebep olacağı hasarı önleyen önemli bir antioksidan grubu olarak kabul edilirler (Van Haaften vd. 2001: 23; Chao vd. 2002: 427; Cherubini vd. 2005: 841).

1.8. Malondialdehid (MDA)

Hayvanlarda ve insanlarda in vivo olarak vücut sıvılarında ve farklı dokularda bulunan MDA lipid peroksidasyonunun bir ürünüdür (Pamplona, vd. 2005:21522; Baltacıoğlu vd. 2007: 1432; Weissman vd. 2011:605).

Yağ asitlerinin parçalanması üzerine üretilen MDA, lipoprotein, protein DNA ve RNA gruplarıyla kolayca tepkimeye girer (Esterbauer ve Cheeseman, 1990:407). Lipit peroksidasyonu membranda bulunan reaktif oksijen türlerinin poliansatüre yağ asitlerini oksidasyona (PUFA) uğraması sonucu gerçekleşir (Gupta vd. 2014: 4405). Yağ asitinde bulunan (-•CH-) çift bağ, karbon ile hidrojen arasındaki bağı zayıflatarak (C-H) hidrojen bağı bir süre sonra koparak ayrılır (Gutteridge, 1995:1819). Bu yüzden hücresel membran lipidlerinin polianstüre yağ asiti yapısı peroksidasyona karşı oldukça hasastır. Yağ asiti molekülleri hidrojen kaybederek yeniden şekillenir, oluşan bu yapı konjuge dien yapısı olarak adlandırılır. Bu yapı oksijenle birleşir ve lipit peroksil radikalleri (LOO•) oluşturur. Bu yapı diğer yağ asitlerinden hidrojen ayrılmasını sağlayarak peroksidasyon reaksiyonlarının başlamasını sağlar (Girotti, 1998:1529). Gerçekleşen lipit peroksidasyon reaksiyonları sonunda son ürün malondialdehit (MDA), 4-Hidroksinonenal (HNE) ve hegzanal isimli aldehitlere oluşur (Kanner vd. 1987: 317).

Membranlarda devam eden peroksidasyon reaksiyonları ortama zincir kırıcı bir antioksidan eklenene kadar sürer. Eğer ortamda antioksidan yoksa membrandaki peroksidasyon yapısı birbirleri ile kovalent bağ yapar bu durum membran yapısının bozulması veya hasar görmesine neden olur. Sonuç olarak membran yapısının bozulması hücre hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanabilir (Catalá, 2006: 1482).

1.9. Serbest Radikallerin Hücrede Oluşturduğu Hasarlar

Oksidatif hasar sonucu oluşan serbest radikal türevleri, oluşan radikallerin miktarına, radikallerle etkileşen hücresel bileşenlerin maruziyet sürelerine ve hedef hücrenin çeşidine göre farklı etkiler gösterebilmektedirler. Serbest radikallerin hedefinde öncelikli olarak membran lipidleri olmakla birlikte proteinler, karbohidratlar ve DNA gibi yapılar serbest radikallerden önemli ölçüde etkilenirler (Nordberg ve Arner, 2001: 1287).

Lipidler üzerine olan etkilerini membran yapısını oluşturan kolesterol ve doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek gösterirler. Serbest radikallerin eşleşmemiş elektronları oldukça aktif bir yapıya sahiptir ve sürekli olarak reaksiyona girme eğilimindedirler. Doymamış yağ asitleri ve kolesterolün bağ yapılarında bozulmalara neden olarak lipid peroksidasyonu adı verilen bir reaksiyonla membranın geçirgenliği ve akışkanlığının bozulmasına yol açarlar. (Halliwell ve Gutteridge, 1999: 936; Valko vd. 2007: 44; Sarma vd. 2010:185).

Serbest radikaller proteinlerin yapıtaşını oluşturan aminoasitlerde yapısal değişikliklere, bağ yapılarında bozulmalara ve proteinlerin kümeleşerek çökmesine yol açarlar (Erenel vd. 1992). Buna bağlı olarak da proteinlerin rol aldığı enzimatik reaksiyonlarda, hücre zarında bulunan protein yapılı kanallarda taşıma işlemlerinde ve protein fibrillerinde kasılma işlevinde bozulmaya sebep olurlar (Shacter, 2000:428; Sarma vd. 2010: 185).

Serbest radikaller ayrıca monosakkaritlerin otooksidasyonuna yol açarak karbohidratlar üzerinde etkilere neden olurlar. Bu etkiler sonucu oluşan hidrojen peroksit, peroksit ve okzaldehyd gibi reaktif bileşenler DNA, RNA ve proteinler üzerine olumsuz etkiler gösterirler (Thornaley ve Vasak, 1985:35; Devasagayam vd. 2004:794). Özellikle bu reaksiyon sonucu oluşan hidroksil radikalleri özellikle DNA üzerinde bazların oksidasyonuna, kırılmalara ve mutasyona neden olurlar (Gümrükçüoğlu, 2009; Sarma vd. 2010: 185).

1.10. Mikronükleus Oluşumu

Yapılan araştırmalarda düşük miktarlarda pestisitlere maruz kalmanın protein veya DNA da eklenti oluşumu veya enzimlerin indikasyonu, inhibisyonu gibi etkilere neden olduğu gösterilmiştir (Heinzow ve McLean, 1994:1368).

Oksidatif DNA hasarına bağlı olarak karsinogenezis olmak üzere birçok hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Genotoksik maddelerin, ajan kaybolursa bile etkisinin yıllarca devam ettiği, hatta bir sonraki nesilde bu etkilerin görüldüğü tespit edilmiştir. Genotoksik etkiler hücrenin morfolojik yapısında veya DNA' nın kimyasal yapısında önemli değişikliklere neden olmasına rağmen moleküler biyolojik kirleticilerin ilk etkisi DNA üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli standartlar in vitro genotoksisite deneyleri ve genotoksik tayinlerde kullanılmıştır (Vahl vd. 1997:81; Harvey vd. 1999:103).

Genotoksik toksikolojide kromozomlarda meydana gelen kırılmalar veya hasarlar mutasyona sebebiyet vermesi bununda kanser ile bağlantılı olmasından dolayı önemlidir (Fenech, 2000: 81).

Genotoksisite tayininde kullanılan mikronükleüs (MN) testi en güvenilir tekniklerden biri olup, son yıllarda bu test suda ve karada yaşayan birçok canlı için organizmalardaki genetik değişiklikleri belirlemek için kullanılmaktadır (Dailianis vd. 2003:443; Arslan vd. 2010:165; Tsarpali ve Dailianis, 2012: 58; Arslan vd. 2015: 48).

Mikronükleuslar, hücre bölünmesinin dışındaki anafaz aşamasında geride kalan kromozom parçalarından veya sağlam tam kromozomlardan kaynaklanan küçük çekirdeklerin ortaya çıkmasıyla oluşan sitoplazmik kromatin kütleleridir. Hücrelerdeki varlıkları, mitoz sırasında ortaya çıkan yapısal veya sayısal kromozomal anormalliklerin bir yansımasıdır (Bolognesi vd. 2006:93).

İnsektisitlerin farklı hayvan türlerinde DNA hasarlarına, kromozomal sapmalara, kardeş kromatid değişimlerine ve mikronükleus oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (Galdíková vd. 2015:698; Kurt ve Kayış, 2015:452).

1.11. Böcek Hemositleri

Böceklerde hücrelerin boyanma özellikleri ve şekilleri göz önüne alınarak hemosit tipleri başlıca beş tipe ayrılmıştır. Bunlar prohemosit, granülosit, plazmatosit, sferül hücreler ve önositoitler olarak isimlendirilmektedir (Lavine ve Strand, 2002: 1295; Ribeiro ve Brehelin, 2006: 417; Kurt ve Kayış, 2015: 452).

Prohemositler küçük, yüksek mitoz yeteneğine sahip öncü hücrelerdir ve farklılaşarak diğer hemosit tiplerinin meydana getirilmesinden sorumludurlar (Levin, 2007; Er, 2011:347).

Plazmatositler hemolenfte en fazla sayıda bulunan ve farklı morfolojik yapı gösteren hücrelerdir. Hücresel savunmada kapsül ve nodül oluşumunda görev alırlar (Lavine ve Strand, 2002:1295; Er, 2011:347). Granülositler küçük çekirdekli stoplazmik granül içeren hücreler olup fagositoz yapabilen hücrelerdir. Ayrıca hücresel savunmada nodül ve kapsül oluşumunda da yardımcı rol oynarlar (Ribeiro ve Brehelin, 2006: 417).

Önositoidler morfolojik olarak hemolenfteki en büyük hücrelerdir. İçerdiği fenoloksidaz enzimi sayesinde bağışıklık sisteminin önemli bir reaksiyonu olan melanizasyonun gerçekleştirilmesinde önemli rol oynarlar (Er, 2011:347).

Sferül hücreler genellikle yuvarlak, bazen oval bir yapıya sahip stoplazmasında yuvarlak boşluklu yapılar bulunduran hücrelerdir. İçerisinde çeşitli organeller bulundurur (Levin, 2007). Melanizasyon ve fagositoz gibi reaksiyonlarda görev alırlar (Chapman, 1998; Er, 2011:347).

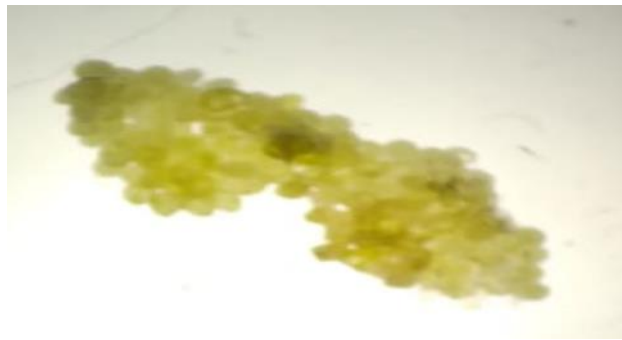
Böcek hemolenfinde bulunan bu hemositler serbest halde dolaşarak hücresel savunma mekanizmasının temelini oluştururlar. Bunun yanında besinlerin, hormonların,

detoksifikasyon sonucu oluşan metabolitlerin taşınmasında önemli rolleri vardır (Patton, 1983:47).

1.12. *Galleria mellonella* (Linnaleus, 1758): (Büyük Balmumu Güvesi)

G. mellonella, petek güvesi veya büyük balmumu güvesi olarak da adlandırılan, Lepidopetra takımının, Pyralidae ailesinin ve Galleriinae alt ailesine ait bir böcek türüdür (Kwadha vd, 2017: 61). Dünyada hemen hemen arıcılık yapılan tüm ülkelerde doğal olarak arı kovanlarında yaşarlar. Arı kovanlarında balmumu ve polenle beslenirler ve kovanlarda galeri oluşumuna neden oldukları için zararlı bir böcek türü olarak tanımlanırlar (Singkum vd, 2019: 31). *G. mellonella* tam tam başkalaşım döngüsüne sahip tipik bir holometabol böcektir ve larva evresinde önemli bir enfeksiyon modeli olarak son yıllarda bilim dünyasının ilgisini çekmektedir (Tsai vd., 2016: 214; Kwadha vd., 2017: 61).

Yaşam döngüsünde dört belirgin evre tanımlanmıştır. Bunlar yumurta, larva, pupa ve ergin şeklinde ortaya çıkmaktadır . Genel olarak 29-39°C sıcaklık ve yüksek nemde yaklaşık 8 haftalık tam bir yaşam döngü süresine sahiptir (Ellis vd., 2013: 1). Bununla birlikte bu metamorfoz süreci gıda için rekabet, diyet kalitesi, yamyamlık, sıcaklık ve bağıl nem dahil olmak üzere hem biyotik hem de abiyotik faktörlerden etkilenir (Kwadha vd., 2017: 61). Başlangıçta, yumurtlama sırasında dişiler 50-150 kümelenmiş yumurta bırakır ve bunların yumurtadan çıkması sıcaklığa göre değişir (Ellis vd., 2013: 1). Yumurtalar küresel bir şekle sahiptirler ve beyazdan açık pembe renge sahiptirler (Görsel 1.1).



Görsel 1.1. *Galleria mellonella* yumurta

Yumurtadan larva oluşum süreci önemli ölçüde sıcaklığa bağlıdır ve 3 ila 30 gün sürer (Charrière ve Imdorf, 1999: 627). Larvalar 1 ila 23 mm ölçülerindedir, kırmızımsı bir baş ile kremi beyazdır ve büyüdükçe koyulaşır (Görsel 1.2.). Yaklaşık 8-10 tüy dökme aşaması

geçirirler. Larva, 3 anatomik bölüme ayrılmış bir dizi segmentten oluşur bunlar baş, göğüs ve karın olarak adlandırılır. Anatomik olarak, larval integumenter sistem, altında ince bir epitel tabakası bulunan kütikül adı verilen kalın bir kaplamadan oluşur. İç boşluk, yağ gövdesi ve hemolenften, yani larval dolaşım sisteminden oluşur. Sindirim sistemi ve ipek bezi yağ gövdesinde bulunur (Wojda vd., 2020: 57).



Görsel 1.2. *Galleria mellonella* larva

Bağışıklık tepkisinin oluşturulmasında kritik olduğu düşünülen sırt bölgesi, “yeni bağışıklık dokusu” olarak adlandırılır (Pereira vd., 2015: 387; Hillyer ve Pass, 2020: 121). Ventral bölge, sinir sistemine karşılık gelir ve birkaç gangliyondan oluşur (Singkum vd., 2019: 31; Durieux vd., 2021: 818). Larvalar son evrede koza oluşturmak için ipek üretir (Singkum vd., 2019: 31). Bu evrede, ön pupa aşamasında olan larvalar yemeyi bırakır ve hareketlerini minimuma indirirler. Pupalar kozalarda hareketsiz hale gelir ve bu süre boyunca yemek yemezler. Başlangıçta beyazdan sarıya dönerler, sonra kahverengiye dönerler ve sonunda koyu kırmızımsı bir renk alırlar (Görsel 1.3).



Görsel 1.3. *Galleria mellonella* pupa

Yetişkin güvelerin rengi kırmızımsı kahverengiden soluk krem rengine kadar değişir (Görsel 1.4). Işığa duyarlıdırlar ve genellikle geceleri yaşarlar. Pupa aşamasında olduğu gibi, yetişkin g  velerde de beslenme görünmez (Kwadha vd., 2017: 61). Erkek ve dişi yetişkin güveler arasında birçok fark vardır. Erkekler dişilerden biraz daha küçük ve daha açık renklidir ve 21 gün yaşarken dişiler 12 gün yaşar (Desai vd., 2019: 1267).



Görsel 1.4. *Galleria mellonella* ergin

G. mellonella, son yıllarda özellikle bakteriyel ve fungal enfeksiyonların araştırılması için popüler bir hayvan modeli haline gelmiştir. Diğer omurgasız modellerin aksine, deneylerde kullanım için uygun bir boyuta sahiptir ve özellikle 37   C'de yaşamını devam ettirebilmesi nedeniyle insan patojen çalışmalarının yapılması için son derece uygundur. Laboratuvarda   retilmesi son derece kolay ve ucuzdur, aynı zamanda ekstra laboratuvar olanakları ve uzman personel gerektirmez. Dahası, omurgasız bir hayvan olması nedeniyle etik yönden herhangi bir kısıtlama söz konusu değildir. Doğuştan gelen bağışıklık sistemleri, hem hücresel hem de humoral savunma mekanizmalarına sahip oldukları için insanlarla birçok benzer özelliğe sahiptir. Bu nedenle, etkinliklerini ve toksisitelerini test etmek için patojenlerin ve antimikrobiyal ajanların hassas dozları enjekte edilebilir. Bu   zellikler, *G. mellonella*'yı enfeksiyonları incelemek için eksiksiz ve çekici bir alternatif haline getirmektedir (Champion vd., 2016: 840; M'enard vd., 2021:631710; Tsai vd., 2016: 214; Wojda, 2017: 57).

Verilen bu genel bilgiler ışığında tezin amacı, thiaclopridin son yıllarda sıklıkla model organizma olarak tercih edilen *G. mellonella* kullanılarak SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler, protein, lipid ve karbohidrat gibi biyokimyasal makromoleküller, lipid peroksidasyon belirteci olan MDA, genotoksik hasarların belirlenmesinde sıklıkla kullanılan mikronükleus oluşumu ve önemli bir immün parametre olan hemosit sayıları gibi belirteçler

üzerine etkilerini belirlemektir. Elde edilen veriler memelilerinde içinde olduğu hedef dışı organizmalar için thiaclopridin potansiyel toksik etkilerinin ortaya konulmasında yardımcı olacaktır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

George ve Ambrose (2004:600), yapmış olduğu çalışmada *Rhynocoris kumarii* Ambrose ve Livingstone (Hetoptera, Reduviidae) organofosfat grubu insektisit olan monocrotophos ve methyl parathion'un LC₅₀ onda bir kadar insektisite maruz biralıkınca hemolenfte yer alan plazmatositlerin sayısında %13 ve %16 arasında azalma kaydedilirken, organoklorlu insektisit olan endosulfan uygulanınca bu sayıda %15 artış gözlenmiştir. Böceklerde enkapsülasyonda görev alan plazmatositler immun tepkilerin değerlendirilmesinde önemli bir hemosit grubunu oluştururlar. Plazmatositlerin azalmasının sebebi olarak fagositozda zararlı toksik maddelerin uzaklaştırılmasına yardımcı olan granular hemosit sayısındaki artış ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Toksik maddelerin uzaklaştırılmasını sağlamak için plazmatositlerden granular hemositlerin oluştuğu sonucuna varılmıştır .

Kurt ve Kayış (2015:452), yapmış oldukları çalışmada deltametrinin büyük balmumu güvesi *G. mellonella* 'nın hemositlerine etkisini araştırmak için *G. mellonella*'ya 24, 48, 72, ve 96 saatlerde deltametrin (5, 20, 50, 100 ve 150µg) uygulanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda toplam hemosit sayısının önemli ölçüde etkilendiği tespit edildi. Yüksek dozda insektisit uygulanan (50, 100 ve 150µg) grupta 72 saatte hemosit sayısının kontrole kıyasla önemli ölçüde azalmış olmasına rağmen 96. saatte (100 ve 150µg) hemosit sayısının artmış olduğu tespit edilmiştir

Şekeroğlu (2010:1), yapmış olduğu çalışmada deltamethrin ve thiacloprid'in birlikte ve ayrı ayrı uygulandığında kemik iliği hücrelerindeki *in vivo* genotoksik etki, kromozom anormalliği (KA) ve mikronükleus (MN) analizleri incelenmiştir. Yapılan araştırma sonucunda deltamethrin ve thiacloprid'in birlikte uygulandığında 24 saat ve 30 günlük uygulamada, mitotik indeksin (MI) azalmış olduğunu, KA'nın ise istatistiksel olarak artmış olduğunu gözlemlemiş olup tek başlarına uygulandıklarında ise bu etkinin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Uçkun (2013:1), yapmış olduğu çalışmada *Xenopus laevis* iribaşlarına thiacloprid ve trifloksistrobin'in akut toksik etkilerini araştırmışlar. Çalışma sonucunda pestisitlerin 50-58. evredeki *X. laevis* iribaşlarında toksik etkiye neden olduğu gözlemlenmiş olup, pestisitlerin birliktede uygulandıklarında, LC₅₀/2 ve LC₅₀ değerlerinden daha düşük dozlarda etki sahip olduğu belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuca göre *X. laevis* iri

başlarının kullanılması sucul ekosistemlerin kirliliğinin değerlendirilmesinde önemli bir materyal olduğu belirlenmiştir.

Sahoo vd. (2013:7935), yapmış oldukları çalışmada thiacloprid kalıntılarının *Solanum melongena* L etkisi üzerine yapmış olduğu araştırmada neonikotinoid insektisit olan thiacloprid'in, hemiptera zararlılarının yanı sıra birkaç lepidoptera zararlılarına karşı etkili olduğu gözlemlenmiştir.

Galdíková vd. (2015:698), yapmış oldukları çalışmada thiacloprid'e maruz kalan sığırların kan hücrelerinde genotoksik hasarın tespiti üzerine yapılan çalışmada mitotik indeks, sitokalsin tarafından bloke edilen proliferasyon ve proliferasyon indeksleri gibi ek değişkenlerdeki düşme, Thiacloprid'in hücre proliferasyonunu etkileyerek ve inhibe ederek sitostatik etkileri indüklemeye ve sırasıyla hücre döngüsünü bozmuş olduğu gözlemlenildi.

Singla ve Sandhu (2015:147), yapmış oldukları çalışmada thiacloprid'e maruz kalan *Gallus domesticus* ait kuş türünün hematolojik parametrelerinde değişmeye neden olduğu kuşlarda paketlenmiş hücre hacminde (PCV), hemogloblin (Hb) konsantrasyonunda ve toplam eritrosit sayısında (TEC) bir azalma olduğu belirlenmiştir.

Çamlıca vd. (2016:128), yapmış oldukları çalışmada *Rana ridibunda* iskelet kasında agonist olan Thiacloprid'in ve antagonist olan d-tubokurarine'nin göstermiş olduğu belirtiler incelenmiş olup, araştırma sonucunda yüksek dozlardaki thiacloprid'in (10^3 ve 10^{-4} M Thiacloprid) Histolojik incelemeler sonucunda yüksek dozlarda thiacloprid uygulanan gruplarda (10^{-3} ve 10^{-4} M Thiacloprid) kaslarda sarkomer bütünlüğün bozulduğu, miyofibrillerin ayrıldığı ve mitokondrilerin şiştiği saptanmış olup sarkomer bütünlüğünün bozulduğu, miyofibrillerin ayrıldığı, mitokondrilerin şiştiği gözlenmiştir.

Shi vd. (2018:17), yapılan çalışmada 2 gün boyunca gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) bazlı metabolik analiz ile birlikte sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (LC-MS) bazlı metabolik analiz yaklaşımların birlikte uygulandıktan sonra bal arıları 3 gün boyunca 2 mg/L thiacloprid uygulandıktan sonra bal arılarında metabolik değişiklikler araştırıldı. Yapılan çalışma sonuçları Bal arısının, *Apis mellifera* L.'nin thiacloprid'e tepkisi üzerine yapmış oldukları çalışmada oksidatif stres ve detoksifikasyon bağlantılı geniş aralıklı yollarla zenginleştirilmiş yüksek düzeyde bolluğa sahip metabolitler, bal arılarının detoksifikasyon sistemlerini dirençli thiacloprid toksisitesine aktive ettiklerini göstermişlerdir.

Çelik (2023:145), yapmış oldukları araştırmada oksiklozanidin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın gelişim evreleri üzerine etkisini araştırmıştır. Oksiklozanidin konsantrasyonunun artışına bağlı olarak DNA hasarının arttığı belirlenmiştir.

Kıvrak ve Ay (2019:74), yapmış oldukları çalışmada thiacloprid ve spiromesifen'in avcı akar *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot'ye akut etkisi yanında bazı biyolojik dönemleri üzerine etkileri de araştırmışlar. Akut etkisini tespit etmek için Thiacloprid'in ve spiromesifen'in tarla dozu (T) ve yarı tarla dozu (T/2) seçilmiş olup bu dozlar kuru uygulama ve direk uygulama yöntemleriyle *Amblyseius swirskii* larvalarına uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre thiacloprid'in T dozunun avcı akarlar üzerindeki her iki yönteminde (direkt uygulama ve kuru rezidü) zarar düzeyinin düşük olduğu saptanmış olup, spiromesifen'in T dozu iki yöntem içinde orta düzeyde zararlı olduğu, T/2 dozunun ise direkt uygulama avcı akarlara olumsuz bir etkisi olmadığı, kuru rezidü yöntemine göre de hafif düzeyde toksik olduğu tespit edilmiş olup, thiacloprid'in T dozunun, spiromesifen'in ise (T/2) dozunun avcı akar, *A. swirskii*'nin üreme gücü ve yaşam süresini etkilemediği belirlenmiştir.

Coşkun (2019:47), yapmış olduğu çalışmada thiacloprid'in farelerde siyatik sinir, omurilik, böbrek, kalp, beyin, karaciğer ve testis dokuları üzerine etkilerini araştırmışlardır. Birinci grup kontrol grubu olarak seçilmiş olup 2. grup: 5 mg/kg, 3. grup: 7,5 mg/kg, 4. grup: 10 mg/kg dozlar belirlendikten sonra hazırlanarak sıçanlara enjeksiyon yapılmıştır. Herbir grupta 8 adet fare olacak şekilde çalışmalar yapılmış olup, 21 gün boyunca 48 saat aralıklarla 0,5 mL hacimlerde insektisit 3 doz şeklinde uygulanmış olup, elde edilen sonuçlara göre insektisit yukarıda verilen dokuların hepsinde oksidatif hasar olduğu tespit edilmiştir.

Ertürk (2019:110), yapmış oldukları çalışmada akciğer hücrelerinde thiacloprid ve deltametrin karışımının insan akciğer hücrelerinde dna çift zincir kırığına ve sitotoksiteye neden olduğu konsantrasyonun artmasıyla ilişkili olarak 24 saat ve 120 saatlerde hücre canlılığını azalttığı tespit edilmiştir.

Verebová vd. (2019:459), thiacloprid'in DNA'nın yapısı ve stabilitesi üzerindeki etkisi üzerine yapılan çalışmada thiacloprid'in DNA'yı istikrarsızlaştırdığı ve hidrofobik veya hidrojen etkileşimleriyle küçük oluğa bağlanarak DNA'nın yapısını ve stabilitesini değiştirdiği tespit edilmiştir.

Willow vd. (2019:22), bir parazitoid yaban arısında tebuconazole ile sinerji oluşturan düşük doz Thiacloprid maruziyetinin akut etkisi saptanması üzerine yapılan çalışmada

Thiacloprid'in bu akut etkilerinin her ikisi de tebuconazole tarafından sinerjik hale getirildi. Toksikite, katkı etkisinden daha büyük bir etkiye yükseldi. Bu da tebuconazole'un düşük dozla birlikte uygulanmasından önemli ölçüde ölümle sonuçlandığı tespit edilmiştir.

Angral ve Bandral (2024:118), thiaclopridin bal arısı *A. mellifera*' da doğal yaşam alanlarında yaptığı çalışmasında, yiyecek arama davranışı, yiyecek depolama davranışı ve ölüm oranlarını araştırmıştır. 500, 325, 250, 125, 62.50 ve 31.25 ppm thiacloprid dozlarına maruz bırakılan arılarda besin arama davranışının önemli ölçüde etkilendiği ve 250 ppm üzeri dozların arılar için tehlikeli olduğunu belirtmişlerdir.

Brandt vd. (2020:4670), yaygın olarak kullanılan neonikotinoid insektisit thiacloprid'in sahadaki gerçekçi konsantrasyonlarının, *Osmia bicornis*'in bağışıklık yeterliliğini ciddi şekilde etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Ayrıntılı olarak, 200 ve 555 µg/kg tiakloprid çözeltilerine maruz bırakılan erkeklerde hemosit yoğunluğunda bir azalma gerçekleştiğini ve hemolenfin antimikrobiyal aktivitesinin azaldığını göstermişlerdir. Dişilerde ise yalnızca 555 µg/kg'lık bir konsantrasyonun benzer immünosüpresif etkilere neden olduğunu bunun erkek ve dişilerin beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak maruziyet miktarlarındaki değişimlerden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Stok Kültürünün Hazırlanması ve Deney Böceklerinin Elde Edilmesi

G. mellonella (L.) larvaları Bronskill, (1961:102) tarafından belirlenen yarı sentetik besin içerisinde $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, $\%60 \pm 5$ bağıl neme sahip karanlık ortamda Adıyaman Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvarında üretildi.

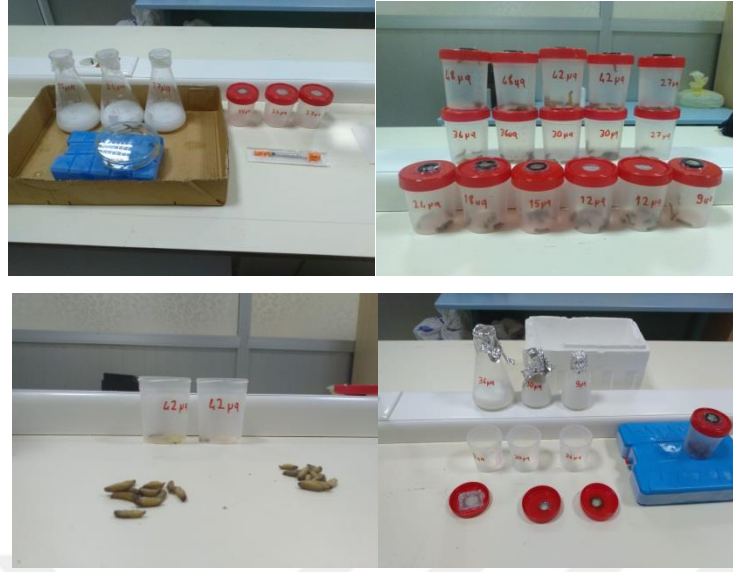
G. mellonella ergin kelebekleri yukarıda bahsedilen besin içerisine bırakılarak besine yumurta bırakmaları sağlandı (Görsel 3.1). Burada açılan yumurtalardan elde edilen larvaların içerisinde oldukları besin belirli aralıklarla taze besinle karılarak son evreye ulaşmaya kadar takip edildi (yaklaşık 250-350 mg). Deneylerde son evreye gelen bu larvalar kullanıldı.



Görsel 3.1. *Galleria mellonella* stok kültür

3.1.1. Thiacloprid LD₅₀ değerinin belirlenmesi

Çalışmamızda LD₅₀ değerinin belirlenebilmesi için son evre larvalarına Hamilton marka mikro enjeksiyon iğnesi kullanılarak sol arka bacağın önünden thiaclopridin (Calypso Od 240) farklı dozları enjekte edildi. Yapılan denemeler 4 tekrarlı olacak şekilde uygulandı. Doksanaltı saatlik LD₅₀ değerinin belirlenebilmesi için ölen ve canlı kalan larvalar kayıt altına alınarak fotoğrafları çekildi (Görsel 3.2). Finney (1982), probit analiz yöntemi ile LD₅₀ değeri 38µg olarak tespit edildi. Buna göre sublethal dozlar seçilerek larvalara 10 µl fosfat tamponu içerisinde 5µg, 10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30µg thiacloprid olacak şekilde ayarlanan dozlarının uygulanmasına karar verildi.



Görsel 3.2. *Thiachloprid* LD₅₀ denemeleri

3.1.2. Deney gruplarının oluşturulması

Sublethal dozlar belirlendikten sonra çalışma için rastgele seçilen larvalardan 24, 48, 72 ve 96 saatlik gruplar oluşturuldu ve belirlenen thiacloprid dozları (5µg, 10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30µg) bu larvalara hamilton marka mikro enjeksiyon iğnesi kullanılarak son arka bacak önünden enjekte edildi (Görsel 3.3). Gruplara ayrılmış larvalar aynı laboratuvar koşullarında belirlenen periyotlar boyunca bekletildi ve süre sonunda yaş ağırlıkları tartılarak alındı ve biyokimyasal analizler için -80°C muhafaza edildi. Negatif kontrol grubuna thiaclopridin sulandırılmasında kullanılan fosfat tamponu enjeksiyonu yapılırken kontrol grubuna ise hiçbir işlem uygulanmadı. Bu işlemler biyokimyasal analizler için kullanılacak larvalar için yapıldı. Toplam hemosit sayılarının belirlenmesi ve mikronükleus sayılarının belirlenmesinde larvalar -80°C'ye alınmadan ilgili periyodu takiben hemen işlemler gerçekleştirildi.

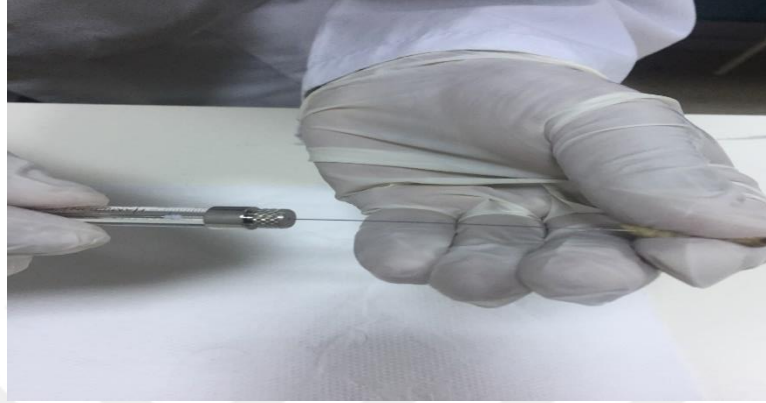
3.2. Yöntem

3.2.1. Biyokimyasal analizler için süpernatantların elde edilmesi

Antioksidan enzimlerin aktiviteleri (SOD ve CAT), MDA, protein, karbonhidrat ve lipid düzeyinin belirlenmesi için larvalar -80°C'den alınarak önceden hazırlanan ve numaralandırılmış 15 mL'lik plastik eppendorf santrifüj tüplerine aktarıldı. Larvaların üzerindeki buzlar oda ısısında çözüldükten sonra enzim aktivitelerinin etkilenmemesi plastik

tüpler homojenizasyon öncesi ve sonrasında buz kalıpları içerisine yerleştirilerek muhafaza edildi.

Homojenizasyon işlemleri ve süpernatantların elde edilmesinde Yucel ve Kayis (2019) da gösterilen yöntem kullanıldı.



Görsel 3.3. *Thiaclopridin* *G. mellonella*'ya enjeksiyonu

3.2.2. Total protein miktarı analizi

Galleria mellonella'nın total protein tayininde Lowry protein metodu kullanılmıştır. Lowry vd. (1951: 265) örneklerin protein miktarı saptanmadan önce standart çalışması yapılarak standart protein eğrisi oluşturuldu. Standart çalışması için %1' lik Bovine serum albümini (BSA) (Sigma; A-2153) standart olarak kullanıldı. Standart çözelti hazırlamak için 0,1 gr BSA 100 ml suda çözülerek, seyreltme yöntemiyle 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09 mg/ml albümin içeren standart çözeltiler hazırlandı. Her bir standart çözelti Lowry vd. (1951: 265) protein tayini yöntemi kullanılarak spektrofotometrede 750 nm de okuma yapılarak elde edilen değerlerden protein regresyon denklemi elde edildi. Numunelerin protein miktarının belirlenmesi için, her bir örnekten 0,3mL süpernatant alınarak tüplere eklendi. Kör tüpüne ise 0,3mL saf su eklendi. Daha sonraki aşamada örnek ve süpernatantların bulunduğu tüplere 3mL çözelti C eklendi ve 15 dk oda ısısında bekletildikten sonra üzerine 0,3mL folin-ciocalteu ilave edilerek vortekslendi. Otuz dakika oda sıcaklığında bekletilerek 750 nm'de köre karşı absorbans değerleri okundu. Elde edilen veriler regresyon denklemindeki değerler kullanılarak larvaların toplam protein miktarı hesaplandı. Total protein miktarları böcek başına düşen protein miktarı olarak mg/100mg olacak şekilde gösterildi.

3.2.3. Total lipit miktarı analizi

G. mellonella larvalarının toplam lipit miktarı Van Handel (1985b:302) yöntemi ile belirlenmiştir. Örneklerin lipit miktarı saptanmadan önce standart çalışması yapılarak standart lipit regresyon eğrisi oluşturuldu. Standart çözelti hazırlayabilmek için %0.1 lik mısır yağından stok çözeltisi hazırlandı. Stok çözeltiden kloroform/metanol (1/2) kullanılarak seyreltme yöntemi ile 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200 µg/mL lipid içeren çözeltiler elde edildi. Çözeltilerin absorbansları Van Handel (1985b:302) yöntemine göre spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 525 nm dalga boyunda köre karşı belirlendi ve elde edilen verilerler standart lipit grafiği (regresyon eğrisi) çizildi.

Örneklerin total lipit miktarı tayini için herbir süpernatanttan 200µL örnek alınarak cam tüplere eklendi. Cam tüpler 90°C su banyosuna koyularak kloroform/metanol karışımı tamamen uçuncaya kadar beklendi (Görsel 3.4).



Görsel 3.4. *Tüplerin su banyosunda bekletilmesi*

Su banyosundan alınan cam tüpler bir müddet soğuması için oda sıcaklığında beklendi. Soğuduktan sonra 40µL konsantre sülfürik asit katılarak cam tüpler vortekslendi. Vortekslleme işleminden sonra 2 dk tekrardan 90°C su banyosunda ısıtıldı. Su banyosundan alınan cam tüpler tekrardan soğumaya bırakıldı ve soğuduktan sonra üzerine 960µl vanilin fosforik asit eklenerek katılarak vortekslendi. Vortekslleme işleminden sonra 30dk oda sıcaklığına bekletildi. Renk oluşumu gözlemlendikten sonra (Shimadzu UV 1800) 525 nm dalga boyunda örnekler köre karşı okunarak elde edilen veriler ile total lipit miktarı hesaplandı.

3.2.4. Total karbohidrat miktarı analizi

Karbonhidrat miktarı analizinde Van Handel (1985a:299), belirlemiş olduğu metod uygulanmıştır. Örneklerin karbonhidrat miktarı saptanmadan önce standart çalışması yapılarak standart karbonhidrat regresyon eğrisi oluşturuldu. Bunun için saf glikojenden 0.1gr/mL glikojen içeren stok çözeltisi hazırlandı. Elde edilen çözelti seyreltilerek standart çözeltiler hazırlandı. Elde edilen veriler 625 nm de spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) köre karşı okundu. Standart lipit grafiği (regresyon eğrisi) çizildi. Karbonhidrat miktarı tayini için numunelerden her bir süpernatanttan 200µL alınarak cam tüplere aktarıldı. Numunelerde bulunan kloroform/metanol 90°C deki su banyosunda uçuruldu. Soğuyan cam tüplere 1mL antron çözeltisi eklendi ve 90°C deki su banyosunda 15dk bekletildi. Numuneler su banyosundan alınarak soğumaya bırakıldı. Daha sonra örnekler spektrofotometrede (Shimadzu UV 1800) 625 nm de köre karşı okundu. Regresyon denklemi kullanılarak hesaplama yapıldı ve total karbohidrat miktarı mg/100mg olarak gösterildi.

3.2.5. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin tayini

SOD aktivitesinin belirlenmesinde Sun vd. (1988:497), metodu kullanıldı. SOD tayini nitroblue tetrazolium'un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantinoksidaz tepkimeye girerek indirgenmesi sonucu gerçekleşir. Ölçüm 560 nm de dalga boyunda yapılmaktadır.

İlk işlem olarak numune ve kör tüpüne 1425 mL reaktif ilave edildi. Daha sonra sadece numune tüpüne 0.05mL örnek eklendi ardından kör ve numune tüpüne 0.025mL ksantin oksidaz eklendi ve karıştırılarak ve oda sıcaklığında 20 dk bekletildi. Oda sıcaklığında bekletildikten sonra kör ve numune tüpünün herikisine birden 0.05mL CuCl₂ (mL) ilave edildi ve reaksiyon durdurulduktan sonra sadece kör tüpüne 0.05mLörnek eklenerek 560 nm de spektrofotometrede absorpsanları okundu.

3.2.6. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini

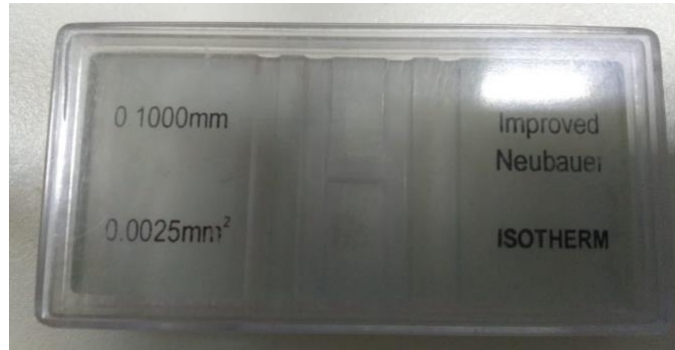
Katalaz (CAT) aktivitesinin belirlenmesinde Aebi (1984:121), metodu kullanılmıştır. Bu kapsamda ilk adım olarak 200 µL örnek ve 3 mL 30 mM hidrojen peroksit karıştırılmıştır. Nihai karışım hızla çalkalanarak hızlı bir şekilde spektrofotometreye yerleştirilmiş ve azalan absorpsan değerleri kinetik olarak 240 nm'de 1 dakika boyunca 30 saniye aralıklarla ölçülmüştür. CAT enzim aktivitesi hesaplanarak U/mg protein olarak verilmiştir.

3.2.7. Malondialdehid (MDA) miktarının belirlenmesi

Malondialdehid aktivitesinin belirlenmesinde Bar-Or vd. (2001:856) yöntemi kullanıldı. Bu metotta 250µL örnek üzerine % 20'lik 125 µL TCA eklenerek 30 dakika süreyle 15000 devirde santrifüj işlemine tabi tutuldu. Numune santrifüj edildikten sonra üzerine 200µL % 0,8'lik TBA eklendi ve karıştırılarak 90°C'de sıcak su banyosuna koyuldu. Örnekler oda ısında soğuduktan sonra spektrofotometrede 525nm de köre karşı okunarak absorbanslar nmol/mg protein cinsinden gösterildi.

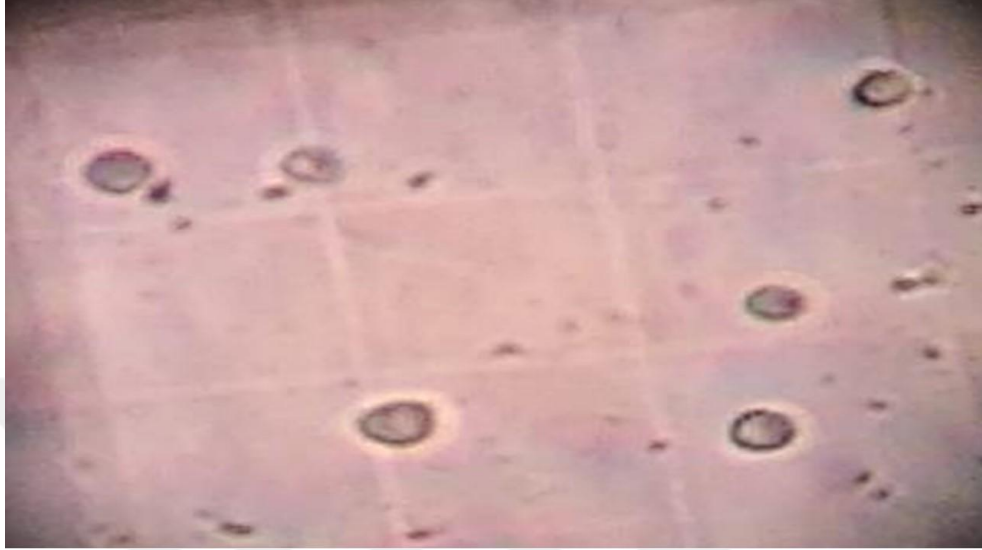
3.2.8. Toplam hemosit sayılarının belirlenmesi

Hemosit sayımı için thiaclopridin sublethal dozları (5µg, 10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30µg) 4 tekrarlı olacak şekilde farklı zamanlarda son evre *G. mellonella* larvalarına uygulandı. Her bir tekrar için 8 larva olmak üzere toplam 32 larva üzerinden çalışma yapıldı. Hemosit sayılarının belirlenmesinde Jones (1962: 209) yöntemi kullanıldı. Buz üzerinde bir süre bekletilerek hareketleri yavaşlatılan larvalara hamilton marka mikro enjeksiyon iğnesi kullanılarak son arka bacak önünden thiaclopridin enjeksiyonu saplandı. Larvalar enjeksiyon işleminden sonra laboratuvar koşullarından deney periyodu süresince bekletildi. Kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmazken negatif kontrol grubuna ise saf su enjekte edildi. Araştırma için belirlenen 24, 48, 72 ve 96 saatlerde larvalar etüvden alındı, son arka bacak üzerinden steril lanset ile delindi, elde edilen hemolenften 5µl otomatik pipet ile çekildikten sonra içerisinde 45µl Tauber-Yeager çözeltisi bulunan tüplere aktarıldı. Daha sonra mikro pipet yardımıyla birkaç kez çekip bırakarak karışması sağlandı. Elde edilen karışımdan 10µl alınarak Neubauer lamına (Improved Neubauer Hemocytometer; Superior, Germany) yüklendi (Görsel 3.5 ve Görsel 3.6).



Görsel 3.5. Neubauer lamı

Sayım için hemositometre lamının orta kısmında bulunan 25 orta büyüklükteki karenin tamamı yani 1 mm²'lik büyük karenin tamamı sayılarak toplam hemosit sayıları hesaplandı. Toplam hemosit sayılarının hesaplanması için aşağıdaki formülden yararlanıldı.



Görsel 3.6. *Işık mikroskopunda hemositlerin görünümü*

Hücre sayısı / mL = Büyük karede sayılan hücre sayısı x Sulandırma katsayısı x 10⁴

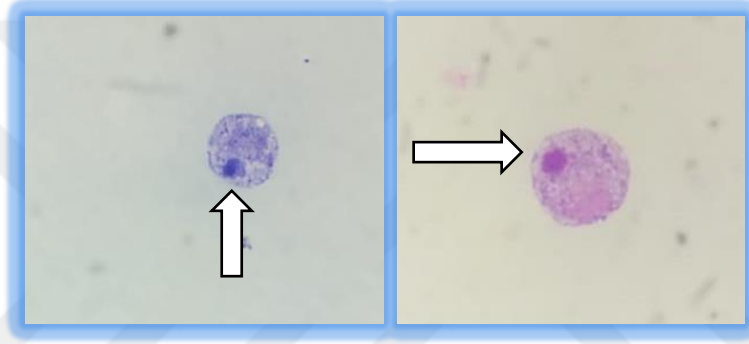
3.2.9. Mikronükleus sayılarının belirlenmesi

Thiaclopridin sublethal dozlarının (5µg, 10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30µg) enjeksiyonu yapılan son evre *G. mellonella* larvalarını daha önce belirlenen periyotlar (24, 48, 72 ve 96 saat) sonunda laboratuvar ortamından alınarak abdomen bölgeleri etanol ile temizlendi ve buz üzerinde enjeksiyon işleminin kolay yapılması amacıyla hareketini yavaşlatmak için bekletildi. Hareket yavaşladıktan sonra larvaların son arka ayağının önünden steril lanset yardımıyla delinerek 1 damla hemolenf lama koyuldu ve yayma preparat hazırlandı. Yayma işlemi yapıldıktan sonra kuruyuncaya kadar oda sıcaklığında beklendi. Lam tamamen kuruduktan sonra metil alkol ile fiksasyon yapıldı.

Preperat kuruduktan sonra yaklaşık 10 dk kadar %5 lik giemsa boyası ile boyandı (Görsel 3.7). Boyama yapıldıktan sonra 3 kez saf sudan geçirilerek kurumaya bırakıldı. Lamlar kuruduktan sonra entellan ile düzgün bir şekilde kapatılarak daimi preperat haline getirildi. (Venier vd. 1997: 33) (Görsel 3.8). Deneyler farklı zamanlarda 4 tekrar olacak şekilde yapıldı.



Görsel 3.7. *Preperatların boyanması*



Görsel 3.8. *Mikronükleuslu hücreler*

3.3. Sonuçların İstatistik Olarak Hesaplanması

Deney ve kontrol gruplarının karşılaştırılmasında varyans analiz yöntemi uygulanırken ortalamalar arasındaki farkı değerlendirmek için Student Newman Keul's (SNK) testi uygulandı. Verilerin birbiri ile bağlantısı SPSS 20.00 kullanılarak belirlendi. Sonuçların değerlendirilmesinde ortalamaları arasındaki fark $P \geq 0.05$ ise anlamlı kabul edildi. Deneyler farklı zamanlarda 4 kez tekrarlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Thiaploprid'in Toplam Hemosit Sayılarına Etkisi

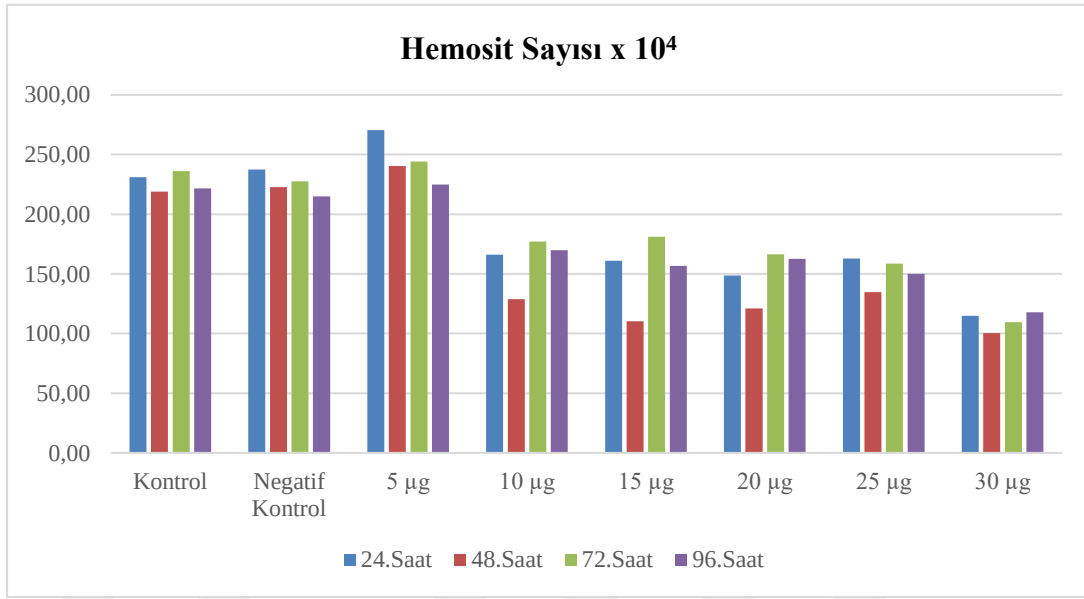
Thiaploprid'in *G. mellonella* larvalarında total hemosit sayısına etkileri Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Veriler incelendiğinde 24, 48, 72 ve 96 saat uygulamalarından sonra kontrol grubu ile negatif grup arasında anlamlı bir fark görülmezken ($p>0.05$), 24. saatte 5µg thiaploprid uygulamasında total hemosit sayılarında kontrol ve negatif kontrol gruplarına göre anlamlı bir şekilde artış olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Diğer thiaploprid dozlarında (10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30 µg) 24. saatte total hemosit sayısı kontrol ve negatif kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı şekilde azalma bahsi geçen periyotta en düşük hemosit sayısı en yüksek doz olan 30 µg konsatrasyonda 115.00×10^4 olarak belirlenmiştir. Thiaploprid'in 48, 72 ve 96 saat uygulamalarında ise kontrol grubu, negatif kontrol grubu ve 5µg lık dozlar arasında anlamlı bir fark görülmezken ($p>0.05$), 10µg, 15µg, 20µg, 25µg ve 30 µg thiaploprid dozlarında kontrol ve negatif kontrol gruplarına kıyasla total hemosit sayısında anlamlı bir şekilde düşüş olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Bahsi geçen periyotlarda en yüksek doz olan düşüş miktarının en yüksek doz olan 30 µg thiaploprid konsatrasyonunda ise diğer thiaploprid konsatrasyonlarına göre anlamlı bir azalma ($p<0.05$) gerçekleşmiştir.

Tablo 4.1. Thiaplopridin *G. mellonella* larvalarında total hemosit sayısına etkisi

	Thiaploprid	Saat (24)	Saat (48)	Saat (72)	Saat (96)
	µg	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
	0.00	231.00±19.122 ^b	219.00±10.042 ^a	236.25±19.855 ^a	221.75±7.250 ^a
	0.00*	237.50±18.621 ^b	222.75±9.886 ^a	227.50±10.743 ^a	215.00±3.651 ^a
	5.00	270.50±8.703 ^a	240.50±6.589 ^a	244.25±17.708 ^a	225.50±4.573 ^a
Total Hemosit Sayısı	10.00	166.25±3.683 ^c	128.75±6.382 ^{bc}	177.25±5.105 ^b	169.75±4.854 ^b
	15.00	161.00±6.545 ^c	110.25±6.047 ^{bc}	181.25±5.836 ^b	156.75±7.685 ^b
	20.00	148.75±5.977 ^c	121.00±8.822 ^{bc}	166.50±10.563 ^b	162.75±8.740 ^b
	25.00	163.00±8.631 ^c	134.75±5.513 ^b	158.50±4.873 ^b	150.00±4.916 ^b
	30.00	115.00±5.774 ^d	100.50±2.102 ^c	109.50±6.764 ^c	117.75±6.676 ^c

*: Negatif Kontrol

Harfler denenen konsatrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)



Şekil 4.1. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında total hemosit sayısına etkisi

4.2. Thiacloprid'in Mikronükleus Sayılarına Etkisi

Thiacloprid'in *G.mellonella* larvalarında total mikronükleus frekansına etkileri Tablo 4.2 ve Şekil 4.2'de sunulmuştur.

Tablo 4.2. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında mikronükleus frekansına etkisi

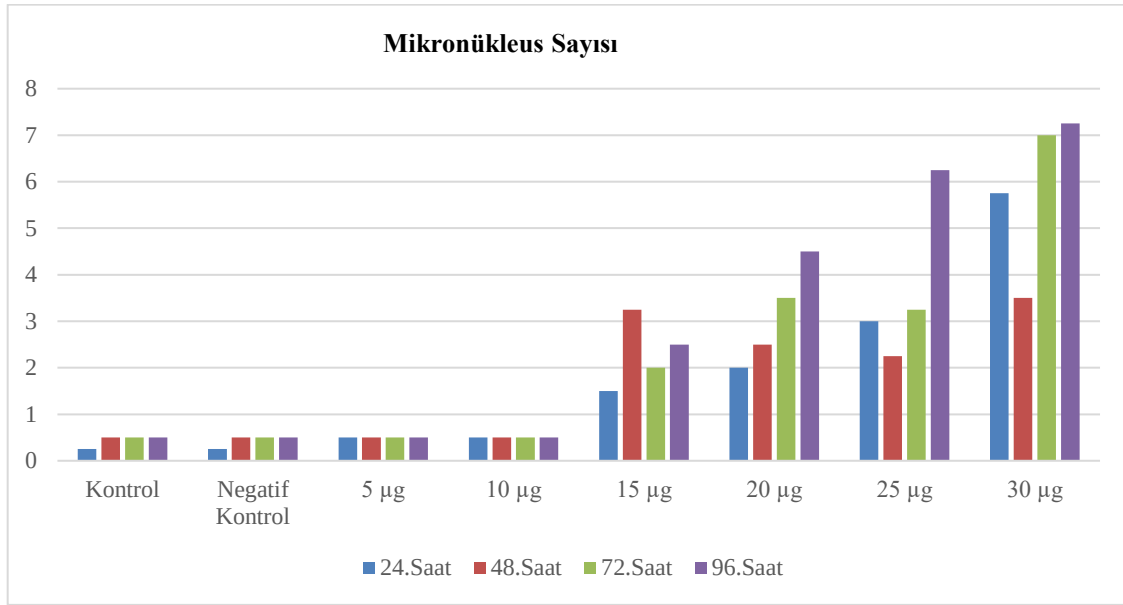
	Thiacloprid	Saat (24)	Saat (48)	Saat (72)	Saat (96)
	µg	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
	0.00	0.25±0.250 ^d	0.50±0.289 ^b	0.50±0.289 ^d	0.50±0.289 ^d
	0.00*	0.25±0.250 ^d	0.50±0.289 ^b	0.50±0.289 ^d	0.50±0.500 ^d
	5.00	0.50±0.289 ^d	0.50±0.289 ^b	0.50±0.289 ^d	0.50±0.289 ^d
Mikronükleus	10.00	0.50±0.289 ^d	0.50±0.289 ^b	0.50±0.289 ^d	0.50±0.289 ^d
Sayısı	15.00	1.50±0.289 ^{cd}	3.25±0.250 ^a	2.00±0.408 ^c	2.50±0.289 ^c
	20.00	2.00±0.408 ^c	2.50±0.289 ^a	3.50±0.289 ^b	4.50±0.645 ^b
	25.00	3.00±0.408 ^b	2.25±0.629 ^a	3.25±0.479 ^b	6.25±0.629 ^a
	30.00	5.75±0.479 ^a	3.50±0.500 ^a	7.00±0.408 ^a	7.25±0.479 ^a

*: Negatif Kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)

Kontrol grubuyla kıyasladığımızda thiacloprid'in negatif kontrol, ve düşük dozlar olan 5µg ve 10µg dozlarında 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlarda total mikronükleus sayısı

açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmezken ($p>0.05$), 48. saatten başlayarak 15 μg thiacloprid ve daha yüksek thiacloprid konsantrasyonlarında mikronükleus sayısının anlamlı bir şekilde artmaya başladığı (sırasıyla 3.25, 2.50, 2.25 ve 3.50) ($p<0.05$) belirlenmiştir. 24. saatte ise bu artış 20 μg (2.00), 25 μg (3.00) ve 30 μg (5.75) thiacloprid dozlarında gerçekleşmiştir. (Tablo 4.2).



Şekil 4.2. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında mikronükleus frekansına etkisi

4.3. Thiacloprid'in SOD Enziminin Aktivitesine Etkileri

Thiacloprid'in farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarının SOD enzim aktivitesine etkilerini Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Denenen tüm periyotlarda kontrol ve negatif kontrol grupları arasında SOD enzim aktivitesi bakımından anlamlı bir değişiklik meydana gelmemiştir. 24. saatte 5 μg , 10 μg ve 15 μg dozlarında kontrol ve negatif kontrol gruplarına göre SOD enzim aktivitesinde anlamlı artışlar meydana gelmekle birlikte, 20 μg ve 25 μg thiacloprid dozlarında enzim aktivitesi düşük thiacloprid dozlarına göre (5 μg , 10 μg ve 15 μg) önemli ölçüde artmış, fakat bu artış kontrol ve negatif kontrol gruplarına kıyaslandığında azalma şeklinde ortaya çıkmıştır ($p<0.05$). En yüksek doz olan 30 μg thiacloprid konsantrasyonunda ise SOD enzim aktivitesi denenen tüm konsantrasyonlar ve kontrol gruplarına göre önemli ölçüde azalmıştır (2.302 U/mg protein) ($p<0.05$). 48, 72 ve 96. saatlerde ise yine kontrol grupları arasında anlamlı bir fark ortaya çıkmamıştır. Bahsi geçen periyotlarda düşük thiacloprid dozlarında (5 μg , 10 μg ve 15 μg) SOD enzim aktivitesi

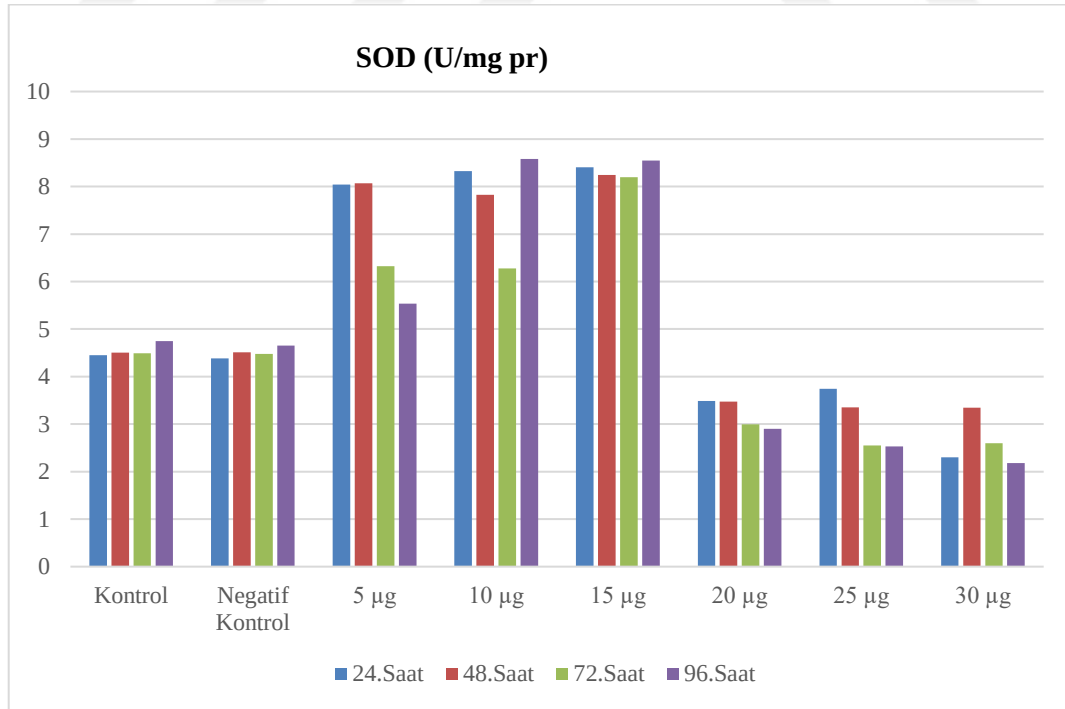
kontrol ve negatif kontrol gruplarına göre önemli ölçüde artarken, yüksek thiacloprid dozlarında (20µg, 25µg ve 30 µg) enzim aktivitesi gerek kontrol gruplarına gereksede diğer dozlara göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$).

Tablo 4.3. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında SOD aktivitesi üzerine etkisi

	Thiacloprid µg	Saat (24) (Ort±Std)	Saat (48) (Ort±Std)	Saat (72) (Ort±Std)	Saat (96) (Ort±Std)
SOD (U/mg protein)	0.00	4.450±0.094 ^b	4.505±0.111 ^b	4.490±0.083 ^c	4.750±0.067 ^c
	0.00*	4.382±0.080 ^b	4.512±0.051 ^b	4.477±0.133 ^c	4.651±0.062 ^c
	5.00	8.041±0.417 ^a	8.071±0.088 ^a	6.321±0.077 ^b	5.534±0.106 ^b
	10.00	8.328±0.127 ^a	7.828±0.187 ^a	6.279±0.214 ^b	8.579±0.121 ^a
	15.00	8.407±0.194 ^a	8.244±0.117 ^a	8.196±0.268 ^a	8.549±0.067 ^a
	20.00	3.486±0.113 ^c	3.475±0.158 ^c	2.993±0.114 ^d	2.899±0.099 ^d
	25.00	3.744±0.074 ^c	3.354±0.086 ^c	2.552±0.148 ^d	2.533±0.092 ^e
	30.00	2.302±0.075 ^d	3.348±0.123 ^c	2.599±0.104 ^d	2.178±0.159 ^f

*: Negatif Kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)



Şekil 4.3. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında SOD aktivitesi üzerine Etkisi

4.4. Thiacloprid'in CAT Enziminin Aktivitesine Etkileri

Thiacloprid'in farklı dozlarının *G. mellonella* larvalarında CAT enziminin aktivitesinde meydana getirdiği değişiklikler Tablo 4.4 ve Şekil 4.4' de gösterilmiştir.

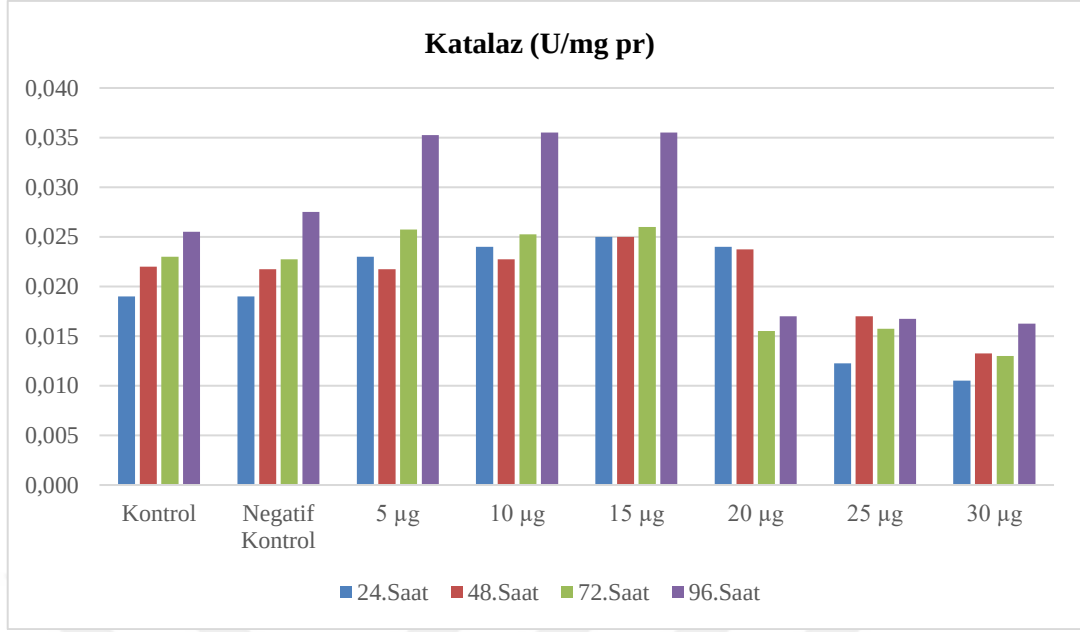
Katalaz enzim aktivitesinde 24, 48, 72 ve 96. saatlik periyotlarda kontrol grubuyla negatif grubu arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$). 24 saatlik periyotta 5µg, 10µg, 15µg ve 20µg thiacloprid dozlarında CAT enzim aktivitesi kontrol gruplarına göre önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). 25µg ve 30µg thiacloprid dozları gibi yüksek dozlarda gerek kontrol gruplarına göre gerekse de denenen diğer dozlara göre CAT enzim aktivitesinde önemli azalmalara neden olmuştur (0.012 U/mg protein ve 0.011 U/mg protein) ($p<0.05$). 48. Saatte kontrol grupları ile 5µg, 10µg, 15µg ve 20µg thiacloprid dozları arasında CAT enzim aktivitesi bakımından önemli bir fark gözlenmezken, daha yüksek dozlarda (25µg ve 30µg) enzim aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). 72. saatte kontrol grupları ve 5µg, 10µg, 15µg thiacloprid dozları arasında CAT enzim aktivitesi bakımından anlamlı bir fark olmamakla beraber ($p>0.05$), yüksek thiacloprid dozlarında (20 µg, 25µg ve 30µg) CAT enzim aktivitesi önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). Deney periyodunun son günü olan 96. saatte ise sadece yüksek thiacloprid dozlarında (20 µg, 25µg ve 30µg) kontrol gruplarına göre enzim aktivitesinde önemli düşüşler meydana gelmiştir ($p<0.05$).

Tablo 4.4. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında CAT aktivitesi üzerine etkisi

	Thiacloprid	Saat (24)	Saat (48)	Saat (72)	Saat (96)
	µg	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
CAT (U/mg protein)	0.00	0.019±0.0004 ^b	0.022±0.0004 ^a	0.023±0.0011 ^a	0.026±0.0009 ^b
	0.00*	0.019±0.0006 ^b	0.022±0.0009 ^a	0.023±0.0009 ^a	0.028±0.0006 ^b
	5.00	0.023±0.0008 ^a	0.022±0.0005 ^a	0.026±0.0005 ^a	0.035±0.0006 ^a
	10.00	0.024±0.0009 ^a	0.023±0.0011 ^a	0.025±0.0008 ^a	0.036±0.0006 ^a
	15.00	0.025±0.0004 ^a	0.025±0.0007 ^a	0.026±0.0009 ^a	0.036±0.0006 ^a
	20.00	0.024±0.0017 ^a	0.024±0.0005 ^a	0.016±0.0012 ^b	0.017±0.0011 ^c
	25.00	0.012±0.0006 ^c	0.017±0.0009 ^b	0.016±0.0008 ^b	0.017±0.0005 ^c
	30.00	0.011±0.0006 ^c	0.013±0.0011 ^c	0.013±0.0007 ^b	0.016±0.0011 ^c

*: Negatif Kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)



Şekil 4.4. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında CAT aktivitesi üzerine etkisi

4.5. Thiacloprid'in MDA Düzeylerine Etkileri

Thiacloprid'in *G. mellonella* larvalarının MDA düzeylerine etkileri Tablo 4.5 ve Şekil 4.5'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında MDA düzeylerine etkisi

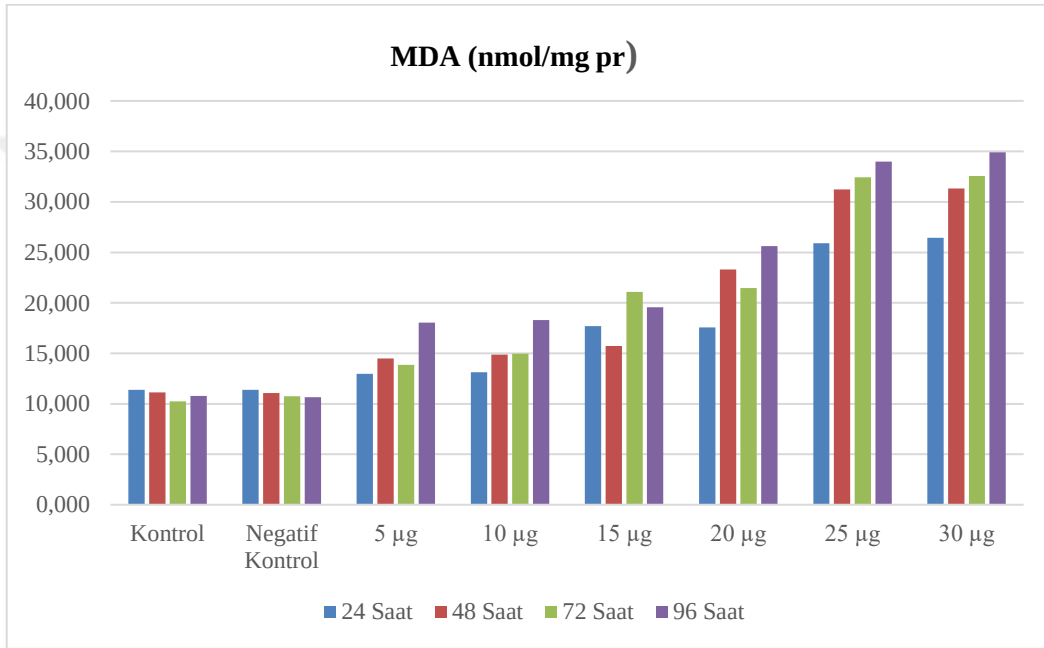
Thiacloprid	Saat (24)	Saat (48)	Saat (72)	Saat (96)
µg	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
0.00	11.386±0.393 ^d	11.141±0.383 ^d	10.240±0.158 ^e	10.774±0.203 ^d
0.00*	11.370±0.516 ^d	11.078±0.603 ^d	10.742±0.310 ^e	10.651±0.233 ^d
MDA				
(nmol/mg				
protein)				
5.00	12.965±0.299 ^c	14.492±0.562 ^c	13.855±0.420 ^d	18.029±0.459 ^c
10.00	13.123±0.239 ^c	14.857±0.371 ^c	14.952±0.186 ^c	18.290±0.524 ^c
15.00	17.681±0.394 ^b	15.741±0.623 ^c	21.078±0.338 ^b	19.576±0.423 ^c
20.00	17.569±0.400 ^b	23.289±0.733 ^b	21.460±0.253 ^b	25.617±0.713 ^b
25.00	25.906±0.618 ^a	31.220±0.594 ^a	32.443±0.421 ^a	33.998±0.680 ^a
30.00	26.432±0.392 ^a	31.318±0.555 ^a	32.569±0.342 ^a	34.896±0.371 ^a

*: Negatif kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P < 0.05$)

Denenen tüm periyotlarda kontrol grubu ile negatif kontrol grubu arasında MDA düzeyleri bakımından önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0.05$). Tüm periyotlarda en düşük dozdan (5µg) başlayarak MDA miktarları thiacloprid konsantrasyonuna paralel olarak önemli

ölçüde artışlar göstermiştir. Yirmidördüncü saatte kontrol grubunda 11.386 nmol/mg protein olan MDA miktarı 30 µg thiacloprid grubunda % 232 artarak 26.432 nmol/mg proteine, 48. saatte kontrol grubunda 11.141 nmol/mg protein olan MDA miktarı 30 µg thiacloprid grubunda % 281 artarak 31.318 nmol/mg proteine, 72. saatte kontrol grubunda 10.240 nmol/mg protein olan MDA miktarı 30 µg thiacloprid grubunda % 318 artarak 32.569 nmol/mg proteine ve 96. saatte kontrol grubunda 10.774 nmol/mg protein olan MDA miktarı 30 µg thiacloprid grubunda % 323 artarak 34.896 nmol/mg proteine yükselmiştir.



Şekil 4.5. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında MDA düzeylerine etkisi

4.6. Thiacloprid'in Toplam Protein Düzeyine Etkisi

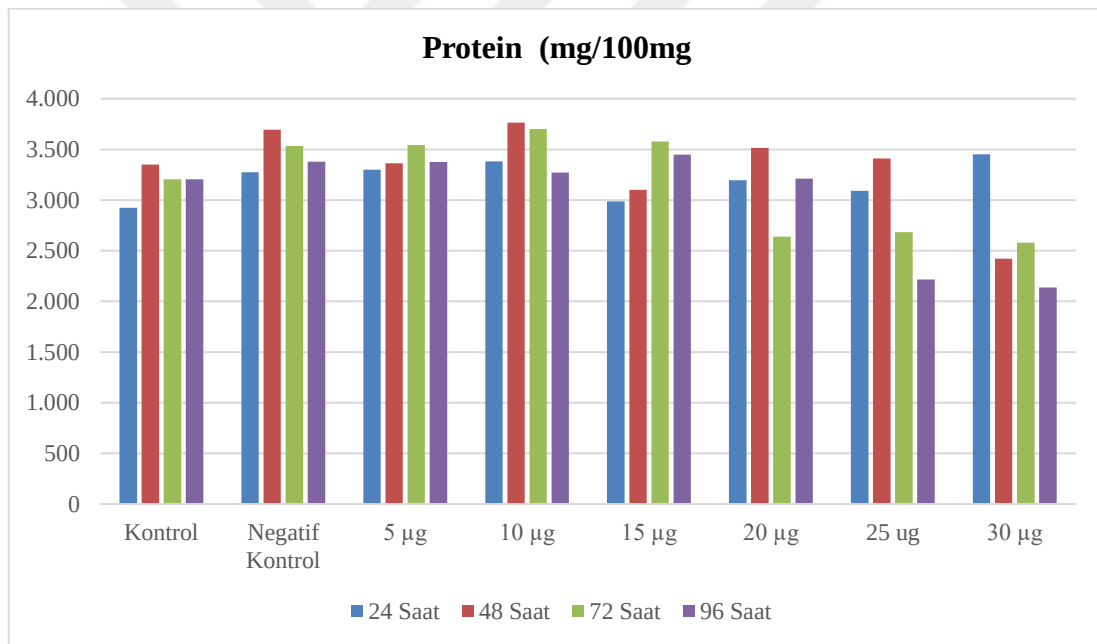
Farklı thiacloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının toplam protein miktarına etkileri Tablo 4.6 ve Şekil 4.6' da gösterilmiştir. Thiacloprid denenen tüm dozlarında kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 24 saatlik periyotta total protein miktarında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Bununla birlikte 48. saatte en yüksek doz olan 30µg thiacloprid konsantrasyonunda, 72. saatte 20 µg, 25 µg ve 30 µg thiacloprid konsantrasyonlarında ve 96. saatte 25 µg ve 30 µg thiacloprid konsantrasyonlarında protein miktarları hem kontrol gruplarına göre hem de diğer thiacloprid konsantrasyonlarına göre önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$).

Tablo 4.6. *Thiaclopridin G. mellonella larvalarında toplam protein düzeyine etkisi*

	Thiacloprid	Saat (24)	Saat (48)	Saat (72)	Saat (96)
	µg	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
Protein (mg/100mg)	0.00	2.924±0.192 ^a	3.349±0.247 ^a	3.205±0.136 ^a	3.204±0.084 ^a
	0.00*	3.275±0.213 ^a	3.695±0.138 ^a	3.535±0.125 ^a	3.378±0.144 ^a
	5.00	3.299±0.111 ^a	3.364±0.121 ^a	3.544±0.218 ^a	3.376±0.137 ^a
	10.00	3.382±0.129 ^a	3.764±0.189 ^a	3.702±0.128 ^a	3.271±0.094 ^a
	15.00	2.986±0.189 ^a	3.101±0.128 ^a	3.579±0.134 ^a	3.448±0.068 ^a
	20.00	3.196±0.105 ^a	3.513±0.166 ^a	2.638±0.191 ^b	3.212±0.043 ^a
	25.00	3.092±0.035 ^a	3.410±0.231 ^a	2.685±0.081 ^b	2.216±0.062 ^b
	30.00	3.452±0.117 ^a	2.422±0.120 ^b	2.580±0.187 ^b	2.138±0.044 ^b

*: Negatif kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)

**Şekil 4.6.** *Thiaclopridin G. mellonella larvalarında protein düzeyine etkisi*

4.7. Thiacloprid'in Toplam Lipit Düzeyine Etkisi

Farklı thiacloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının toplam lipit miktarına etkileri Tablo 4.7 ve Şekil 4.7' de gösterilmiştir. 24 saatlik periyotta kontrol grubunda 11.269 mg/100mg olan lipit miktarı negatif kontrol ve 5 µg lık thiacloprid dozlarında önemli bir farklılık göstermezken, 10 µg ve 15 µg thiacloprid konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre önemli ölçüde artış göstermiştir ($p<0.05$). Bahsi

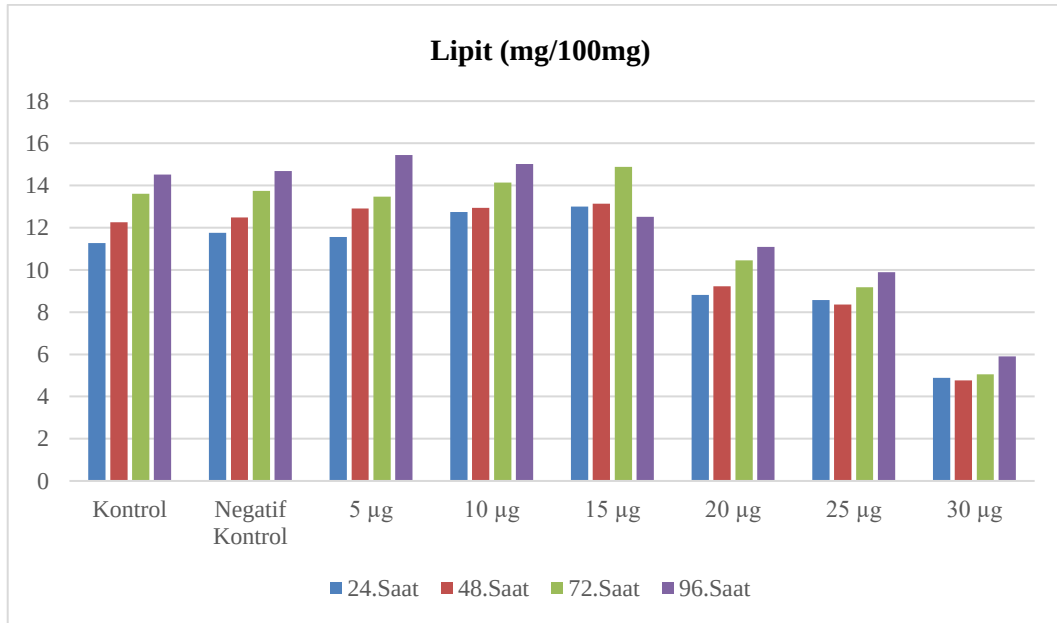
geçen periyotta yüksek thiacloprid dozlarında (20 µg, 25 µg ve 30 µg) ise kontrol grupları ve düşük thiacloprid dozlarına göre ise önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). Deney periyodunun 48. saatinde, kontrol grubunda 12.557 mg/100mg olan lipid miktarı negatif kontrol grubu ve 5 µg, 10 µg ve 15 µg thiacloprid konsantrasyonlarında önemli ölçüde değişmezken 20 µg, 25 µg ve 30 µg thiacloprid dozlarında doza bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$).

Tablo 4.7. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında toplam lipid düzeyine etkisi

	Thiacloprid	Saat (24)	Saat (48)	Saat (72)	Saat (96)
	µg	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)	(Ort±Std)
	0.00	11.269±0.504 ^c	12.257±0.191 ^a	13.614±0.323 ^a	14.512±0.432 ^a
	0.00*	11.756±0.275 ^{abc}	12.485±0.450 ^a	13.740±0.525 ^a	14.686±0.506 ^a
	5.00	11.554±0.458 ^{bc}	12.906±0.334 ^a	13.479±0.702 ^a	15.441±0.736 ^a
	10.00	12.746±0.375 ^{ab}	12.937±0.200 ^a	14.144±0.617 ^a	15.023±0.362 ^a
	15.00	13.008±0.299 ^a	13.143±0.174 ^a	14.876±0.490 ^a	12.523±0.357 ^b
	20.00	8.822±0.308 ^d	9.227±0.168 ^b	10.451±0.506 ^b	11.097±0.406 ^c
	25.00	8.565±0.425 ^d	8.355±0.203 ^c	9.175±0.184 ^b	9.894±0.575 ^c
	30.00	4.886±0.184 ^e	4.758±0.283 ^d	5.047±0.179 ^c	5.901±0.239 ^d

*: Negatif Kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)



Şekil 4.7. Thiaclopridin *G. mellonella* larvalarında lipid düzeyine etkisi

Benzer şekilde 72. saatte de lipid miktarları 20 µg, 25 µg ve 30 µg thiacloprid dozlarında doza bağlı olarak önemli ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). Deney periyodunun son günü olan 96. saatte ise kontrol grubuna göre anlamlı azalmalar 15 µg ve daha yüksek dozlarda thiaclopride maruz bırakılan larvalarda meydana gelmiştir.

4.8. Thiacloprid'in Toplam Karbonhidrat Düzeyine Etkisi

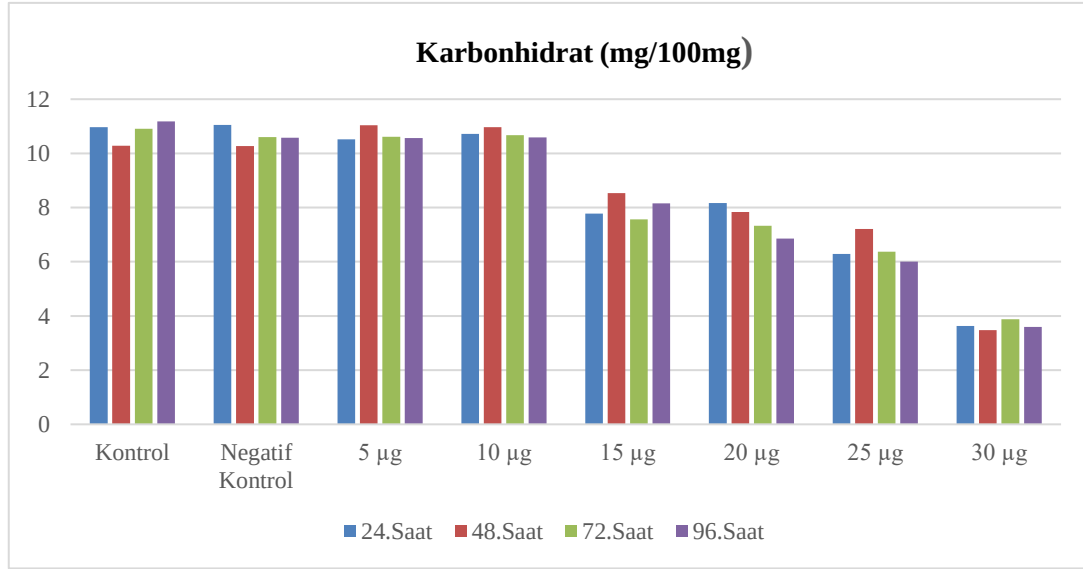
Farklı thiacloprid konsantrasyonlarının *G. mellonella* larvalarının toplam karbonhidrat miktarına etkileri Tablo 4.8 ve Şekil 4.8' de gösterilmiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde *G. mellonella* larvalarının karbohidrat miktarlarında denenen tüm periyotlarda 5 µg ve 10 µg thiacloprid dozlarında kontrol grubu ve negatif kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık gözlanmemekle birlikte, karbohidrat miktarı 15 µg thiacloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte 7.775, 48. saatte 8.531, 72. saatte 7.560 ve 96. saatte 8.153 mg/100 mg; 20 µg thiacloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte 8.170, 48. saatte 7.841, 72. saatte 7.329 ve 96. saatte 6.852 mg/100 mg; 25 µg thiacloprid enjekte edilen larvalarda 24. saatte 6.292, 48. saatte 7.212, 72. saatte 6.374 ve 96. saatte 6.001 mg/100 mg; 30 µg thiacloprid enjekte edilen larvalarda ise 24. saatte 3.634, 48. saatte 3.477, 72. saatte 3.883 ve 96. saatte 3.595 mg/100 mg olarak gerçekleşmiştir. Verilerden yüksek thiacloprid dozlarında (15 µg, 20 µg, 25 µg ve 30 µg) karbohidrat miktarlarının anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$).

Tablo 4.8. Thiaclopridin *G.mellonella* larvalarında toplam karbonhidrat düzeyine etkisi

	Thiacloprid µg	Saat (24) (Ort±Std)	Saat (48) (Ort±Std)	Saat (72) (Ort±Std)	Saat (96) (Ort±Std)
	0.00	10.962±0.458 ^a	10.281±0.423 ^a	10.913±0.464 ^a	11.182±0.228 ^a
	0.00*	11.053±0.467 ^a	10.267±0.313 ^a	10.600±0.469 ^a	10.575±0.300 ^a
	5.00	10.519±0.568 ^a	11.043±0.697 ^a	10.612±0.182 ^a	10.568±0.506 ^a
Karbonhidrat	10.00	10.719±0.492 ^a	10.962±0.334 ^a	10.670±0.451 ^a	10.589±0.436 ^a
(mg/100mg)	15.00	7.775±0.153 ^b	8.531±0.421 ^b	7.560±0.216 ^b	8.153±0.373 ^b
	20.00	8.170±0.245 ^b	7.841±0.322 ^b	7.329±0.441 ^b	6.852±0.216 ^c
	25.00	6.292±0.321 ^c	7.212±0.214 ^b	6.374±0.445 ^b	6.001±0.113 ^c
	30.00	3.634±0.122 ^d	3.477±0.166 ^c	3.883±0.125 ^c	3.595±0.217 ^d

*: Negatif kontrol

Harfler denenen konsantrasyonlar arasındaki farkı göstermektedir. Aynı sütunda farklı harfle gösterilen veriler arasında istatistiksel anlamda fark vardır ($P<0.05$)



Şekil 4.8. Thioclopridin *G. mellonella* larvalarında toplam karbonhidrat düzeyine etkisi

Tablo 4.9. *G. mellonella* larvalarında test edilen biyomarkırlara ait korrelasyon analizi (n = 32).

24 h	Pr	Lipid	KH	SOD	CAT	MDA	THC
Lipid	-0,160						
KH	-0,089	0,788**					
SOD	-0,079	0,787**	0,516**				
CAT	-0,115	0,708**	0,589**	0,703**			
MDA	0,065	-0,766**	-0,935**	-0,501**	-0,665**		
THC	-0,201	0,538**	0,710**	0,323	0,251	-0,690**	
MN	0,197	-0,864**	-0,881**	-0,559**	-0,634**	0,853**	-0,692**
48 h	Pr	Lipid	KH	SOD	CAT	MDA	THC
Lipid	0,548**						
KH	0,673**	0,905**					
SOD	0,165	0,727**	0,567**				
CAT	0,486**	0,797**	0,668**	0,529**			
MDA	-0,460**	-0,889**	-0,829**	-0,574**	-0,697**		
THC	0,334	0,527**	0,628**	0,147	0,234	-0,646**	
MN	-0,553**	-0,602**	-0,723**	-0,251	-0,276	0,627**	-0,721**
72 h	Pr	Lipid	KH	SOD	CAT	MDA	THC
Lipid	0,764**						
KH	0,643**	0,813**					
SOD	0,726**	0,759**	0,476**				
CAT	0,774**	0,871**	0,765**	0,862**			
MDA	-0,651**	-0,801**	-0,916**	-0,502**	0,738**		
THC	0,476**	0,708**	0,812**	0,412*	0,664**	-0,795**	
MN	-0,639**	-0,848**	-0,891**	-0,591**	-0,805**	0,833**	-0,789**
96 h	Pr	Lipid	KH	SOD	CAT	MDA	THC
Lipid	0,801**						
KH	0,777**	0,925**					
SOD	0,647**	0,622**	0,589**				
CAT	0,703**	0,735**	0,703**	0,908**			
MDA	-0,819**	-0,852**	-0,910**	-0,548**	-0,647**		
THC	0,617**	0,800**	0,829**	0,233	0,467**	-0,803**	
MN	-0,768**	-0,889**	-0,916**	-0,650**	-0,786**	0,903**	-0,803**

* ve **: sırasıyla 0,05 ve 0,01 düzeylerinde (2 kuyruklu) anlamlı korelasyonları belirtmektedir.

Korrelasyon tablosu genel olarak değerlendirildiğinde antioksidan enzim aktiviteleri (SOD ve CAT) ile lipid peroksidasyon düzeylerinin belirteci olan MDA seviyeleri arasında negatif yönde olmak üzere önemli bir korrelasyonun olduğu görülmektedir. Bunun yanında enerji biyomolekülleri olan lipid ve karbohidrat miktarlarının yine antioksidan enzim aktiviteleri ile pozitif bir korrelasyon gösterdikleri, bunun yanında MDA miktarı ile negatif bir korrelasyon gösterdiği görülmektedir. ayrıca MDA miktarı ile THC'nin negatif MN oluşumunun ise pozitif korrelasyon gösterdiği belirlenmiştir.



5. TARTIŞMA

Neonikotinoidler yeni bir etki mekanizmasına sahip yeni bir pestisit sınıfıdır. (Bass ve Field, 2018:772). Neonikotinoidlerin yeni pestisitler olarak piyasaya sürülmesi, son otuz yıldır pestisit araştırmalarında bir dönüm noktası oluşturmuştur. Neonikotinoidler, piretroidlerin ticarileşmesinden bu yana piyasaya sürülen ve en hızlı büyüyen insektisit sınıfını temsil etmektedir (Nauen ve Bretschneider, 2002: 241).

Neonikotinoid grubu insektisitler agonist olarak tercihen böceklerdeki nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR'ler) üzerinde etki gösterir. Bu reseptörler, hızlı uyarıcı kolinerjik iletimin sağlanmasından sorumlu olan ligand kapılı iyon kanalları grubuna aittir (Tomizawa ve Casida, 2005:247).

Insektisitlerin etkisini saptamak için yapılan araştırmalarda Toor vd. (2013:1) tarafından hepatotoksiteye, Lonare vd. (2014:122), tarafından yapılan araştırmalarda nörotoksiteye, Bal vd. (2012:434), tarafından yapılan araştırmalarda düşük sperm fertilitesi, Şekeroğlu vd. (2013:524), Kataria vd. (2016:59), tarafından yapılan araştırmalarda ise genotoksiteye yine Şekeroğlu vd. (2014:40), tarafından yapılan araştırmada hedef dışı organizmalar etkilediği ve hormon bozukluklarına neden olduğu rapor edilmiştir.

Neonikotinoid insektisitler olan Clotianidin, imidacloprid ve thiamethoxam'ın özellikle arılar için yüksek toksisitesi ve arı ürünlerinde tespit edilen kalıntı nedeniyle AB ülkelerinde dış mekan kullanımı yasaklanmıştır (EFSA, 2018: 05134; Codling vd. 2016: 2321; Tosi vd. 2018:208).

Çalışmalar, thiacloprid'in öldürücü olmayan dozlarının bile bal arıları üzerinde olumsuz etkileri olduğunu bulmuştur (Brandt vd. 2016:40; Mora-Gutiérrez vd. 2021: 9983201)

Sunulan çalışmamızda enjeksiyon yöntemiyle thiacloprid uygulanan son dönem larvalarda LD₅₀ değeri 38 µg olarak belirlenmiştir. Thiaclopridin farklı türler üzerinde öldürücü etkileri olduğunu gösteren farklı çalışmalar mevcuttur (Brandt vd, 2016:40; Mora-Gutiérrez vd. 2021:9983201).Ancak bu çalışmada *G. mellonella* larvaları için Thiacloprid'in enjeksiyon yöntemiyle ilk kez LD₅₀ değeri belirlenmiştir. Deneysel sonuçlarımız Thiacloprid'in *G. mellonella*'da doza bağlı mortaliteye neden olduğunu göstermiştir. Daha önce gösterilen Thiaclopridin düşük dozlarda bile toksik etkiye sahip olduğunu gösteren

alışmalar ile elde ettiğimiz bulgular birbirleriyle paralellik göstermektedir. (Brandt vd. 2016:40; Mora-Gutiérrez vd. 2021: 9983201).

Bu çalışmada thiacloprid dozunun artmasına bağlı olarak SOD ve CAT enzim aktivitelerinin anlamlı düzeyde azaldığı, MDA düzeylerinin ise arttığı görülmüştür. Sonuçlarımıza benzer şekilde Bykgzel, (2009:152), Aslantürk vd. (2011:27), Emre vd. (2013:371), pestisit dozunun artmasına bağlı olarak SOD ve CAT enzim aktivitelerinin azaldığını ve MDA konsantrasyonlarının arttığını bildirmiştir. Ancak pestisit dozu ve uygulama süresine bağlı olarak oksidatif stres parametrelerinde anlamlı bir değişiklik olmadığını bildiren çalışmalar mevcuttur (Cheung vd. 2001; 189; Yonar, 2013: 609).

Çalışmamızda genel olarak SOD enzim aktivitesi, test edilen tüm periyotlarda kontrol ve negatif kontrol ile karşılaştırıldığında 5, 10 ve 15 µg thiacloprid dozlarında önemli ölçüde artarken, yüksek thiacloprid dozlarında (20, 25 ve 30 µg) hem kontrol gruplarında hem de düşük thiacloprid dozları (5, 10 ve 15 µg) nemli ölçüde azalmıştır. CAT aktivitesi, kontrol ve negatif kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 24 ve 96. saatlerde düşük thiacloprid dozlarında (5, 10 ve 15 µg) anlamlı artışlar gösterirken, 48 ve 72. saatlerde düşük thiacloprid dozlarında kontrol ile karşılaştırıldığında CAT aktivitesinde anlamlı bir fark yoktur. Test edilen tüm periyotlarda yüksek thiacloprid dozlarında (25 ve 30 µg), CAT aktivitesi kontrol gruplarına kıyasla önemli ölçüde azalmıştır. SOD enzimi serbest radikallerle karşı hücrelerin korunmasında başlıca enzimdir (Ighodaro ve Akinloye, 2018:287). Oluşan süperoksit radikallerini ortadan kaldırırken meydana gelen hidrojen peroksit ise başlıca CAT, GPx, APOX ve DHAR gibi diğer enzimatik antioksidanlar tarafından ortadan kaldırılarak hücrelerin tamamen serbest radikallerden arındırılması gerçekleştirilir (Summers ve Felton, 1993:235;.Barbehenn vd. 2001:349; Sen ve Chakraborty, 2011:1; Mathews vd. 1997:57).

Çalışmamızda düşük thiacloprid konsantrasyonlarında, oluşan süperoksit radikallerinin ortadan kaldırılması için SOD aktivitesinde artış meydana geldiği düşünülmektedir. Buna bağlı olarak da süperoksitdismutaz ve süperoksit radikalleri reaksiyonunun sonucunda oluşan hidrojen peroksitin ortadan kaldırılması için CAT enzim aktivitesinin de arttığı şeklinde bir yorum yapmak mümkün olabilir.

Artan thiacloprid dozlarında ise her iki enzim (SOD ve CAT) aktivitesinde de azalmalar meydana gelmiştir. Bu durum fazla sayıda oluşan serbest radikallerin antioksidan enzimler tarafından yeteri kadar ortadan kaldırılamadığı ve sonuçta bu enzimlerin aktivitelerini inhibe ettiği şeklinde yorumlanabilir. Bir çok çalışma yüksek insektisit

konsatrasyonlarında antioksidan enzim aktivitelerinin inhibe olduğunu göstermiştir (Kayis vd. 2019:36623; Mathews vd. 1997:57; Velisek ve Stara, 2018:481). Elde edilen bulgular bu çalışmalarla paralellik göstermektedir.

SOD ve CAT enzim aktiviteleri arasında tüm periyotlarda pozitif korelasyon bulunurken, bu enzimler ile MDA düzeyleri arasındaki ilişki negatif bulunmuştur. Hayvanlarda ve insanlarda in vivo olarak vücut sıvılarında ve farklı dokularda bulunan MDA, lipid peroksidasyonunun bir son ürünüdür (Pamplona vd. 2005: 21522; Baltacıoğlu vd. 2007:1432; Weissman vd. 2011:605), ve oksidatif stresin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yağ asitlerinin parçalanması sonucu oluşan MDA, lipoprotein, protein, DNA ve RNA grupları ile kolaylıkla reaksiyona girdiği için hücrel hasarların önemli bir göstergesidir (Esterbauer Cheeseman 1990:407).

Daha önce yapılan çalışmalarda pestisit maruziyetinin MDA seviyelerinde artışa neden olduğu bildirilmiş olup bu durum çalışmamızda elde edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir (Zhang vd. 2018: 812; Kayis vd. 2019:36623; Yucel ve Kayis 2019:27).

Çalışmamızda tüm thiacloprid dozlarında MDA miktarında gözlenen artışlar, oluşan serbest radikallerin antioksidan enzimler tarafından tamamen ortadan kaldırılamadığı, ki yüksek konsatrasyonlarda bu radikallerin enzimin kendisini de inhibe ettiği şeklinde yorumlanmıştı, ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonuna neden olarak hücrel hasarların ortaya çıktığı şeklinde yorumlanabilir.

Protein, lipid ve karbonhidratlar ROT'tan etkilenen moleküllerdir ve bunların depolanması ve kullanımı toksik strese bağlı olarak farklılık gösterebilir (Saleem vd. 1998: 144; Hogervorst vd. 2007: 223).

Çalışmamızda toplam protein miktarları 48. saatten sonra sadece yüksek thiacloprid dozlarında azalmalar göstermiştir. Diğer dozlarda kontrol grubuna göre önemli bir değişiklik meydana gelmemiştir. Ribeiro vd. (2001:131) böceklerde pestisitlerin etkisiyle oluşan oksidatif stres koşullarında protein katabolizmasında oluşan bir adaptasyon sonucu protein miktarlarında değişiklikler olabileceğini kaydetmişlerdir. Bunun yanında Yucel ve Kayis, (2019:27), *G mellonella* larvalarında imidaclopridin yüksek konsantrasyonlarının protein miktarında azalmaya neden olduğunu, Dağdevran, (2017:51) ise yine aynı böcekte emamektin benzoatın protein miktarları üzerine önemli bir etkide bulunmadığını belirtmişlerdir.

Böcekler yaşamsal aktivitelerinde gereksinim duydukları enerjiyi öncelikle karbohidratlardan sağlarlar (Lee vd. 2004:189; Chen ve Fadamiro, 2006: 46). Çalışmamızda 10 µg ve daha yüksek thiacloprid dozlarında karbohidrat miktarlarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Benzer sonuçlar thiamethoxam ve imidacloprid enjekte edilen *G. mellonella* larvalarında Yucel ve Kayis, (2019:27); Kayis vd. (2019:36623), spinosyn uygulanan *Spodoptera littoralis* larvalarında ve Spiromesifen uygulanan *Drosophila melanogaster*'de Kissoum ve Soltani, (2016:452) elde edilmiştir.

Böcekler enerji gereksinimleri için gerekli olan lipidleri başlıca besinlerinden sağlarlar. Elde edilen bu lipidler daha sonra ihtiyaç durumunda kullanılmak üzere depolanabilir. Bunun yanında lipidler protein ve karbohidrat moleküllerinden de sentezlenebilir (Werren, 1987:498-506).

Çalışmamızda lipid miktarlarında gözlenen azalmalar daha önce yapılan çalışmalarla paralellik göstermektedir. Kayis vd. (2019:27) thiamethoxam enjekte edilen *G. mellonella* larvalarında, Sak vd. (2006: 53) *P. turionellae*'da, Fotouhi vd. (2015:11) *B. mori*'de, Dağdevran, (2017:51) ve Yucel ve Kayis, (2019:27) *G. mellonella*'da farklı insektisitlerin toplam lipid miktarını önemli ölçüde azalttığını göstermişlerdir. Karbohidrat ve lipid miktarındaki bu azalmanın *G. mellonella* larvalarının içinde bulundukları stres koşullarında gereksinim duydukları enerjinin karşılanmasına yönelik bir azalma olduğu düşünülmektedir.

Toksik maddeler canlıların vücuduna alındıktan sonra ya detoksifikasyon enzimleri tarafından zararsız hale getirilir yada biyolojik olarak transformasyona uğratarak daha az zararlı bileşikler haline getirilirler. Tüm bu işlemlerde yani detoksifikasyon enzimlerinin ve HSP' lerinin (heat shock protein) sentezlenmesinde ve metabolitlerin vücuttan atılmasında enerji mutlaka kullanılmaktadır (Choi vd. 2001:11; Sak vd. 2006: 53; Maryanski vd. 2002:127). Çalışmamızda total lipid ve karbohidrat miktarlarında meydana gelen azalmaların thiaclopridin toksik etkilerinin ortadan kaldırılmasında yukarıda bahsedilen mekanizmaların gereksinim duyduğu enerji için kullanıldığı düşünülmektedir.

Böceklerde hücrel savunma sisteminin temelini oluşturan ve hemositler olarak bilinen kan hücreleri, mikroorganizmalara karşı savunmada önemli rol oynamaktadır. Bunun yanında hemositler toksik maddelerin detoksifikasyonunda, hormonların ve metabolitlerin taşınmasında da önemli role sahiptirler (Prakash, 2008:216). Bu nedenle açık dolaşım sistemine sahip olan böceklerde vücuda alınan toksik kimyasallardan etkilenmeleri kaçınılmazdır. Sınulan çalışmada *G. mellonella* larvalarının toplam hemosit sayılarının

thiacloprid etkisiyle genel olarak azalmalar gösterdiği görülmektedir. benzer şekilde Brandt vd. (2017:4673), *Apis mellifera*'da imidacloprid, thiacloprid ve clothianidinin, Yucel ve Kayis, (2019:27), *G. mellonella*'da imidaclopridin benzer şekilde toplam hemosit sayılarında azalmalara neden olduğunu göstermişlerdir.

Pestisitlerin böceklerde hematopoetik fonksiyonları ve miyotik aktiviteyi inhibe edebildiği aynı zamanda hücrelerde apoptozu indükleyebildikleri yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Zhu vd. 2012:1; Rajak vd. 2015:84; Gregorc ve Ellis, 2011:200; Wu, vd. 2015: 16823). Bunun yanında thiamethoksam gibi bazı insektistlerin böcek hemositlerinde yapısal deformasyonlara da neden olduğu bildirilmiştir (Oliveira vd. 2013:1122; Catae vd. 2014:274). Çalışmamızda toplam hemosit sayısındaki azalmanın thiaclopridin oluşturduğu oksidatif stres altında hemositlerde meydana gelen hücresel hasarlara bağlı olarak nekrozun artması veya oksidatif stres altında artan ROT'lerden kaynaklı olarak apoptozun iindüklenmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Pestisitler canlı organizmalar için az veya çok toksik etkilerini gösterirler. Fakat bu tür kimyasalların yüksek dozları kromozom anormalliklerine, kırıklara, mutasyona ve mikronükleus oluşumuna yol açabilir (Tosun vd. 2001:113). Artan mikronükleus oranı toksik maddelerin mutajenik ve karsinojenik etkilerinin indirekt göstergesi olarak kabul edilir (Rencuzogullari ve Topaktas, 2000:83; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011:241). Bir çok farklı pestisit türünün canlı organizmalarda mikronükleus oluşumunu tetiklediği bildirilmiştir (Rencuzogullari ve Topaktas, 2000:83; Çelik vd. 2005:125; Uçkan ve Sak, 2010:20). Çalışmamızda özellikle yüksek thiacloprid dozlarında mikronükleus sayılarında önemli artışların olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda ratlarda, farelerde, balıklarda ve insan lenfosit hücrelerinde insektisitlerin mikronükleus oluşumunu artırdığı gösterilmiştir (Karabay ve Oğuz, 2005:605; Kataria vd. 2016:59; Stivaktakis vd. 2010:80; Ansoar-Rodriguez vd. 2015:1360). Bunun yanında farklı böcek türleriyle yapılan çalışmalar da elde edilen verilerimizle paralellik göstermektedir. Uçkan ve Sak (2010:20) sipermetrinin *Pimpla turionellae*'de, Li vd. (2011:3156) acetamipridin *Pardosa astrigera*'da, Kurt ve Kayis (2015:452) deltametrinin, Yucel ve Kayis vd. (2019:27) imidaklopridin ve Kayis vd. (2019:36623) thiamethoksamın *G. mellonella* larvalarında mikronükleus oluşumunu artırdığını göstermişlerdir. Çalışmamızda ortaya çıkan müironükleus sayısındaki artışın thiaclopridin neden olduğu oksidatif stres altında ortaya çıkan yüksek miktardaki serbest radikalın DNA üzerine olan genotoksik etkisinden kaynaklandığını düşünmekteyiz

6. SONUÇLAR

Sonuç olarak thiacloprid *G. mellonella* larvalarında antioksidan enzim aktiviteleri, MDA düzeyi, total protein, lipid ve karbonhidrat düzeylerinde önemli değişikliklere neden olmuştur. Bunun yanında toplam hemosit sayılarında azalmalara ve mikronükleus oluşumunda önemli artışlara neden olmuştur.

Thiacloprid, oksidatif strese neden olarak larvaların normal hemostatik mekanizmasını bozmuş ve serbest radikal üretimini arttırmış, antioksidan enzim aktivitelerinde ve enerji kaynaklarının kullanımında değişikliklere yol açmıştır. Yukarıda belirtilen biyomarkırlar pestisitlerin toksik etkilerinin ortaya konulmasında son derece kullanışlı parametreler olup, *G. mellonella*'nın model organizma olarak kullanımının son yıllarda önemli ölçüde artması ve memeliler için son derece kullanışlı bir model organizma olması nedeniyle çalışmadan elde edilen sonuçlar, thiacloprid'in memeliler ve hedef dışı canlılar üzerindeki potansiyel etkilerini ortaya koyması açısından önemlidir.

KAYNAKÇA

- Adwas, A.A., Elsayed, A., Azab, A.E. and Quwaydir, F.A. (2019). "Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body". Journal of Applied Biology and Biotechnology, 6 (1), 43-47.
- Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro". Methods in enzymology, 105, 121-126.
- Akkuş, İ. (1995). "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri". Konya: Mimoza Yayınları, 1, 57-63.
- Al-Mamary, M., Al-Meeri, A. and Al-Habori, M. (2002). "Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey". Nutrition research, 22(9), 1041-1047.
- Angral, P. and Bandral, R. S. (2024). "Effect of thiacloprid exposure on honey bees *Apis mellifera* F. Indian Journal of Entomology", 86 (1), 118-122.
- Ansoar-Rodríguez, Y., Christofolletti, C. A., Marcato, A. C., Correia, J. E., Bueno, O. C., Malaspina, O. and Fontanetti, C. S. (2015). "Genotoxic potential of the insecticide imidacloprid in a non-target organism (*Oreochromis niloticus*-Pisces)". Journal of Environmental Protection, 6 (12), 1360-1367.
- Arslan, Ö., Boyacıoğlu, M., Parlak, H., Katalay, S. and Karaaslan, M. (2015). "Assessment of micronuclei induction in peripheral blood and gill cells of some fish species from Aliğa Bay Turkey". Marine pollution bulletin, 94 (1-2), 48-54.
- Arslan, Ö.Ç., Parlak, H., Katalay, S., Boyacıoğlu, M., Karaaslan, M. and Guner, H. (2010). "Detecting micronuclei frequency in some aquatic organisms for monitoring pollution of Izmir Bay (Western Turkey)". Environmental Monitoring Assessment, 165 (1-4), 55-66.
- Aslanturk, A., Kalender, S., Uzunhisarcikli, M. and Kalender, Y., (2011). "Effects of methidathion on antioxidant enzyme activities and malondialdehyde level in midgut tissues of *Lymantria dispar* (Lepidoptera) larvae". Journal of the Entomological Research Society, 13 (3), 27-38.
- Association, A.L. (2001). "Urban air pollution and health inequities: a workshop report". Environmental Health Perspectives, 109 (suppl 3), 357-374.
- Atuma, S.S. and Aune, M. (1999). "Method for the determination of PCB congeners and chlorinated pesticides in human blood serum". Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 62, 8-15.
- Aydın, A., Sayal, A. ve Işimer, A. (2001). "Serbest radikaller ve antioksidan savunma sistemi. Ankara: Gülhane Askeri Tıp Akademisi Ayın Kitabı".
- Azab, A.E. and Albasha, M.O. (2018). "Hepatoprotective effect of some medicinal plants and herbs against hepatic disorders induced by hepatotoxic agents". Journal of Applied Biology and Biotechnology, 2 (1), 8-23.

Azab, A.E., Albasha, M.O. and Elsayed, A. (2017). "Prevention of nephropathy by some natural sources of antioxidants". *Yangtze Medicine*, 1 (4), 235-266.

Bal, R., Türk, G., Tuzcu, M., Yilmaz, O., Kuloglu, T., Gundogdu, R. and Etem, E. (2012). "Assessment of imidacloprid toxicity on reproductive organ system of adult male rats". *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47 (5), 434-444.

Baltacıoğlu, E., Yuva, P., Aydın, G., Alver, A., Kahraman, C., Karabulut, E. and Akalın, F. A. (2014). "Lipid peroxidation levels and total oxidant/antioxidant status in serum and saliva from patients with chronic and aggressive periodontitis. Oxidative stress index: a new biomarker for periodontal disease?". *Journal of periodontology*, 85 (10), 1432-1441.

Barbehenn, R.V., Bumgarner, S.L., Roosen, E.F. and Martin, M.M. (2001). "Antioxidant defenses in caterpillars: role of the ascorbate-recycling system in the midgut lumen". *Journal of Insect Physiology*, 47 (4-5), 349-357.

Bar-Or, D., Rael, L., Lau, E., Rao, N., Thomas, G., Winkler, J. and Curtis, C. (2001). "An analog of the human albumin N-terminus (AspAla -His- Lys) prevents formation of copper induced reactive oxygen species". *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 284 (3), 856-862.

Bass, C. and Field, L.M. (2018). "Neonicotinoids". *Current Biology*, 28 (14), 772-773.

Berger, M.M. (2005). "Can oxidative damage be treated nutritionally?". *Clinical Nutrition*, 24 (2), 172-183.

Betteridge, D. J. (2000). "What is oxidative stress?". *Metabolism*, 49 (2), 3-8.

Bolognesi, C., Perrone, E., Roggieri, P., Pampanin, D. and Sciutto, A. (2006). "Assessment of micronuclei induction in peripheral erythrocytes of fish exposed to xenobiotics under controlled conditions". *Aquatic Toxicology*, 1 (78), 93-98.

Bolwer, C., Montagu, M.V. and Inze, D. (1992). "Superoxide dismutases and stress tolerance". *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43 (1), 83-116.

Brandt, A., Gorenflo, A., Siede, R., Meixner, M. and Büchler, R. (2016). "The neonicotinoids thiacloprid, imidacloprid, and clothianidin affect the immunocompetence of honey bees (*Apis mellifera* L.)". *Journal of Insect Physiology*, 86, 40-47.

Brandt, A., Grikscheit, K., Siede, R., Grosse, R., Meixner, M. D. and Büchler, R. (2017). "Immunosuppression in honeybee queens by the neonicotinoids thiacloprid and clothianidin". *Scientific reports*, 7(1), 4673.

Brandt, A., Hohnheiser, B., Sgolastra, F., Bosch, J., Meixner, M. D. and Büchler, R. (2020). "Immunosuppression response to the neonicotinoid insecticide thiacloprid in females and males of the red mason bee (*Osmia bicornis* L.)". *Scientific reports*, 10 (1), 4670.

Bredenberg, Al (2012). "Online Cool Farm' Tool Helps Farmers Calculate Their Carbon Footprint". (<https://inhabitat.com/online-cool-farm-tool-helps-farmers-calculate-their-carbon-footprint/>) (10.10.2017)

Bronskill, J. (1961). "A cage to simplify the rearing of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Pyralidae)". Journal of The Lepidopterists' Society, 15 (2), 102-104.

Brown, K.M. and Arthur, J. R. (2001). "Selenium, selenoproteins and human health: a review". Public Health Nutrition, 4 (2b), 593-599.

Buyukguzel, E. (2009). "Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion". Journal of Economic Entomology, 120 (1), 152-159.

Cam, M., Yavuz, Ö., Guven, A., Ercan, F., Bukan, N. ve Üstündag, N. (2003). "Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin induced diabetic rats". Journal of Pineal Research, 35(3), 212-220.

Casida, J. E. and Quistad, G. B. (2004). "Why insecticides are more toxic to insects than people: the unique toxicology of insects". Journal of Pesticide Science, 29 (2), 81-86.

Catae, A.F, Roat, T.C, Oliveira, R.A, Nocelli, R.E. and Malaspina, O. (2014). "Cytotoxic effects of thiamethoxam in the midgut and malpighian tubules of Africanized *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)". Microscopy Research and Technique, 77 (4), 274–281.

Catalá, A. (2006). "An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay". The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 38 (9), 1482-1495.

Chabory, E., Damon, C., Lenoir, A., Kauselmann, G., Kern, H., Zevnik, B. and Vernet, P. (2009). "Epididymis seleno-independent glutathione peroxidase 5 maintains sperm DNA integrity in mice". The Journal of Clinical Investigation, 119 (7), 2074-2085.

Chao, J.C.J., Huang, C.H., Wu, S.J., Yang, S.C., Chang, N.C., Shieh, M.J. and Lo, P.N. (2002). "Effects of β -carotene, vitamin C and E on antioxidant status in hyperlipidemic smokers". The Journal of Nutritional Biochemistry, 13 (7), 427-434.

Chapman, R.F., (1998). "The Insects: Structure and Function". Cambridge University Press, Cambridge". (No. Ed. 3, pp. xiv+-919).

Champion, O. L., Wagley, S. And Titball, R. W. (2016). "*Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research". Virulence, 7 (7), 840-845.

Charrière, J. D. and Imdorf A. (1999). "Protection of Honey Combs From Wax Moth Damage". American Bee Journal, 139, 627–630.

Chen, L. and Fadamiro, H. Y. (2006). Comparing the effects of five naturally occurring monosaccharide and oligosaccharide sugars on longevity and carbohydrate nutrient levels of a parasitic phorid fly, *Pseudacteon tricuspis*. Physiological Entomology, 31(1), 46-56.

Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C. and Mecocci, P. (2005). "Potential markers of oxidative stress in stroke". *Free Radical Biology and Medicine*, 39 (7), 841-852.

Cheung, C., Zheng, G.J., Li, A., Richardson, B.J. and Lam, P. (2001). "Relationships between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels". *Aquatic Toxicology*, 52 (3-4), 189-203.

Choi, J., Roche, H. and Caquet, T. (2001). "Hypoxia, hyperoxia and exposure to potassium dichromate or fenitrothion alter the energy metabolism in *Chironomus riparius* Mg. (Diptera: Chironomidae) larvae". *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology Pharmacology*, 130 (1), 11-17.

Cnubben, N.H., Rietjens, I.M., Wortelboer, H., van Zanden, J. and van Bladeren, P. J. (2001). "The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense". *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 10 (4), 141-152.

Codling, G., Al Naggar, Y., Giesy, J.P. and Robertson, A.J. (2016). "Concentrations of neonicotinoid insecticides in honey, pollen and honey bees (*Apis mellifera* L.) in central Saskatchewan". *Chemosphere*, 144, 2321-2328.

Copplestone, J.F. (1988). "The development of the WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard". *Bulletin of the World Health Organization*, 66 (5), 545-551.

Coskun, M., Kayis, T., Gulsu, E. ve Alp, E. (2020). "Effects of selenium and vitamin E on enzymatic, biochemical, and immunological biomarkers in *Galleria mellonella* L". *Scientific Reports*, 10 (1), 9953.

Costa, C., Silvani, V., Melchini, A., Catania, S., Heffron, J. J., Trovato, A. and De Pasquale, R. (2009). "Genotoxicity of imidacloprid in relation to metabolic activation and composition of the commercial product". *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 672 (1), 40-44.

Coşkun, N., (2019). Thiaclopridin sıçanlar üzerine elektrofizyolojik, biyokimyasal, histopatolojik etkilerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Çamlıca, Y., Pekoğlu, E ve Yılmaz, Ş. (2016). "Thiacloprid ve D-Tubokurarin'in Kurbağa İskelet Kası Üzerine Ultrastrüktürel Etkileri". *Süleyman Demirel Üniversitesi Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 128-140.

Çelik A, Mazmancı B, Çamlıca Y, Aşkin A, and Çömelekoğlu Ü (2005). "Induction of micronuclei by lambda-cyhalothrin in Wistar rat bone marrow and gut epithelial cells". *Mutagenesis*, 20 (2), 125-129.

Çelik, C. (2023). Oksiklozanidin *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera:Pyralidae)'nın farklı gelişim evreleri üzerine oksidatif etkisi. Doktora Tezi. Zonguldak: Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Dağdevran, B. (2017). "Emamektin Benzoatın *Galleria mellonella* 'nın Bazı Biyokimyasal Parametreleri Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi. Adıyaman: Adıyaman üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Dailianis, S., Domouhtsidou, G., Raftopoulou, E., Kaloyianni, M. and Dimitriadis, V. (2003). "Evaluation of neutral red retention assay, micronucleus test, acetylcholinesterase activity and a signal transduction molecule (cAMP) in tissues of *Mytilus galloprovincialis* (L.), in pollution monitoring". Marine Environmental Research, 56 (4), 443-470.

Desai, A. V., Siddhapara, M. R., Patel, P. K. and Prajapati, A. P. (2019). "Biology of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. on artificial diet". Journal of Experimental Zoology India. 22, 1267-1272.

Devasagayam, T.P.A., Tilak, J.C., Boloor, K.K., Sane, K.S., Ghaskadbi, S.S. and Lele, R.D. (2004). "Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects". Journal of the Association of Physicians of India, 52, 794-804.

Drum, C. (1980). "Soil chemistry of pesticides". PPG Industries. Inc. USA.

Duarte, T.L., and Lunec, J. (2005). "When is an antioxidant not an antioxidant? ". A review of novel actions and reactions of vitamin C. Free Radical Research, 39 (7), 671-686.

Durieux, M. F., Melloul, É., Jemel, S., Roisin, L., Dardé, M. L., Guillot, J. and Botterel, F. (2021). "*Galleria mellonella* as a screening tool to study virulence factors of *Aspergillus fumigatus*". 12 (1), 818-834.

Durmuş, A. (2005). "Serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar ve kırık iyileşmesi". Fırat Üniversitesi Doğu Araştırmaları Dergisi, 20-27.

Ebaid, H., Bashandy, S.A., Alhazza, I.M., Rady, A. and El-Shehry, S. (2013). "Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats". Nutrition and metabolism, 10 (1), 10-20.

Ecobichon, D. (2001). "Pesticide use in developing countries. Toxicology". 160 (1-3), 27-33.

Eddleston, M., Karalliedde, L., Buckley, N., Fernando, R., Hutchinson, G., Isbister, G. and Smit, L. (2002). "Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticides list". The Lancet, 360 (9340), 1163-1167.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ) Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies R. and Lindqvist, R. (2018). "*Listeria monocytogenes* contamination of ready-to-eat foods and the risk for human health in the EU". EFSA journal 16(1): e05134.

Elbert, A., Ebbinghaus-Kintscher, U., Erdelen, C., Nauen, R. and Schnorbach, H. J. (2001). "The biological profile of Thiacloprid-a new chloronicotinyl insecticide". Pflanzenschutz Nachrichten-Bayer-English Edition, 185-208.

Ellis, J. D., Graham, J. R. and Mortensen, A. (2013). "Standard methods for wax moth research". Journal of Apicultural Research, 52 (1), 1-17.

Emre, I., Kayis, T., Coskun, M., Dursun, O. and Cogun, H.Y. (2013). "Changes in antioxidative enzyme activity, glycogen, lipid, protein, and malondialdehyde content in cadmium-treated *Galleria mellonella* larvae". Annals of the Entomological Society of America, 106 (3), 371-377.

Er, A. (2011). Endoparazitoit *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera; Ichneumonidae) zehiri ve parazitlenmesinin konak hemositlerine etkileri. Doktora Tezi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ertürk, B. (2019). Deltametrin ve Thiakloprid Karışımının İnsan Akciğer Hücrelerindeki Sitotoksitesi ve DNA çift zincir üzerindeki etkileri. Doktora Tezi. Ordu: Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Esterbauer, H., and Cheeseman, K.H. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In Methods in enzymology, (Vol. 186, pp. 407-421). Academic Press.

European Commission, "Bee Health: EU-wide Restrictions on Pesticide Use to Enter into Force". European Commission, Brussels, 2013.

Fenech, M. (2000). "The in vitro micronucleus technique". Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 455(1-2), 81-95.

Finaud, J., Lac, G., and Filaire, E. (2006). "Oxidative stress: relationship with exercise and training". Sports Medicine, 36, 327-358.

Finney, D. (1982). "Probit analysis" 3rd edn. Cambridge University Press, Cambridge".

Fotouhi, K., Fazel, M.M. and Kavaousi, A., (2015). "Effects of pyriproxyfen on bioenergetic resources of *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)". Turkish Journal of Entomology, 39 (1), 11-22.

Frenich, A.G., González, F.E., Juan, A.M. and Vidal, J.M. (2007). "Hazard identification and human exposure to pesticides". In Thermodynamics, Solubility and Environmental Issues, 429-444.

Galdíková, M., Holečková, B., Šivíková, K., Schwarzbacherová, V. and Koleníková, S. (2019). "Evaluating the genotoxic damage in bovine whole blood cells in vitro after exposure to thiacloprid". Toxicology In Vitro, 61, 104616.

Galdíková, M., Šivíková, K., Holečková, B., Dianovský, J., Drážovská, M. and Schwarzbacherová, V. (2015). "The effect of Thiachloprid formulation on DNA/chromosome damage and changes in GST activity in bovine peripheral lymphocytes". Journal of Environmental Science and Health, 50 (10), 698-707.

Gangemi, S., Miozzi, E., Teodoro, M., Briguglio, G., De Luca, A., Alibrando, C. and Libra, M. (2016). "Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans". *Molecular Medicine Reports*, 14 (5), 4475-4488.

Garrido, E.M., Delerue. Matos, C. and Lima, J. (2004). "Electrochemical methods in pesticides control". *Analytical Letters*, 37 (9), 1755-1791.

George, E. P. and Ambrose, D.P. (2004). "Impact of insecticides on the haemogram of *Rhynocoris kumarii* Ambrose and Livingstone (Hem., Reduviidae) ". *Journal of Applied Entomology*, 128(9-10), 600-604.

Gilden, R.C., Huffling, K. and Sattler, B. (2010). "Pesticides and health risks. *Journal of Obstetric*". *Gynecologic and Neonatal Nursing*, 39 (1), 103-110.

Gililland, J.M., Anderson, L.A., Erickson, J., Pelt, C.E. and Peters, C.L. (2013). "Mean 5-year clinical and radiographic outcomes of cementless total hip arthroplasty in patients under the age of 30". *BioMed Research International*, 30, (1), 649506.

Girotti, A.W. (1998). "Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems". *Journal of Lipid Research*, 39 (8), 1529-1542.

Gökkus, U.C., Palanduz, S.Ü., Ademoğlu, E. ve Tamer, S. U. (2001). "Oxidant and antioxidant systems in NIDDM patients: Influence of Vitamin E supplementation". *Endocrine Research*, 27(3), 377-386.

Green, R., Graham, M., Donovan, M., Chipman, J.K. and Hodges, N. (2006). "Subcellular compartmentalization of glutathione: correlations with parameters of oxidative stress related to genotoxicity". *Mutagenesis*, 21(6), 383-390.

Gregorc, A. and Ellis, J. D. (2011). "Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99 (2), 200-207.

Guerrero-Romero, F. and Rodríguez-Morán, M. (2005). "Complementary therapies for diabetes: the case for chromium, magnesium, and antioxidants". *Archives of Medical Research*, 36 (3), 250-257.

Gupta, R.K., Patel, A.K., Shah, N., Choudhary, A., Jha, U.K., Yadav, U.C. and Pakuwal, U. (2014). "Oxidative stress and antioxidants in disease and cancer: a review". *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 15(11), 4405-4409.

Gurur (2013). "Su Kaynağı Nedir?", (<http://www.nkfu.com/su-kaynagi-nedir/>) (10.10.2017).

Gutteridge, J.M. (1995). "Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage". *Clinical Chemistry*, 41(12), 1819-1828.

Gutteridge, J.M.C. (1994). "Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection". *Chemico-Biological Interactions*, 91(2-3), 133-140.

Gümrükçüoğlu, A. "Serbest Radikaller. Erişim: genetikbilimi.com/gen/serbest-radikaller". 28.01.2009.

Gürkan, A.S ve Dünder, O.B. (2005). "Coenzyme Q10". *Ankara Pharm Faculty*, 34(2) , 129-154 .

Halliwell, B. (1987). "Oxidants and human disease: Some new concepts 1. The FASEB Journal, 1(5), 358-364.

Halliwell, B. (2007). "Biochemistry of oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, 35(5), 1147-1150.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C. (1999). "Free radicals in biology and medicine". Third Edition, Oxford University Press. Inc., New York, 936s.

Harvey, J., Lyons, B., Page, T., Stewart, C. and Parry, J. (1999). "An assessment of the genotoxic impact of the Sea Empress oil spill by the measurement of DNA adduct levels in selected invertebrate and vertebrate species". *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 441(1), 103-114.

Hayes, J.D. and Pulford, D.J. (1995). "The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance part I". *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 30 (6), 521-600.

Heinzow, B.G. and McLean, A. (1994). "Critical evaluation of current concepts in exposure assessment". *Clinical Chemistry*, 1368-1375.

Hillyer, J. F. and Pass, G. (2020). "The Insect Circulatory System: Structure, Function, and Evolution". *Annual Review of Entomology*, 65, 121–143.

Hiner, A.N., Raven, E.L., Thorneley, R.N., García-Cánovas, F., Rodríguez and López, J.N. (2002). "Mechanisms of compound I formation in heme peroxidases". *Journal of Inorganic Biochemistry*, 9 (1), 27-34.

Ho, Y.S., Xiong, Y., Ma, W., Spector, A. and Ho, D.S. (2004). "Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury". *Journal of Biological Chemistry*, 279 (31), 32804-32812.

Hogervorst, P.A., Wäckers, F.L. and Romeis, J. (2007). "Effects of honeydew sugar composition on the longevity of *Aphidius ervi*". *Entomology Experimentalis et Applicata*, 122 (3), 223-232.

Hughes, K., Lee, B.L., Feng, X., Lee, J. and Ong, C.N. (2002). "Coenzyme Q10 and differences in coronary heart disease risk in Asian Indians and Chinese". *Free Radical Biology and Medicine*, 32 (2), 132-138.

Hussein, H.K., Elnaggar, M.H. and Al-Zahrani, N.K. (2012). "Antioxidant role of folic acid against reproductive toxicity of cyhalothrin in male mice". *Global Advanced Research Journal of Environmental Science and Toxicology*, 1 (4), 66-71.

Ighodaro, O.M. and Akinloye O.A. (2018). "First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire anti-oxidant defence grid". *Alexandria Journal of Medicine*, 54 (4), 287–293.

Ihara, M., Brown, L. A., Ishida, C., Okuda, H., Sattelle, D. B. and Matsuda, K. (2006). "Actions of imidacloprid, clothianidin and related neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors of American cockroach neurons and their relationships with insecticidal potency". *Journal of Pesticide Science*, 31(1), 35-40.

Imlay, J. A. (2003). "Pathways of oxidative damage". *Annual Reviews in Microbiology*, 57 (1), 395-418.

Ishikawa, T.T., McNeely, S., Steiner, P.M., Glueck, C.J., Mellies, M., Gartside, P.S. and McMillin, C. (1978). "Effects of chlorinated hydrocarbons on plasma α -lipoprotein cholesterol in rats". *Metabolism*, 27 (1), 89-96.

Järup, L. (2003). "Hazards of heavy metal contamination". *British Medical Bulletin*, 68 (1), 167-182.

Jeschke, P. and Nauen, R. (2008). "Neonicotinoids from zero to hero in insecticide chemistry". *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 64 (11), 1084-1098.

Jomova, K. and Valko, M. (2011). "Advances in metal-induced oxidative stress and human disease". *Toxicology*, 283 (2-3), 65-87.

Jones, J.C. (1962). "Current concepts concerning insect hemocytes". *American Zoologist*, 2, 209–246.

Kalinina, E.V., Chernov, N.N. and Novichkova, M. (2014). "Role of glutathione, glutathione transferase and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes". *Biochemistry (Moscow)*, 79 (13), 1562-1583.

Kanner, J., German, J.B., Kinsella, J.E. and Hultin, H.O. (1987). "Initiation of lipid peroxidation in biological systems". *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 25 (4), 317-364.

Karabay, N. U. and Oguz, M. G. (2005). "Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos". *Genetics and Molecular Research*, 4 (4), 653-662.

Karlaganis, G., Marioni, R., Sieber, I., and Weber, A. (2001). "The elaboration of the 'Stockholm convention' on persistent organic pollutants (POPs): a negotiation process fraught with obstacles and opportunities". *Environmental Science and Pollution Research*, 8, 216-221.

Kataria, S. K., Chhillar, A. K., Kumar, A., Tomar, M. and Malik, V. (2016). "Cytogenetic and hematological alterations induced by acute oral exposure of imidacloprid in female mice". *Drug and Chemical Toxicology*, 39 (1), 59-65.

Kathryn, Klarich L, Nicholas, Pflug C, Eden, DeWald M, Michelle, Hladik L, Dana, Kolpin W, David, Cwiertny M and Gregory, LeFevre H (2017). Occurrence of neonicotinoid insecticides in finished drinking water and fate during drinking water treatment, *Environmental Science and Technological Letter*, 4, 168-173.

Kayis, T., Altun, M. and Coskun, M. (2019). "Thiamethoxam-mediated alteration in multi-biomarkers of a model organism, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)". *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 36623-36633.

Kissoum, N. and Soltani, N. (2016). "Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*". *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4 (1), 452-456.

Kollmeyer, W. D., Flattum, R. F., Foster, J. P., Powell, J. E., Schroeder, M. E. and Soloway, S. B. (1999). "Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides". In *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor* (pp. 71-89). Tokyo: Springer Japan.

Kovacic, P., Pozos, R.S., Somanathan, R., Shangari, N. and O'Brien, P. J. (2005). "Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships". *Current Medicinal Chemistry*, 12 (22), 2601-2623.

Kovganko, N. V. and Kashkan, Z. N. (2004). "Advances in the synthesis of neonicotinoids". *Russian Journal of Organic Chemistry*, 40, 1709-1726.

Krauth-Siegel, R. L., Bauer, H. and Schirmer, R. H. (2005). "Dithiol proteins as guardians of the intracellular redox milieu in parasites old and new drug targets in trypanosomes and malaria-causing plasmodia". *Angewandte Chemie International Edition*, 44 (5), 690-715.

Kurt, D., and Kayış, T. (2015). "Effects of the pyrethroid insecticide deltamethrin on the hemocytes of *Galleria mellonella*". *Turkish Journal of Zoology*, 39 (3), 452-457.

Kwadha, C. A., Ong'amo, G. O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K. and Fombong, A. T. (2017). "The biology and control of the greater wax moth, *Galleria mellonella*". *Insects*, 8 (2), 61.

Lagman, M., Ly, J., Saing, T., Kaur Singh, M., Vera Tudela, E., Morris, D. and Venketaraman, V. (2015). "Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes". PloS one, 10(3), e0118436.

Lavine, M.D. and Strand, M.R., (2002). "Insect hemocytes and their role in immunity". Insect Biochemistry and Molecular Biology, 32(10), 1295-1309.

Laycock, I., Cotterell, K. C., O'Shea-Wheller, T. A. and Cresswell, J. E. (2014). "Effects of the neonicotinoid pesticide thiamethoxam at field-realistic levels on microcolonies of *Bombus terrestris* worker bumble bees". Ecotoxicology and Environmental Safety, 100, 153-158.

Lee, J. C., Heimpel, G. E. and Leibe, G. L. (2004). "Comparing floral nectar and aphid honeydew diets on the longevity and nutrient levels of a parasitoid wasp". Entomologia Experimentalis et Applicata, 111 (3), 189-199.

Levin, D.M., (2007). "An integrin required for the encapsulation immune response in the tobacco hornworm *Manduca sexta* L". (Lepidoptera: Sphingidae), PhD Thesis, 60 Kansas State University, College of Agriculture, Department of Entomology, Manhattan, Kansas.

Li, R., Li, S. and Liu, J., (2011). "Studies of hemocytes DNA damage by two pesticides acetamiprid and chlorpyrifos in predaceous spiders of *Pardosa astrigera* Koch". Acta Ecologia Sinica, 31(11), 3156-3162.

Liu, H., Huang, G.W., Zhang, X.M., Ren, D.L. and Wilson, J.X. (2010). "Folic acid supplementation stimulates notch signaling and cell proliferation in embryonic neural stem cells". Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 47 (2), 174-180.

Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., Badgujar, P., Doltade, S. and Telang, A. (2014). "Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin". Neurochemistry International, 78, 122-129.

Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A. and Randall, R. (1951). "Protein measurement with the Folin phenol reagent". The Journal of Biological Chemistry, 193 (1), 265-75.

Lucock, M. (2004). "Is folic acid the ultimate functional food component for disease prevention?". Bmj, 328 (7433), 211-214.

Maryanski, M., Kramarz, P., Laskowski, R. and Niklinska, M. (2002). "Decreased energetic reserves, morphological changes and accumulation of metals in carabid beetles (*Poecilus cupreus* L.) exposed to zinc-or cadmium-contaminated food". Ecotoxicology, 11(2), 127-139.

Mathews, C.M., Summers, C.B. and Felton, G.W. (1997). "Ascorbate peroxidase: a novel antioxidant enzyme in insects". Archives Insect Biochemistry and Physiology, 34, 57-68.

- Matsuda, K., Buckingham, S. D., Kleier, D., Rauh, J. J., Grauso, M. and Sattelle, D. B. (2001). "Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors". *Trends in Pharmacological Sciences*, 22 (11), 573-580.
- Mc Kinlay, R., Plant, J.A., Bell, J. and Voulvoulis, N. (2008). "Endocrine disrupting pesticides: implications for risk assessment". *Environment International*, 34 (2), 168-183.
- McCord, J. (1969). "Superoxide dismutase; an enzymic function for erythrocuprein (homocuprein)". *The Journal of Biological Chemistry*, 6069-6055.
- Memisoğullari, R., Taysı, S., Bakan, E. ve Capoglu, I. (2003). "Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus". *Cell Biochemistry and Function*, 21 (3), 291-296.
- Menard, G., Rouillon, A., Ghukasyan, G., Emily, M., Felden, B. and Donnio, P. Y. (2021). "*Galleria mellonella* Larvae as an Infection Model to Investigate sRNA Mediated Pathogenesis in *Staphylococcus Aureus*". *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 631710.
- Mencke, N. and Jeschke, P. (2002). "Therapy and prevention of parasitic insects in veterinary medicine using imidacloprid". *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2 (7), 701-715.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F. (2004). "Questions and future challenges". *Trends in Plant Science*, 490-498.
- Mora-Gutiérrez, A., Guevara, J., Rubio, C., Calvillo-Velasco, M., Silva-Adaya, D., Retana-Márquez, S. and Rubio-Osornio, M. (2021). "Clothianidin and Thiacloprid Mixture Administration Induces Degenerative Damage in the Dentate Gyrus and Alteration in Short-Term Memory in Rats". *Journal of Toxicology*, 2021(1), 9983201.
- Nauen, R. and Bretschneider, T. (2002). "New modes of action of insecticides". *Pesticide Outlook*, 241-245.
- Nordberg, J. and Arnér, E.S.J., (2001). "Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system". *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1312.
- Nozik-Grayck, E., Suliman, H.B. and Piantadosi, C.A. (2005). "Extracellular superoxide dismutase". *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 37(12), 2466-2471.
- Odukkathil, G. and Vasudevan, N. (2013). "Toxicity and bioremediation of pesticides in agricultural soil". *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12, 421-444.
- Oliveira, R.A, Roat, T.C, Carvalho and S.M, Malaspina, O. (2013). "Side-effects of thiamethoxam on the brain and midgut of the Africanized honeybee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae)". *Environmental Toxicology*, 29 (10), 1122–1133.
- Onat, T., Emerk, K. ve Sözmen, E.Y. (2002). "İnsan biyokimyası". Palme yayıncılık, 666.

Osterauer, R. and Köhler, H.R. (2008). "Temperature-dependent effects of the pesticides Thiachloprid and diazinon on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*) ". Aquatic Toxicology, 86 (4), 485-494.

Öncüler, C. ve Durmuşoğlu, E. (2008). "Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları". Adnan Menderes Üniversitesi, 464.

Özdem, S. S. ve Şadan, G. (1994). "Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve klinik açıdan önemi". Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak Dergisi; 11, 63-71.

Özkan, A. ve Fışkın, K. (2004). "Serbest oksijen radikalleri, karsinogenez ve antioksidant enzimler". Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi, 14, 52-60.

Pamplona, R., Dalfó, E., Ayala, V., Bellmunt, M. J., Prat, J., Ferrer, I. and Portero-Otín, M. (2005). "Proteins in human brain cortex are modified by oxidation, glycoxidation, and lipoxidation: effects of Alzheimer disease and identification of lipoxidation targets". Journal of Biological Chemistry, 280 (22), 21522-21530.

Patton, R.L. (1983). "Introductory insect physiology". W.B. Saunders Co. Philadelphia, 245.

Pei, S., Minhajuddin, M., Callahan, K.P., Balys, M., Ashton, J.M., Neering, S. J. and Jordan, C.T. (2013). "Targeting aberrant glutathione metabolism to eradicate human acute myelogenous leukemia cells". Journal of Biological Chemistry, 288 (47), 33542-33558.

Pereira, M. F., Rossi, C. C., Vieira de Queiroz, M., Martins, G. F., Isaac, C., Bosse, J. T. and Bazzolli, D. M. S. (2015). "*Galleria mellonella* is an effective model to study *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection". Microbiology, 161(2), 387-400.

Pham-Huy, L.A., He, H. ve Pham-Huy, C. (2008). "Free radicals, antioxidants in disease and health". International Journal of Biomedical Science, 4(2), 89-96.

Poljsak, B., Šuput, D. and Milisav, I. (2013). "Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants". Oxidative Medicine and Cellular Longevity, (1), 956792.

Prakash, M. (2008). "Insect physiology". In: Encyclopedia of Entomology, 3rd edn. Discovery Pub. House Pvt. Ltd., New Delhi, 216-257.

Prior, R. L. and Cao, G. (1999). "Antioxidant capacity and polyphenols components of teas: implications for altering in vivo antioxidant status". Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 220 (4), 255-261.

Rajak, P., Dutta, M. and Roy, S., (2015). "Altered differential hemocyte count in 3rd instar larvae of *Drosophila melanogaster* as a response to chronic exposure of Acephate" Interdisciplinary Toxicology, 8 (2), 84-88.

Ray, D. E. and Fry, J. R. (2006). "A reassessment of the neurotoxicity of pyrethroid insecticides". Pharmacology Therapeutics, 111(1), 174-193.

Kıvrak, G. ve Ay, R. (2019). "Thiacloprid ve Spiromesifen'in Avcı Akar *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari: Phytoseiidae)'ye Toksik Etkileri". Ziraat Fakültesi Dergisi, 14(1),74-82.

Reiter, R., Acuna-Castroviejo, D., Dunxian, T. and Burkhardt, S. (2001). "Free radical mediated molecular damage: mechanisms for the protective actions of melatonin in the central nervous system". Annals of the New York Academy of Sciences, 939 (1), 200-215.

Rencuzogullari, E. and Topaktas, M. (2000). "Chromosomal aberrations in cultured human lymphocytes treated with the mixtures of carbosulfan, ethyl carbamate and ethyl methanesulfonate". Cytologia, 65 (1), 83-92.

Ribeiro, C. and Brehelin, M. (2006). "Insect haemocytes: What type of cell is that?". Journal of Insect Physiology, 52 (5), 417-429.

Ribeiro, 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*". Ecotoxicology and Environmental Safety, 49 (2), 131-138.

Robinson, E.E., Maxwell, S.R. and Thorpe, G.H. (1997). "Investigation of the antioxidant activity of black tea using enhanced chemiluminescence". Free Radical Research, 26(3), 291-302.

Roy, M., Kiremidjian-Schumacher, L., Wishe, H.I., Cohen, M.W. and Stotzky, G. (1993). "Selenium supplementation enhances the expression of interleukin 2 receptor subunits and internalization of interleukin 2". Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 202 (3), 295-301..

Sahoo, S., Mandal, K., Kaur, R., and Battu, R. (2013). "Persistence of Thiacloprid residues on brinjal (*Solanum melongena* L.) ". Environmental monitoring and assessment, 185, 7935-7943.

Sak, O., Uckan, F. and Ergin, E. (2006). "Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)". Belgian Journal of Zoology, 136(1), 53-58.

Saleem, M., Shakoori, A.R. and Mantle, D. (1998). "Macromolecular and enzymatic abnormalities induced by a synthetic pyrethroid, Ripcord (Cypermethrin), in adult beetles of a stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae)". Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America, 39 (4), 144-154.

Sanborn, M., Cole, D., Kerr, K., Vakil, C., Sanin, L. H. and Bassil, K. (2004). "Systematic review of pesticide human health effects". The Ontario College of Family Physicians, 166-188.

Sanyal, J., Bandyopadhyay, S.K., Banerjee, T.K., Mukherjee, S.C., Chakraborty, D.P. and Ray, B.C. (2009). "Plasma levels of lipid peroxides in patients with Parkinson's disease". *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 13(2), 129-132.

Sarma, A.D., Mallick, A.R. and Ghosh, A.K. (2010). "Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview" *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, 1(3), 185-192.

Schwarzbacherová, V., Wnuk, M., Deregowska, A., Holečková, B. and Lewinska, A. (2019). "In vitro exposure to thiacloprid-based insecticide formulation promotes oxidative stress, apoptosis and genetic instability in bovine lymphocytes". *Toxicology in Vitro*, 61, 104654.

Sen, S. and Chakraborty, R. (2011). "The role of antioxidants in human health. American Chemical Society". *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*, (1), 1-37.

Sen, S., Chakraborty, R., Sridhar, C. and Reddy, Y. (2010). "Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect". *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 3(1), 91-100.

Sexton, K. and Adgate, J.L. (1999). "Looking at environmental justice from an environmental health perspective". *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 9(1), 3-8.

Shacter, E. (2000). "Protein oxidative damage. In *Methods in enzymology* (Vol. 319, pp. 428-436)". Academic Press.

Shafer, T. J., Rijal, S. O. and Gross, G. W. (2008). "Complete inhibition of spontaneous activity in neuronal networks in vitro by deltamethrin and permethrin". *Neurotoxicology*, 29 (2), 203-212.

Sharma, A., Shukla, A., Attri, K., Kumar, M., Kumar, P., Suttee, A. and Singla, N. (2020). "Global trends in pesticides: A looming threat and viable alternatives". *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110812.

Shetty, P.K., Murugan, M. and Sreeja, K.G. (2008). "Crop protection stewardship in India: wanted or unwanted". *Current Science*, 457-464.

Shi, T., Burton, S., Wang, Y., Xu, S., Zhang, W. ve Yu, L. (2018). "Metabolomic analysis of honey bee, *Apis mellifera* L. response to Thiacloprid". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 152, 17-23.

Simpson Jr, W. M. and Schuman, S. H. (2002). "Recognition and management of acute pesticide poisoning". *American Family Physician*, 65(8), 1599-1605.

Singkum, P., Suwanmanee, S., Pumeesat, P. and Luplertlop, N. (2019). "A powerful in vivo alternative model in scientific research *Galleria mellonella*". *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 66 (1), 31-55.

Singla, S. and Sandhu, H.S. (2015). "Alterations in hematological profile of experimentally induced subchronic thiacloprid toxicosis in *Gallus domesticus*". Toxicology International, 22 (1), 147-151.

Skinner, J.A., Lewis, K.A., Bardon, K.S., Tucke, P., Catt, J.A. and Chambers, B.J. (1997). "An overview of the environmental impact of agriculture in the UK. Journal of environmental Management, 50 (2), 111-128.

Smulders, C. J., Bueters, T. J., Van Kleef, R. G. and Vijverberg, H. P. (2003). "Selective effects of carbamate pesticides on rat neuronal nicotinic acetylcholine receptors and rat brain acetylcholinesterase". Toxicology and Applied Pharmacology, 193 (2), 139-146.

Sonet, J., Bierla, K., Bulteau, A.L., Lobinski, R. and Chavatte, L. (2018). "Comparison of analytical methods using enzymatic activity, immunoaffinity and selenium-specific mass spectrometric detection for the quantitation of glutathione peroxidase 1". Analytica Chimica Acta, 1011, 11-19.

Spiller, H.A. and Pfeifer, E. (2007). "Two fatal cases of selenium toxicity". Forensic Science International, 171 (1), 67-72.

Stivaktakis, P., Vlastos, D., Giannakopoulos, E. and Matthopoulos, D. P. (2010). "Differential micronuclei induction in human lymphocyte cultures by imidacloprid in the presence of potassium nitrate". The Scientific World Journal, 10 (1), 80-89.

Stryer, L., Tymoczko, J.L. and Berg, J.M. (2002). "Biochemistry 5th ed Freeman". WH and Company, 41.

Summers, C.B., and Felton, G.W. (1993). "Antioxidant role of dehydroascorbic acid reductase in insects". Biochimica et Biophysica Acta, 1156, 235-238.

Sun, Y., Oberley, L. and Li, Y. (1988). "A simple method for clinical assay of superoxide dismutase". Clinical Chemistry, 34 (3), 497-500.

Sülük, K., Tosun, İ. ve Ekinci, K. (2023). "Elma işleme atıkları kompostundan solucan kompostu üretimi". Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi, 11 (2), 844-856.

Şekeroğlu, V. (2010). Thiacloprid ve deltamethrin insektisitlerinin tek başlarına ve karışım halinde kullanıldıkları zaman sıçan kemik iliği hücrelerinde in vivo (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) genotoksik etkileri. Doktora Tezi. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Şekeroğlu, V. ve Atlı-Şekeroğlu Z (2011). "Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi". Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 68, 241-252 (in Turkish).

Şekeroğlu, V., Şekeroğlu, Z. A. and Demirhan, E.S (2014). "Effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on thyroid hormone levels in rat serum". Toxicology & Industrial Health, 30 (1), 40-46.

Şekeroğlu, V., Şekeroğlu, Z.A., ve Kefelioğlu, H. (2013). "Cytogenetic effects of commercial formulations of deltamethrin and/or thiacloprid on Wistar rat bone marrow cells". *Environmental Toxicology*, 28(9), 524-531.

Tappel, M.E., Chaudiere, J., and Tappel, A.L. (1982). "Glutathione peroxidase activities of animal tissues". *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 73 (4), 945-949.

Thornalley, 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". *Biochimica et Biophysica Acta*, 827, 35-44.

Tomizawa, M. and Casida, J. E. (2005). "Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action". *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45 (1), 247-268.

Toor, H.K., Sangha, G.K. and Khera, K.S (2013). "Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats". *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 105(1):1-4.

Tosi, S., Costa, C., Vesco, U., Quaglia, G. and Guido, G. (2018). "A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides". *Science of the total environment*, 615, 208-218.

Tosun, N., Karabay, N.U ve Sayım F (2001). "Pesticide usage and their potential adverse impact of living organisms". *Anadolu Journal of Ari*, 11(1), 113-125.

Townsend, D.M. and Tew, K.D. (2003). "The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance". *Oncogene*, 22(47), 7369-7375.

Tsai, C. J. Y., Loh, J.M.S. and Proft, T. 2016. "*Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing". *Virulence*, 7 (3), 214-229.

Tsarpali, V. and Dailianis, S. (2012). "Investigation of landfill leachate toxic potency: An integrated approach with the use of stress indices in tissues of mussels". *Aquatic Toxicology*, 124, 58-65.

Uçkan, F. and Sak, O., (2010). "Cytotoxic effect of cypermethrin on *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) larval hemocytes". *Ekoloji*, 19, (75), 20-26.

Uçkun, M., (2013). *Xenopus laevis* iribaşlarına thiakloprid ve trifloksistrobin'in akut toksik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi. Malatya: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ulucan, K., Karahan, M. ve Saglam, E. (2013). "Folik asit metabolizmasının biyokimyasal ve moleküler açıdan Parkinson, Alzheimer, bipolar ve sizofrenik bozukluklara etkisi/Biochemical and molecular effects of folic acid metabolism to Parkinson, Alzheimer, bipolar and schizophrenic diseases". *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 14(4), 378-382.

Usha, M., Bp, S.K., Jose, S.M., Sebastian, E.J. and Wagle, L. (2017). "Developing a Standard Treatment Protocol Towards Organophosphorus Poisoning for Emergency Department in a Hospital". Indian Journal of Basic and Clinical Pharmacy, 8, 64-71.

Vahl, H.H., Karbe, L. and Westendorf, J. (1997). "Genotoxicity assessment of suspended particulate matter in the Elbe river: comparison of *Salmonella microsome* test, arabinose resistance test, and umu-test". Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 394 (1-3), 81-93.

Valko, M., Izakovic, M., Mazur, M., Rhodes, C.J. and Telser, J. (2004). "Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence". Molecular and Cellular Biochemistry, 266, 37-56.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease". International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 39(1), 44-84.

Van Haften, R.I., Evelo, C.T., Penders, J., Eijnwachter, M.P., Haenen, G.R. and Bast, A. (2001). "Inhibition of human glutathione S-transferase P1-1 by tocopherols and α -tocopherol derivatives". Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology, 1548(1), 23-28.

Van Handel, E. (1985a). "Rapid determination of glycogen and sugars in mosquitoes" Journal of the American Mosquito Control Association, 1(3), 299-301.

Van Handel, E. (1985b). "Rapid determination of total lipids in mosquitoes" Journal of the American Mosquito Control Association, 1 (3), 302-304.

Van Loon, S., Vicente, V. B. and Van Gestel, C. A. (2022). "Long-Term Effects of Imidacloprid, Thiacloprid, and Clothianidin on the Growth and Development of *Eisenia andrei*". Environmental Toxicology and Chemistry, 41(7), 1686-1695.

Velisek, J. and Stara, A. (2018). "Effect of thiacloprid on early life stages of common carp (*Cyprinus carpio*)". Chemosphere, 194, 481–487.

Venier, P., Maron, S. and Canova, S. (1997). "Detection of micronuclei in gill cells and haemocytes of mussels exposed to benzo(a)pyrene". Mutation Research, 390, 33–44.

Verebová, V., Želonková, K., Holečková, B. and Staničová, J. (2019). "The effect of neonicotinoid insecticide Thiacloprid on the structure and stability of DNA". Physiological Research, 68 (4), 459-466.

Vincent, A.M., Russell, J.W., Low, P. and Feldman, E.L. (2004). "Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy". Endocrine Reviews, 25 (4), 612-628.

Ware, G.W. and Whitacre, D.M. (2004). "An introduction to insecticides". The pesticide book, 6.

Weiss, B., Amler, S. and Amler, R.W. (2004). "Pesticides". *Pediatrics*, 113 (4), 1030 -1036.

Weissman, A. M., Shabek, N. and Ciechanover, A. (2011). "The predator becomes the prey: regulating the ubiquitin system by ubiquitylation and degradation". *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 12 (9), 605-620.

Wildburger, R., Mrakovcic, L., Stroser, M., Andrisic, L., Borovic Sunjic, S., Zarkovic, K. and Zarkovic, N. (2009). "Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence?". Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 29 (1), 189-193.

Willow, J., Silva, A., Veromann, E. and Smagghe, G. (2019). "Acute effect of low-dose Thiachloprid exposure synergised by tebuconazole in a parasitoid wasp". *PLoS One*, 22.

Wojda, I. (2017). "Immunity of the greater wax moth *Galleria mellonella*". *Insect science*, 24 (3), 342-357.

Wojda, I., Staniec, B., Sulek, M. and Kordaczuk, J. (2020). "The greater wax moth *Galleria mellonella*: biology and use in immune studies". *Pathogens and disease*, 78 (9), ftaa057.

Wood-James, T. and Goulson-Dave (2017). "The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013". *Environmental Science and Pollution Research*, 24, 17285-17325.

Wu, K., Zhang, J., Zhang, Q., Zhu, S., Shao, Q., Clark, K. D., Liu, Y. and Ling, E. (2015). "Plant Phenolics are Detoxified by Prophenoloxidase in The Insect Gut". *Scientific Reports*, 5(1), 16823.

Yang, H., Shi, M., VanRemmen, H., Chen, X., Vijg, J., Richardson, A. and Guo, Z. (2003). "Reduction of pressor response to vasoconstrictor agents by overexpression of catalase in mice". *American journal of Hypertension*, 16 (1), 1-5.

Yonar, M.E. (2013). "Protective effect of lycopene on oxidative stress and antioxidant status in *Cyprinus carpio* during cypermethrin exposure". *Environmental Toxicology*, 28 (11), 609-616.

Young, I.S. and Woodside, J.V. (2001). "Antioxidants in health and disease". *Journal of Clinical Pathology*, 54, 176-186.

Yu, Y.L., Wu, J.L., Stahler, M. and Pestemer, W. (2007). "Residual dynamics of Thiachloprid in medical herbs marjoram, thyme, and camomile in soil". *Journal of Environmental Sciences*, 19 (2), 205-209.

Yucel, M.S. ve Kayis, T. (2019). "Imidacloprid induced alterations in oxidative stress, biochemical, genotoxic, and immunotoxic biomarkers in non-mammalian model organism *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)". *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54 (1), 27-34.

Zadák, Z., Hyspler, R., Tichá, A., Hronek, M., Fikrová, P., Rathouská, J., Hrnčiariková, D. and Stetina, R. (2009). “Antioxidants and vitamins in clinical conditions”. *Physiological Research*, 58 (Suppl 1), 13-17.

Zhang, P., Sun, H., Ren, C., Min, L. and Zhang, H. (2018). “Sorption mechanisms of neonicotinoids on biochars and the impact of deashing treatments on biochar structure and neonicotinoids sorption”. *Environmental Pollution*, 234, 812-820.

Zhao, Y.Y. and Pei, Y.S. (2012). “Risk evaluation of groundwater pollution by pesticides in China: a short review”. *Procedia Environmental Sciences*, 13, 1739-1747.

Zhu, Q., Yuan, He Y., Yao, J., Liu, Y., Tao, L. and Huang, Q., (2012). “Effects of sublethal concentrations of the chitin synthesis inhibitor, hexaflumuron, on the development and hemolymph physiology of the cutworm”. *Spodoptera litura*, *Journal of Insect Science*, 12 (27), 1-13.

