

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**FLUBENDİAMİDE ETKEN MADDELİ YENİ NESİL İNSEKTİSİTİN FARKLI
SICAKLIKLARDA *Gammarus pulex*'teki NÖROTOKSİK ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Hilal SÖYLEMEZ**

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman SERDAR**

TUNCELİ – 2022

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

FLUBENDİAMİDE ETKEN MADDELİ YENİ NESİL İNSEKTİSİTİN
FARKLI SICAKLIKLARDA *Gammarus pulex*'teki NÖROTOKSİK
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Hilal SÖYLEMEZ
(200100027)

Anabilim Dalı: Su Ürünleri

DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman SERDAR

TUNCELİ – 2022

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

FLUBENDİAMİDE ETKEN MADDELİ YENİ NESİL İNSEKTİSİTİN FARKLI
SICAKLIKLARDA *Gammarus pulex*'teki NÖROTOKSİK ETKİSİNİN
BELİRLENMESİ

Hilal SÖYLEMEZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

Bu tez 25/05/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği/ oyçokluğu** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....

Prof. Dr. Rahmi AYDIN
(Munzur Üniversitesi)

BAŞKAN

İmza:.....

Doç. Dr. Osman SERDAR
(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

İmza:.....

Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ
(Karadeniz Teknik Üniversitesi)

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu çalışma, Munzur Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: YLMUB021-07

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

.../.../20...

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 ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Hilal SÖYLEMEZ

TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimim ve tezimin hazırlanması aşamasında desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, bilgilerini benimle paylaşan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Osman SERDAR'a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü desteğini hissettiğim, bilimsel açıdan bana yol gösteren, laboratuvarların kapısını sonuna kadar açan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Rahmi AYDIN'a,

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım yardımlarını esirgemeyen diğer çok değerli öğretim üyesi Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül PALA'ya,

Hep yanımda olan ve her zaman desteğini aldığım sevgili eşim Hasan SÖYLEMEZ ve kızım Beren SÖYLEMEZ'e,

Çalışma hayatım boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim annem Aytan ARSLAN babam Metin ARSLAN ve kardeşim Taylan ARSLAN 'a TEŞEKKÜR ederim.

Hilal SÖYLEMEZ
TUNCELİ-2021

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	III
TEŞEKKÜRLER	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VII
RESİMLER LİSTESİ.....	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ.....	IX
KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL ve METOT.....	6
2.1. Model Canlınn Temini	6
2.2. <i>G. pulex</i> 'lerin Deneme Koşullarına Adaptasyonu.....	7
2.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar	8
2.3. Farklı Sıcaklıklarda Flubendiamide <i>G. pulex</i> 'teki LC ₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi	9
2.4. Subletal Konsantrasyon Uygulamaları.....	9
2.5. Diseksiyon İşlemleri ve Süpernatantların Hazırlanması	10
2.6. Nörotoksisite Yanıtlarının Belirlenmesi.....	11
2.7. İstatistiksel Analizler.....	11
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	12
3.1. Model organizmaların Metrik Meristik Verileri	12
3.2. LC ₅₀ Bulguları	12
3.2. Nörotoksik Bulgular.....	12
3.3. Tartışma.....	17
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	22
5. KAYNAKLAR	24
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. 16 °C sıcaklıkta <i>G. pulex</i> 'teki AChE aktivitesi	13
Şekil 3.2. 18 °C sıcaklıkta <i>G. pulex</i> 'teki AChE aktivitesi	14
Şekil 3.3. 20 °C sıcaklıkta <i>G. pulex</i> 'teki AChE aktivitesi	15
Şekil 3.4. Tüm gruplarda sıcaklığa bağlı olarak AChE aktivite değişimleri	17



TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Çalışmanın yürütülmesinde kullanılan laboratuvar ekipmanları	8
Tablo 2.2. LC ₅₀ değerinin belirlenmesi için kullanılan konsantrasyon aralıkları.....	9
Tablo 3.1. Farklı sıcaklıklarda Flubendiamide insektisitine maruz bırakılan <i>G. pulex</i> 'te ortalama LC ₅₀ değerleri	12
Tablo 3.2. Flubendiamide uygulamasına bağlı olarak 16 °C sıcaklıkta <i>G. pulex</i> 'te AChE aktivitesi üzerindeki değişiklikler	14
Tablo 3.3. Flubendiamide uygulamasına bağlı olarak 18 °C sıcaklıkta <i>G. pulex</i> 'te AChE aktivitesi üzerindeki değişiklikler	15
Tablo 3.4. Flubendiamide uygulamasına bağlı olarak 20 °C sıcaklıkta <i>G. pulex</i> 'te AChE aktivitesi üzerindeki değişiklikler	16



RESİMLER LİSTESİ

Resim 1.1. <i>Gammarus pulex</i> (orijinal).....	3
Resim 2.1. <i>G. pulex</i> örneklerinin toplandığı alan (URL-1, 2022)	6
Resim 2.2. Model organizma <i>G. pulex</i> (Orijinal)	7
Resim 2.3. Stok <i>G. pulex</i> akvaryumları (Orijinal).....	8



SEMBOLLER LİSTESİ

Mm	:Mikrometre
Mg	:Miligram
L	:Litre
µg	:Mikrogram
ng	:Nanogram
H₂O₂	:Hidrojen Peroksit



KISALTMALAR LİSTESİ

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
rpm	: Dakikadaki devir sayısı



ÖZET

Bu çalışmada, yeni nesil Flubendiamide etken maddeli insektisit hedef dışı sucul bir organizma olan *Gammarus pulex* (L., 1758)'teki nörotoksitesinin sıcaklıkla değişiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Öncelikle *G. pulex* organizmalarının belirlenen (16, 18 ve 20 °C) sıcaklıklardaki flubendiamide etken maddeli insektisite olan akut toksisite değerlerinden 96 saat süredeki LC₅₀ değerleri probit analizi ile belirlenmiştir. Flubendiamide etken maddeli insektisit 16, 18 ve 20 °C sıcaklıktaki LC₅₀ değerleri sırasıyla 256,83 ± 19,59 µgL⁻¹, 169,38 ± 34,17 µgL⁻¹ ve 155,84 ± 17,22 µgL⁻¹ olarak belirlenmiştir. Test organizmasının artan sıcaklıkla flubendiamide etken maddeli pestisite olan akut toksisite hassasiyeti de artmıştır.

Her bir sıcaklığa ait flubendiamide pestisitinin *G. pulex*'teki LC₅₀ değerlerinin ortalamasının 1/20, 1/10 ve 1/5 oranında sublethal konsantrasyonlar belirlenmiştir. *G. pulex* organizmaları belirlenen söz konusu sublethal konsantrasyonlara 96 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Kontrol grubu dahil 10 grupta her sıcaklık için asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitelerindeki değişimler ELISA kitleri kullanılarak belirlenmiştir.

Elde edilen bulgulara göre, tüm gruplarda konsantrasyon arttıkça AChE enzim aktivitesinin inhibe edildiği tespit edilmiştir (p<0,05). Aynı sıcaklıktaki 24 ve 96. Saatler arasındaki maruziyet süresi istatistiksel açıdan önemsiz olduğu belirlenmiştir (p>0,05). Sıcaklık artışına bağlı olarak flubendiamide etken maddeli pestisit test organizması üzerinde AChE enzim aktivitesini inhibe değerinin arttığı tespit edilmiştir.

Flubendiamide insektisine karşı farklı sıcaklıklarda *G. pulex*'te AChE enzim aktivitelerinde meydana gelen değişikliklere bakıldığında yararlı biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Asetilkolinesteraz, biyobelirteç, flubendiamide, *Gammarus pulex*, pestisit

ABSTRACT

Determination of Neurotoxic Effect of New Generation Insecticide with Flubendiamide Active Ingredient in *Gammarus pulex* at Different

In this study, it was aimed to determine the neurotoxicity of a new generation Flubendiamide active ingredient insecticide in *Gammarus pulex* (L., 1758), a non-target aquatic organism, with temperature. First of all, the LC₅₀ values of *G. pulex* organisms at the determined temperatures (16, 18 and 20 °C), which is an insecticide with active ingredient flubendiamide, were determined by probit analysis. The LC₅₀ values of the flubendiamide active ingredient insecticide at 16, 18 and 20 °C were determined as 256.83 ± 19.59 µg/L, 169.38 ± 34.17 µg/L and 155.84 ± 17.22 µg/L, respectively. The acute toxicity sensitivity of the test organism to the pesticide with flubendiamide increased with increasing temperature.

Sublethal concentrations were determined at 1/20, 1/10 and 1/5 of the mean LC₅₀ values of flubendiamide pesticide for each temperature in *G. pulex*. Test organisms were exposed to the determined sublethal concentrations for 96 hours. Changes in acetylcholinesterase (AChE) enzyme activities were determined for each temperature in 10 groups, including the control group, using ELISA kits.

According to the findings, it was determined that AChE enzyme activity was inhibited as the concentration increased in all groups ($p < 0.05$). The exposure time between the 24th and 96th hours at the same temperature was found to be statistically insignificant ($p > 0.05$). It was determined that the inhibition value of AChE enzyme activity on the test organism of the pesticide with active ingredient flubendiamide increased depending on the temperature increase.

Considering the changes in AChE enzyme activities in *G. pulex* at different temperatures against flubendiamide insecticide, it was concluded that it can be used as a useful biomarker.

Key words: Acetylcholinesterase, biomarker, flubendiamide, *Gammarus pulex*, pesticide

1. GİRİŞ

Günümüzde, özellikle de iki binli yıllardan sonra pestisit kullanımının artmasıyla, ekosistemdeki dengede doğrudan ve dolaylı olmak üzere negatif etkiler ortaya çıkmış, doğal yaşam ve hatta insan sağlığı üzerinde tesir etmiştir. Pestisitlerin üretim amacı zirai ürünlere zarar veren hedef canlılar veya canlı grupları ile mücadele etmektir. Bu sebeple üretilen sentetik ve kimyasal pestisitler evlerde, tarla-bahçelerde, sanayi ve tarım faaliyetleri gösterilen alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır (Koç ve ark., 2009; Karaismailoğlu, 2016). Zararlıları engellemek, yok etmek, zararlarını hafifletmek veya ortamdan kovmak için tekli veya kombinasyonlu zirai kimyasal bileşikler kullanılmaya başlanmıştır. Günümüzde pestisitlerin olumsuz etkileri yaygın olarak tartışılmaktadır (Yu, 2008; Demirci ve Güngördü, 2020).

Flubendiamid, N0-[1,1-dimetil-2-(metilsülfonil)etil]-3-iyodo-N-{4-[2,2,2tetrafloro-1-(triflorometil)etil]-0-tolil} ftalimid'e ait birçok yıllık ve çok yıllık bitkilerde lepidoptera zararlılarına karşı yaygın olarak kullanılmaktadır. Ekonomik olarak önem arz eden çok çeşitli lepidoptera zararlılarına (*Helicoverpa* spp., *Heliiothis* spp., *Spodoptera* spp., *Plutella* spp., *Trichoplusia* spp. ve *Hyrotis* spp.) karşı bitki koruması sağlar. Flubendiamid etken maddeli pestisit memelilerde düşük toksisiteye sahiptir. Ayrıca genotoksik, mutajenik veya onkojenik özellikleri bulunmamaktadır. Yani ekolojik, ekotoksikolojik ve çevresel profile sahip pestisittir (Shane 2006; Das ve Mukherjee, 2011).

Literatürde, çeşitli biyotik ve abiyotik parametrelerin, arazideki pestisitlerin etki mekanizmasını üzerinde önemli bir faktör olduğu bildirilmiştir (Konstantinou ve ark. 2001). Uygulamada pestisitlerin laboratuvar koşullarında tarla koşullarına göre daha uzun süre kalıcı olduğu gözlemlenmiştir (Sanyal ve ark., 2000; Ganier ve ark., 1996; Fernandez ve ark., 2001). Öte yandan, kalıcı pestisitler, toksik yapıları nedeniyle toprak ve sucul organizmaların sağlığını etkileme potansiyeline sahiptir. Sucul ortamlardaki sıcaklık artışının, organizmaların metabolizma hızı ve ortamdaki birçok fizikokimyasal parametere üzerinde reaksiyon artışı nedeniyle büyük rol oynar.

Günümüzde en dikkat çekilmesi gereken çevresel problemlerden bir tanesi de küresel ısınmadır. Küresel ısınma yeryüzündeki tüm yaşam alanlarını sucul canlıları ve insanları tehdit etmektedir. Aynı zamanda artan nüfus yoğunluğuna paralel ihtiyaçları karşılayabilmek adına birim alandan en üst seviyede mahsul temin etme gereksinimleri sanayi, zirai faaliyetlerin artması beraberinde kirleticilerin kontrolsüzce doğal ortama salınması kaçınılmaz olmuştur. Kirleticilerin artan sıcaklıkla olumsuz sinerjik etkisi sucul ekosistemi, sucul

organizmaların biyolojik özelliklerini, habitat ekosistemlerini ve stoklarını olumsuz etkilemektedir. Sucul ekosistemlerin ısınması, sanayisel faaliyetlerin ürünlerinin atmosfere salınan fazla miktardaki karbon dioksit (CO₂), karbon monoksit (CO), halokarbonlar (florin, klorin, bromin veya iyodin içeren 17 grup) ve metan (CH₄) gibi gazların, sera etkisi oluşturmasıyla yeryüzünde sıcaklığın artması olarak tanımlanabilir. Bu sıcaklık artışlarının bir sonucu olarak suların da ısısının artması nedeniyle birçok sucul canlıının uzun yıllardır yaşadıkları habitatlarını terk etmeye, sonuç olarak da kendilerine adapte olabilecekleri yeni yaşam alanları arayışına girmeleri öngörülmektedir (Wrona ve ark., 2006). Ya da tüm bu olumsuz koşulları tolere edemeyecek hassas türlerin nesillerinin kaybolması anlamına gelebilmektedir.

Yapılan bazı ölçümlere göre atmosferin sıcaklığı son 50 yıl içerisinde 0.8 °C artmıştır. Atmosfere salınan karbondioksit miktarı son 700 yıldır 280 ppm'den 350 ppm'e yükselmiştir. Bu artışın yıllar içerisinde 450 ppm'e kadar yükselebileceği öngörülmektedir (Wernberg ve ark., 2011; Hurrell ve Deser, 2010; IPCC 2001). Ani ve sürekli değişim gösteren iklim koşulları, ekim yapılabilecek alanlarda doğal afet ve çölleşme riskini artırarak tarım arazilerinin hızla verimsizleşmesine hatta yok olmaya sebep olabilecektir.

Asetilkolinesteraz (AChE), nörotransmitter; nöronlar arasında veya bir nöron ile başka tür bir hücre arasında iletişimi sağlayan, asetilkolin (ACh)'i hidrolizleyen hidrolaz grubundan bir enzimdir. Enzimlerin karboksilesteraz ailesine ait olan AChE başlıca nöromuskular ve sinaptik iletimi sonlandırdığı kolinerjik beyin sinapslarında bulunur. Bu enzimin pestisit, sinir gazı gibi organofosfat türevi bileşiklerle inhibe etkisi yapan birincil hedefidir. Saniyede 25.000 ACh molekülünü paraçalayabilecek hızda oldukça yüksek aktiviteye sahiptir (Sussman et al., 1991). AChE inhibitörleri geri dönüşümlü, yarı geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olarak etki ederler (Pohanka, 2011; Zilbeyaz et al., 2018). Bu inhibitörlere karbamatlar, fizostigmin, neostigmin, pyridostigmine, ambenonium, demekaryum, rivastigmin, fenantren türevleri, galantamin, kafein (yarışmasız), piperidinler, donepezil, takrin (tetrahydroaminokridin, THA), edrofonyum, Huperzin A, ladostigil, ungeremine, lactucopicrin örnek olarak verilebilir (Pohanka 2011; Zilbeyaz ve ark., 2018; Cavdar vı ark., 2019).

Yarı-geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz AChE inhibitörleri daha çok kimyasal silahlar ve pestisitlerin yapımında kullanılır. Bu inhibitörlere organofosfatlar, ekotiofat, sarin, diazinon, ethiofencarb, propamocarb, diizopropilfluorofosfat, malathion, soman, galantamin, cadusafos, klorprifos, pinmicarb, oxamyl, siklosarin, diklorvos, dimethoat, tabun, parathion, aldicarb, bendiocarb, phenmedipham, bufencarb, pirimicarb, huperzine A, karbaril,

karbendazim, propoxur, karbetamit, karbofuran, karbosulfan, chlorbufam, chlorpropham, formetanate, methiocarb, methomyl, propham, onchidal ve kumarinler örnek olarak verilebilir (Pohanka, 2011).

Gammaridler tatlı-sert ve temiz sularda yaşayan, Gammaridae ailesine ait bir kabuklu (Malacostraca), amfipod türüdür. Gammarid türleri, hem deniz hem de tatlı sular için önemli biyogösterge canlılardır (Demirci, 2018). Tatlı su amfipodları uzun yıllardır sucul toksikolojide test organizması olarak kullanılmıştır. *G. pulex* ise, tatlı su amfipodları içinde toksikolojik çalışmalarda kullanılan en popüler canlılardan biridir (Resim 1.1). Dünyanın birçok bölgesinde yaygın olarak bu canlı türünün kullanılmasının nedeni, elde edilme ve toplama kolaylığı, laboratuvar koşullarında yaşatılabilmesi avantajlarının yanında birçok toksik maddeye karşı duyarlı olmasıdır (Kutlu ve ark., 2002).



Resim 1.1. *Gammarus pulex* (orijinal)

Gammarus cinsi canlılara akarsu mahallerinin temiz, sucul bitki sayısı açısından zengin bölgelerinde, çoğunlukla çakıl taşlı habitatlarda ekseri karşılaşılr. Belirli derecede organik kirliliğe dirençli olabilirler ve BMWP (Biological Monitoring Working Party) skor sisteminde orta derecede kirlenmiş sucul ortamların indikatörü olarak gösterilirler (Gaffney ve ark., 2019).

Literatürde çeşitli pestisitlerin hedef dışı sucul organizmalar üzerindeki nörotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar Tablo 1.1'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Sucul organizmalarla yapılan nörotoksik çalışmalar

Hedef dışı organizma	Pestisit	Bulgular	Kaynak
<i>Callichthys callichthys</i>	Organofosfat pestisit methyl parathion	AChE aktivitesinde azalmaya sebebiyet verdiği bildirilmiştir.	Silva ve ark., 1993
<i>O. mossambicus</i>	Organofosfat etken maddeli pestisit profenofos	AChE aktivitesinin %90'lık bir inhibisyona sebebiyet verdiği bildirilmiştir.	Venkateswara ve ark., 2003
<i>Oreochromis niloticus</i>	Etozazole	AChE aktivitesinde %80'e varan keskin bir inhibisyona yol açmıştır	Sevgiler ve ark., 2003
<i>Oreochromis niloticus</i>	Diazinon	AChE aktivitesi uygulama süresince tüm gruplarda azalmıştır.	Üner ve ark., 2006
<i>Chalcalburnus tarichi</i>	Metil Paration	Kas, karaciğer ve beyin dokularında AChE enzim aktiviteleri bildirilmiştir.	Kankaya, 2008
---	Flubendiamide	Abiyotik faktörlerde (ph, ve ışık) kalıcılık miktarları rapor edilmiştir.	Das ve Mukherjee, 2011
<i>Xiphophorus hellerii</i>	2,4-diklorofenoksi asetik asit	Karaciğer ve solungaç dokularında AChE enzim aktiviteleri bildirilmiştir.	Turan, 2012
<i>Cyprinus carpio</i>	Triklorfon	AChE aktivitesi 3, 7, 14 ve 21. gün gruplarında azaldığı rapor edilmiştir.	Pala, 2013
<i>Capoetta umbla</i>	Abiyotik faktör olarak mevsimsel değişimler	Doğadan yakalanan balıklarda mevsimsel değişimin AChE aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir.	Pala ve Serdar, 2018
<i>Danio rerio</i>	n-butanol	AChE aktivitesi 96. sonunda kontrole ve artan konsantrasyon gruplarına kıyasla azaldığı beyan edilmiştir.	Köktürk, 2018.

<i>Gammarus kischineffensis</i>	Endosulfan, thiamethoxam, indoxacarb ile atrazine kombinasyonları	Multi biyobelirteçlerle endosulfan, thiamethoxam, indoxacarb ile atrazine pestisit kombinasyonlarının araştırdığı çalışmada AChE aktivitesinin inhibe edildiği bildirilmiştir. Pestisit uygulaması sonrasında AChE aktivitesi özellikle 96. sonunda azalmıştır.	Demirci ve ark., 2018
<i>G. pulex</i>	Triklorfon	Malathionun subletal konsantrasyonlarına maruz bırakılan <i>Gammarus pulex</i> 'te AChE aktivitesi üzerine akut (24 ve 48 saat) etkisini incelemişlerdir.	Tulpar, 2019
<i>Gammarus pulex</i>	Malathion	Uygulama gruplarının kontrole kıyasla AChE aktivitesinin inhibe olduğunu bildirmişlerdir.	Pala ve ark., 2020
<i>Dressienna polymorpha</i>	Beta-Cyfluthrin Pestisiti		Serdar ve ark., 2021a

Yapılan literatür araştırmasında flubendiamide etken maddeli pestisitlerin sıcaklığa bağlı olarak nörotoksik çalışmasına rastlanmamıştır. Bu çalışmada, test organizma olarak *Gammarus pulex* kullanılmıştır. Flubendiamide etken maddeli yeni nesil bir insektisit sucül ortamlardaki hedef dışı bir organizma olan *Gammarus pulex* üzerindeki etkilerini farklı sıcaklıklarla değerlendirilmesi amaçlandı. Bu amaçla *G. pulex*'teki AChE enzim aktivitelerinin artan sıcaklıkla değişimleri değerlendirilmiştir.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Model Canlının Temini

Çalışmada kullanılan model organizma *G. pulex* (L., 1758) örnekleri, Munzur Akarsuyu (Tunceli) yan kolları su kaynaklarına yakın kirlilik ve evsel atıkların bulunmadığı referans noktalardan toplanmıştır. Toplanan organizmalar hızlı bir şekilde Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştiricilik laboratuvarına nakil edilmiştir.



Resim 2.1. *G. pulex* örneklerinin toplandığı alan (URL-1, 2022)

Model organizma *G. pulex*, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akuatik Toksikoloji Araştırma Laboratuvarına canlı olarak getirilmiştir. Çalışmada kullanılan organizmalar gözlemlenerek, benzer boyutta, gelişimini tamamlamış, sağlıklı erkek bireyler seçilmiştir.

Model organizma *Gammarus pulex*'in sistematikteki yeri,

Alem: Animalia

Şube : Arthropoda

Altşube : Crustacea

Sınıf : Malacostraca

Takım : Amphipoda

Aile : Gammaridae

Cins : Gammarus

Tür : *Gammarus pulex* (Resim 2.2)



Resim 2.2. Model organizma *G. pulex* (Orijinal)

2.2. *G. pulex*'lerin Deneme Koşullarına Adaptasyonu

Laboratuvara canlı olarak getirilen *G. pulex* örnekleri kültüre alındığı ortamına benzer şekilde hazırlanmış akvaryumlara yerleştirilmiştir. Laboratuvar aydınlatmasında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde fotoperyot uygulanmıştır (Serdar ve ark., 2021a). Ortam sıcaklığı termostatlı klima sayesinde hem adaptasyon hem de test aşamalarında 16, 18 ve 20 °C'ye ayarlanarak sabit tutulmuştur. *G. pulex*'lerin beslenmeleri için doğal ortamlarından toplanan söğüt ağaç yaprakları cam bir kaptaki su içerisinde çürümeye bırakılmıştır (Cold ve ark., 2004).

Stok akvaryumlarında su sirkülasyonu için harici filtre, *G. pulex*'lerin oksijen gereksinimi için ise hava motoru takılması gerekmektedir.. Akvaryumlardaki suların %70'i her hafta en az 1 defa dinlenmiş suyla yenilenmek için değiştirilir. Adaptasyon sürecince canlıların beslenmesi ve hareketliliği gözlemlenmiştir.



Resim 2.3. Stok *G. pulex* akvaryumları (Orijinal)

2.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasallar

Çalışma için kullanılan laboratuvar cihaz ve malzemeleri Tablo 2.1.'de verilmiştir.

Tablo 2.1. Çalışmanın yürütülmesinde kullanılan laboratuvar ekipmanları

Kullanılan Araç ve Gereçler	Marka - Model
Hassas terazi ($\pm 0,0001$)	BEL M214Ai
Çalkalamalı su banyosu	Mikrotest MCS-20
Saf su cihazı	Nüve
Homojenizatör	IKA Ultra-Turrax T-10
Otomatik pipetler	Brand
Soğutmalı santrifüj	Nüve 12000R
UV-Visible spektrofotometre	Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis
Vortex	Benchmark
Ultra Derin Dondurucu	DAIHAN UniFreez U400
Manyetik karıştırıcı	WiseStir

2.3. Farklı Sıcaklıklarda Flubendiamide *G. pulex*'teki LC₅₀ Değerlerinin Belirlenmesi

Çalışmada her bir sıcaklık için Flubendiamide etken maddeli insektisit *G. pulex* üzerindeki akut toksisitesini belirlemek için 96 saatlik statik LC₅₀ testi uygulanmıştır. Bu amaçla organizmalara öncelikle aralık belirleme testi uygulanmıştır. Aralık belirleme testi sonuçlarından yararlanılarak Flubendiamide etkenli insektisit belirlendi (Tablo 2.3). LC₅₀ değeri için belirlenen konsantrasyonlarda 1 litre hacme sahip cam akvaryumlara 10'ar adet *G. pulex* kullanılarak akut toksisite testi uygulanmıştır. Akut toksisite testlerinin, aralık belirleme testleri dahil tüm aşamaları üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 2.2. LC₅₀ değerinin belirlenmesi için kullanılan konsantrasyon aralıkları

Sıcaklık (°C)	Kontrol	Konsantrasyonlar (µg/L)				
16	0,00	50,00	100,00	200,00	400,00	800,00
18	0,00	50,00	100,00	200,00	400,00	800,00
20	0,00	50,00	100,00	200,00	400,00	800,00

Yapılan LC₅₀ deneysel çalışmada 96 saat süre içerisinde organizmalara besleme yapılmamıştır. Deneme süresince her bir konsantrasyon grubu 24, 48, 72 ve 96. saatlerde gözlemlenmiştir. Ölü bireyler deneme ortamından uzaklaştırılarak not edilip kayıt altına alınmıştır. Elde edilen veriler probit analizi kullanılarak LC₅₀ toksisite değerleri hesaplanmıştır.

2.4. Subletal Konsantrasyon Uygulamaları

Flubendiamide etken maddeli insektisit belirlenmiş olan sıcaklıklardaki (16, 18 ve 20 °C) LC₅₀ değerlerine oranla aşağıdaki deney grupları oluşturulmuştur;

A 16 °C Kontrol gurubu, herhangi bir maddeye maruz bırakılmayan organizmalar,

B gurubu 16 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/20 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

C grubu 16 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/10 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

D grubu 16 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/5 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

E 18 °C Kontrol grubu, herhangi bir maddeye maruz bırakılmayan organizmalar,

F grubu 18 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/20 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

G grubu 18 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/10 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

H grubu 18 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/5 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

I 20 °C Kontrol grubu, herhangi bir maddeye maruz bırakılmayan organizmalar,

J grubu 20 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/20 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

K grubu 20 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/10 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

L grubu 20 °C, LC₅₀ değerlerinin 1/5 oranında Flubendiamide etken maddesine maruz bırakılan organizmalar,

Her bir sıcaklık için 3 uygulama grubu ve kontrol grubu olacak şekilde toplamda 10 grup oluşturulmuştur. Her bir gruptaki organizmalara 24 ve 96 saat sürelerdeki AChE aktivite yanıtları tespit edilmiştir. Aralık belirleme, LC₅₀ değeri ve deneysel maruziyetlerde her bir deneme grubunda 10 birey kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada, toplamda yaklaşık 1000 adet test organizması kullanılmıştır.

2.5. Diseksiyon İşlemleri ve Süpernatantların Hazırlanması

Çalışmada model canlı olarak *G. pulex* kullanılmıştır. Test organizma bireylerinden 0,5 g olacak şekilde havuz oluşturularak tartılmış ve 1/1 w/v oranında PBS tamponu (fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi) eklenerek, buz ile birlikte homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen bu örnekler soğutmalı santrifüjde 17000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek ve elde edilen süpernatantlar -86 °C' de derin dondurucuda ölçüm işlemleri tamamlanıncaya kadar muhafaza edilmiştir.

2.6. Nörotoksisite Yanıtlarının Belirlenmesi

Çalışmada belirlenmiş olan sıcaklıklardaki nörotoksisite yanıtın belirlenmesi için AChE aktiviteleri belirlendi.

Çalışmada AChE kitleri için CUSABIO firmasından satın alınan (CSB-E17001Fh) katalog numaralı ticari ELİSA kit kullanılmıştır.

2.7. İstatistiksel Analizler

Çalışmanın sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 24.0 istatistik programından yararlanılarak gerçekleştirilmiştir. Her sıcaklığa ait *G. pulex*'teki LC₅₀ değeri Probit analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Aynı uygulama süre içinde farklı gruplar arasındaki istatistiksel fark (A, B, C, D, E, F, G, H, I ve kontrol) DUNCAN testi ile belirlenmiştir. Uygulama süreleri (24 ve 96 saat) arasındaki fark ise bağımsız t testi ile belirlenmiştir. (Sümbüloğlu ve Sümbüloğlu, 1998; Kalaycı, 2010).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Model organizmaların Metrik Meristik Verileri

Deneylede kullanılan model organizma *G. pulex* organizması ortalama ağırlıkları $0,073 \pm 0,009$ g, ortalama uzunluklarının ise $9,3 \pm 0,8$ mm olarak kayıt edilmiştir.

3.2. LC₅₀ Bulguları

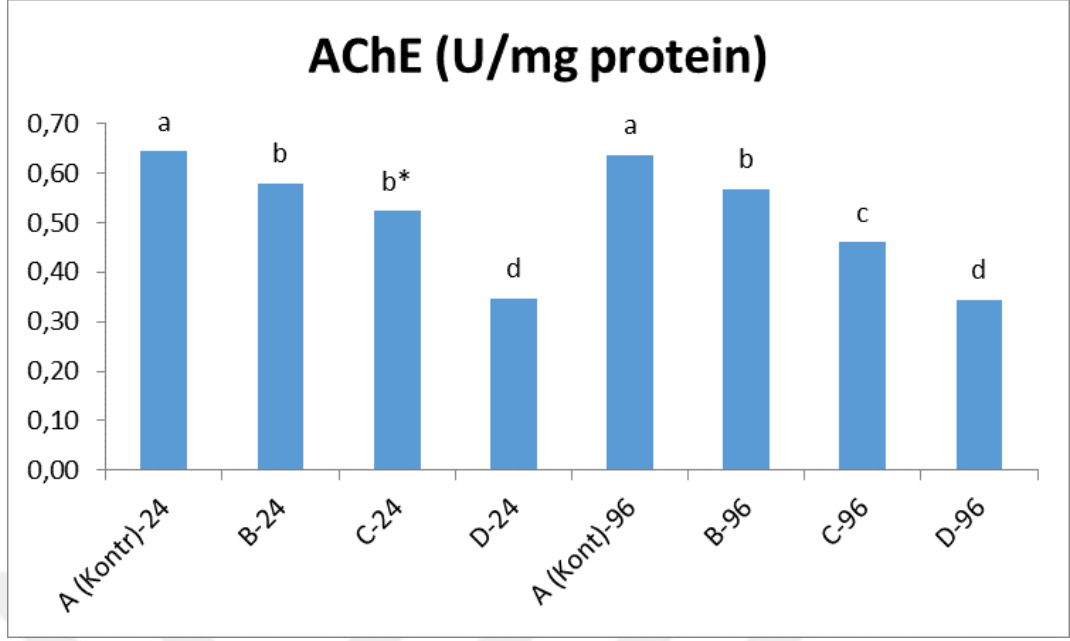
Aralık belirleme testlerinden sonra *G. pulex* bireyleri için 16, 18 ve 20 °C sıcaklıkta Flubendiamide etken maddeli insektisite ait LC₅₀ değeri belirlenmiştir (Tablo 3.1.)

Tablo 3.1. Farklı sıcaklıklarda Flubendiamide insektisitine maruz bırakılan *G. pulex*'te ortalama LC₅₀ değeri

İlaçlar	LC ₅₀ Değeri (μgL^{-1})
16 °C	$256,83 \pm 19,59$
18 °C	$169,38 \pm 34,17$
20 °C	$155,84 \pm 17,22$
Ortalama değer	$193,99 \pm 54,77$

3.2. Nörotoksik Bulgular

Bu çalışmada farklı sıcaklıklarda flubendiamide etken maddeli insektisite maruz bırakılan *G. pulex* 'te AChE enzim aktiviteleri üzerine etkileri belirlenmiştir.



Şekil 3.1. 16 °C sıcaklıkta *G. pulex*'teki AChE aktivitesi

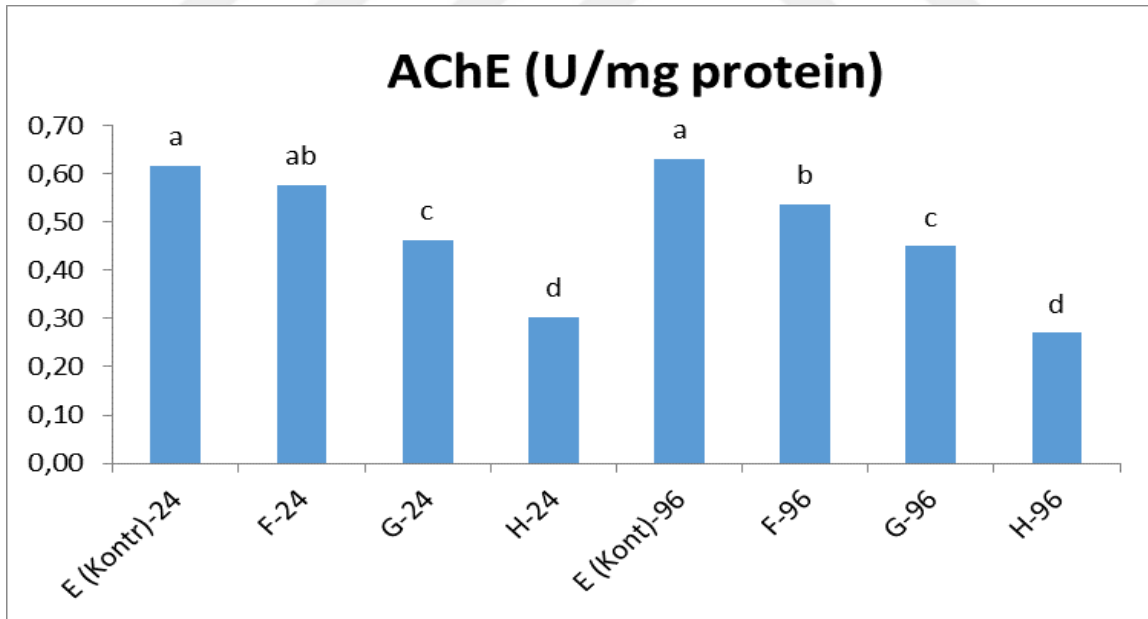
Flubendiamide pestisiti LC₅₀ değerinin belirli oranlarda uygulandığı 16 °C sıcaklıktaki deneme gruplarında süre bakımından sadece B grubu 24. ve 96. saatlerdeki uygulamada istatistiksel bakımdan anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0,05$). Diğer tüm gruplardaki değişimler istatistiksel açıdan önemsizdir ($p > 0,05$).

Flubendiamide pestisiti sublethal konsantrasyonlarına 16 °C maruz bırakılan *G. pulex*'te nörotoksik etki araştırıldı (Tablo 3.2). Kontrole kıyasla 24. saatte, 16 °C sıcaklıktaki AChE enzim aktivite inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 9,84, 18,65 ve 46,11 olarak tespit edilmiştir. Aynı sıcaklıkta 96. saatteki AChE enzim aktivite inhibisyon yüzdelerinin % 10,99, 27,75 ve 46,07 olduğu hesaplanmıştır (Tablo3.2).

Tablo 3.2. Flubendiamide uygulamasına bağlı olarak 16 °C sıcaklıkta *G. pulex*'te AChE aktivitesi üzerindeki değişiklikler

		16 °C		% inhibisyon	
		AChE Umg/protein		24. saat	96. saat
	Grup	24. saat	96. saat		
AChE Umg/protein	A (Kont.)	0,64 ± 0,04 ^a	0,64 ± 0,02 ^a	---	---
	B	0,58 ± 0,02 ^b	0,57 ± 0,02 ^b	9,84	10,99
	C	0,52 ± 0,04 ^{b*}	0,46 ± 0,03 ^c	18,65	27,75
	D	0,35 ± 0,04 ^d	0,34 ± 0,05 ^d	46,11	46,07

Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı sütundaki farklı gruplar arasındaki ve alt simgedeki * ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.



Şekil 3.2. 18 °C sıcaklıkta *G. pulex*'teki AChE aktivitesi

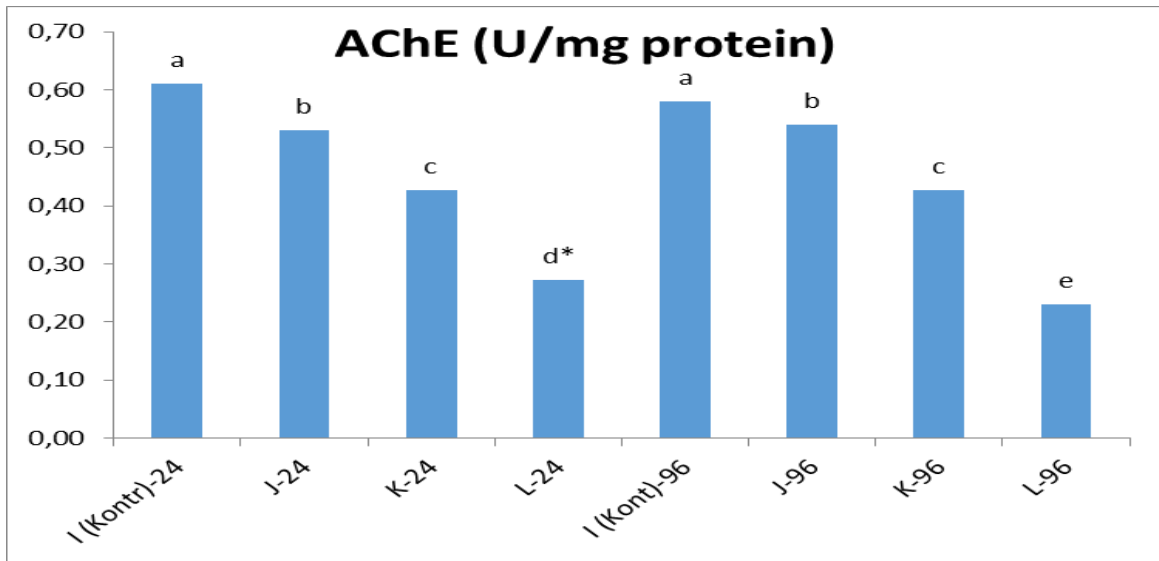
Flubendiamide pestisiti LC₅₀ değerinin belirli oranlarda uygulandığı 18 °C deneme gruplarında süre bakımından önemli sayılabilecek bir fark (p>0,05) bulunamamıştır (Şekil 3.2).

Flubendiamide pestisiti sublethal konsantrasyonlarına 18 °C maruz bırakılan *G. pulex*'te nörotoksik etki araştırıldı (Tablo 3.3). Kontrole kıyasla 24. saatte, 18 °C sıcaklıktaki AChE enzim aktivite inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 6,49, 24,86 ve 50,81 olarak tespit edilmiştir. Aynı sıcaklıkta 96. saatteki AChE enzim aktivite inhibisyon yüzdelerinin % 14,81, 28,57 ve 57,14 olduğu hesaplanmıştır (Tablo3.3).

Tablo 3.3. Flubendiamide uygulamasına bağlı olarak 18 °C sıcaklıkta *G. pulex*'te AChE aktivitesi üzerindeki değişiklikler

		18 °C		% inhibisyon	
		AChE Umg/protein		24. saat	96. saat
Grup		24. saat	96. saat		
	E (Kont.)	0,62 ± 0,03 ^a	0,63 ± 0,04 ^a	---	---
AChE	F	0,58 ± 0,03 ^{ab}	0,54 ± 0,02 ^b	6,49	14,81
Umg/protein	G	0,46 ± 0,02 ^c	0,45 ± 0,05 ^c	24,86	28,57
	H	0,30 ± 0,02 ^d	0,27 ± 0,02 ^d	50,81	57,14

Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı sütundaki farklı gruplar arasındaki ve alt simgedeki * ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.



Şekil 3.3. 20 °C sıcaklıkta *G. pulex*'teki AChE aktivitesi

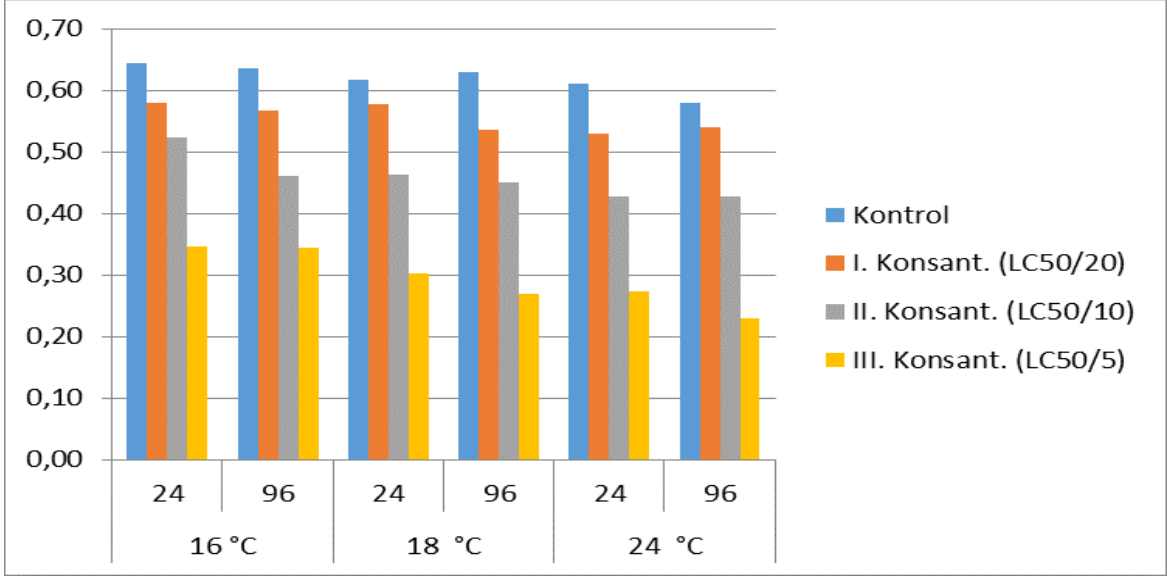
Flubendiamide pestisiti LC₅₀ değerinin belirli oranlarda uygulandığı 20 °C sıcaklıktaki deneme gruplarında süre bakımından sadece I grubu 24. ve 96. saatlerdeki uygulamada istatistiksel bakımdan önemli sayılabilecek bir fark (p<0,05) bulunmuştur (Şekil 3.3). Diğer tüm gruplardaki değişimler istatistiksel açıdan önemsizdir (p>0,05).

Flubendiamide pestisiti sublethal konsantrasyonlarına 20 °C maruz bırakılan *G. pulex*'te nörotoksik etki araştırıldı (Tablo 3.4). Kontrole kıyasla 24. saatte, 20 °C sıcaklıktaki AChE enzim aktivite inhibisyon yüzdeleri sırasıyla % 13,11, 30,05 ve 55,19 olarak tespit edilmiştir. Aynı sıcaklıkta 96. saatteki AChE enzim aktivite inhibisyon yüzdelerinin % 6,90, 26,44 ve 60,34 olduğu hesaplanmıştır (Tablo3.4).

Tablo 3.4. Flubendiamide uygulamasına bağlı olarak 20 °C sıcaklıkta *G. pulex*'te AChE aktivitesi üzerindeki değişiklikler

		20 °C		% inhibisyon	
		AChE Umg/protein		24. saat	96. saat
Grup		24. saat	96. saat	saat	saat
	I (Kont.)	0,61 ± 0,03 ^a	0,58 ± 0,01 ^a	---	---
AChE	J	0,53 ± 0,02 ^b	0,54 ± 0,03 ^b	13,11	6,90
Umg/protein	K	0,43 ± 0,02 ^c	0,43 ± 0,03 ^c	30,05	26,44
	L	0,27 ± 0,02 ^{d*}	0,23 ± 0,02 ^e	55,19	60,34

Üst simgedeki a, b ve c harfleri aynı sütundaki farklı gruplar arasındaki ve alt simgedeki * ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farkları göstermektedir.



Şekil 3.4. Tüm gruplarda sıcaklığa bağlı olarak AChE aktivite değişimleri

Flubendiamide uygulanan tüm sıcaklık grupları ve uygulama süreleri incelendiğinde, sıcaklık artışına bağlı olarak flubendiamide uygulanan tüm gruplarda AChE enzim aktivitesi inhibisyonunun arttığı yani enzim aktivitesinin azaldığı belirlenmiştir. En fazla inhibisyonun en yüksek flubendiamide uygulanan, 96. uygulama süresinde ve en yüksek sıcaklık (20 °C) grubunda olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.4).

3.3. Tartışma

Artan nüfusun besin gereksinimlerini karşılamak amacıyla birim alandan daha fazla zirai ürün almak için kullanılan pestisitlerin hedef dışı organizmalara olan etkisi, farklı sıcaklıkla olumsuz sinerjik değişiminin ortaya konularak *Gammarus pulex* üzerindeki nörotoksik değişiklikleri bu çalışma ile değerlendirilmiştir.

Toksikoloji, canlı organizmalar üzerinde fiziksel veya kimyasal ajanların yapmış oldukları hasarı, yıkıcı etkilerini ve bu etkilerin seviyelerini inceler. Bu tanımla sucül toksikolojinin, sucül ekosisteme doğrudan veya dolaylı olarak dahil olmuş olan bir maddenin çeşitli biyobelirteçlerle sucül organizmalar üzerindeki etkisini, toksikolojik testlerle organizmalara hangi konsantrasyonda zarar verdiğini belirlemeyi amaçlar (Karataş, 2005; Serdar ve ark, 2021b).

Günümüzde dünyanın karşılaştığı en büyük sorunlardan birisi de artan küresel ısınmadır. Özellikle kömür petrol doğalgaz gibi fosil yakıtların fazla kullanılmasıyla

küresel ısı artmakta ve bu bütün dünyaya etki etmektedir. Sera gazları, pestisitler, ağır metaller, insan faaliyetleri sonucunda artmakta ve sucul ortamlar ile sucul canlılar üzerinde olumsuz rol oynamaktadır (Mol ve Doğruyol, 2012). Artan nüfusun ihtiyaçlarını karşılamak üzere, artan oranda sanayileşme, barınma, gıda vb. gibi alanlardaki çok hızlı gelişmeler çevresel sorunlarında paralelinde arttığı gözlemlenmektedir. Kirletici maddelerin organizmalar üzerindeki etkisi birçok bilimsel çalışma ile ortaya konulmaktadır. Sıcaklığın canlılar üzerinde metabolik faaliyetlerin hızlanması, kimyasal reaksiyonlarda hızlanma ve çözünmenin artması gibi etkileri bulunmaktadır. Çevresel sorunlar küresel ısınma ile birlikte canlılar üzerinde negatif yönde artı bir güç oluşturmaktadır (Serdar, 2017).

Poikilotermik türler çevresel sıcaklık değişimlerine özellikle duyarlıdır. Bu nedenle sıcaklık, bu organizmaların yaşam döngüsünün tüm metabolik, fizyolojik ve ekolojik yönlerini ve davranışsal eğilimlerini potansiyel olarak etkileyebileceğinden önemli abiyotik faktörlerden biri olarak tanımlanmaktadır (Almeida ve ark. 2015).

Qiu ve Qian, (1999), yaptıkları çalışmada abiyotik faktörlerden sıcaklık *Amphitrite amfiritin* larvalarında hem hayatta kalma hem de gelişmeden önemli ölçüde etkilendiğini belirtmişlerdir. Bat ve ark. (2000), tatlı su amfipodu *G. pulex*'te çinko (Zn), bakır (Cu) ve kurşun (Pb) toksisitesi LC₅₀ değerlerini üç farklı sıcaklıkta (15, 20 ve 25 °C) belirlemiştir. LC₅₀ değerlerinin sıcaklıkla azaldığını, artan sıcaklıkla organizmanın maruz bırakılan maddeye hassasiyetlerinin arttığını bildirmişlerdir. Zauke (1982), *Gammarus tigrinus* doğal popülasyonlarında Cd ağır metali akut toksisitesi ile abiyotik değişkenler arasındaki ilişkiyi incelemiş ve Cd konsantrasyonu ile su sıcaklığı arasında bir ilişki olduğunu bildirmiştir. Piazza et al. (2016), yaptıkları çalışmada toksisite testinin doğasını, özellikle toksik bir maddenin varlığında sıcaklık ve tuzluluk değişimlerini ve bu parametrelerin rolü üzerindeki bilgilerin çevresel etkisini değerlendirmek için bir çalışma yapmıştır. Nihai test sonuçları hakkında ilk bilgileri elde etmek için, referans toksik maddelerin bulunup bulunmadığına bakılmaksızın sıcaklık ve tuzlulukta değişiklikler ayrı ayrı gözlemlendi. Sonuç olarak, organizmalarda sıcaklık ve tuzluluğun etkili olduğunu bildirmişlerdir. Nasrolahi ve ark. 2013, model organizmanın düşük sıcaklık ve düşük tuzluluk stresinin 7 ve 40 gün sonra larva büyümesini etkilediğini ve abiyotik faktörlerdeki değişikliklerin doğrudan ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Pala ve Serdar (2018) Pülümür akarsuyundan (Tunceli) alınan *Capoeta umbla* (Heckel, 1843)'nın beyin dokusundaki asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesinin mevsimsel değişimini belirlemek amacıyla yaptıkları

çalışmada enzim aktivitesi, ilkbahar ve yaz aylarında sonbahar ve kış aylarına kıyasla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, AChE aktivitesine ait minimum değer kışın, maksimum değer ise ilkbaharda tespit edildiğini bildirmişlerdir. Değişimin iklimsel sıcaklık değişikliğinden kaynaklanacağını varsaymışlardır. Bueno-Krawcayk ve ark. (2015), *Astyanax bifasciatus*, beyin ve kas dokusunda AChE aktivitesinin mevsimsel değişimini takip etmiş ve en düşük aktiviteyi kış mevsiminde bulmuştur. *Mytilus sp.*'nin AChE aktivitesi. Baltık Denizi'nden gelenler, yazın maksimum aktivite ve kışın minimum aktivite ile önemli mevsimsel farklılıklar göstermiştir (Pfeifer ve ark. 2005). Benzer bir sonuç Yıldırım ve ark. (2014); Uzunçayır Baraj Gölü'nden yakalanan *C. umbla*'nın AChE aktivitesinin ilkbaharda solungaç ve karaciğerde sonbahara göre oldukça yüksek olduğunu saptamışlardır. Yapılan bu çalışmada, hesaplanan flubendiamide etken maddeli pestisit LC₅₀ akut toksitesinin sıcaklık artışı ile etkileşime girdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmada, önceki literatürde benzer sonuçlara ulaşılmıştır.

AChE; uyarı verici asetilkolin (ACh)'yi hidrolize ederek sinir uyarılarının kolinerjik sinapslar boyunca geçişini kontrol eden önemli bir düzenleyici enzimdir, bu enzim, nörotransmitter asetilkolinin hidrolizini sağlayarak sinir uyarılarını sonlandırır (Lionetto ve ark., 2013) ve organofosfatlar, polibromlanmış di fenil eterler ve farmasotikler gibi antikolinesteraz kimyasallar tarafından baskılandıkları için nörotoksitenin bir biyobelirteçi olarak bilinmektedirler (Müller ve ark., 2002).

Poikilotermik türlerdeki çoğu enzimatik aktivite, buldukları ortamın sıcaklığı ile değişir. Aslında, AChE aktivitesinin seviyesi doğrudan ortam sıcaklığına değil, su sıcaklığı ile sıkı bir şekilde ilişkili olan fizyolojik aktiviteye bağlıdır (Forget ve ark. 2003). Bocquené ve Galgani (1998), AChE aktivitesindeki doğal değişiklikler üzerinde sıcaklığın en önemli düzenleyici faktör olduğunu iddia etmiştir. Çünkü sıcaklık organizmaların maruz kaldıkları hem kirletici konsantrasyonlarını hem de fizyolojik aktivitelerini etkileyebilir (Kopecka et al. 2006). Bazı çalışmalarda, artan su sıcaklığı ile AChE aktivitesinin arttığı bildirilmiştir. Su sıcaklığındaki artışın *Lepomis macrochirus*'un AChE aktivitesinde artışa neden olduğu Hogan (1970) tarafından rapor edilmiştir. AChE aktivitesinin sıcaklık ve tuzluluğa bağlı olarak mevsimsel değişimi *Mytilus sp.* Baltık Denizi'nde ve önemli farklılıklar tespit edildi (Pfeifer ve ark. 2005).

Xuereb ve ark., (2007), *G. pulex*'teki kolinesteraz (ChE) aktivitesini incelemişlerdir. Sonuçlar *G. pulex*'in, asetilkolinesterazın tipik özelliklerini gösteren sadece bir ChE'ye sahip olduğunu göstermiştir.

Sucul omurgasızlar insektisitlere omurgalı hayvanlardan daha duyarlıdır (Giesy ve ark., 1999; Hyne ve Maher, 2003), AChE aktivitesi inhibisyonu bazı sucul omurgasız türlerinde ölçülmüştür (Kozlovskaya ve ark., 1993; M o ulton ve ark., 1996; McLoughlin ve ark., 2000; Varó ve ark., 2002; Barata ve ark., 2004; Kristoff ve ark., 2006; Gauthier ve ark., 2016; Pala ve ark., 2020). Yapılan bu çalışmada flubendiamide uygulanan test organizmasında, artan konsantrasyon ve sıcaklıkla AChE enzim aktivitesinin dikkate değer derecede inhibe edildiği tespit edilmiştir. Tulpar (2019), yaptığı çalışmada, triklorfonun subletal konsantrasyonlarını uyguladığı çalışmada, *G. pulex* dokularındaki AChE aktivitesinde 24. saatte kısmi bir artış, 96. saatte ise azalmanın meydana geldiği tespit etmiştir. AChE aktivitesindeki 96. saat sonunda triklorfon uygulanan gruplardaki organizmalarda AChE aktivitesinde meydana gelen azalmanın, pestisite karşı gösterilen direncin kırıldığını ve inhibisyonun olduğunu bildirmiştir. Demirci ve ark. (2018), yaptıkları çalışmada *Gammarus kischineffensis*'te atrazin ile kombinasyon halinde endosulfan, thiamethoxam ve indoxacarb'ın çoklu biyobelirteçler üzerindeki etkileri araştırmışlardır. Atrazin'nin endosulfan, indoxacarb ve thiamethoxam ile kombine kullanımının özellikle maruziyetin ilk iki gününde AChE aktivitesini inhibe edildiğini bildirmişlerdir. Pala (2013), yapmış olduğu çalışmada *Cyprinus carpio* organizmasına uyguladığı farklı konsantrasyonlardaki subletal triklorfon pestisitinin AChE aktivitesinde inhibisyon yaptığını bildirmiştir. Köktürk (2018), n-butanol uyguladıkları zebra balığı embriyolarında 96. saatte tüm uygulama gruplarında AChE enzim aktivitesinin azaldığı belirlenmişlerdir. Chandrasekara ve Pathiratne (2005), 24 saatlik uygulama sonunda *C. carpio*'da tirchlorfonun, AChE aktivitesinin %52-57 oranında azalmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Guimarães ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada *O. niloticus*'un kas AChE'si, düşük konsantrasyonlarda pestisitlere maruz kaldığında bile organofosfat kontaminasyonuna duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Feng ve ark. (2008), *Tilapia nilotica*'nın triklorfon maruziyeti altında antioksidan koruma sistemindeki değişimlerini gözlemiş ve AChE aktivitesinde önemli ölçüde inhibisyon görmüşlerdir. Demirci (2013), *Gammarus kichneffensis* organizmasını atrazin ve endosulfan pestisitlerine birlikte ve ayrı olarak maruz bıraktıkları çalışmada, AChE seviyelerinin önemli düzeyde inhibe olduğunu rapor etmişlerdir. Diazinon'a maruz kalan *O. niloticus*, 30 günlük maruz kalma süresi boyunca öldürücü olmayan konsantrasyonlarda gözlemlenen yüksek AChE inhibisyonu bildirilmiştir. *C. carpio* 5 gün boyunca 2 mg/L methidatione maruz bırakılmış ve beyin AChE aktivitesinde %90-92 azalmaya neden olmuştur (Balint ve ark., 1995). Diazinon

maruziyeti ile *Micropterus salmoides*'de %91.45 inhibisyon meydana geldiği bildirilmiştir (Pan ve Dutta, 1998). Klorfenvinfos, klorpirifos, diazinon ve karbofuran'a kronik maruziyet sonucunda, *C. carpio*'nun beynindeki AChE seviyesini önemli ölçüde baskılamıştır (Dembele ve ark., 2000). Pala ve Serdar (2018), yaptıkları çalışmada Pülümür Nehrinden mevsimsel olarak yakaladıkları *C. umbla* balıklarındaki AChE enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Yaz aylarındaki AChE enzim aktivitesindeki inhibisyonun sıcaklık artışı ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir. Pala ve ark. (2019) yaptıkları çalışmaya göre, organofosfatlı insektisit olan malathionun iki farklı sublethal konsantrasyonunun (0.1 ve 0.2 mg l-1) *Gammarus pulex*'te AChE aktivitesi üzerine akut (24 ve 48 saat) etkisini incelemişlerdir. Malathion maruziyetinin 24 ve 48 saat sonunda *G. pulex* örneklerinde AChE enzim aktivitesi ve protein düzeyi belirlenerek, spesifik AChE enzim aktivitesini hesaplamışlardır. Malathionunun sublethal konsantrasyonları *G. pulex*'te AChE aktivitesininin zamana bağlı artan inhibisyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada da literatürki çalışmalara benzer şekilde, AChE enzim aktivitesinde su sıcaklığındaki artışa bağlı olarak artan flubendiamide uygulaması sonrası istatistiksel açıdan anlamlı bir inhibisyon tespit edilmiştir ($p < 0.05$).

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, günümüzde yoğun olarak kullanılan zirayi mücadelede kimyasal ve sentetik maddelerin doğrudan ve dolaylı olarak hedef dışı organizmalara olan etkisi ve bir diğer çevre sorunu olan küresel ısınmanın (artan sıcaklık) birlikte etkisinin araştırıldığı model bir çalışma tasarlanmıştır. Bu sebeple flubendiamide etken maddeli yeni nesil bir pestisit, hedef dışı temiz su indikatörü olan *G. pulex* üzerindeki nörotoksik etkisi sıcaklıkla ilişkilendirilerek belirlenmiştir. Öncelikle her bir sıcaklığa ait LC₅₀ değeri hesaplanarak, AChE aktivitesi etkisi incelenmiştir. Orta veya uzun vadeli çevresel kontaminasyonlarda, AChE inhibisyonu veya doku değişiklikleri dahil olmak üzere hedef olmayan organizma üzerinde bazı olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir (Sturm ve ark., 1999).

Flubendiamide etkisine bırakılan test organizmalarında AChE aktivitesi tüm sıcaklık gruplarında kontrole kıyasla daha düşük bulunmuştur. AChE aktivitesinde meydana gelen düşüşe bağlı olarak flubendiamide *G. pulex* üzerinde nörotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek etkinin en yüksek sıcaklıkta olması artan sıcaklıkla hedef dışı sucül organizmaların artan pestisit kullanımıyla telafisi mümkün olmayan sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir. Ludke ve ark., (1975)'na göre bazı canlılar %50'den fazla AChE inhibisyonu ile hayatta kalabilir, ancak bunun yaşamı tehdit eden bir durumun bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir.

Flubendiamidenin nörotoksik etkisinin belirlenmesinde AChE aktivitesinin önemli bir yardımcı enzim olduğu saptanmıştır. AChE aktivitesinin pestisit kirliliğinin belirlenmesinde biyobelirteç olarak kullanılabilmesi ortaya konmuştur.

Sonuç olarak artan sıcaklığın flubendiamide etken maddeli pestisitle birlikte olumsuz sinerjik etkisinin *G. pulex* üzerindeki LC₅₀ değeri, AChE aktivitesi nörotoksik açısından önemli bulunmuştur. Bu tür çalışmaların genişletilerek ekotoksikolojik, biyokimyasal, genotoksik, açıdanda irdelenerek risk değerlendirme çalışmalarında ve çevre koruma çalışmalarının kirlilik izleme programlarında kullanılmalıdır.

Çalışma bulguları ve literatür bilgisine dayalı olarak;

- Pestisit kullanımının hedef dışı maruz kalan organizmalar olan sucül ekosistem canlıları üzerinde organizmanın büyüme, üreme ve gelişim gibi parametrelerinin olumsuz etkilere sebebiyet verdiği söylenebilir.
- Sıcaklık gibi abiyotik faktörlerin organizma metabolizması üzerine doğrudan etkisinin olduğu bilinmektedir. Sucül ortam sıcaklığındaki artış

oksijen, pH vb. suyun fizikokimyasal parametrelerine etki etmektedir. Bu durum sucul organizmalar üzerinde doğrudan etki yapmaktadır. Sıcaklığın artışına ek olarak sucul ortamlara doğrudan veya dolaylı olarak kirletici maddelerin deşarj edilmesi sucul organizmalar üzerindeki olumsuz sinerjik etkisinin olabileceği söylenebilir.

- İklim değişikliğinin ana parametresi olan sıcaklık değişiminin canlılar üzerindeki etkisinin araştırılacağı ve sucul ortama deşarj edilen kirleticilerin etkisinin araştırıldığı çalışmalar çeşitlendirilerek çalışılmalıdır.
- Kurgulanacak çalışmalar biyobelirteçler yanı sıra organizmaların üreme büyüme ve gelişimlerinin araştırılacağı histopatoloji, genotoksikoloji ve sitotoksikoloji gibi disiplinler arası çalışmalar ile zenginleştirilmelidir.

5. KAYNAKLAR

- Almeida, J.R., Gravato, C., Guilhermino, L.** 2015. Effects of temperature in juvenile seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) biomarker responses and behaviour: implications for environmental monitoring. *Estuaries and Coasts*. 38(1):45-55.
- Balint, T., Szegletes, T., Szegletes, Zs., Halasy, K., Nemcsok, J.,** 1995. Biochemical and subcellular changes in carp exposed to the organophosphorus methidathion and the pyrethroid deltamethrin. *Aquat. Toxicol.* 33, 279.
- Barata, C., Solayan, A., & Porte, C.** (2004). Role of B-esterases in assessing toxicity of organophosphorus (chlorpyrifos, malathion) and carbamate (carbofuran) pesticides to *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 66(2), 125-139.
- Bat L, Akbulut M, Çulha M, Gündoğdu A, Satılmış HH.** 2000. Effect of temperature on the toxicity of zinc, copper and lead to the freshwater amphipod *Gammarus pulex pulex* (L., 1758). *Turkish Journal of Zoology*. 24(4):409-416.
- Bocquené, G., Carbamates, G.F.** 1998. Biological effects of contaminants: cholinesterase inhibition by organophosphate and carbamate compounds (No. 22). Copenhagen, Denmark: International Council for the Exploration of the Sea 19p
- Bueno-Krawcayk, A.C.D., Guiloski, I.C., Piacini, L.D.S., Azevedo, J.C., Ramsdorf, W.A., Ide, A.H., Guimarães, A.T.B., Cestari, M.M., Silva de Assis, H.C.** 2015. Multibiomarker in fish to evaluate a river used to water public supply. *Chemosphere*. 135(2015): 257-264.
- Cavdar, H., Senturk, M., Guney, M., Durdagi, S., Kayik, G., Supuran, C.T. and Ekinci, D.** 2019. Kinetic and In Silico Studies of Some Uracil Derivatives on Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase Enzymes. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 34 (1) 429-437.
- Chandrasekara, H.U., Pathiratne, A.,** 2005. Influence of low concentrations of Triklorfon on hematological parameters and brain acetylcholinesterase activity in common carp, *Cyprinus carpio* L. *Aquaculture Research*, 36, 144-149.
- Cold, A., Forbes V.E.,** 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquatic Toxicology*, 67(3): 287-299.
- Das, S. K., Mukherjee, I.** 2011. Effect of light and pH on persistence of flubendiamide. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 87(3), 292-296.
- Dembele, K., Haubruge, E., Gaspar, C.,** 2000. Concentration effects of selected insecticides on brain acetylcholinesterase in the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Ecotox. Environ. Saf.* 45, 49.

- Demirci, Ö.**, 2013. Çeşitli pestisitlerin *Gammarus kischineffensis*'in antioksidan enzim sistemi ve bazı biyobelirteçler üzerine etkisi. *Doktora Tezi*, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 152 s.
- Demirci, Ö.** 2018. İmidakloprit ve Asetamiprit'in *Gammarus kischineffensis* (Amphipoda: Crustacea) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Değerlendirilmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3), 85-92.
- Demirci, Ö., Güngördü, A.** 2020. Evaluation of the biochemical effects of an acetamiprid-based insecticide on a non-target species, *Gambusia holbrooki*. *Water and Environment Journal* 34: 481-489.
- Demirci, Ö., Güven, K., Asma, D., Öğüt, S., & Uğurlu, P.** 2018. Effects of endosulfan, thiamethoxam, and indoxacarb in combination with atrazine on multi-biomarkers in *Gammarus kischineffensis*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 147, 749-758.
- Feng, T., Li, Z.B., Guo, X.Q., Guo, J.P.,** 2008. Effects of triklorfon and sodium dodecyl sulphate on antioxidant defense system and acetylcholinesterase of *Tilapia Nilotica* in vitro. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 92, 107–113.
- Fernandez, M.D., Perez, R.A., Sanchez-Brunete, C., Tadeo, J.L.** 2001. Persistence of simazine and hexazinone in soil. *Fresenius Environ Bull* 10:490–494
- Forget, J., Beliaeff, B., Bocquene, G.** 2003. Acetylcholinesterase activity in copepods (*Tigriopus brevicornis*) from the Vilaine River estuary, France, as a biomarker of neurotoxic contaminants. *Aquatic Toxicology*. 62(3): 195-204.
- Gaffney, G.** 2019. Environmental change and high status water-bodies (Doctoral dissertation, Ulster University).
- Ganier, C.P., Breuzin, C., Portal, J.M., Schiavon, M.** 1996. Availability and persistence of isoproturon under field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Safety* 35:226–230
- Gauthier, P.T., Norwood, W P., Prepas, E E., & Pyle, G.G.** 2016. Behavioural alterations from exposure to Cu, phenanthrene, and Cu-phenanthrene mixtures: linking behaviour to acute toxic mechanisms in the aquatic amphipod, *Hyalella azteca*. *Aquatic Toxicology*, 170, 377-383.
- Giesy, J.P., Solomon, K.R., Coats, J.R., Dixon, K.R., Giddings, J. M., & Kenaga, E.E.** 1999. Chlorpyrifos: ecological risk assessment in North American aquatic environments. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 1-129.
- Guimarães, A.T.B., De Assis, H.S., & Boeger, W.** 2007. The effect of trichlorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 68(1), 57-62.

- Hogan, J.W.** 1970. Water temperature as a source of variation in specific activity of brain acetylcholinesterase of bluegills. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 5(4): 347-353.
- Hurrell, J. W., Deser, C.** 2010. North Atlantic climate variability: the role of the North Atlantic Oscillation. *Journal of marine systems*, 79(3-4), 231-244.
- Hyne, R.V., & Maher, W.A.** 2003. Invertebrate biomarkers: Links to toxicosis that predict population decline. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 54(3), 366-374.
- IPCC,** 2001. Climate change 2001: The Scientific Basis. Cambridge University Press. Cambridge, U.K. 944 pp.
- Lionetto, M. G., Caricato, R., Calisi, A., Giordano, M. E., & Schettino, T.** 2013. Acetylcholinesterase as a biomarker in environmental and occupational medicine: new insights and future perspectives. *BioMed research international*, 2013.
- Ludke, J.L., Hill, E.F., & Dieter, M.P.** 1975. Cholinesterase (ChE) response and related mortality among birds fed ChE inhibitors. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 3(1), 1-21.
- Kalaycı, Ş.,** 2010. SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri, Asil Yayınları, Ankara.
- Kankaya, E.** 2008. Metil paration'un inci kefali (*Chalcalburnus tarichi pallas*, 1811) Üzerindeki akut ve kronik toksik etkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Van, 146s.
- Karaismailoğlu, M.C.** 2016. The evaluation of the genotoxic and cytotoxic effects of Pyriproxyfen insecticide on *Allium cepa* somatic chromosomes with mitotic activity, chromosome abnormality and micronucleus frequency. *Turkish Journal of Life Sciences* 1(2): 65–69.
- Karataş, M.** 2005. *Balık biyolojisi araştırma yöntemleri /Fish biology research methods*. Nobel Yayınları (772), 498.
- Koç, N.D., Kayhan, F.E., Sesal, C., Muslu, M.N.** 2009. Dose dependent effects of endosulfan and malathion on adult Wistar albino rat ovaries. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 12(6): 498–501.
- Konstantinou, I.K., Zarkadis, A.K., Albanis, T.A.** 2001. Photodegradation of selected herbicides in various natural waters and soils under environmental conditions. *J Environ Qual* 30:121–130
- Kopecka, J., Lehtonen, K.K., Barřienė, J., Broeg, K., Vuorinen, P.J., Gercken, J., Pempkowiak, J.** 2006. Measurements of biomarker levels in flounder (*Platichthys*

flesus) and blue mussel (*Mytilus trossulus*) from the Gulf of Gdańsk (southern Baltic). *Mar Pollut Bull.* 53(8-9): 406-421.

Kozlovskaya, V.I., Mayer, F.L., Menzikova, O.V., & Chuyko, G.M. 1993. Cholinesterases of aquatic animals. *In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 117-142.

Köktürk, M. 2018. Zebra balığı (*Danio Rerio*) gelişimi üzerine n-butanol'ün teratojenik ve nörotoksik etkileri. *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum, 150s

Kristoff, G., Guerrero, N.V., de D'Angelo, A.M.P., & Cochón, A.C. 2006. Inhibition of cholinesterase activity by azinphos-methyl in two freshwater invertebrates: *Biomphalaria glabrata* and *Lumbriculus variegatus*. *Toxicology*, 222(3), 185-194.

Kutlu, M., Düzen, A., Bayçu, C., Özata, A. 2002. A transmission electron microscope investigation of the effect of lead acetate on the hepatopancreatic ceca of *Gammarus pulex*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 12(3), 181-187.

McLoughlin, N., Yin, D., Maltby, L., Wood, R.M., & Yu, H. 2000. Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(8), 2085-2092.

Moulton, C.A., Fleming, W.J., & Purnell, C.E. 1996. Effects of two cholinesterase-inhibiting pesticides on freshwater mussels. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 15(2), 131-137.

Mol, S., Doğruyol, H., 2012. İklim değişikliğinin su ürünlerine ve tüketimine etkisi. *Journal of Fisheries Sciences*, 6(4): 341-356.

Müller, T.C., Rocha, J.B.T., Morsch, V.M., Neis, R.T., Schetinger, M. R. 2002. Antidepressants inhibit human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1587(1), 92-98.

Nasrolahi, A., Pansch, C., Lenz, M. & Wahl, M. (2013). Temperature and salinity interactively impact early juvenile development: a bottleneck in barnacle ontogeny. *Marine Biology*, 160, 1109-1117.

Pala, A. 2013. Trichlorfon uygulanan pullu sazan (*Cyprinus Carpio*)'da asetilkolinesteraz (Ache) enzim aktivitesi ve bazı kan parametrelerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. Elazığ 60s.

Pala, A., Serdar, O. 2018. Seasonal variation of acetylcholinesterase activity as a biomarker in brain tissue of *Capoeta umbla* in Pülümür Stream. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 4(2), 98-102.

- Pan, G., Dutta, H.M.,** 1998. The inhibition of brain acetylcholinesterase activity of juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides* by sublethal concentrations of diazinon. *Environ. Res.* 79, 133.
- Pfeifer, S., Schiedek D., Dippner J.W.** 2005. Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in *Mytilus sp.* from the south-western Baltic Sea. *J Exp Mar Biol Ecol.* 320(1): 93-103.
- Piazza, V., Gambardella, C., Canepa, S., Costa, E., Faimali, M., Garaventa, F.** 2016. Temperature and salinity effects on cadmium toxicity on lethal and sublethal responses of *Amphibalanus amphitrite nauplii*. *Ecotox Environ Safe.* 123:8-17.
- Pohanka, M.** 2011. Cholinesterases, a target of pharmacology and toxicology. *Biomedical Papers of the Medical Faculty of Palacky University in Olomouc,* 155(3).
- Sanyal, D., Yaduraju, N.T., Kulshrestha, G.** 2000. Metolachlor persistence in laboratory and field soils under Indian tropical conditions. *J Environ Sci Health B* 35:571–583
- Serdar, O.,** 2017. Tatlı Su Amfipodu *Gammarus pulex* (L., 1758)'te Kadmiyum Toksisitesi Üzerine Sıcaklığın Etkisinin Belirlenmesi. *Doktora Tezi,* Munzur Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli, 62s.
- Serdar, O., Aydın, R., Söylemez, H.** 2021a. Effect of Beta-Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*). *International Journal of Pure and Applied Sciences,* 7(3), 462-471.
- Serdar, O., Yıldırım, N. Y., Tatar, Ş., & Yıldırım, N. C.** 2021b. Gadoliniumun Tatlı Su Omurgasız *Dreissena polymorpha* Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri. *International Journal of Pure and Applied Sciences,* 7(2), 229-236.
- Serdar, O., Aydın, R., & Çalta, M.** 2021c. Determination of Some Biochemical Parameters Changes in *Gammarus pulex* Exposed to Cadmium at Different Temperature and Different Concentration. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research,* 7(1), 69-76.
- Sevgiler, Y., Elif, E.O., Ozcan, O., Nevin, E.U.,** 2004. Evaluation of etoxazole toxicity in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Pesticide biochemistry and physiology,* 78(1), 1-8.
- Shane, H.** 2006. Flubendiamide: the next generation in lepidoptera pest management. Paper presented at the annual meeting of the Entomological Society of America (ESA) held at research Triangle Park, NC, December 10–13
- Silva, H. C., Medina, H. S. G., Fanta, E., & Bacila, M.** 1993. Sub-lethal effects of the organophosphate folidol 600 (methyl parathion) on *Callichthys callichthys* (Pisces:

Teleostei). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 105(2), 197-201.

Sturm, A., Wogram, J., Hansen, P.D., & Liess, M. 1999. Potential use of cholinesterase in monitoring low levels of organophosphates in small streams: Natural variability in three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) and relation to pollution. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 18(2), 194-200.

Sussman, J.L., Harel, M., Frolow, F., Oefner, C., Goldman, A., Toker L. and Silman, I. 1991. Atomic Structure of Acetylcholinesterase from *Torpedo Californica*: A Prototypic Asetylcholine-Binding Protein. *Science*, 253(5022), 872-879.

Sümbüloğlu, K., & Sümbüloğlu, V. 1998. Biostatistics. *Ankara, Hatiboğlu Yayınevi*, 76-86.

Tulpar, D. 2019. Triklorfon'a maruz kalan *Gammarus pulex*'de antioksidan yanıtın araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Munzur Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tunceli, 40s.

Turan, G.T. 2012. 2,4-Diklorofenoksiasetik asitin (2,4-D) kılıçkuyruk (*Xiphophorus hellerii*) balıklarının bazı dokularında asetiklorinesteraz (AChE) aktivitesi üzerine etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 79s

Qiu, J.W. & Qian, P.Y. 1999. Tolerance of the barnacle *Balanus amphitrite amphitrite* to salinity and temperature stress: effects of previous experience. *Marine Ecology Progress Series*, 188, 123-132.

URL-1, 2019. <https://www.google.com.tr/maps/@39.1729324,39.0224096,9.87z?hl=tr> (erişim tarihi 15.04.2022)

Üner, N., Oruç, E. Ö., Sevgiler, Y., Şahin, N., Durmaz, H., Usta, D. 2006. Effects of diazinon on acetylcholinesterase activity and lipid peroxidation in the brain of *Oreochromis niloticus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 21(3), 241-245.

Varó, I., Navarro, J.C., Amat, F., & Guilhermino, L. 2002. Characterisation of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*, 48(6), 563-569.

Xuereb, B., Noury, P., Felten, V., Garric, J., Geffard, O., 2007. Cholinesterase activity in *G. pulex* (Crustacea Amphipoda): Characterization and effects of chlorpyrifos. *Toxicology*, 236, 178-189.

- Yıldırım, N.C., Yıldırım, N., Danabas, D., Danabas, S.** 2014. Use of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and cytochrome P450 1A1 in *Capoeta umbla* as biomarkers for monitoring of pollution in Uzuncayir Dam Lake (Tunceli, Turkey). *Environmental toxicology and pharmacology*. 37(3): 1169-1176.
- Yu, S.J.** 2008. The toxicology and biochemistry of insecticides. In: Yu, S.J. (Ed.) *The Need for Pesticides and Their Pattern of Use*. Boca Raton, FL: CRC Press, pp.1–8.
- Wernberg, T., Russell, B. D., Moore, P.J., Ling, S. D., Smale, D.A., Campbell, A., Connell, S.D.** 2011. Impacts of climate change in a global hotspot for temperate marine biodiversity and ocean warming. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 400(1-2), 7-16.
- Wrona, F.J., Prowse, T.D., Reist, J.D., Hobbie, J.E., Lévesque, L.M., Vincent, W.F.** 2006. Climate impacts on Arctic freshwater ecosystems and fisheries: background, rationale and approach of the Arctic Climate Impact Assessment (ACIA). *AMBIO: A Journal of the Human Environment*, 35(7), 326-329.
- Zauke GP.** 1982. Cadmium in Gammaridae (Amphipoda: Crustacea) of the rivers Werra and Weser—II: Seasonal variation and correlation to temperature and other environmental variables. *Water Res.* 16(6): 785-792.
- Zilbeyaz, K., Stellenboom, N., Guney, M., Oztekin, A., Senturk, M.** 2018. Effects of aryl methanesulfonate derivatives on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 32:e22210.