

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



MUNZUR
ÜNİVERSİTESİ
2008

**TRİKLORFON'A MARUZ KALAN *Gammarus pulex*'de
ANTİOKSİDAN YANITIN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Dilan TULPAR

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR

II. DANIŞMAN
Arş.Gör. Osman SERDAR

TUNCELİ – 2019

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRİKLORFON'A MARUZ KALAN *Gammarus pulex*'de
ANTİOKSİDAN YANITIN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Dilan TULPAR
(12881007)

Anabilim Dalı: Çevre Mühendisliği

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR

II. DANIŞMAN
Arş.Gör. Osman SERDAR

TUNCELİ – 2019

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRİKLORFON'A MARUZ KALAN *Gammarus pulex*'de
ANTIÖKSİDAN YANITIN ARAŞTIRILMASI**

**Dilan TULPAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 18/ 06 / 2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

İmza:.....	İmza:.....	İmza:.....
Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR	Doç. Dr. E. Işıl ARSLAN TOPAL	Doç. Dr. Murat TOPAL
(Munzur Üniversitesi)	(Fırat Üniversitesi)	(Munzur Üniversitesi)

DANIŞMAN

ÜYE

ÜYE

Bu tez, Enstitümüz Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

Prof. Dr. Numan YILDIRIM
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

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

Proje No: YLMUB017-16

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

ÖZET

Bu çalışmada, pestisit ve endokrin bozucu bir mikro kirletici olan triklorfona maruz bırakılan *G. pulex*'in antioksidan yanıtlarının araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan canlı materyal *G. pulex* örnekleri, Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarında kültüre alınmış canlılardan temin edildi. Farklı konsantrasyonlara sahip ve 24 ve 96 saatlik uygulama süresinde triklorfon uygulanan üç ayrı grup (A, B, C) ve kontrol grubunda enzimatik aktivitelerden asetilkolinesteraz (AChE), sitokrom P450 (CYP1A1) ile glutatyon S-transferaz (GST) seviyelerindeki değişimler izlendi. Söz konusu biyokimyasal biyobelirteçler, ELISA metodu kullanılarak mikropate okuyucuda ölçüldü.

AChE enzim aktivitesini kontrol ile kıyasladığımızda 24 saatlik uygulama süresinde tüm gruplarda arttı ($p>0.05$), 96 saatlik uygulama süresinde ise azaldı ($p<0.05$). Maruz kalma süreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında sadece 96 saatlik uygulamanın sonunda A ve B gruplarındaki azalış anlamlı olarak bulundu ($p<0.05$). CYP1A1 enzim aktivitesi kontrol ile kıyaslandığında her iki uygulama süresinde de tüm gruplarda azaldı ($p>0.05$). GST enzim aktivitesi kontrol ile kıyaslandığında her iki grupta da 24 ve 96 saatlik uygulama süreleri sonrasında arttı ($p<0.05$).

Triklorfona karşı *G. pulex* dokularında AChE, CYP1A1 ve GST enzim aktivitelerinde meydana gelen değişikliklere bakıldığında bu enzimlerin yararlı birer biyobelirteç olarak kullanılabileceği sonucuna varıldı. Ayrıca, *G. pulex*'in su kalitesi açısından triklorfon kirliliğini yansıtacak etkili bir biyoindikatör olduğu da kanıtlandı. Biyokimyasal biyobelirteçlerin farklı sonuçları, olası metabolik süreçlerin bir göstergesi olarak değerlendirilebilir ve *G. pulex*'in biyokimyasal tepkisi, daha çok tarımsal alanlardan yüzey sularına karışan triklorfon kirliliğinin çevresel sonuçlarını büyük ölçüde ortaya koyabilmektedir.

Anahtar Kelimeler: *G. pulex*, triklorfon, akut toksisite, antioksidan yanıt

ABSTRACT

Investigation of Antioxidant Response in *Gammurus pulex* Exposed to Trichlorfon

In this study, it was aimed to investigate antioxidant responses of *G. pulex* exposed to a pesticide and endocrine disrupting substance trichlorfon.

G. pulex samples of live material used in our study were obtained from living organisms in Munzur University Fisheries Faculty Research Laboratory. Acetylcholinesterase (AChE), cytochrome P450 (CYP1A1) and glutathione S-transferase (GST) enzyme activities were determined in three different groups (A, B, C) and trichlorfon treated groups at different concentrations and during 24 and 96 hours of application. Biochemical biomarkers were measured in a microplate reader using the ELISA method.

When we compared AChE enzyme activity with control, it increased in all groups after 24 hours ($p>0.05$) and decreased in 96 hours ($p<0.05$). When the exposure times were statistically compared, the decrease in the A and B groups was found to be significant only at the end of the 96-hour period ($p<0.05$). CYP1A1 enzyme activity decreased in all groups compared to control group ($p>0.05$). GST enzyme activity was increased in both groups after 24 and 96 hours of application compared to control ($p<0.05$).

When we look at the changes in AChE, CYP1A1 and GST enzyme activities in *G. pulex* tissues against trichlorfon, it was concluded that these enzymes can be used as useful biomarkers. It has also been proven that *G. pulex* is an effective bioindicator that reflect trichlorfon pollution in terms of water quality. The different results of biochemical biomarkers can be evaluated as a marker of possible metabolic processes, and the biochemical response of *G. pulex* can reveal to some extent the environmental consequences of trichlorfon pollution interfering with surface waters from agricultural areas.

Keywords: *G. pulex*, trichlorfon, acute toxicity, antioxidant response

TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans danışmanlığımı üstlenerek her konuda bilgi, birikim ve tecrübelerini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Şule TATAR'a ve çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübesini benimle paylaşan, laboratuvar çalışmalarında ve canlı materyal teminde yardımcı olan ayrıca manevi desteğini hiç eksik etmeyen ikinci danışman hocam Sayın Dr. Osman SERDAR'a, laboratuvar çalışmalarım esnasında her türlü yardımını gördüğüm Sayın Doç. Dr. Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM'a **TEŞEKKÜR**'lerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında manevi desteklerini benden esirgemeyen Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölüm hocalarıma sonsuz **TEŞEKKÜR**'lerimi sunarım.

Tez çalışmamızı destekleyen Munzur Üniversitesi BAP Birimi (MUNİBAP)'ne ayrıca **TEŞEKKÜR**'lerimi sunarım.

Son olarak, tüm hayatım boyunca destek ve sevgilerini benden esirgemeyen sevgili aileme **TEŞEKKÜR** ederim.

Dilan TULPAR

TUNCELİ-2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
TEŞEKKÜRLER	V
İÇİNDEKİLER	VI
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
TABLolar LİSTESİ	IX
RESİMLER LİSTESİ	X
SEMBOLLER VE KISALTMALAR	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Triklorfon	2
1.2. Endokrin Bozucu Maddeler	3
1.3. Biyoindikatörler	3
1.4. Biyobelirteçler	4
1.5. Oksidatif Stres	5
1.6. Antioksidanlar	5
1.6.1. Glutasyon S-transferaz (GST)	6
1.6.2. Sitokrom P450 (CYP1A1)	7
1.6.3. Asetilkolinesteraz (AChE)	8
2. MATERYAL VE METOT	11
2.1. Materyal	11
2.1.1. Model Organizma <i>G. pulex</i>	11
2.1.2. Triklorfon	11
2.2. Metot	12
2.2.1. Akut Toksikite Deneyi (LC ₅₀)	12
2.2.2. Subletal Triklorfon Konsantrasyon Uygulamaları	13
2.2.3. Biyokimyasal Analizler	13
2.2.3.1. Homojenatların Hazırlanması	13
2.2.3.2. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesinin Belirlenmesi	13
2.2.3.3. CYP1A1 Aktivitesinin Belirlenmesi	13
2.2.3.4. GST Aktivitesinin Belirlenmesi	14
2.2.4. İstatistiksel Analizler	14
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	15

3.1. Akut Toksikite Değerleri	15
3.2. Biyokimyasal Yanıtlar.....	15
3.2.1. AChE Aktivitesi	16
3.2.2. CYP1A1 Aktivitesi	18
3.2.3. GST Aktivitesi.....	19
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	22
KAYNAKLAR.....	23
ÖZGEÇMİŞ.....	28



ŞEKİLLER LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1.1. Triklorfon pestisit formülü.....	2
Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda triklorfon'a maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de AChE (U/ml) aktivitesindeki değişiklikler	17
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda triklorfon'a maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de CYP1A1 (pg/ml) aktivitesindeki değişiklikler	18
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda triklorfon'a maruz kalan <i>G. pulex</i> 'de GST (nmol/dk/ml) aktivitesindeki değişiklikler	20

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. LC ₅₀ değerin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonlar	12
Tablo 3.1. Triklorfon'un <i>G. pulex</i> üzerindeki akut toksisite değeri	15
Tablo 3.2. Triklorfon'a maruz bırakılan <i>G. pulex</i> 'de bazı enzim aktivitelerindeki değışimler	15



RESİMLER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 2.1. Stok <i>G. pulex</i> akvaryumları	11
Resim 2.2. Deneysel düzenek	12



SEMBOLLER VE KISALTMALAR

ACh	: Asetilkolin
AChE	: Asetilkolinesteraz
CAT	: Katalaz
CYP1A1	: Sitokrom P450
DNA	: Deoksiribon�kleikasit
FMO	: Flav�n monooksijenaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GST	: Glutasyon S-transferaz
LPO	: Lipid peroksidasyonu
OP	: Organofosfat
SOD	: S�peroksit dismutaz

1. GİRİŞ

Günümüzde nüfus artışına bağlı olarak dengeli besin üretimini arttırmak amacıyla tarımsal faaliyetler de artmıştır. Tarımsal alanlarda büyük problemlere yol açan zararlılarla mücadele giderek önem kazanmaktadır. Pestisitler, dünya üzerinde ürün artışını sağlamak amacıyla zararlılarla mücadele için kullanılan kimyasal maddelerdir (Vural, 1984). Bu kimyasalların kullanımı faydalı olmakla birlikte, insanlar ve diğer hayvanlar üzerinde potansiyel olarak toksik etkiye sahiptirler. Bu sebeple, pestisit maruziyetinin ardından toksik mekanizmalar üzerinde durmak oldukça önem arz etmektedir (Catalgol ve ark., 2013).

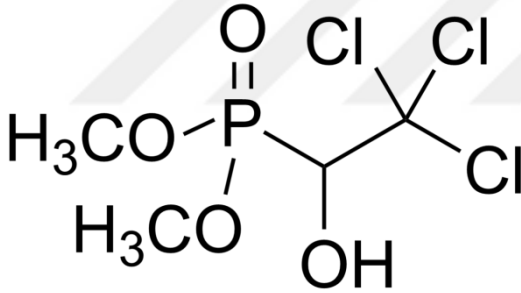
Zirai alanlarda kullanılan pestisitler, yüzey sularına karışarak sucul ekosistemlere ulaşmakta ve sucul organizmalar üzerinde çoğu zaman ölümle sonuçlanan çok ciddi zararlara neden olmaktadır. Besin ve su yoluyla sucul organizmaların bünyesine katılan toksik maddeler, ortamda bulunduğu konsantrasyona bağlı olarak türler arasında yada aynı türün farklı bireylerinde, farklı oranlarda birikebilmekte ve toksisiteye neden olabilmektedir. Lipofilik özelliğe sahip olan pestisitler, hücre zarından kolayca geçebilmektedir. Bu nedenle de pestisitlerin sucul organizmaların bünyesine katılması, dokularda birikime uğraması ve doku metabolizmasında zarara neden olması kolay olmaktadır (Tutuş, 2016).

Zararlıları ve böcekleri yok eden ve en çok kullanılan kimyasal maddeler organofosfat (OP) bileşikleridir. Son yıllarda yüzden fazla farklı OP bileşiği sentezlenmiştir. Veterinerlik uygulamaları, ilaç sanayii, bahçe, tarım ve konutlarda tüm dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır (Kwong, 2002). Pestisitler arasında en çok OP'ların kullanımları nedeniyle, toksisitelerine dikkat edilmesi gerekmektedir (Sharbidre ve ark., 2011). OP'lı insektisitlerin toksik etkileri "kolinesteraz inhibitörleri" olarak görülür. Nöromusküler kavşaklarda ve kolinerjik sinapslarda asetilkolin (ACh)'i hidroliz eden asetilkolinesteraz (AChE)'leri inhibe etme özelliğindedirler (Amitai ve ark., 1998). İnhibisyon, OP'lı insektisit ile aktif enzim bölgesi arasında kovalent bağ oluşturulması neticesinde nörotransmitterin doğal katabolizmasının engellenmesiyle oluşur (Barr ve Needham, 2002). Bu inhibisyonla birlikte sinapslarda ACh'nin aşırı birikimi neticesinde, muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aktivasyonları artar ve kolinerjik sistem sürekli olarak uyarılır (Hazarika ve ark., 2003). Sinir ve kas liflerinin fazla uyarılması da tetani, felç ve sonuçta ölüme sebebiyet verebilir (Kirby ve ark., 2000). AChE inhibisyonu sonucunda serbest radikallerin birikimini başlatan lipid

peroksidasyonu (LPO) ve dolayısıyla da hücre hasarı başlar (Slaninova ve ark., 2009). Bu sebeple de beyin AChE aktivitesinin inhibisyonu, karasal ve sucul organizmalarda OP'lara maruziyetin tanınması için en fazla kullanılan biyobelirteç olmuştur. OP'lı pestisitlerin hedef organizmaya karşı seçiciliği yok denecek kadar azdır ve bu nedenle aslında hedef olmayan çoğu canlıya karşı yüksek derecede akut toksisiteye sahiptirler. Dolayısıyla, ekosistemdeki birçok canlının, OP'lı bileşiklerin etkisiyle oluşabilecek zehirlenme riski oldukça yüksektir (Fulton ve Key, 2001).

1.1. Triklorfon

Triklorfon, $C_4H_8Cl_3O_4P$ kimyasal formülüne sahip (Şekil 1.1), OP'lı bir pestisittir. En çok kullanılan bileşiklerden biri olan triklorfon orta derecede toksiktir. Normal kullanım koşullarında çok hızlı bir şekilde diklorvos formuna hidrolize olur. Diklorvos çok daha toksiktir ve balık, yengeç ve karides gibi hedef dışı organizmalar için potansiyel bir tehdittir (Traves-Brown, 2000; Chang, 2006; Guimaraes vd., 2007).



Şekil 1.1. Triklorfon formülü (Wikipedia)

Memeli vücudunda yavaş salınımlı bir diklorvos kaynağı olan geniş spektrumlu bir organofosfor insektisiti olan triklorfon'un insan sağlığı ve çevre üzerindeki risklerini değerlendirir. 1950'lerden beri pazarlanan triklorfon, tarla ve meyve mahsullerini korumak, orman böceklerini kontrol etmek ve evcil ve çiftlik hayvanlarında iç ve dış parazitleri kontrol etmek için kullanılır. Metrifonat olarak formüle edilen triklorfon, milyonlarca hastada Schistosoma haematobium'un farmakolojik tedavisi için de kullanılmıştır. Bileşik Alzheimer hastalığı için bir tedavi olarak araştırılmaktadır.

1.2. Endokrin Bozucu Maddeler

Endokrin sistem fonksiyonlarını etkileyerek organizmada ve nesillerinde negatif sağlık etkileri meydana getiren ekzojen madde veya madde karışımlarına endokrin bozucular denir (Solecki ve ark., 2017).

Birçok endokrin bozucu lipid (steroid hormonlar) veya aminoasit türevi hormonlar (tiroid hormonlar) ile etkileşimde olup, protein/peptid yapıda hormonların sentez ve uyarılarını da etkileyebilirler. Endokrin bozucuların etkileri daha çok steroid hormonlar veya peptit/protein yapısındaki hormonlar üzerinde görülür (Moral ve ark., 2007; Jenkins ve ark., 2009; Kortenkamp ve ark., 2011).

1.3. Biyoindikatörler

Çevre kirliliğine yol açan kimyasalların toksik etkileri nedeniyle, birçok canlıda olumsuz sağlık etkileri görülmeye başlamıştır. Bu yüzden de günümüzde, biyoindikatör canlı kullanılarak yapılan biyoizleme çalışmalarının sayısı artmıştır. Biyoindikatör canlılar kullanılarak yapılan biyoizleme çalışmaları, toksik maddeleri bünyelerinde biriktiren “biyoindikatör” veya “biyomonitor” canlılar üzerine odaklanmıştır. Ekolojik dengenin bozulmasına neden olan her etki, ortamdaki canlılar için bir uyarı niteliği taşımaktadır. Canlı organizmalar da doğası gereği bu uyarılar karşısında cevap verir. Biyolojik yöntemlerin kullanımı canlı organizmaların bu özellikleri sayesinde ortaya çıkmış, böylece çevre kalitesini belirleme ve izleme imkânı doğmuştur. Biyoindikatör canlılar, yaşam fonksiyonlarını farklılaştırarak veya toksik maddeleri metabolizmalarında biriktirerek çevre kirliliğine karşı yanıt veren canlılardır. Belirli bir organizmanın sağlığı genel olarak ekosistem sağlığının bir göstergesi olmaktadır. Biyoindikatör tür olarak çok farklı canlı grupları kullanılabilir (Kazancı ve Girgin, 1997).

Akut toksisite deneylerinden biri olan LC₅₀, belirli bir süre toksik madde verilen bir ortamda bulunan canlıların % 50'sini öldüren madde miktarı olarak ifade edilir. Bu çalışmalar genellikle 24, 48, 72 ve 96 saatlik periyodlar halinde yapılır (Çetinkaya, 2005).

Amhipoda takımının tanımlanmış türlerinin yaklaşık %80'ini *Gammaridea* alttakımı oluşturmaktadır (Barnard and Barnard, 1983) ve bunlar balıklar için önemli bir besin kaynağıdır (Demirsoy, 1999).

Kabuklular sınıfına ait olan *G. pulex*'ler hem ekonomik hem de sucul indikatör özelliği olan canlılardır (Resim 1.1). Temiz su indikatörü olarak bilinen *Gammarus*'ların, birçok toksik maddeye karşı duyarlı olduğu bilinmektedir. Gammaridler toksikolojik çalışmalarda en fazla kullanılan canlı gruplarından birisi olup, akarsularda bol bulunması, kolay elde edilmesi, laboratuvar koşullarına kolay uyum sağlamaları ve üremelerinin hızlı oluşu gibi avantajları vardır (Arthur, 1980). Bu sebeple toksikolojik çalışmalarda kullanımı giderek artmaktadır (Demirsoy, 1999).



Resim 1.1. *Gammurus pulex* (orjinal)

1.4. Biyobelirteçler

Biyobelirteçler çoğunlukla sucul kirliliğin olduğu ortamlarda prognoz veri sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Bu veriler moleköl, hücresel, genetik, immunolojik ve fizyolojik ölçümleri içermektedir. Örneğin enzimler gibi biyokimyasal ve fizyolojik belirteçler, sucul organizmaların sağlığını etkileyecek su kalitesi değişimlerine neden olan çevresel kirleticilerin tespitinde kullanılabilir (Osman ve ark., 2010). Ekolojik çalışmalarda özellikle incelenmesi gereken bazı biyobelirteçler vardır. Bunların başlıcaları; kondisyon faktörü, sitokrom P-450 enzimleri (ör. organik kirleticilerin varlığında), DNA hasarı, astilkolinesteraz enzimi aktivitesi (metal kirliliği gibi), metalloitiyonein sentezi, antioksidan enzimler (katalaz, glutasyon tranferaz vb.), lipid peroksidasyonu, vitellojenin düzeyleri

(endokrin yıkımlayıcı kimyasallar) ve histopatolojik incelemelerdir (Valvanidis ve Vlachogianni, 2010).

Yaşamları boyunca canlılar, hem ekzojen hem de metabolik proseslerin bir parçası olarak endojen radikal ve reaktif oksijen türlerine (ROS) maruz kalırlar. Organizmalarda bu serbest radikal ve ROS'nin etkilerini nötralize edebilen bir antioksidan sistem mevcuttur ve bu sistem oksidanlar sayesinde denge halinde bulunmaktadır. Bu dengenin oksidanlar lehine değişmesi oksidatif stresi geliştirir ve bu dengesizlik, hücrenin önemli bölümlerinde geri dönüşümü olmayan hasarlara neden olabilmektedir.

1.5. Oksidatif Stres

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalar ortaya çıkmış ve oksijen kaynaklı radikaller meydana gelmeye başlamıştır ve bununla birlikte, oksidatif hasara karşı aerobik canlıların tümünde antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Oksidatif stres, serbest radikal düzeyleri ve antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda ortaya çıkmaktadır. Antioksidanların ilk belirlenen etkileri zar yapısındaki çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonlarının engellenmesi olmakla birlikte günümüzde antioksidanların lipitleri, proteinleri, nükleik asitleri ve diğer hedef makromolekülleri koruyucu etkileri olduğu bilinmektedir. Antioksidanlar arasında çeşitli küçük moleküller yanında, glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimlerle metal iyonlarını bağlayan proteinler yer almaktadır.

Moleküler oksijen, hücre içersine kolaylıkla girebilmektedir ve hücrede en fazla kullanılan molekül olma özelliğine sahiptir. Aerobik canlılar için serbest radikallerin en önemli kaynaklarından biri oksijendir. Bununla birlikte canlı organizmada oksijen türevlerinden başka karbon ve kükürt kaynaklı radikaller de oluşmaktadır.

1.6. Antioksidanlar

ROS oluşumunun ve bunların neden olduğu hasarların önüne geçmek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere metabolizmada görev alan savunma sistemlerine “antioksidan savunma sistemleri” ya da “antioksidanlar” adı verilir. Antioksidan savunma sistemleri, radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek otooksidasyon/ peroksidasyonun ilerlemesini engelleyen sistemlerdir. Fazla serbest radikalleri etkisizleştirmek, bu radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemeye yardımcı olmak antioksidanların rolleri arasında sayılabilir.

Antioksidanların oksidanları etkisizleştirmesi 4 farklı mekanizma ile olur (Akkuş, 1995).

1. *Toplayıcı etkisi:* Oksidanlar tutulur veya daha zayıf bir moleküle çevrilir.
2. *Bastırıcı etkisi:* Oksijen radikallerine aktivitelerini azaltmak veya inaktif hale dönüştürmek için bir hidrojen aktarılır.
3. *Onarıcı etkisi:* Oksidatif hasar görmüş biyomolekül onarılır.
4. *Zincir kırıcı etkisi:* Oksidanlar bağlanır ve fonksiyonları engellenir.

Hücre içi ve hücre dışı savunma ile antioksidan moleküller, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı etkisiz hale getirilirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Asıl antioksidan savunmayı hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler sağlamaktadır. Bakır, çinko ve selenyum gibi iz elementler ise sözkonusu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (Akkuş, 1995).

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler (Akkuş, 1995) gibi enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar şeklinde de sınıflandırılabilirler.

1.6.1. Glutasyon S-transferaz (GST)

Glutasyon S-transferazlar (GST), her biri iki alt birimden oluşmuş ve EC 2.5.1.18 kodlu bir enzim ailesidir. GST'ler, başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.

GST sitozolde bulunur ve dimerik yapıdadır. Dışarıdan gelen maddelerin biyotransformasyonunda rol alan GST'ler, çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize eder (Beckman ve Ames 1998).

Glutasyon transferazları (GST'ler, sistematik olarak "RX: glutasyon R-transferazları", EC 2.5.1.18 olarak adlandırılır), çözünebilir GST'ler ve "MAPEG" (Eikosanoid ve Glutasyon metabolizması içinde Membran Bağlı Proteinler) proteinlerine ait enzimlerdir. Sonuç olarak, örneğin, GSTA1 geninin homodimerik protein ürünü, GST A1-1 olarak ifade edilir. Birçok çözünür GST için, çoğunlukla bağlı alt tabakalar veya ürünler ile kristal yapılar belirlenmiştir. Çözülebilir bir GST alt biriminin "kanonik katlanması", GSH-bağlama bölgesini ("G-

bölgesi") oluşturan bir N-terminali α / β alanını ve ikinci bir α -hiç alan, elektrofilik substratı bağlayan "H-alanının" çoğunu oluşturur.

GST'lerin metabolik rolü, çoğunlukla glutatyon ile reaksiyonlarını katalize ederek reaktif elektrofillerin detoksifiye edilmesi ve böylelikle bu tür reaktif türler ile temel hücre bileşenleri, özellikle proteinler ve nükleik asitler arasındaki zararlı etkileşim olasılığını azaltmaktır. Birçok kanser kemoterapi ajanı, elektrofilik bileşikler (veya metabolik öncüleri) ve GST ile katalize edilen reaksiyonlar, bu gibi birçok ilacın inaktive edilmesi ve eliminasyonu için önemli yollardır (örn., 1,3- bis (2-kloroetil) -1-nitrosourea, siklofosfamid, melfalan, vb.). Diğer tedavi sınıflarından ilaçlar, GST ile katalize edilen glutatyon konjugasyonu için substratlar olan elektrofillere, örneğin epilepsi uyuşturucu felbamatin fenilpropenal metabolitine metabolize edilebilir. Asetaminofen, klozapin ve furosemid gibi diğer yaygın olarak kullanılan birçok ilaç glutatyon konjugatlarına metabolize edilir, ancak glutatyon ile reaksiyon her zaman GST katalizine bağımlı değildir. Glutatyon adüktleri genellikle MRP1 çoklu ilaç direnci proteini olarak taşıyıcılarının hareketi ile hücreden ihraç edilmektedir ve ardından merkaptürik asitler (içine işlenmiş, N idrar atılır konjugatları - acetylcysteine) veya safra. Gutatyonun detoksifikasyonda önemli rolü olmasına rağmen, GST ile katalize edilmiş konjugasyonlar, bazı durumlarda, reaktif ara ürünlerin oluşumuna neden olabilir.

1.6.2. Sitokrom P450 (CYP1A1)

P450 enzimlerinin dağılımını ve gen ifadelerini oluşturan düzenekler her dokuda kendine özgü olup, genetik olarak belirlenirler. Yağ asitleri ve steroidler gibi endojen maddelerin yanı sıra dışardan alınan maddeler de CYP gen ifadelerini etkileyebilir. Açlık ve diabetes gibi patofizyolojik durumlar da gen ifadelerini değiştirebilirler. Substratlar, bilginin iletimi, mRNA düzeyi vb. gibi birçok etken P450 enzimlerinin düzey ve aktivitelerini belirlemektedir.

Organik fosforlu veya karbamat pestisitler ile zehirlenen hastaları tanılamada en çok kullanılan parametre asetilkolinesterazdır. Bu pestisitler insan ve hayvanlarda ChE enzim aktivitesini inhibe ederek toksik etkiye neden olmaktadır. Karbamat bileşikler ChE enzimini geri dönüşümlü olarak inaktive eder, organik fosforlu bileşikler ise geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler. İlaveten, insan hekimliğinde ChE aktivite tayini, karaciğer fonksiyonunu değerlendirmek ve kürar veya kürar-benzeri kas gevşetici ilaçlarla tedavi edilen hastalarda

uzamış apneye neden olan atipik varyantları bulmak veya anestezi uygulaması öncesinde ChE enzim eksikliği olanların tespit edilmesinde kullanılmaktadır. Bu konuyla ilgili veteriner hekimlik alanındaki bilgi daha azdır.

1.6.3. Asetilkolinesteraz (AChE)

Asetilkolin (ACh), somatik ve otonomik sinir sisteminde major nörotransmitterdir. ACh, sinir impulslarının nöromüsküler kavşaklarda kimyasal yol ile iletilmesinde rol oynar ve kasları aktive eder. AChE enzimi tarafından bu nörotransmitter yıkılır. İki tip enzim ChE aktivitesine sahiptir ve asetilkolini hidrolize edebilir. Bu enzimler asetilkolinesteraz ve butirilkolinesterazdır. Dalakta, akciğerde, eritrositlerin membranında, sinir uçlarında ve gri maddede AChE bulunur. Sinir uçlarından salınarak asetilkolini hidrolize eder. Bu şekilde sinir impulsu durdurulur. BChE ise karaciğerde sentezlenerek plazmaya salınır. Eritrositler hariç intestinal mukoza, pankreas, dalak, beyaz madde ve bunlardan başka birçok dokuda bulunur. Metabolizmadaki fizyolojik görevi tam olarak bilinmemektedir. Bu iki enzim, farklı katalitik aktiviteleri ile ayırt edilebilir:

- 1) AChE, propionilkolin, asetilkolin ve diğer birkaç kolin esterini hidroliz eder.
- 2) BChE, mivaküryum, butirilkolin, klorprokain, prokain, tetrakain, kokain, eroin suksinilkolin ve benzoilkolin gibi çok sayıda kolin esterini hidrolize eder.

Sucul ortamdaki kirliliğin belirlenme yöntemlerinden biride, ortamda yaşayan canlıların etkilenmesi ile yapılmaktadır. Bu amaçla indikatör türler kullanılmaktadır. Çeşitli kirleticilerin sucul indikatör türlere olan toksisitesi, biyobelirteç olarak kullanımları ve etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır.

Borlakoglu ve Kickuth (1990), bir klorofenolik bileşiğe maruz kalan Gammarus türlerinde kaçma reaksiyonunu, yüzme davranışını ve prekopulasyon davranışını incelemişler ve LC₅₀ değerinin % 5'lik konsantrasyonunda bile davranış değişikliklerini kayıt etmişlerdir.

Pascoe ve ark. (1994), laboratuvar ortamında ve doğal ortamda yaptıkları bir çalışmada G. pulex'de prekopulasyonun bozulmasını çevresel kirlenmeyi belirlemede sub-lethal bir ölçüm olarak kullanmışlardır. Laboratuvar ortamında yapılan çalışmada, prekopulasyon çiftleri 3,4-dikoroanil, atrazin, bakır ve lindanın çeşitli konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve artan toksikant konsantrasyonuna bağlı olarak prekopulasyon çiftlerinin ayrılma süresinin azaldığı rapor edilmiştir. Alan çalışmasında bir toksikantla kirlenmiş tatlı su

kaynaklarından toplanmış *G. pulex* prekopulatör çiftlerinin kirlenmemiş sulardan alınan örneklerle göre daha çabuk ayrıldığı gözlenmiştir.

Lawrence ve Poulter (1998), canlılar üzerinde öldürücü olmayacak şekilde kirlenmiş sularda *Gammarus duebeni* amfipodunu biyomonitör olarak kullanımını araştırmışlar ve bu organizmaların biyomonitör kullanımına uygun olduklarını bildirmişlerdir.

Leigh ve Van Dolah (1999), endosulfanın teknik formülasyonunun *G. palustris* üzerindeki akut toksisitesini araştırmış ve endosulfanın bu canlıda 96 saatlik LC₅₀ değerini 0.43 µg/L olarak bulmuşlardır.

Cold ve Forbes (2004), kısa süreli pyrethroid pestisit uygulamalarının *G. pulex*'in hayatta kalma ve çoğalmasına etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak yaygın olarak kullanılan esfenvalerate pestisitinin maruz kalabilecekleri konsantrasyonlarının *G. pulex*'in yaşam süresini ve çoğalmasını önemli bir şekilde etkilediğini belirlemişlerdir.

Xuereb ve ark. (2007), *G. pulex*'deki kolinesteraz (ChE) aktivitesini karakterize etmek için ilk olarak biyokimyasal ve farmakolojik özellikleri araştırmışlardır. Bunun için farklı substratlar (asetiltiokolin iyodür, propiyoniltiyoikolin iyodür ve bütiril tiokolin iyodür) ve selektif inhibitörler (eserin sülfat, Pentan-3-bir dibromür ve pyro fosfor tetra-mide) kullanmışlardır. Çalışmanın ikinci bölümünde ise yaygın olarak kullanılan organofosforlu chlorpyrifos pestisiti in vitro ve in vivo etkilerinin ChE aktivitesi araştırılmıştır. Yaptıkları çalışma sonucunda *G. pulex*'in asetilkolinesteraz tipik özelliklerini gösteren tek bir ChE'ye sahip olduğu bildirilmiştir.

Adam ve ark. (2009), ahşap koruyucu olarak kullanan insektisit ve fungusitlerin toksisitesini belirlemek için *G. pulex*'e propikonazol, tebukonazolin, 3-iyodo-2-propinil bütıl karbamat (IPBC, fungusid) ve cypermethrini tek ve karışım halinde uygulamışlardır. Ticari uygulama konsantrasyonlarında propikonazol ve tebukonazolinin tek olarak *G. pulex*'e uygulandığında toksik olmadıklarını, 3-iyodo-2-propinil bütıl karbamatın orta ölçüde toksik olduğunu ve cypermethrinin aşırı derecede toksik olduğunu belirlemişlerdir. Pestisit, çözücü ve katkı maddeleri içeren ticari karışım uygulandığında toksik etkiler yaptığını, yaygın olarak kullanılan %0,002'lik cypermethrin içeren diğer bir karışımın 2,5-18 kat fazla ölümcül sonuç verdiğini belirlemişlerdir.

Demirci (2013) yaptığı çalışmada, endosulfan, indoxacarb, thiomethoxam ve atrazin pestisitlerinin tek ve çoklu kullanımlarının, *G. kischineffensis*'in antioksidan ve

detoksifikasyon enzimleri üzerindeki etkilerini incelemiş ve bu canlıda bıraktığı kalıntı düzeylerini araştırmıştır. Sonuç olarak, pestisitlerin tek ve çoklu kullanımlarının *G. kischineffensis*'in antioksidan ve detoksifikasyon enzimleri üzerinde modölatör etki gösterdiğini, endosulfan dışındaki tüm pestisitlerin kalıntı oluşturduğunu söylemiştir.

Palüzar (2013), yaptığı çalışmada malation, diklorvos, deltamethrin ve lambda cyhalotrin pestisitlerinin antioksidan enzimlerinden CAT, SOD, GPx enzim aktiviteleri üzerine etkilerini ve bu etkilerin 2-PAM (2-aldoksim metiyodür) ile yenilenmesi üzerinde çalışmıştır. Deneysel olarak çalıştığı üç enzim arasından, sadece CAT enziminin tüm pestisitlerin artan konsantrasyonlarıyla doğru orantılı inhibisyon ve 2-PAM ile yenilenme gösterdiğini bildirmiştir.

Uğurlu ve ark. (2015), tiametoksamın akut toksisitesini ve *G. kischineffensis*'in solungaç dokusundaki histopatolojik etkilerini ortaya koymuşlardır. Tiametoksamın tüm dozlarında en yaygın değişikliklerin *G. kischineffensis*'in solungaç dokusunda meydana geldiğini ve vakuolizasyon ve hemostatik infiltrasyon oluşturduğu göstermişlerdir.

Yapılan bu çalışma ile sucul ekosistemde önemli yer teşkil eden ve indikatör canlı gruplarından olan *G. pulex* bireylerinin Triklorfon maruziyeti ile akut toksisite (LC₅₀: test hayvalarının yarısını öldürmek için gerekli konsantrasyon) değerleri belirlenerek, subletal konsantrasyon maruziyeti ile 24 ve 96 saatteki AChE, CYP1A1 ve GST enzim aktivitesi değişimlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Model Organizma *G. pulex*

Yapılan bu çalışmanın canlı materyalini oluşturan *G. pulex* 'ler Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesinde kültüre alınmış organizmaların erkek bireylerinden seçilerek temin edildi.

G. pulex 'ler laboratuvar koşullarında; hava motoru ile oksijenlendirilmiş stok akvaryumlarında denemeler yapılncaya kadar adapte edildi (Reşim 2.1). Ortamda 12 saat karanlık 12 saat aydınlık olacak şekilde fotoperyot kullanılarak aydınlatma sağlandı. Ayrıca ortam sıcaklığı termostatl klima ile 18-20°C 'de sabitlendi. Stok akvaryumlardaki *G. pulex* 'lerin beslenmesinde çürümeye bırakılmış çalı söğüt yaprakları kullanıldı.



Resim 2.1. Stok *G. pulex* akvaryumları

Çalışma süresince stok akvaryumu ve deneme grupları akvaryumlarındaki suyun oksijen miktarı, suyun sıcaklığı ve pH değeri düzenli olarak YSI marka Professionel model multi parametre cihazı ile ölçüldü.

2.1.2. Triklorfon

Çalışmada kullanılan triklorfon kimyasalı Sigma Aldrich firmasından satın alınarak temin edildi.

2.2. Metot

2.2.1. Akut Toksisite Deneyi (LC₅₀)

Çalışmada triklorfonun *G. pulex*'lerin üzerindeki akut toksisitesini belirlemek için 96 saatlik statik LC₅₀ testi uygulandı. Bu amaçla organizmalara aralık belirleme testi uygulandı. Aralık belirleme testi sonuçlarına göre 0.000 (kontrol), 0.001, 0.010, 0.100 ve 1.000 mg/L triklorfon konsantrasyonları belirlendi (Tablo 2.1). LC₅₀ değeri için belirlenen konsantrasyonlarda 1 litre hacme sahip cam akvaryumlara 10'ar adet *G. pulex* kullanılarak toksisite testi uygulandı (Resim 2.2). Akut toksisite testlerinin, aralık belirleme testleri dahil tüm aşamaları üç tekerrürlü olarak gerçekleştirildi.

Tablo 2.1. LC₅₀ değerinin belirlenmesinde kullanılan konsantrasyonlar

Tekerrürler	Kontrol	Akut Toksisite Grupları (Triklorfon) (mg/L)			
I	0.000	0.001	0.010	0.100	1.000
II	0.000	0.001	0.010	0.100	1.000
III	0.000	0.001	0.010	0.100	1.000

Yapılan deneysel çalışmada 96 saat süre içerisinde organizmalara besleme yapılmadı. Deneme süresince her bir konsantrasyon grubu 24, 48, 72 ve 96. saatlerde gözlemlendi. Ölü bireyler deneme ortamından uzaklaştırılarak not edilip kayıt altına alındı. Elde edilen verilerden probit analizi kullanılarak LC₅₀ toksisite değerleri hesaplandı.



Resim 2.2. Deneysel düzenek

2.2.2. Subletal Triklorfon Konsantrasyon Uygulamaları

Biyokimyasal deneyler için triklorfonun organizmalar üzerindeki LC₅₀ değerin belirlenebilmesi amacıyla 1/8 (A grubu), 1/16 (B grubu) ve 1/32 (C grubu) oranlarında subletal konsantrasyonlar oluşturuldu. Oluşturulan subletal triklorfon konsantrasyonlarına organizmalar maruz bırakılarak, 24 ve 96 saatlerdeki biyokimyasal yanıtları tespit edildi.

2.2.3. Biyokimyasal Analizler

2.2.3.1. Homojenatların Hazırlanması

G. pulex örneklerinden 0,5'er gram tartılıp fosfat tamponu ile homojenize edilmiş, 15000 rpm'de 10 dk santrifüj edilip, süpernatantlarda enzim aktiviteleri belirlendi.

AChE enzim aktivitesi için kontrol grubu ve uygulama yapılan gruplardaki organizmalar tartılıp 1/10 oranın 0.25 M süktroz içeren, pH 7,4 olan 0.05 M sodyum-fosfat tamponu ile sulandırılarak homojenize edildi.

Kontrol grubu ve uygulama yapılan gruplardan alınan örneklerde CYP1A1 ve GST enzim aktivitelerindeki değişimleri belirleme işlemleri için 0,2 gr organizma tartılarak 1/5 oranında fosfat tamponu ile homojenizasyon işlemi yapıldı.

2.2.3.2. Asetilkolinesteraz (AChE) Aktivitesinin Belirlenmesi

Hazırlanan homojenatlar 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatantlar alınarak AChE enzim aktivitesi CUSABIO marka CSB-E17001Fh katalog numaralı kitlerle ELISA yöntemine göre mikropate okuyucu ile belirlendi.

2.2.3.3. CYP1A1 Aktivitesinin Belirlenmesi

Hazırlanan homojenatlar 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar alınarak CYP1A1 enzim aktivitesi CUSABIO marka CSB-EL006395FI katalog numaralı kitlerle ELISA yöntemine göre mikropate okuyucu ile belirlendi.

2.2.3.4. GST Aktivitesinin Belirlenmesi

Hazırlanan homojenatlar 3500 rpm’de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernantantlar alınarak GST enzim aktiviteleri CUSABIO marka CSB-EL006395FI katalog numaralı kitlerle ELISA yöntemine göre mikropate okuyucu ile belirlendi.

2.2.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma sonunda elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 24.0 istatistik programı kullanılarak gerçekleştirildi. Triklorfonun *G. pulex*’teki LC₅₀ değeri Probit analizi kullanılarak hesaplandı. Kontrol ve uygulama gruplarının biyokimyasal parametrelerindeki değişimler iki yönlü varyans analizi (ONEWAY–ANOVA) ile test edildi (Sümbüloğlu, 1998; Kocaçalışkan ve Bingöl, 2008; Kalaycı, 2010).

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışma süresince stok akvaryumu ve deneme grupları akvaryumlarındaki suyun oksijen miktarı, suyun sıcaklığı ve pH değeri düzenli olarak ölçüldü. Denemeler süresince suyun oksijen, sıcaklık ve pH değerlerinde önemli bir farklılık tespit edilmedi.

3.1. Akut Toksikite Değerleri

Triklorfonun *G. pulex* üzerindeki akut toksisite değerleri Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3. 1. Triklorfon’un *G. pulex* üzerindeki akut toksisite değerleri

	LC ₅₀ (mg/L)	Alt Seviye (mg/L)	Üst Seviye (mg/L)
I. Tekerrür	0,359	0,01	0,894
II. Tekerrür	0,467	0,114	1,058
III. Tekerrür	0,36	0,01	0,895
Ortalama	0,40± 0,06	0,045±0,06	0,95±0,06

3.2. Biyokimyasal Yanıtlar

Bu çalışmada triklorfon maddesinin farklı konsantrasyonlarına (A: 1/8 oranında 50 mg/L, B: 1/16 oranında 25 mg/L, C: 1/32 oranında 12,5 mg/L) maruz kalan *G. pulex*’de asetilkolinesteraz (AChE), sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) ve glutatyon-S transferaz (GST) enzim aktivitelerindeki değişiklikler belirlenmiş olup elde edilen sonuçlar Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Letal konsantrasyon-50 (LC₅₀), toksik maddenin etkisine bırakılmış organizmaların yarısını (% 50) öldüren konsantrasyon olarak tanımlanmış ve toksik etkinin istatistiksel olarak güvenilir bir tayin şekli olarak kabul edilmiştir (Parlak vd., 2009). Çalışmamızda organikfosfatlı insektisit triklorfonun *G. pulex* üzerindeki LC₅₀ değeri 0,39±0,06 mg/L olarak belirlendi.

Tablo 3.2. Triklorfon’a maruz bırakılan *G. pulex*’de bazı enzim aktivitelerindeki değişimler

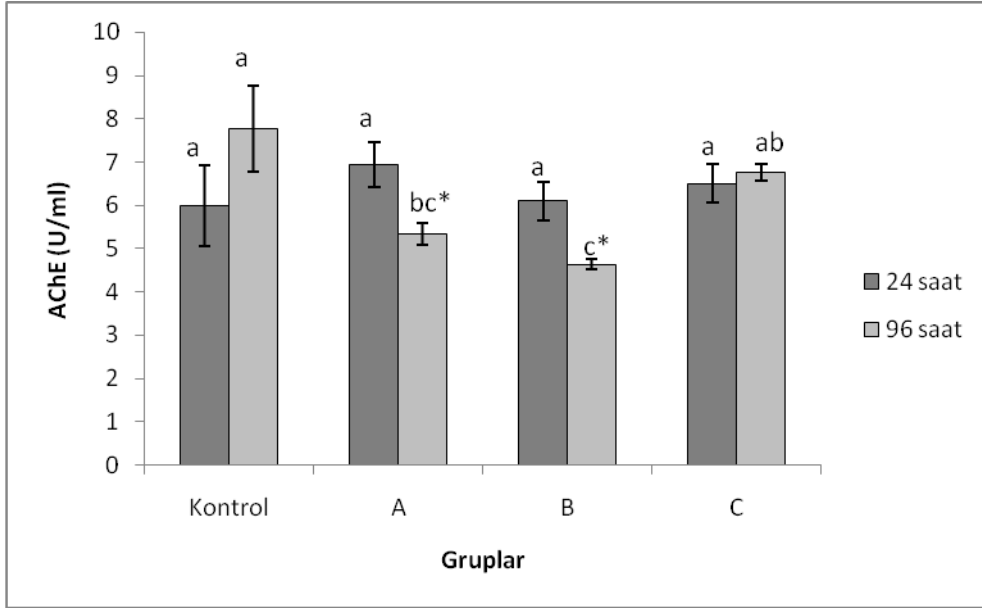
	Antioksidan parametreler	24. saat	96. saat
GST (nmol/dk/ml)	Kontrol	1,98±0,001 ^d	3,96±1,14 ^b
	A (ppm)	18,79±0,58 ^b	16,56±4,64 ^a
	B (ppm)	9,27±0,66 ^c	11,92±3,44 ^{ab}
	C (ppm)	20,90±0,57 ^a	15,25±1,75 ^{a*}
CYP1A1 (pg/ml)	Kontrol	147,03±8,43 ^a	137,96±14,6 ^a
	A (ppm)	137,33±3,66 ^a	123,72±6,1 ^a
	B (ppm)	133,39±7,65 ^a	118,78±0,32 ^a
	C (ppm)	146,96±5,87 ^a	130,17±2,73 ^a
AChE (U/ml)	Kontrol	5,99±0,93 ^a	7,76±1,0 ^a
	A (ppm)	6,95±0,52 ^a	5,34±0,25 ^{bc*}
	B (ppm)	6,10±0,44 ^a	4,64±0,11 ^{c*}
	C (ppm)	6,50±0,45 ^a	6,76±0,18 ^{ab}

**Üst simgedeki a, b, c ve d harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve * işareti ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

3.2.1. AChE Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda triklorfon maddesine maruz kalan *G.pulex*’de AChE aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.2’de gösterilmiştir. AChE aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında 24. saatte tüm gruplarda arttığı ($p>0.05$), 96. saatte ise tüm gruplarda azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$).

Maruz kalma süreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; 24. saatte gruplar arasında önemli farklılıklar olmadığı bulundu ($p>0.05$). 96. saatte ise A ve B gruplarındaki azalış maruz kalma süresine göre anlamlı olarak bulundu ($p<0.05$) (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Farklı konsantrasyonlarda triklorfon'a maruz kalan *G. pulex*'de AChE aktivitesindeki değişiklikler
 **Üst simgedeki a, b, c ve d harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve * işareti ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

Triklorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı bu çalışmada, *G. pulex* dokularındaki AChE aktivitesinde 24. saatte kısmi bir artış, 96. saatte ise azalmanın meydana geldiği tespit edildi. AChE aktivitesindeki düşüş antikolinesteraz olan organofosfatlı insektisitlerin inhibitör etkisinden ileri gelmektedir. Triklorfon uygulanan canlılarda 24. saat sonunda AChE aktivitesinin kontrol grubu değerlerine göre kısmi bir artış göstermesi, negatif bir adaptasyonun oluşması ve pestisite karşı bir direnç olduğu düşünülmektedir. Ancak 96. saat sonunda triklorfon uygulanan gruplardaki canlıların AChE aktivitesinde meydana gelen azalma, negatif adaptasyonun sona erdiğini, pestisite karşı gösterilen direncin kırıldığını ve inhibisyonun tekrar başladığını göstermektedir (Pala, 2013).

Xuereb vd (2007), *G. pulex*'teki kolinesteraz (ChE) aktivitesini incelemişlerdir. Sonuçlar *G. pulex*'in, asetilkolinesterazın tipik özelliklerini gösteren sadece bir ChE'ye sahip olduğunu göstermiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda da pestisitlerin AChE aktivitesini inhibe ettiği bildirilmiştir. Pala (2013), yapmış olduğu çalışmada balıklara (*C. carpio*) farklı dozlarda triklorfon uygulamış ve AChE aktivitesinde inhibisyon olduğunu bulmuştur. Chandrasekara ve Pathiratne (2005), 24 saatlik uygulama sonunda *C. carpio*'da triklorfonun, AChE aktivitesinin %52-57 oranında azalmasına neden olduğunu bulmuşlardır. Guimares vd. (2007), triklorfon uygulaması sonucunda *Oreochromis niloticus*'da AChE'nin %85 oranında inhibe olduğunu bildirmişlerdir. Feng vd. (2008),

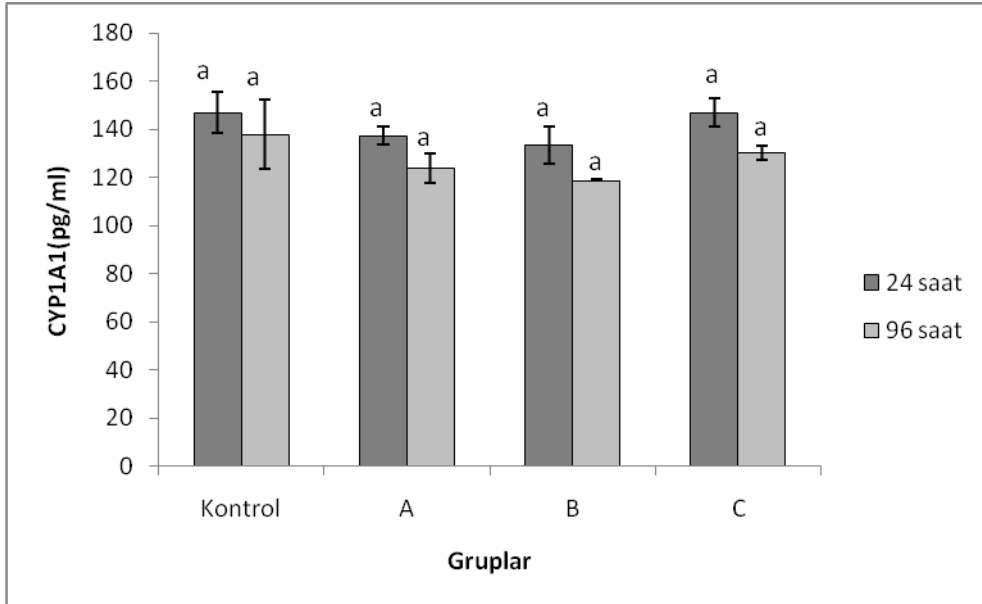
Tilapia nilotica'nın triklorfon maruziyeti altında antioksidan koruma sistemindeki değişimlerini gözlemiş ve AChE aktivitesinde önemli ölçüde inhibisyon görmüşlerdir.

Demirci (2013) tarafından yapılan çalışmada, atrazin ve endosulfan pestisitlerinin birlikte ve ayrı olarak uygulandığı *Gammarus kichneffensis*'in AChE seviyeleri incelenmiştir. Çoklu etkiye maruz bırakılan canlılardaki AChE aktivitesinin pestisitlerin yalnız kullanımına göre inhibe olduğu tespit edilmiştir. Atrazin ve indoxacarbın etkisi incelendiğinde; 24. ve 48. saatlerde pestisitlerin çoklu etkisine maruz bırakılan canlıların enzim aktivitesinin tek bir pestisit uygulamasına göre önemli düzeyde inhibe olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

3.2.2. CYP1A1 Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda triklorfon maddesine maruz kalan *G.pulex*'de CYP1A1 aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.2'de gösterilmiştir. CYP1A1 aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında hem 24. saatte hem de 96. saatte tüm gruplarda azaldığı gözlemlendi ($p<0.05$).

Maruz kalma süreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; hem 24. saatte hem de 96. saatte gruplar arasında önemli farklılıklar olmadığı bulundu ($p>0.05$) (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda triklorfon'a maruz kalan *G. pulex*'de CYP1A1 aktivitesindeki değişiklikler. **Üst simgedeki a, b, c ve d harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve * işareti ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

Triklorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı bu çalışmada, *G. pulex* dokularındaki CYP1A1 aktivitesinde hem 24. hem de 96. saatte azalmanın meydana geldiği tespit edildi.

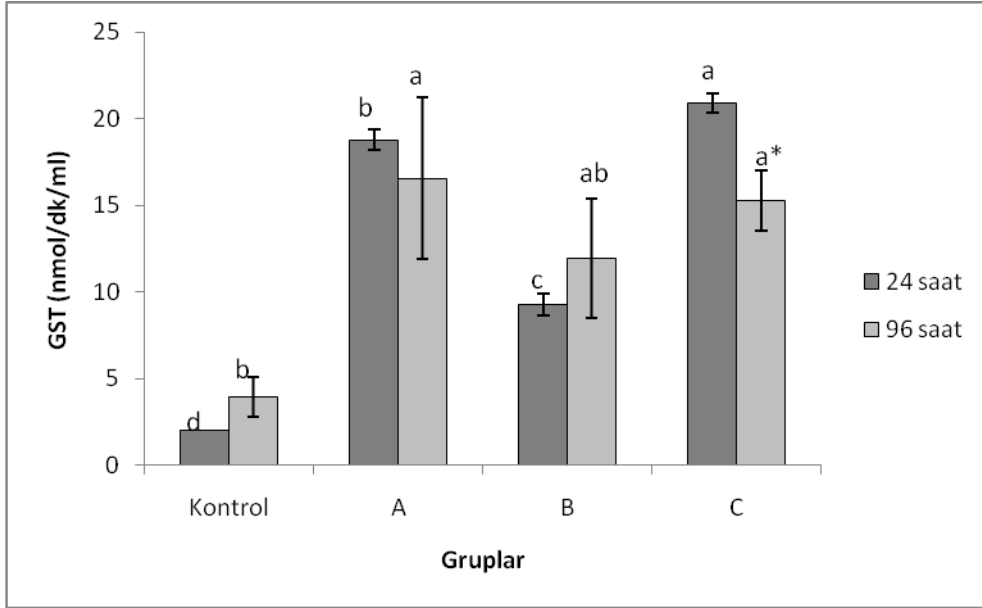
Sitokrom P450 (CYP450) monooksijenaz enzimleri, tüm memeli ve prokaryotlarda bulunan bir protein grubunu teşkil ederler (Czerwinski ve ark., 1994; Özerol, 1996). CYP450'lerin tümü membrana bağlı şekildedir. Mitokondride yer alabildikleri gibi endoplazmik retikulumda olanları da vardır (Raunio ve ark., 1995). CYP1A1, organik kirleticilere maruz kalmanın çok iyi bir göstergesi olan bir biyomarkırdır. Sitokrom P450'ler ksenobiyotik metabolizmasında önemli bir rol oynamaktadır ve metabolizmadaki fonksiyonu kimyasalların toksik etkilerine karşı duyarlılıkta tür çeşitliliği ile ilişkili olabilir (Bainy ve ark., 1999).

Woo vd. (2018), yapmış oldukları çalışmada *Cyprinus carpio* L.'nin 4 mg/L triklorfon maruziyetinden sonra CYP1A aktivitesinde artış meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Ksenobiyotiklerin varlığı CYP1A1 düzeylerini her zaman arttırmayabilir. Bu durum ya yüksek konsantrasyonda kirletici olduğunu ya da kirleticilerin varlığının CYP1A1'i özellikle inhibe ettiğini göstermektedir (Stegeman ve ark., 1997; Schlezinger ve Stegeman, 2001; Wirgin ve Theodorakis, 2002). Karaca (2010) tarafından yapılan bir çalışmada ise farklı örnekleme noktalarından alınan CYP1A enzimlerinin gen ekspresyon düzeylerine bakılmış, pestisit kullanımının yoğun olduğu tarımsal bölgelerde örneklenen balıklarda referans bölgeye kıyasla baskılanmış olarak bulunmuştur.

3.2.3. GST Aktivitesi

Farklı konsantrasyonlarda triklorfon maddesine maruz kalan *G.pulex*'de GST aktivitesi araştırılmış olup sonuçlar Tablo 3.2'de gösterilmiştir. GST aktivitesinin kontrol ile kıyaslandığında hem 24. saatte hem de 96. saatte tüm gruplarda arttığı gözlemlendi ($p<0.05$).

Maruz kalma süreleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında; 24. saatte gruplar arasında önemli farklılıklar olmadığı bulundu ($p>0.05$). 96. saatte ise C grubundaki artış maruz kalma süresine göre anlamlı olarak bulundu ($p<0.05$) (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda triklorfon'a maruz kalan *G. pulex*'de GST aktivitesindeki değişiklikler
**Üst simgedeki a, b, c ve d harfleri aynı saatteki farklı gruplar arasındaki ve * işareti ise aynı grubun farklı saatleri (24. ve 96. saatler) arasındaki istatistiksel farklılıkları göstermektedir.

Triklorfonun subletal konsantrasyonlarının uygulandığı bu çalışmada, *G. pulex* dokularındaki GST aktivitesinde hem 24. hem de 96. saatte artışın meydana geldiği tespit edildi.

Bu değişimler triklorfon maddesinin oksidatif stres metabolizmasını indüklediğine işaret eder. GST, pek çok ksenobiyotigin detoksifikasyonunu içeren çok bileşenli bir enzimdir (Sun ve ark., 2006). Oksidatif hasara ve lipidlerin peroksidasyon ürünlerine karşı savunma oluşturulmasında kritik bir rol oynamaktadır. GST aktivitesinin artması muhtemelen daha yüksek konsantrasyonda triklorfon maddesine maruziyet sonrası bir adaptasyondan kaynaklanmaktadır.

Çalışmamızda elde etmiş olduğumuz bulgular literatürdeki diğer çalışmalarla da benzerlik göstermektedir. Ozmen ve ark., (2006) Karakaya Baraj Gölü'nden alınan sazan balığı karaciğerlerinde yaptıkları çalışmada, GST aktivitesindeki artışa pestisit birikiminin neden olabileceği ileri sürülmüştür. Aynı çalışma grubu Sarıyar Barajı'nda sazan balığı karaciğerinde GST ve CYP aktivitelerini ölçmüş ve referans nokta ile kıyaslandığında pestisit kirliliğinin fazla olduğu Sarıyar'da GST aktivitesinin önemli ölçüde yüksek olduğunu bulmuşlardır (Ozmen ve ark., 2008).

Dünya üzerinde, toprak ve su gibi ekosistemlerin çeşitli kirleticilere maruziyeti hem tüm canlılar için önemli bir sorun teşkil etmektedir. Bu kirleticiler arasında zirai mücadelede kullanılan pestisitler de bulunmaktadır ve bunlar besin zincirinin en alt halkasından en üst halkasındaki canlılara kadar biyolojik birikim yolu ile taşınabilmektedirler.

Bu çalışmada; çeşitli konsantrasyonlarda triklorfon maddesine maruz bırakılan *G. pulex*'de bazı antioksidan parametreler araştırılmış olup, kirletici etkilerini değerlendirmek üzere gammaridlerin bir çok ekotoksikolojik çalışmada kullanıldığı görülmüştür (Watts ve ark., 2001; Schirling ve ark., 2006) Çalışmamızda, AChE, CYP1A1 ve GST aktiviteleri, triklorfon uygulamasının etkilerini öngörmede biyobelirteç olarak kullanıldı.

Bu çerçevede, ekosistemde bulunan bir ksenobiyotiğin daha az toksik olduğundan bahsedilemeyeceği gibi, birçok canlı üzerindeki toksik etkisinin belirlenmesinin de gerekli hatta zorunlu olduğu söylenebilir. Özellikle tarımsal alanlarda verimi artırmak ve kaliteli ürünler sağlayabilmek için kullanılan pestisitler diğer ksenobiyotiklerden farklı olarak canlıları öldürmek için üretilmiş olması nedeniyle önemli seviyelerde çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Pestisit kullanımındaki riskleri ortaya koyabilmek ve konu hakkında bilinçlenmeyi arttırmak için bu ve bunun gibi çalışmalar yol gösterici olacaktır.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapılan bu çalışma sonucunda elde edilen verilere göre; tarımda kullanılan bir insektisit olan triklorfon maddesinin *G. pulex* üzerine toksik etkiye sahip olduğu ve triklorfondan kaynaklanan kirliliğin çevre için büyük bir risk oluşturabileceği düşünülmektedir.

Triklorfon maddesinin *G. pulex*'de meydana getirdiği toksik etkilerin araştırılmasında, kullandığımız biyobelirteçlerden AChE, CYP1A1 ve GST'in yararlı birer biyobelirteç olduğu sonucuna varılmıştır. Sonuç olarak, enzimlerdeki değişikliklere bakıldığında, potansiyel olarak ekosistemdeki triklorfon maddesinin risk değerlendirmesi için hassas biyolojik belirteç olarak kullanılabileceği öngörülmektedir. Ayrıca elde edilen verilere göre maruz kalma süresi ve uygulama dozundaki farklılıklar model canlı *G. pulex*'in verdiği biyokimyasal yanıtları değiştirmiştir.

Söz konusu biyobelirteçlerin düzeylerinde konsantrasyon ve zamana bağlı olarak elde edilen sonuçlar test organizmasının toksik maddeye karşı verdiği yanıtın toksik maddenin konsantrasyon ve uygulama süresine göre değiştiğini göstermektedir.

Daha çok tarımsal alanların fazla olduğu bölgelerde yağmur suları ile alıcı ortamlara taşınan ve bünyesinde zirai mücadelede kullanılan triklorfon gibi pestisitler bulunan sular, canlılar üzerinde toksik etkiye neden olabilmektedir. Triklorfonun oluşturduğu stres sonucu biyomarkırlardaki değişimler, *G. pulex*'in kirletici etkisinde kaldığını göstermektedir. Bu nedenle bu atıkların deşarjında sınır değerlere uygunluğu düzenli olarak kontrol edilmeli, toksikolojik veriler göz önüne alınarak sınır değerler belirlenmelidir.

KAYNAKLAR

- Adam, O., Badot, P.M., Degiorgi, F., Crini, G.,** 2009. Mixture toxicity assessment of wood preservative pesticides in the freshwater amphipod *G. pulex* (L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(2): 441-449.
- Akkuş İ.,** 1995. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları No: 38, Sağlık Dizisi 5, Konya.
- Amitai, G., Moorad, D., Adani, A., Doctor, B.P.,** 1998. Inhibition of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase by chlorpyrifos-oxon. *Biochemical Pharmacology*, 56: 293-299.
- Arthur, J.W.,** 1980. Review of freshwater bioassay procedures for selected amphipods. *Aquatic Invertebrate Bioassays*, ASTM International.
- Bainy, A., C.D., Woodin, B.R., Stegeman, J.J.,** 1999. Elevated levels of multiple Cytochrome P450 forms in tilapia from Billings Reservoir-Sao Paulo, Brazil. *Aquatic Toxicology*, 44(4): 289-305.
- Barnard, J.L., Barnard, C.M.,** 1983. Freshwater Amphipoda of the World I. Evolutionary Patterns, p. 1-358; II. Handbook and Bibliography, 359-830, Hayfield Associates, Mt. Vernon, Virginia.
- Barr, D.B., Needham, L.L.,** 2002. Analytical methods for biological monitoring of exposure to pesticides: a review. *Journal of Chromatography B*, 778: 5-29.
- Beckman, K.B., Ames, B.N.,** 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiological reviews*, 78(2): 547-581.
- Borlakoglu, J.T., Kickuth, R.,** 1990. Behavioral changes in *G. pulex* and its significance in the toxicity assessment of very low levels of environmental pollutants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 45(2), 258-265.
- Catalgol, S., Catalgol, B., Alpertunga, B.,** 2013. Involvement of main oxidative stress mechanisms in the toxicity of benomyl and carbendazim in rats. *İstanbul Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 43(2), 103-120.
- 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.
- Chang, C.C., Lee, P.P., Liu, C.H., Cheng, W.,** 2006. Triklorfon, an organophosphorus insecticide, depresses the immune responses and resistance to *Lactococcus garvieae* of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Fish & Shellfish Immunology*, 20, 574-585.

- Cold, A., Forbes, V.E.,** 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *G. pulex*. *Aquatic Toxicology*, 67(3): 287-299.
- Czerwinski, M., McLemore, T.L., Gelboin, H.V., Gonzalez, F.J.,** 1994. Quantitation of CYP2B7, CYP4B1, and CYPOR messenger RNAs in normal human lung and lung tumors. *Cancer Research*, 54: 1085-1091.
- Çetinkaya, O.,** 2005. Akuatik toksikoloji: Balık biyodeneyleeri. balık biyolojisi araştırma yöntemleri. Editor: M. Karataş. Nobel Kitap Dağıtım A.Ş. Nobel Yayın Evi, No: 4, 2. Baskı, Bölüm: 7, 169-218.
- Demirci, Ö.,** 2013. Çeşitli pestisitlerin *Gammarus kischineffensis*'in antioksidan enzim sistemi ve bazı biyobelirteçler üzerine etkisi. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 152 sayfa.
- Demirsoy, A.,** 1999. Yaşamın temel kuralları (Omurgasızlar/Böcekler dışında). Cilt II/Kısım I, Metaksan AŞ, Ankara, 879-890.
- 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.
- Fulton, M.H., Key, P.B.,** 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology Chemical*, 20: 37–45.
- Guimaraes, A.T.B., Silva De Assis, H.C., Boeger, W.,** 2007. The effect of triklorfon on acetylcholinesterase activity and histopathology of cultivated fish *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68, 57–62.
- Hazarika, A., Sarkar, S.N., Hajare, S., Kataria, M., Malik, J.K.,** 2003. Influence of malathion pretreatment on the toxicity of anilofos in male rats: A Biochemical Interaction Study. *Toxicology*, 185: 1-8.
- Jenkins, S., Raghuraman, N., Eltoum, I., Carpenter, M., Russo, J., Lamartiniere, C.A.,** 2009. Oral exposure to bisphenol A increases dimethylbenzanthracene-induced mammary cancer in rats. *Environmental Health Perspectives*, 117(6), 910-915.
- Kalaycı, Ş.,** 2010. SPSS uygulamalı çok değişkenli istatistik teknikleri, Asil Yayınları, Ankara.
- Karaca, M.,** 2010. Sucul sistem canlılarında organoklorlu pestisitlerin analizi ve antioksidan enzim aktivitelerinin biyogösterge amaçlı uygulanması. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 163 sayfa.
- Kazancı, N., Girgin, S., Dügel, M., Oğuzkurt, D.,** 1997. Akarsuların çevre kalitesi yönünden değerlendirilmesinde ve izlenmesinde biyotik indeks yöntemi. İmaj Yayıncılık, Ankara.

- Kirby, M.F., Morris, S., Hurst, M., Kirby, S.J., Neall, P., Tylor, T., Fagg, A., 2000.** The use of cholinesterase activity in flounder (*Platichthys flesus*) muscle tissue as a biomarker of neurotoxic contamination in UK estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 40(9): 780-791.
- Kocaçalışkan, İ., Bingöl, N.A., 2008.** Biyoistatistik, *Nobel Yayınları*, Yayın No: 1305, Ankara.
- Kortenkamp, A., Martin, O., Faust, M., Evans, R., McKinlay, R., Orton, F., Rosivatz, E., 2011.** State of the art assessment of endocrine disrupters. Final report, 23.
- Kwong, T.C., 2002.** Organophosphate pesticides: Biochemistry and clinical toxicology. *Therapeutic Drug Monitoring*, 24:144–149.
- Lawrence, A.J., Poulter, C., 1998.** Development of a sub-lethal pollution bioassay using the estuarine amphipod *Gammarus duebeni*. *Water Research*, 32(3): 569-578.
- Leight, A. K., Van Dolah, R. F. 1999.** Acute toxicity of the insecticides endosulfan, chlorpyrifos, and malathion to the epibenthic estuarine amphipod *Gammarus palustris* (Bousfield). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18(5), 958-964.
- Moral, R., Wang, R., Russo, I.H., Mailo, D.A., Lamartiniere, C.A., Russo, J. 2007.** The plasticizer butyl benzyl phthalate induces genomic changes in rat mammary gland after neonatal/prepubertal exposure. *BMC Genomics*, 8(1), 453.
- Osman, A.G., Abd El Reheem, A.M., AbuelFadl, K.Y., GadEl-Rab, A.G. 2010.** Enzymatic and histopathologic biomarkers as indicators of aquatic pollution in fishes. *Natural Science*, 2(11), 1302-1311.
- Ozmen, M., Güngördü, A., Kuçukbay, F.Z., Guler, R.E., 2006.** Monitoring the Effects of Water Pollution on *Cyprinus carpio* in Karakaya Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicology*, 15: 157–169.
- Ozmen, M., Ayas Z., Güngördü A., Ekmekci, G.F., Yerli, S., 2008.** Ecotoxicological Assessment of Water Pollution in Sariyar Dam Lake, Turkey. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70: 163-173.
- Özerol, E., 1996.** Cytochrome P450-containing monooxygenase enzyme systems. *Turgut Özal Tıp Dergisi*, 3(3), 257-275.
- Palüzar, H., 2013.** Pestisitlerin vücut savunma sistemi enzimleri üzerine etkilerinin in vitro incelenmesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne, 142s.
- Pascoe, D., Kidwards, T.J., Maund, S.J., Muthi, E., Taylor, E.J. 1994.** Laboratory and field evaluation of a behavioural bioassay—The *G. pulex* (L.) precopula separation (GaPPS) test. *Water Research*, 28(2), 369-372.

- Pala, A.**, 2013. Triklorfon uygulanan pullu sazan (*Cyprinus Carpio*)’da asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi ve bazı kan parametrelerinin araştırılması. Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 60s.
- Parlak, H., Çakal Arslan, Ö., Boyacıoğlu, M., Karaslan, M.A.**, 2009. Ekotoksikoloji Ders Kitabı. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 79, Ders Kitabı Dizini, No: 39, Bornova – İzmir.
- Raunio, H., Pasanen, M., Hakkola, J., Pelkonen, O.**, 1995. Expression of extrahepatic cytochrome P450 in humans. Department of Pharmacology and Toxicology, Finland.
- Schirling, M., Jungmann, D., Ladewig, V., Ludwichowski, K.U., Nagel, R., Kohler, H.R., Triebkorn, R.**, 2006. Bisphenol A in Artificial Indoor Streams: II. Stress Response and Gonad Histology in *Gammarus fossarum* (Amphipoda). Ecotoxicology, 15, 143–156.
- Schlezing, J.J., Stegeman, J.J.**, 2001. Induction and suppression of cytochrome P450 1A by 3,3',4,4',5- pentachlorobiphenyl and its relationship to oxidative stress in the marine fish scup (*Stenotomus chrysops*). Aquatic Toxicology, 52, 101–115.
- Sharbidre, A.A., Metkari, V., Patode, P.**, 2011. Effect of methyl parathion and chlorpyrifos on certain biomarkers in various tissues of guppy fish, *Poecilia reticulata*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 10, 132–141.
- Slaninova, A., Smutna, M., Modra, H., Svobodovali, Z.**, 2009. A review: Oxidative stress in fish induced by pesticides. Neuroendocrinology Letters, 30 (1).
- Solecki, R., Kortenkamp, A., Bergman, Å., Chahoud, I., Degen, G.H., Dietrich, D., Jacobs, M.** 2017. Scientific principles for the identification of endocrine-disrupting chemicals: a consensus statement. Archives of Toxicology, 91(2), 1001-1006.
- Stegeman, J.J., Woodin, B.R., Singh, H., Oleksiak, M.F., Celander, M.**, 1997. Cytochromes P450 (CYP) in tropical fishes: catalytic activities, expression of multiple CYP proteins and high levels of microsomal P450 in liver of fishes from Bermuda. Comparative Biochemical Physiology. Pharmacology, Toxicology & Endocrinology, 116: 61–75.
- Sümbüloğlu, K.**, 1998. Biyoistatistik, Hatipoğlu Yayınevi, No: 53, Ankara.
- Treves-Brown, K.M.**, 2000. Applied Fish Pharmacology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/ Boston/ London, 309s.
- Tutuş, R.**, 2016. *Oreochromis niloticus*’un karaciğer dokusundaki antioksidan sistemler ve lipid peroksidasyonu üzerine chlorpyrifos, emamectin benzoate ve abamectin türü pestisitlerin etkileri. Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

- Uğurlu, P., Ünlü, E., Satar, E.I.,** 2015. The toxicological effects of thiamethoxam on *Gammarus kischineffensis* (Schellenberg 1937) (Crustacea: Amphipoda). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 39(2): 720-726.
- Vural, N.** 1984. “Toksikoloji”, Ankara: A.Ü. Basımevi, 671 s.
- Valvanidis, A., Vlachogianni, T.,** 2010. Integrated biomarkers in aquatic organisms as a tool for biomonitoring environmental pollution and improved ecological risk assessment. *Science Advances on Environmental Chemistry, Toxicology and Ecotoxicology issues*.
- Watts, M., Pascoe, D., Carroll, K.,** 2001. Survival and precopulatory behaviour of *G. pulex* (L.) exposed to two xenoestrogens. *Water Research*, 35(10), 2347-2352.
- Wirgin I.I., Theodorakis C.V.,** 2002. Molecular biomarkers in aquatic organisms. In: Adams sm (ed) *Biological indicators of aquatic ecosystem stress*. Bethesda, AFS, 73–82.
- Woo, S.J., Kimb, N.Y., Kima, S.H., Ahnd, S.J., Seoc, J.S., Jungb, S.H., Chob, M.Y., Chung, J.K.,** 2018. Toxicological effects of trichlorfon on hematological and biochemical parameters in *Cyprinus carpio* L. following thermal stress. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C*, 209, 18-27.
- 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.

ÖZGEÇMİŞ

1993 yılında Diyarbakır ilinde doğmuştur. İlk ve orta öğrenimimi Efendi Halil ilköğretim okulunda, lise öğrenimimi 2007 yılında Dadaloğlu Lisesinde başlayıp sonrasında 2009 da Diyarbakır Nafiye Ömer Şevki Cizrelilioğlu Lisesinde devam etmiştir. Lisans öğrenimine 2012 yılında Tunceli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünde başlamıştır. Çevre Mühendisliği devam ederken Çift Anadal Programına başlayıp 2014 yılında Tunceli Üniversitesi Mühendislik Fakültesi İnşaat Mühendisliğine başlamıştır. 2016 yılında Munzur Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans eğitimine başlamıştır.