



**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)’
NDA TOKSİK (SİPERMETRİN) /DETOKSİK (*Nigella
sativa*) ETKİ MEKANİZMASININ KRİTİK YÜZME
HIZI, HEMATOLOJİ PARAMETRELERİ VE
OKSİDATİF STRES CEVABI İLE ARAŞTIRILMASI**

Veysel Karani GÜLTEKİN

Danışman: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Yüksek Lisans Tezi

Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı

2022

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)' NDA TOKSİK (SİPERMETRİN)
/DETOKSİK (*Nigella sativa*) ETKİ MEKANİZMASININ KRİTİK YÜZME HIZI,
HEMATOLOJİ PARAMETRELERİ VE OKSİDATİF STRES CEVABI İLE
ARAŞTIRILMASI**

(Investigation of Toxic (Cypermethrin) / Detoxic (*Nigella sativa*) Effect Mechanism in
Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) with Critical Swimming Rate, Hematology
Parameters and Oxidative Stress Response)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Veysel Karani GÜLTEKİN

Danışman: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Erzurum
Haziran, 2022

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Veysel Karani GÜLTEKİN tarafından hazırlanan “GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)’ NDA TOKSİK (SİPERMETRİN) /DETOKSİK (*Nigella sativa*) ETKİ MEKANİZMASININ KRİTİK YÜZME HIZI, HEMATOLOJİ PARAMETRELERİVE OKSİDATİF STRES CEVABI İLE ARAŞTIRILMASI” başlıklı çalışması 21/06/2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Su Ürünleri Mühendisliği Bilim Dalında, yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Danışman:

Atatürk Üniversitesi

Aslı Islak İmzalıdır

Doç. Dr. Arzu UÇAR

Jüri Üyesi:

Atatürk Üniversitesi

Aslı Islak İmzalıdır

Jüri Üyesi:

Doç. Dr. Muammer KIRICI

Bingöl Üniversitesi

Aslı Islak İmzalıdır

Enstitü Yönetim Kurulunun
....../....../.... tarih ve sayılı
kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof. Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Yüksek Lisans Tezi olarak Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP danışmanlığında sunulan “*GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (Oncorhynchus mykiss) ’ NDA TOKSİK (SİPERMETRİN) /DETOKSİK (Nigella sativa) ETKİ MEKANİZMASININ KRİTİK YÜZME HIZI, HEMATOLOJİ PARAMETRELERİVE OKSİDATİF STRES CEVABI İLE ARAŞTIRILMASI*” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	19	30
Kuramsal Temeller	6	30
Materyal ve Yöntem	4	35
Bulgular	16	20
Tartışma	4	20
Tezin Geneli	12	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5’den büyük olmaması gerekir.

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Veysel Karani GÜLTEKİN	Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP
21.6.2022	21.6.2022
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ’de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu araştırmanın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP'e, araştırmaların planlaması ve yürütülmesinde yanımda olup yardım eden Sayın Prof. Dr. Gonca ALAK, Doç. Dr. Arzu UÇAR ve Doç. Dr. Veysel PARLAK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Veysel Karani GÜLTEKİN



ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)' NDA TOKSİK (SİPERMETRİN) /DETOKSİK (*Nigella sativa*) ETKİ MEKANİZMASININ KRİTİK YÜZME HIZI, HEMATOLOJİ PARAMETRELERİ VE OKSİDATİF STRES CEVABI İLE ARAŞTIRILMASI

Veysel Karani GÜLTEKİN

Danışman: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Amaç: Balıklarda olumsuz etkileri bilinen sipermetrin (CYP)'in gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) üzerinde oluşturduğu davranış değişimleri, oksidatif stres aracılı nörotoksisite, hematotoksisite, hepatotoksisitede fitotöreatik bir ajan olan çörek otu yağının (*Nigella sativa*, NS) iyileştirici etkisinin araştırıldığı mevcut çalışmada, çoklu biomarker yaklaşımı kullanılarak toksikolojik alanda uygulanabilir verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Yöntem: Çalışmada toplam 6 grup [kontrol grubu (uygulama olmayan), A grubu (2 µl sipermetrin), B grubu (2 µl sipermetrin + %2,5 çörek otu yağı), C grubu (2 µl sipermetrin + %5 çörek otu yağı), D grubu (%2,5 çörek otu yağı) ve E grubu (%5 çörek otu yağı)] oluşturulmuştur. Deneme periyodu sonunda kontrol ve uygulama gruplarında balıklara yüzme performansı testi yapılmış, örneklenen balıklardan kan alınmış, hematolojik analizler için kullanılmıştır. Karaciğer, solungaç ve beyin dokusunda oksidatif stres parametrelerinin yanısıra beyin dokusunda AChE enzim analizleri yapılmıştır.

Bulgular: CYP uygulaması sonucunda *O. mykiss*' te Ucrit değerinin önemli ölçüde düştüğü belirlenmiştir. Kan dokusunda incelenen hematoloji parametrelerinden RBC, Hgb ve Hct değerlerindeki değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır ($p<0.05$). RBC ile ilişkili MCHC değerindeki değişiklikler anlamlı olmasına rağmen ($p<0.05$), MCV ve MCH değerlerinde önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. WBC değerinin CYP uygulaması ile inhibe edildiği ve NS'nin WBC'ye pozitif katkı sağlamaya çalıştığı belirlenmiştir. *O. mykiss*' in beyin dokusundaki AChE aktivitesinin, CYP' ye maruz bırakılan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyona neden olduğu ortaya konmuştur ($p<0.05$). SOD, CAT, GPx, enzim aktivitelerinin CYP uygulaması ile inhibe edildiği ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). CYP'nin akut toksisitesi, solungaç dokusundaki antioksidan enzim biyobelirteçleri ile belirlendi. Elde edilen sonuçlarda; SOD, CAT, GPx aktivitelerinde kontrol grubuna göre inhibisyonlar belirlenirken, MDA değerinde indüksiyon meydana gelmiştir. CYP uygulaması sonucunda dokudaki antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx) aktivitelerinin önemli ölçüde inhibasyona uğradığı kaydedilmiştir.

Sonuç: Mevcut çalışmada NS uygulamasının, her iki konsantrasyonda da CYP maruziyetine karşı önemli bir SOD-CAT sistemi modülatörü olduğu kaydedilmiştir. Böylece NS reseptör proteini aracılığıyla dolaylı olarak etkili bir antioksidan olarak işlevini yerine getirdiği ve oksidatif stres altında antioksidatif enzimlerin sentezini ve aktivitesini yapısal olarak uyardığı söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: *O. mykiss*, hematotoksisite, hematotoksisite, nörotoksisite, *Nigella sativa*

2022, 67 sayfa

ABSTRACT

MASTER'S THESIS

INVESTIGATION OF TOXIC (CYPERMETHRIN) / DETOXIC (*Nigella sativa*) EFFECT MECHANISM IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*) WITH CRITICAL SWIMMING RATE, HEMATOLOGY PARAMETERS AND OXIDATIVE STRESS RESPONSE

Veysel Karani GÜLTEKİN

Supervisor: Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP

Purpose: Although it is known that the negative effects of cypermethrin in fish are mainly mediated by oxidative stress, in the current study investigating the behavioral changes, oxidative stress-mediated neurotoxicity, hematotoxicity, hepatotoxicity and phytotherapeutic effects caused by CYP on *O. mykiss*, applicable data in the ecotoxicological field were obtained by using a multi-biomarker approach. intended to be.

Method: In the study, a total of 6 groups [control group (non-treatment), group A (2 µl cypermethrin), group B (2 µl cypermethrin + 2.5% black cumin oil), group C (2 µl cypermethrin + 5% black cumin oil), D group (2.5% black seed oil) and E group (5% black seed oil)] were formed. At the end of the experiment period, swimming performance test was performed on the fish in the control and application groups, blood was taken from the sampled fish and used for hematological analysis. Oxidative stress parameters and AChE enzyme analyzes were performed in liver, gill and brain tissue.

Findings: As a result of CYP application, it was determined that the Ucrit value of *O. mykiss* decreased significantly. It was determined that the changes in the values of RBC, Hgb and Hct, which are among the hematology parameters examined in the blood tissue, were statistically significant ($p<0.05$). Although the changes in the MCHC value associated with RBC were significant ($p<0.05$), no significant changes were detected in the MCV and MCH values. It was determined that WBC value was inhibited by CYP application and NS tried to make a positive contribution to WBC. It was determined that the AChE activity of *O. mykiss* in the brain tissue had a statistically significant inhibition in the CYP-treated group ($p<0.05$). SOD, CAT, GPx, enzyme activities were found to be inhibited by CYP application and were statistically significant ($p<0.05$). Acute toxicity of CYP was determined by antioxidant enzyme biomarkers in gill tissue. In the results obtained; While inhibitions were determined in SOD, CAT, GPx activities compared to the control group, an induction occurred in MDA value. As a result of CYP application, it was noted that antioxidant enzyme (SOD, CAT, GPx) activities in the tissue were significantly inhibited.

Results: NS administration was noted to be an important modulator of the SOD-CAT system against CYP exposure at both concentrations. Thus, it can be said that it indirectly functions as an effective antioxidant through the NS receptor protein and structurally stimulates the synthesis and activity of antioxidative enzymes under oxidative stress.

Keywords: *O. mykiss*, hematotoxicity, hematotoxicity, neurotoxicity, *Nigella sativa*

2022, 67 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	x
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	10
MATERYAL VE METOT	15
Materyal	15
Balık materyali	15
Su materyali	15
Araştırma ünitesi	16
Sipermetrin (CYP) ve çörek otu yağı (NS)	16
Metot	16
Deney balıklarının bakım ve beslenmesi	16
Deneme dizaynı.....	17
Yüzme performansının belirlenmesi	17
Hematoloji analizleri.....	18
Enzim analizleri	19
İstatistik analizler	20
ARAŞTIRMA BULGULARI	21
Yüzme Performansı Sonuçları	21
Hematoloji Analizleri Sonuçları	21
Beyin Dokusu Enzim Analizi Sonuçları	24
Solungaç Dokusu Enzim Analiz Sonuçları	27
Karaciğer Dokusu Oksidatif Stres Bulguları	29
TARTIŞMA.....	32

SONUÇ ve ÖNERİLER	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	55



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Deneme Dizaynı	17
--------------------------------------	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Stres tepki fazları.....	4
Şekil 2. Sipermetrin maruziyeti sonrasında kan dokusundaki değişimler.....	6
Şekil 3. Sipermetrin maruziyetinin oksidatif stres aracılı toksik mekanizması	8
Şekil 4. Denemenin canlı materyali gökkuşağı alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>).....	15
Şekil 5. Araştırma ünitesi	16
Şekil 6. Yüzme performansı sistemi	17
Şekil 7. Balıklardan kan örneklerinin alınması	18
Şekil 8. CYP maruziyetinin yüzme performansı üzerine etkileri.....	21
Şekil 9. Eritrosit sayıları (RBC) değerleri	22
Şekil 10. Hemogloblin düzeyleri.....	22
Şekil 11. Hematokrit yüzde değerleri.....	23
Şekil 12. MCV, MCH ve MCHC değerleri.....	23
Şekil 13. Lökosit sayısı değerleri	24
Şekil 14. Trombosit sayısı değerleri.....	24
Şekil 15. AChE değerleri	25
Şekil 16. <i>O. mykiss</i> beyin dokusu SOD değerleri	25
Şekil 17. <i>O. mykiss</i> beyin dokusu CAT değerleri	26
Şekil 18. <i>O. mykiss</i> beyin dokusu GPx değerleri	26
Şekil 19. <i>O. mykiss</i> beyin dokusu MDA değerleri	27
Şekil 20. <i>O. mykiss</i> solungaç dokusu SOD değerleri	27
Şekil 21. <i>O. mykiss</i> solungaç dokusu CAT değerleri	28
Şekil 22. <i>O. mykiss</i> solungaç dokusu GPx değerleri	28
Şekil 23. <i>O. mykiss</i> solungaç dokusu MDA değerleri.....	29
Şekil 24. <i>O. mykiss</i> karaciğer dokusu SOD değerleri	29
Şekil 25. <i>O. mykiss</i> karaciğer dokusu CAT değerleri	30
Şekil 26. <i>O. mykiss</i> karaciğer dokusu GPx değerleri	30
Şekil 27. <i>O. mykiss</i> karaciğer dokusu MDA seviyesi	31

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

BRI	: Biyobelirteç Yanıt İndeksi
CAT	: Katalaz
CPF	: Klorpirifos
CYP	: Cypermethrin, sipermetrin
EPA	: Çevre Koruma Ajansı
Hb	: Hemoglobin
HCT	: Hematokrit
IBR	: Entegre Biyobelirteç Yanıtı
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Örgütü
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin miktarı
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MDA	: Malondialdehit
NS	: <i>Nigella sativa</i>
OECD	: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü
Plt	: Trombosit sayısı
RBC	: Eritrosit sayısı
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
Ucrit	: Kritik yüzme hızı
WBC	: Lökosit sayısı

GİRİŞ

Küresel su ürünleri üretiminin önemli bir yüzdesini oluşturan balık üretimi sucul proteinin önemli bir yüzdesini oluşturur (Naylor *et al.* 2021). Artan dünya nüfusunun beslenme açığının kapatılmasında Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından özellikle sürdürülebilirlik yönetiminde insan sağlığı / beslenmesi, su / ve gıda üretim sistemlerinin yönetimi, biyolojik çeşitliliğin korunması, iklim değişikliği etkilerinin azaltılması yönündeki konuları önem kazanmaktadır (FAO 2021). Özellikle su ürünleri yetiştiriciliğinde, tarımsal ve endüstriyel kimyasalların sucul ekosistemlere drenajları ile orijinalinden uzaklaşmış akuatik ekosistemler global çapta bir sorun haline gelmiştir.

Sucul ekosistemler üzerinde önemli yük oluşturan pestisitler, gıdaların tüm üretim aşamalarında zararlılarla mücadele ederek küresel gıda talebini karşılamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yararlarının yanında su kalitesi, biyolojik çeşitlilik ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkilere neden olan çevresel kirleticileridir (Tang *et al.* 2021). Küresel olarak, pestisit terimi altında binlerce kimyasal sentezlenmekte, tarım ve hayvancılık başta olmak üzere hemen hemen tüm sektörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Su ve topraktaki varlıkları veya kalıcılıkları, tarımsal düzeneklerden kaçmasına, topraktan sızmasına ve hava yoluyla taşınmasına bağlanmaktadır (Ullah *et al.* 2018). Küreselleşme çağında, pestisitlerin su kütlelerine ulaşarak hedef olmayan organizmalar, özellikle balıklar üzerinde çeşitli zararlı etkiler gösterdiği (de Souza *et al.* 2020) ve bunun ekosistem kırılganlığıyla ilişkili olduğu ortaya çıkmıştır (Sharma *et al.* 2021). Bununla birlikte, dünya çapında yapılan araştırmalar da tarımsal atıkların karasal-sucul ekosistemlerde kirliliğe ve toksik etkilere neden olduğu belgelenmiştir. Sucul canlıların bu kirleticileri doğrudan kirli sudan ve dolaylı olarak besin zincirinden biriktirdikleri de bilinmektedir (Jabeen *et al.* 2015).

Piretroidler dünya çapında yaygın olarak kullanılan insektisitlerdendir. Sentetik insektisitler, tarım uygulamalarında zararlıları kontrol etmek için son yıllarda yaygın olarak kullanılması ve bunların su ortamında canlı biyota için potansiyel tehlikelere neden olduğu rapor edilmiştir (El Euony *et al.* 2020; Naiel *et al.* 2020). Sentetik piretroid insektisitler; deltametrin, permetrin, tetrametrin, resmetrin, y-sihalotrin ve sipermetrin gibi çeşitli bileşikler içerir (Coats *et al.* 1989). Balıklarda piretroidlerin biyotransformasyon ve detoksifikasyon süreçleri diğer organizmalardan oldukça yavaştır (Glickman *et al.* 1982). Bu canlılarda piretroid

hidrolize edici enzimlerin (karboksilesterazlar) olmaması, piretroid toksisite tablosunun daha ağır olmasına yol açar (de Moraes *et al.* 2018).

Sipermetrin (CYP) bir siyanofenoksibenzil piretroiddir ve balıklarda yüksek toksisite nedeniyle EPA tarafından sınırlı kullanımlı bir pestisit (Tip II piretroid) olarak sınıflandırılmış (Carriquiriborde *et al.* 2007; Saha and Kaviraj, 2009) olsa da bazı araştırmalar CYP'nin balık dokusunda, sedimentte ve akarsularda bulunduğunu bildirmiştir (Jabeen *et al.* 2015; Mahboob *et al.* 2015). CYP ve diğer pestisitlerin kullanımına izin verilen limitlerin üzerindeki konsantrasyonların balık sağlığı üzerindeki olumsuz etkilere neden olduğu tespit edilmiştir (Arisekar *et al.* 2019; Maurya *et al.* 2019; Mahboob *et al.* 2022). Balıklarda sipermetrinin olumsuz etkilerinde oksidatif strese aracılık ettiği, oksidatif stres ile ilişkili DNA hasarını indüklediği (Poletta *et al.* 2016) ve yüzme davranışını değiştirdiği bildirilmektedir (Bonansea *et al.* 2016).

En büyük ve en çeşitli omurgalı grubunu temsil eden balıklar; toksikolojik araştırmalar için, özellikle de sucul sistemler üzerinde kirleticilerin etkilerini gösterebilecek mükemmel deneysel modeller olarak kullanılmaktadır (Wu *et al.* 2014; Yancheva *et al.* 2015; Uçar *et al.* 2021). Bunun yanı sıra çevresel stresörlere doğrudan maruz kaldıkları için toksikantın etkisini analiz etmede ideal organizmalardır. Su ile doğrudan ve sürekli temas halinde olan balıklar, su ortamının sağlığının göstergesi olarak hizmet eder (Jindal and Sharma 2019).

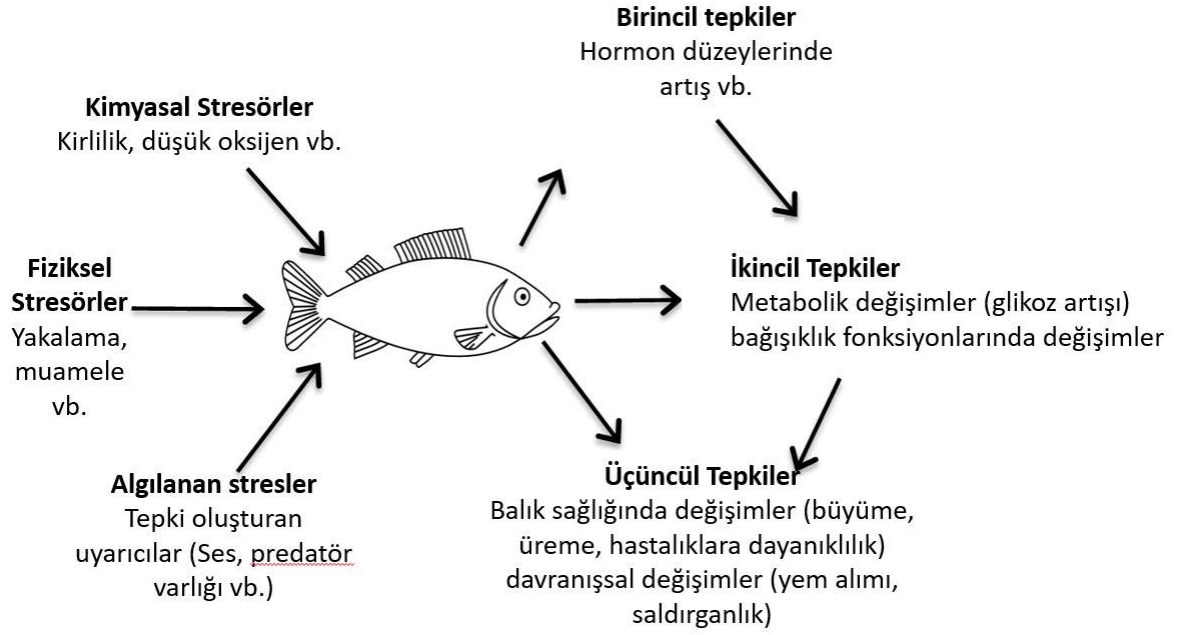
Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO), Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü (OECD), *Danio rerio*, *Pimephales promelas*, *Oncorhynchus mykiss* ve *Oryzias latipes* gibi akuatik canlıları model organizma olarak önermiştir (ISO 1996; OECD 2013). Bu türler arasında yer alan *O. mykiss*; ekonomik değerinin yüksek oluşu dikkate alındığında 100 yılı aşkın süredir kültürü yapılan ve kolay elde edilebilirliği nedeniyle akuatik toksikoloji çalışmalarında, toksik maddelerin etkisini belirlemede önemli biyomarkırlardandır (Wu *et al.* 2014).

Hayvan refahı son yıllarda ortaya çıkan bir kavram olmasına rağmen araştırmacılar, üreticiler ve bu sektörün diğer paydaşları tarafından benimsenmiş ve yetiştiricilikte ana unsurlardan biri haline gelmiştir. Balıklar poikiloterm (soğukkanlı) canlılar olduklarından dolayı su ortamının özellikleri ve bunların balıklar üzerindeki etkisi, yetiştiricileri sucul organizmalarda oluşabilecek stresi kontrol etmek için tasarlanmış kültürel uygulamaları geliştirmeye zorlamıştır. Hayvan refahı, toplumsal bilincin bir sonucu olarak değil, üretilen türlerde daha fazla verim elde edebilmek için, balıkları canlı ve sağlıklı tutma zorunluluğundan dolayı temel bir anahtardır (Conte 2004). Küresel değişimler bağlamında, balıklar giderek artan bir şekilde, moleküllerden tüm bireye kadar kademeli etkilere sahip olan ve böylece seçici

süreçler yoluyla yabancı balık popülasyonlarını etkileyen çoklu stres faktörlerine maruz kalmaktadır (Petitjean *et al.* 2019).

Balıkların tehdit edici durumlara karşı genel fizyolojik tepkisi, tüm omurgalılarda olduğu gibi 'stres' olarak adlandırılır. Bir stres etkeninin algılanmasının hemen ardından bir stres yanıtı başlatılır. Stres tepkisi (yani stresörler tarafından tetiklenen fizyolojik tepki), bazı koşullar altında iç homeostazın korunmasını ve hayatta kalmayı sağlayabilen, çevresel değişikliklere karşı karmaşık bir biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal ayarlamalar dizisidir (Petitjean *et al.* 2019). Hafif düzeyde stresli durumlar olumlu etkilere (eustress), daha yüksek şiddetler olumsuz sonuçlara sahip olabilir. Stres yanıtı, kortikosteroidlerin (esas olarak kortizol) ve katekolaminlerin (adrenalin ve noradrenalin ve bunların öncüsü dopamin gibi) üretimine yol açan iki hormonal sistem tarafından başlatılır ve kontrol edilir. Bunlar birlikte, enerji kaynakları ve oksijen gibi gerekli kaynakların vücudun hayati bölgelerine dağılımını değiştiren ve ayrıca hidromineral dengesizliği ve bağışıklık sistemini tehlikeye atan ikincil stres tepki faktörlerini düzenler. Balıklar bir stres etkeni nedeniyle ölüme direnebilirse, benzer bir homeostatik norma kavuşurlar (Schreck and Tort 2016).

Stres yanıtı; homeostazın korunmasına yardımcı olan tehlikeli olarak algılanan bir uyarıcıya (stresör) gönderilen, organizmaların adaptif tepkileridir (Uçar *et al.* 2021). Bu tepkiler birincil, ikincil ve üçüncül fazlar olarak gruplandırılır (Barton 2002). Birincil faz, genelleştirilmiş bir nöroendokrin yanıtı ifade eder. Katekolaminler (epinefrin ve norepinefrin) ve kortizol, sırasıyla kromafin ve böbrekler arası hücrelerden salınır. Bu hormonların daha yüksek dolaşım seviyeleri ikincil bir yanıtı tetikler. İkincil faz gelişmiş glikojenolizden kaynaklanan hiperglisemi ve glukoneogenez, solungaç filamentlerindeki arterlerin vazodilatasyonu, artmış kardiyak atım hacmi ve bağışıklık fonksiyonu depresyonu şeklinde ortaya çıkar (Gratzek and Reinert 1982). İlk iki aşama adaptif olarak kabul edilir ve balıkların stres faktörlerine uyum sağlamasını sağlayarak homeostazı sürdürür. Buna karşılık, üçüncül fazda, canlıların stres faktörlerine uyum sağlayamadığı ve bu durum üzerinde olumsuz etkilere yol açan sistemik değişiklikleri içerir. Yüzme performansları da dahil olmak üzere davranış, sağlık, büyüme ve üreme üzerindeki etkileri bu kapsamda ortaya çıkmaktadır (Barton 2002) (Şekil 1).



Şekil 1. Balıklarda stres tepki fazları (Barton 2002)

Tüm canlı organizmalar çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Ancak bu etkileşim tüm yaşamsal faaliyetlerini aynı ortamda yürüttükleri için balıklarda daha yüksek orandadır. Kirleticiler balıkların rutin yaşamını, büyüme ve beslenmesini, ovaryum ve yumurta gelişimini, bağışıklık sistemini, osmoregülasyonu ve diğer birçok fizyolojik fonksiyonlarını etkileyen en önemli çevresel faktörlerden biridir (Kaymak *et al.* 2014). Sucul ortama farklı yollarla giriş imkanı bulan kirleticiler endüstriyel, kentsel ve tarımsal atıklardır (gübre, hormon ve pestisitler). Su ortamına giren pestisitler; balık ve diğer canlılara üç temel yolla; (1) dermal olarak, kontamine sulardan deri yoluyla emilim, (2) solunum yoluyla, solungaçlar aracılığı ve (3) oral olarak, pestisit bulaşmış su ve gıdalardan alınmasıyla ulaşmaktadır (Dubey and Gaur 2018).

Balık solungaçları, su ile doğrudan temasları ve daha fazla kimyasal alışverişini kolaylaştıran geniş yüzey alanı nedeniyle sudaki kirleticilere karşı oldukça hassastır. Bu noktadan kana karışan kirleticiler, ksenobiyotik maddeler için ana detoksifikasyon organı olan karaciğere taşınır. Karaciğer, çok sayıda anabolik ve katabolik işlevi olan metabolik, detoksifikasyon ve depolama organıdır (Georgieva *et al.* 2021). Bu nedenle, hepatik doku, kirleticilerin çoğunun biriktiği ve uzun vadeli hasarın en fazla olduğu yerdir. Solungaçlar; karaciğer ve böbrek ile karşılaştırıldığında etkin bir detoksifikasyon sisteminden yoksundur (Fernandes *et al.* 2007).

Organizma, kirletici maddelerle ilgili strese maruz kaldığında, moleküler, hücresel ve fizyolojik değişikliklere uğrar (Ballesteros *et al.* 2017). Bu değişiklikleri belirlemede akuatik toksisite deneyleri önemli yöntemler olarak kabul edilir (Uçar *et al.* 2021). Tek bir biyobelirteç,

toksik maddenin sudaki yaşam formları üzerindeki toksisitesinin gerçek ve pratik bir değerlendirmesini veremez. Bu nedenle, organizmanın toksik maddelere tepkisini anlamak için birleştirilmiş biyobelirteç yaklaşımının kullanılması tavsiye edilir (Sanchez-Bayo 2012). Entegre Biyobelirteç Yanıtı (IBR), tüm biyobelirteç yanıtlarını tek bir kümede birleştiren kapsamlı bir anlayış sağlamaktadır (Serafim *et al.* 2012). Biyobelirteç Yanıt İndeksi (BRI), son yıllarda çoklu biyobelirteç yanıtlarını entegre etmek için yaygın olarak kullanılır ve toksik stres altında test organizmasının sağlık durumunu belirlemek için temel olarak biyolojik belirteç yanıtlarının değişiklik düzeyine odaklanır (Hagger *et al.* 2008; Bej *et al.* 2021). Balıkların bir dizi biyolojik tepkisi, kirliliğin ve organizmaya verilen zararın erken bir göstergesi olabilir. Biyobelirteçler olarak adlandırılan bu biyolojik tepkiler, moleküler, biyokimyasal, fizyolojik ve yapısal değişiklikler dahil olmak üzere moleküler düzeyden organizmaya doğru bir yol izler (Pickering and Pottinger 1995; de Moraes *et al.* 2018). Biyobelirteçler, düşük konsantrasyonlarda maruziyette meydana gelen toksik etkileri incelemeye izin verdikleri için ekotoksikolojide sıklıkla kullanılır. Bununla birlikte, toksisite çalışmalarının çoğu, ekolojik ilişkiden yoksun olan hücresel biyobelirteçleri değerlendirir. Biyobelirteçlerin doğru seçimi, alt-bireysel tepkileri olumsuz sonuçlara etkili bir şekilde bağlamak için kilit bir süreçtir. Bu seçim, toksik maddenin etki modunu, potansiyel olarak etkilenen fizyolojik mekanizmaları ve yolları, ayrıca toksik maddeye verilen yanıtın özgünlüğünü ve duyarlılığını dikkate almalıdır.

Davranıştaki değişiklikler, bireysel düzeyde en yaygın kullanılan biyobelirteçler arasındadır. Bunun temel nedeni, bu tepkinin organizmanın, popülasyonun ve komünitenin canlılığı için gerekli olan birçok hücresel süreci bütünleştirmesidir. Bu nedenle, davranış değişikliklerinin gözlenmesi, çevre kirliliğinin hem biyokimyasal hem de ekolojik sonuçlarını birbirine bağlayan benzersiz bir toksikolojik bakış açısı sağlar (Little and Finger, 1990). Ayrıca, pestisit maruziyetinin, balıkların yüzme davranışını değiştirdiğini rapor eden araştırmalar bulunmaktadır (Ballesteros *et al.* 2009, Khalil *et al.* 2013; Bonansea *et al.* 2016).

Sucul ekosistemdeki canlıların davranış değişiklikleri, olası toksik etkilerin en hassas göstergeleri olarak kabul edilmektedir. Farklı insektisitlere maruz kalan balıkların beslenme aktivitelerindeki değişiklikler, yüzme davranışları, rekabet, avlanma, üreme ve saldırganlık gibi sosyal etkileşimleri belirlenmiştir (Rehman *et al.* 2016). Tarımda yaygın kullanılan piretroidlerin, balıkların yüzme hızı ve diğer aktiviteleri üzerinde önemli etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Alonso *et al.* 2012; Shuman-Goodier *et al.* 2016).

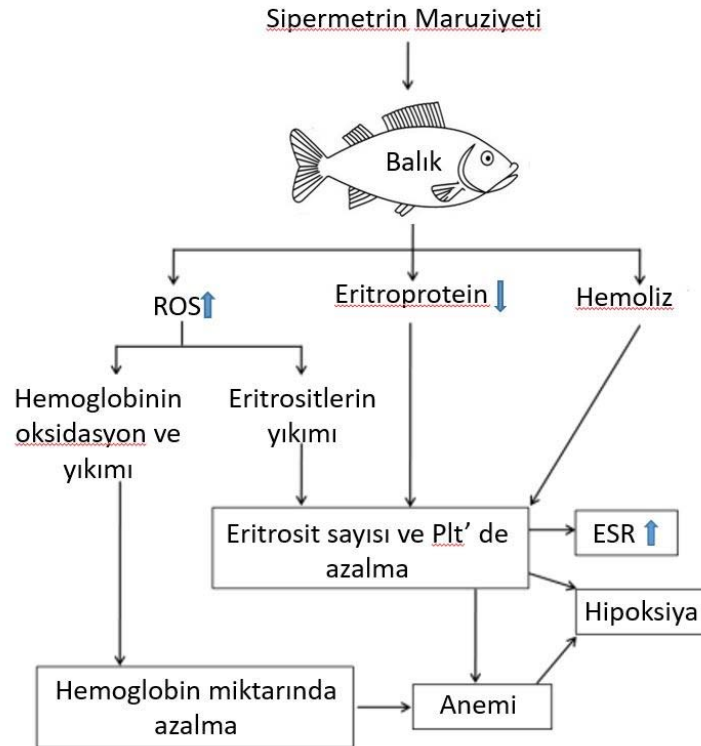
Davranış, fizyolojik ve ekolojik süreçler arasında bir bağlantı görevi gördüğünden, çevresel kirlleticilerin etkilerini incelemek için idealdir. Balıklar davranışlarının izlenme kolaylığından dolayı bu parametrede öne çıkan sucul indikatörlerdir. Bununla birlikte

fizyolojilerinin çok iyi bilinmesi, kontaminasyonun ekolojik olarak izlenmesi için avantajdır (Atchison *et al.* 1987). Balıkların bireysel davranış performansı, sinir ağları aracılığıyla hareket eden dış uyaranlar tarafından tetiklenen belirli fizyolojik dizileri takip eder (Weber and Spieler, 1994).

Balıkların metabolizması davranışsal durumu ile yakından ilişkilidir ve birçok farklı fizyolojik fonksiyondan etkilenir. Sudaki kirleticilerin neden olduğu metabolik işlev bozukluğu, sonuç olarak birçok farklı fizyolojik seviyedeki bozulma nedeniyle ortaya çıkabilir. Tüm organizmanın metabolik bozulması, en yaygın olarak değişen dinlenme metabolik hızları (oksijen tüketimi veya ventilasyon hızı) veya düşük yüzme performansı (kritik yüzme hızı, U_{crit}) ile gösterilen bir dizi farklı yolla belirtilmiştir (Uçar ve Yegin 2017).

Su ürünleri çalışmalarında kirlilik ve organik işlev bozukluğunun fizyolojik göstergeleri olarak hematolojik parametreler, balık sağlığının değerlendirilmesinde prognostik ve teşhis araçları olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Burgos Aceves *et al.* 2019).

Tüm bu kan parametreleri, hücrelerin görünümünü etkileyen içsel / dışsal faktörlerden elde edilen kantitatif değerlerden etkilenebilir (Clauss *et al.* 2008). Kirleticilerin balık kanı anomalileri ile doğrudan bir ilişkisi vardır ve sucul ekosistemlerin farklı çevresel koşulları balıkların hematolojik parametrelerinde çeşitli değişikliklere neden olabilir (Savari *et al.* 2011; Burgos Aceves *et al.* 2019) (Şekil 2).



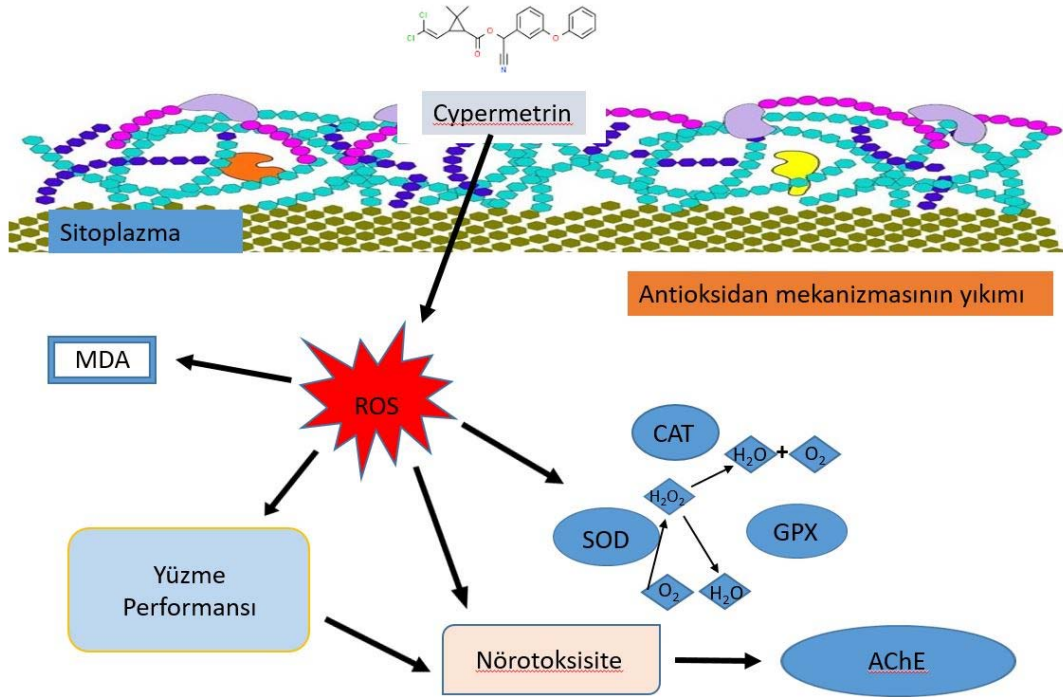
Şekil 2. CYP maruziyeti sonrasında balık kan dokusundaki değişimler

CYP'nin lipofilik doğası nedeniyle suda yaşayan organizmaların solungaç, deri ve sindirim sistemi zarlarından hızla nüfuz eder. Ana toksik hedefler, voltaj kapılı sodyum kanallar (Soderlund and Bloomquist, 1989) ve sinir impuls iletimini etkileyen nöronal membrandaki integral protein ATPaz' dır (Kakko *et al.* 2003; San juan *et al.* 2020).

Balıklarda pestisitlerin nörotoksitesisi genellikle asetilkolinesterazdaki (AChE) değişikliklerin belirlenmesiyle değerlendirilir. AChE, beyin, kas, plazma ve diğer dokularda nörotransmitter asetilkolini etkisiz hale getirmede sorumlu bir enzimdir. AChE inaktivasyonu, nörotransmitterin birikmesine neden olur (Rehman *et al.* 2016). Kolinerjik sinir iletiminde, sinir iletili asetilkolin (ACh), muskarinik ve nikotinik kolinerjik reseptörlerin aktivasyonunu destekler. ACh, hareketin psikomotor kontrolünde kritik rol oynayan bir nörotransmitteri ve öğrenme / hafıza gibi bilişsel işlevlerin önemli bir modülatörüdür (Hasselmo, 2006; Pereira *et al.* 2012) Kolinesterazlar, nörotransmitter asetilkolinin hidrolizinden sorumludur. Yokluğunda, sinirsel aşırı uyarımlarla balıklarda yüzme performansının bozulmasına, felç ve solunum yetmezliğine yol açabilecek çeşitli sinirsel süreçleri bozduğu bilinmektedir (Romero 2019). Pestisitler içerisinde organofosfat ve karbamatların sucul organizmalarda AChE'nin inhibisyonunda etkili olduğu iyi bilinmektedir (Van Dyk and Pletschke 2011). Piretroidlerin ise bilinen nörotoksitesisi, yüzme performansı, göç, avını arama ve avcılardan kaçma gibi nöromusküler fonksiyonlu davranış süreçlerini içermektedir (Goulding *et al.* 2013; Fuller *et al.* 2021). Artan kanıtlar, piretroidlerin neden olduğu hedef dışı canlılarda oksidatif stres ile yakından ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Oksidatif stres, hücrelerde aşırı oksijen radikallerinin üretilmesinden kaynaklanır. Aerobik ortamlarda yaşayan organizmalar oksidatif stresten zarar görmeye eğilimlidir. Serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, antioksidan enzimlerin aktivitesine dayanan bir savunma sistemine sahiptir (Birben *et al.* 2012). Antioksidan savunma sistemi, stres koşullarının potansiyel biyobelirteçlerini sağlar (Faggio *et al.* 2015; Gobi *et al.* 2018; Hodkovicova *et al.* 2019). Katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimler, serbest radikal hasarıyla mücadele için ilk savunma hattını sağlarken (Li *et al.* 2007), enzimatik olmayan glutatyon (GSH) ise antioksidan savunmanın ikinci hattında hayati bir rol oynar (Prokić *et al.* 2021). Süperoksit radikali, tipik olarak oluşan ilk ROS'tur ve sonunda hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açar (Halliwell and Gutteridge 2015) ancak organizma biyolojisini nasıl etkilediği yönündeki mekanizma tam olarak aydınlatılamamıştır. Radikal bir tür olmasa da H₂O₂ zarlardan kolayca geçebilir ve çoğu oksijen türevi radikal türe göre daha uzun ömürlüdür. Değişken değerlikli metal iyonlarının varlığında, bu bileşik, temas ettiği makromoleküllerden (nükleik asitler, proteinler, lipidler ve karbonhidratlar) elektronları ve protonları çıkararak oldukça reaktif hidroksil radikaline dönüştürülebilir (Birnie-Gauvin *et al.* 2017).

Balıklarda oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge, balıkların su ortamında fizyolojik adaptasyonu için gereklidir (Wu *et al.* 2017). Piretroidlerin balık dokularında (solungaç, karaciğer, kas ve böbrekler gibi) oksidatif strese dayalı toksisiteyi teşvik ettiği bildirilmiş, başta ROS ve lipid peroksidasyonundaki artış ve antioksidan enzim aktivitesindeki değişiklikler olmak üzere, piretroid pestisitlere yanıt olarak oksidatif stresin aracılık ettiği hedef dışı etkiler incelenmiştir. Özellikle biyotransformasyon reaksiyonlarından sorumlu organlarda, oksidatif CYP metabolizması, antioksidan savunma sistemi tarafından nötralize edilmezse oksidatif ROS üretilebilir. Biyokimyasal ve fizyolojik düzeydeki bu biyolojik tepkiler genellikle ilk ortaya çıkan ve en hassas olanlardır (Khazri *et al.* 2016).

CYP balıklarda yüzme davranışını değiştirir veya karaciğer, solungaçlar ve gonadlarda histopatolojik değişikliklere neden olur (Babu *et al.* 2016; Bonansea *et al.* 2016). Bu fenotipik değişikliklere, DNA hasarı, biyokimyasal ve hematolojik parametrelerdeki değişiklikler de eşlik edebilir (Fırat *et al.* 2011; Parma *et al.* 2007; Poletta *et al.* 2016). Balıklarda sipermetrinin olumsuz etkilerinin esas olarak oksidatif strese aracılık ettiği bildirilmektedir (Şekil 3).



Şekil 3. Sipermetrin maruziyetinin oksidatif stres aracılı toksik mekanizması (Oriijinal)

Son yıllarda kirleticilerin olası toksisitelerinin modülasyonunda alternatif bitkisel orjinli tedavi ajanlarının (fitoterapötikler) kullanımı, kirletici kaynaklı toksisiteyi azaltmak için etkili ve sürdürülebilir bir yöntem olarak kabul görmektedir. Bu tarz bitkisel orjinli antioksidanların, serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese karşı oldukça etkili olduğu bilinmektedir (Jiang *et al.* 2018). Doğal bileşiklerin antioksidan aktivitesi genellikle, proton donörleri, metal

iyon şelatörleri ve singlet oksijen söndürücüler olarak hareket etmelerine izin veren indirgeme güçlerinden kaynaklanmaktadır (Rice-evans *et al.* 1995). Son yıllarda su ürünleri araştırmalarında da fitotöreatiklerin kullanımı popülerlik kazanmıştır (Enayat Gholampour *et al.* 2020; Kurian *et al.* 2020; Hamed *et al.* 2021). Fitokimyasalların balıklarda anti-stres, immünostimölasyon ve anti-patojen özelliklerini desteklediği bildirilmektedir (Ahmadifar *et al.* 2019; Rashidian *et al.* 2020; Sinha *et al.* 2021). Çörek otu (*Nigella sativa*) Türkiye'de yetiştirilen antikolinerjik (Boskabady and Shahabi 1997), antiviral (Salem and Hossain 2000) ve anti-diyabetik (Kanter *et al.* 2003) özellikleri olan bir tür olup medikal uygulamalarda tercih edilmektedir. Bununla birlikte *N. sativa*'nın balık üretimi ve sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri ile ilgili çalışmalar da bulunmaktadır (Yousefi *et al.* 2021; Mahboub *et al.* 2022). Balık diyetlerinde *N. sativa* veya türevlerinin diyet takviyesi, kirleticilere karşı kullanımında balıkların bağışıklık tepkilerini artırdığı, balık kanındaki biyokimyasal profili iyileştirdiği, istilacı patojenik bakterilere karşı koruma sağladığı aynı zamanda balıkların oksidatif stres tepkilerini iyileştirmeye yardımcı olduğu rapor edilmiştir (El-Hack *et al.* 2021).

Balıklarda sipermetrinin olumsuz etkilerinin esas olarak oksidatif strese aracılık ettiği bilinse de CYP'nin *O. mykiss* üzerinde oluşturduğu davranış değişimleri, oksidatif stres aracılı nörotoksisite, hematotoksisite, hepatotoksisite ile birlikte fitotöreatiklerin etkisinin araştırıldığı çalışmalara rastlanılmamıştır. Dolayısıyla, mevcut çalışmada, çoklu biomarker yaklaşımı kullanılarak ekotoksikolojik alanda uygulanabilir verilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Magnuson *et al.* (2022), diyetle ilave edilen bifenthrin ve fipronil insektisitlerinin yavru Pasifik sombalığı (*Oncorhynchus tshawytscha*) metabolik süreçlerde etkili olduğu, yüzme performansında önemli düşüşlerin yanısıra yiyecek arama faaliyeti ve avcılardan kaçma üzerinde de olumsuz değişimlere neden olduğu bildirilmiştir.

Dorlikar *et al.* (2021), CYP'ye maruz kalan, Afrika kedi balığında (*Clarias gariepinus*), huzursuzluk, daha fazla operküler hareket, denge kaybı, ağızdan hava yutma, derilerinde renk değişikliği, deri ve solungaçlarda kalın bir mukus tabakası oluşumuna neden olduğu ve balıkların hiperaktif hale gelerek solunum sıkıntısı gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Sandoval-Herrera *et al.* (2019), organofosfat insektisit olan etoprophos'un toksik etkilerini ve biyobelirteçleri hücresel / bireysel (metabolizma, davranış) düzeylerde birbirleriyle olan ilişkilerini tropikal balık *Astyanax aeneus* (Characidae) üzerinde incelemişlerdir. Pestisit, yüksek nörotoksitesini yansıtan beyin kolinesteraz (ChE) aktivitesinde önemli (% 54) bir azalmaya neden olmuş, ancak oksidatif stres, biyotransformasyon reaksiyonları ve yüzme hızı gibi diğer biyobelirteçler üzerinde etkili olmadığı bildirilmiştir.

Montanha *et al.* (2014), Gümüş kedi balıklarında (*Rhamdia quelen*) CYP'nin akut toksisitesinin denge kaybı, yüzme bozukluğu (dik ve/veya ani spiral yüzme) ve solunum güçlüğü gibi davranış değişikliklerine neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bonansea *et al.* (2016), CYP'nin düşük konsantrasyonlarına maruz bırakılan balıklarda kolinesteraz enzim inhibisyonu ile yüzme davranışında pozitif bir ilişkinin olduğunu bildirmişlerdir.

Goulding *et al.* (2013), juvenil gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) piretroidlerin (permetrin ve deltametrin) farklı doz uygulamalarıyla kritik (*Ucrit*) ve maximum (*Umax*) yüzme hızları üzerindeki etkilerini incelemişler; deltametrin (200 ve 300 ng/L)'in *Ucrit*'i düşürürken *Umax*'ı etkilemediği, bununla birlikte 7 günlük maruziyetten sonra *Ucrit* tamamen geri kazanıldığını rapor etmişlerdir.

Ganie *et al.* (2018), CYP'in beyaz sazan balığı *Cirrhinus mrigala*'da davranış kaybı, su yüzeyine yakın yüzme, hiper aktivite, düzensiz hareketler ve test tanklarının duvarlarına çarpma gibi davranış bozukluklarına neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Yaji *et al.* (2021), statik koşullar altında farklı konsantrasyonlarda (0.5, 1.1 ve 2.1 µg L⁻¹) CYP'ye maruz bırakılan nil tilapyası (*Oreochromis niloticus*)' un davranış değişimlerini incelemişler, denge kaybı, düzensiz yüzme, hava yutma, operküler havalandırma gibi iki fazlı eğilimlerin ortaya çıktığını rapor etmişlerdir.

Adhikari *et al.* (2004), rohu balığı (*Labeo rohita*)' da CYP ve karbofuran toksisitesinin, RBC, Hb ve Hct seviyelerinde azalışa, WBC, MCV ve MCH'nin seviyesinde önemli bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir.

Orun *et al.* (2014), gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)'nda CYP toksisitesine karşı propolisin biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmışlar, CYP'nin toksik etkilerinin (biyokimyasal ve hematolojik değişkenler üzerinde) olduğunu, bu toksik etkilerin propolis uygulanarak nötralize edildiğini rapor etmişlerdir. Bu bulgular, propolisin gökkuşağı alabalıklarında, özellikle hematopoezde CYP kaynaklı toksisitenin önlenmesinde etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Atamanalp *et al.* (2002), gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*)'nda kronik CYP uygulamasının konsantrasyon artışına bağlı olarak RBC, Hgb, MCH, MCHC, Plt ve ESR parametrelerinde artışlara, zamana bağlı olarakta PLT, MCV ve WBC sayısında azalmalara neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Parma *et al.* (2007), çizgili prochilod (*Prochilodus lineatus*) balığına 2, 5 ve 8 gün boyunca subletal CYP konsantrasyonlarının (0,3 ve 0,6 µg/L) zamana bağlı olarak RBC, Hb, Hct ve MCHC değerlerinde azalmaya, MCV ve MCH değerlerinde artışa sebep olduğunu bildirmişlerdir. Sonuçta, hematolojik parametrelerin suda yaşayan organizmalarda CYP maruziyeti için bir tanı testi olarak faydalı olabileceği rapor edilmiştir.

Babu Velmurugan *et al.* (2016), tırmanan levrek balığı (*Anabas testudineus*)' nda CYP'nin hematolojik etkisini değerlendirmiş, zamana bağlı olarak RBC, Hb, Hct ve Plt sayılarında azalma, WBC sayısında ise artışlar kaydedildiğini bildirmişlerdir.

Akhtar *et al.* (2021), farklı CYP konsantrasyonlarının hematolojik parametreler üzerindeki etkisi araştırılmış elde edilen sonuçlarda Chirruh kar alabalığı (*Schizothorax esocinus*) hematoloji parametrelerinde (WBC, RBC, Hgb, Hct, MCV, MCH, MCHC ve Plt) kontrole grubuna oranla önemli ölçüde azalmaların olduğunu rapor etmişlerdir.

Yousefi *et al.* (2021), sazan balığı (*Cyprinus carpio*) 'nın glifosat toksisitesine karşı çörek otu (*Nigella sativa*, % 0.25, 0.5 ve 1) takviyesinin koruyucu potansiyelini hematolojik, biyokimyasal ve bağışıklık parametreleri ile araştırmışlar; NS'nin diyetle dahil edilmesinin, balıklarda glifosat maruziyetinin olumsuz etkilerinin (artan oksidatif stres, antioksidan

savunmanın azalması, çeşitli metabolik yolları etkilenmesi ve bağışıklık depresyonunu indüklenmesi) çoğunu azaltarak sürdürülebilir bir biyolojik iyileştirme stratejisi gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Sharma *et al.* (2021), altın duş ağacı (*Cassia fistülün*)' nın fitoteropatik etkisini CYP toksisitesine karşı hint sazanı (*Catla catla*) 'nda antioksidan aktivite, histopatolojik ve ultrastrüktürel değişiklikler açısından değerlendirmişlerdir. Bitki kaynaklı antioksidanların pestisit kaynaklı toksik etkileri azaltma potansiyeline dikkat çeken çalışmada, CAT, SOD, GST ve GSH gibi antioksidanların aktivitelerinde inhibisyon, buna karşılık LPO seviyesinde indüksiyon belirlenmiştir.

Sharma and Jindal (2020), hint sazanı (*C. catla*) karaciğerindeki biyokimyasal, histopatolojik, ultrastrüktürel ve moleküler biyobelirteçler aracılığıyla piretroid pestisit sipermetrinin kronik toksisitesini değerlendirmişlerdir. Balıklar, 45 gün boyunca farklı konsantrasyona (0.21 µg/L ve 0.41 µg/L) maruz bırakılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, enzimatik antioksidanlar CAT, SOD ve GST aktivitesinde önemli bir artış kaydedilmiş, MDA seviyesi ise test edilen her iki konsantrasyonda da zamana bağlı olarak arttığı belirlenmiştir.

Özok (2020), Van inci kefali (*Alburnus tarichi*)'nde yarı statik koşullar altında CYP'nin (0,05 µg/L) oksidatif hasar biyobelirteçleri üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. CYP'nin öldürücü olmayan konsantrasyon uygulamasının oksidatif strese neden olduğu ve balığın oksidan/antioksidan dengesini bozduğu sonucuna varılmıştır.

Khafaga *et al.* (2020), keklik otu (*Origanum vulgare*) esansiyel yağının (KOEY) diyetle uygulamasında CYP ile indüklenen serum biyokimyasal değişiklikler ve oksidatif stres üzerine olan etkisini sazan (*Cyprinus carpio*)'da araştırmışlardır. Elde edilen bulgularda, pestisit biyokimyasal değişiklikler, oksidatif stres, histopatolojik değişiklikler ve DNA hasarına neden olduğunu, buna karşın KOEY ilavesinin bu toksisitenin hafifletilmesinde etkili bir ajan olabileceği rapor edilmiştir.

Das and Mukherjee (2003), CYP'nin rohu balığı (*Labeo rohita*) 'nın beyin, karaciğer, böbrek, kas ve kan dokularındaki enzim aktiviteleri ve biyokimyasal parametreleri üzerinde boru çiçeği (*Datura stramonium*) bitkisi kullanılarak toksik-detoksik mekanizmanı incelemişlerdir. Çalışmada, beyin AChE aktivitesi, CYP konsantrasyonunda önemli ölçüde azalmış, kan şekeri seviyesi ve toplam lökositler yükselirken hemoglobin yüzdesi ve toplam eritrositler azalmıştır. CYP'nin dokularda biyokimyasal ve enzimatik değişimlere neden olduğu ancak bitki özlerinin, bu etkilerin bazılarını karşı koymada faydalı olabileceği rapor edilmiştir.

Majumder and Kaviraj (2017), Nil tilapiası (*Oreochromis niloticus*)’nda CYP’nin hepatik glikojende, karaciğer enzimlerinde (alkalin fosfataz, asetilkolinesteraz) ve katalaz aktivitelerinde azalma, plazma glukoz seviyesinde yükselme ve balıklarda anemiye neden olduğunu bildirmişlerdir.

Araştırmalar, uzun süreli CYP maruziyetinin kronik ve kalıcı nörotoksik/nörolojik etkilere yol açabileceğini, üreme sürecinin başarısızlığının çoğunlukla düşük, immünosupresyon, teratojenik etkiler, ROS üretimi yoluyla oksidatif stres indüksiyonu ve antioksidan enzimlerin inhibisyonu ile sonuçlandığını göstermiştir (Ullah *et al.* 2016).

Alak *et al.* (2019), gökkuşağı alabalığı (*O. mykiss*) ’nda CYP’nin neden olduğu oksidatif strese karşı N-asetilsisteinin (NAC) terapötik etkisini araştırmışlardır. Sonuçlara göre MDA, MPO, 8-OHdG ve kaspaz-3 seviyelerinin diğer gruplara göre (pestisit ve iyileşme) anlamlı olarak azaldığı ($p<0.05$), AChE, SOD, CAT, GPx, PON ve AR aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir ($p<0.05$). Elde edilen verilere göre, N-asetilsisteinin protein sentezi, detoksifikasyon ve CYP toksisitesine karşı çeşitli metabolik fonksiyonlar üzerindeki olumlu etkisi 1.0 mM NAC’de daha etkili olduğu, tüm veriler açısından balıklar için pestisit kaynaklı nörotoksisite üzerinde önemli terapötik etkiye sahip olduğu, NAC’nin pestisit kaynaklı oksidatif strese karşı antioksidan etkiye sahip olduğu ve seçilen biyokimyasal belirteçlerin bu tür çalışmalar için faydalı olduğu rapor edilmiştir.

Adhikari *et al.* (2004), CYP’nin tatlı su yayın balığı (*Heteropneustes fossilis*) üzerinde oluşturduğu strese karşı diyetle askorbik asit takviyesinin etkinliğini değerlendirmek için statik analizler yapmışlardır. Çalışılan konsantrasyonlarda ($0,3$ ve $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$) 4 saatlik CYP uygulaması sonucunda, plazma glikoz seviyesinde artış ve karaciğer glikojen seviyesinde azalmalar belirlenmiştir. Kan, karaciğer ve böbreğin askorbik asit seviyeleri de kontrole kıyasla CYP’ye maruz kalan *H. fossilis*’te önemli ölçüde azalmıştır. Daha önce 60 gün boyunca yüksek düzeyde askorbik asit (1.0 g/kg^{-1}) ile desteklenmiş bir diyetle beslenen balıklar bu etkileri önemli ölçüde tersine çevirmiştir. Düşük seviyede askorbik asitin ($0,5 \text{ g kg}^{-1}$) CYP stresini inaktive edemediği rapor edilmiştir.

Jindal and Sharma (2019), hint sazanı *C. Catla* ’nın beyinde asetil kolinesteraz (AChE) aktivitesi, histopatolojisi ve ultra yapısı üzerine CYP’nin *in vivo* etkilerini değerlendirmişlerdir. AChE aktivitesinde konsantrasyon ve zamana bağlı inhibisyon meydana geldiğini rapor etmişlerdir.

Mahboub *et al.* (2022), çörek otu (*N. sativa*, NS)’nun diyetlere ilavesinin Nil tilapiyasında bağışıklık tepkisi, karaciğer -böbrek enzimleri ve antioksidan kapasitesi ile gen ekspresyonu üzerindeki koruyucu etkisini araştırmışlar. NS’ nin bağışıklık sistemini uyarmak

için bir nutrasötik olarak bağışıklık-antioksidan durumda, hepato-renal fonksiyonlarda ve gen ekspresyonunda modüle edici bir antibakteriyel ajan olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

Suvetha *et al.* (2010), *C. carpio*'da CYP'nin hiponatremi, hipokalemi ve hipokloremiya yanında solungaçta Na^+/K^+ -ATPase aktivitesinde inhibisyona neden olduğunu bildirmişlerdir. Maruziyet periyodu boyunca plazma Na^+ ve Cl^- düzeyi azalırken, plazma K^+ seviyesi artmış, zamana bağlı olarak solungaç Na^+/K^+ -ATPase aktivitesi azalmıştır. Elde edilen sonuçlarda, CYP'nin, tatlı su balıklarında spesifik iyon konsantrasyonları (Na^+ , K^+ ve Cl^-) ve kandaki iyon seviyeleri açısından toksik olduğu ve solungaçlarda Na^+/K^+ -ATPase aktivitesinin hassas biyobelirteçler olabileceğini rapor etmişlerdir.

Kumar *et al.* (2009), λ -sihalotrin ve CYP'nin *Channa punctatus*'un beyin, kas ve solungaçlarında AChE aktivitesinde dokuya özgü ve doza bağlı olarak azalma sergilediğini bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçlarda, beyin dokusunun her iki insektisit için hedef organ olduğunu, bunu kas ve solungaçların izlediğini rapor etmişlerdir. Mevcut çalışmada sonuçlarında λ -sihalotrin, CYP'ye kıyasla daha güçlü bir AChE inhibitörü olduğu, sodyum iyon kanallarının yerleşik gecikmeli kapanma mekanizmasından ayrı olarak, bu piretroidlerin, nörotoksik etkilerini daha da kötüleştirebilecek olan AChE aktivitesini inhibe ettiğini kaydetmişlerdir.

de Moreas *et al.* (2018), Güney Amerika alabalığı (*Brycon amazonicus*) 'un karaciğer ve solungaçlarında CYP'nin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkisini araştırmışlardır. CYP'nin karaciğerde SOD ve CAT aktivitelerinde artışa, solungaçta ise CAT aktivitesinde inhibisyona, plazma $\text{Na}^+ / \text{Cl}^-$ ve glikoz konsantrasyonları ile Ht, Hb ve RBC seviyelerinde artışa neden olduğu rapor edilmiştir.

CYP maruziyetinin nil tilapiyası (*O. niloticus*) ve sazan balığı (*C. Carpio*) 'da karaciğer dokusunda SOD, CAT ve MDA seviyelerinde artış, GPx aktivitesinde ise *O. niloticus*' ta artış, *C. carpio*' da ise azalışlar belirlemiştir. GPx aktivitesindeki değişikliklerin ise O_2 fazlalığı ile ilişkili olabileceğini bildirmişlerdir (Uner *et al.* 2001).

Tiwari *et al.* (2019) klorpirifos (CPF) ve CYP pestisitlerinin akut toksisitesi kedi balığı (*H. fossilis*) 'nda 96 saat için LC_{50} değerleri sırasıyla 1.90 $\mu\text{mg/L}$ ve 0.085 $\mu\text{mg/L}$ olarak belirlemiştir. Her iki insektisite maruz kalan *H. fossilis* 'lerde AChE aktivitesi beyin, kas ve solungaçlarda test edilmiş ve doza bağlı olduğu kadar dokuya özgü azalmalar her iki pestisit için de belirlenmiştir. Klorpirifos davranış modelinde daha yoğun değişiklikler sergilerken, CYP'den daha güçlü AChE inhibitörü olarak hareket ettiği de rapor edilmiştir.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Araştırma, Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezinde bulunan Toksikoloji Deneme Ünitesi ve Su Ürünleri Fakültesi Laboratuvarlarında yürütülmüştür.

Balık materyali

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi İçsu Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen öncesinde herhangi bir enfeksiyon ya da toksisiteye maruz kalmamış 65 ± 3 g ağırlığında 144 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*, Şekil 4) Su Ürünleri Fakültesi Toksikoloji Araştırma Ünitesinde bulunan deneme ünitesine alındı. İki tekerrür olarak kurgulanan çalışmada uygulama ve kontrol grubu için 12 akvaryum kullanıldı.



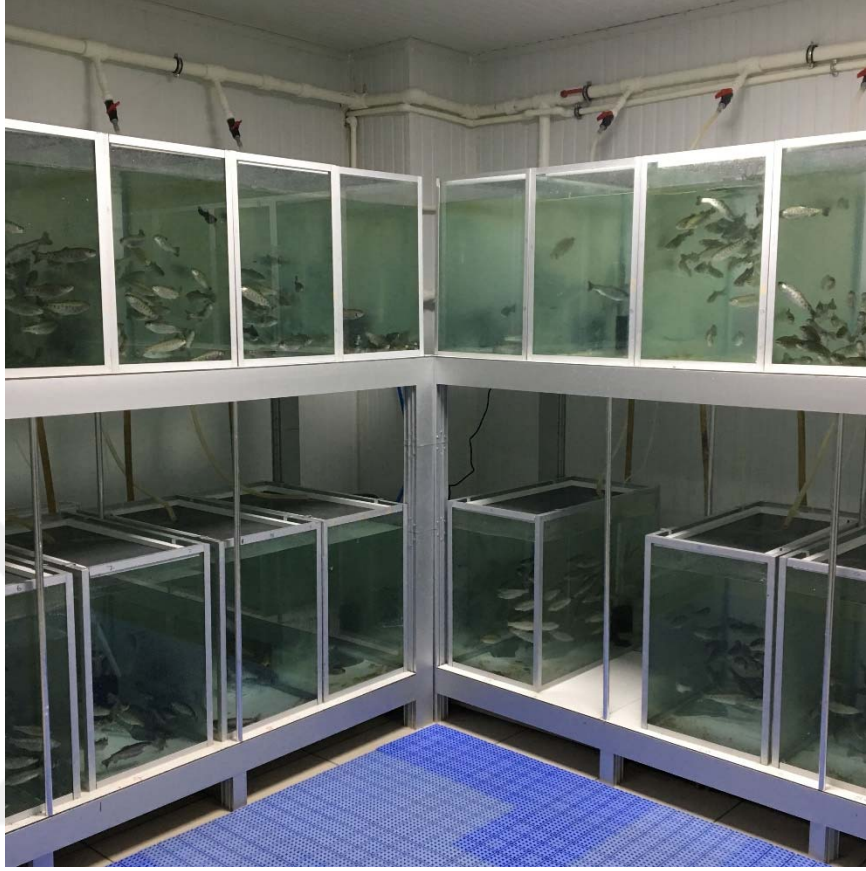
Şekil 4. Denemenin canlı materyali gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Su materyali

Araştırmada Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Üretim ve Araştırma Merkezindeki mevcut şehir şebekesinden gelen su kullanılmıştır. Araştırma boyunca suyun fizikokimyasal özellikleri günde iki kez ölçülmüş; pH 7.0, çözülmüş oksijen 8-9 mg/L, sıcaklık 10.5 ± 0.5 °C ve toplam sertlik 220 mg/L olarak belirlenmiştir.

Araştırma ünitesi

Su girişleri kontrollü olan deneme ünitesinde, tahliye suları kimyasal içeren atık suya göre dizayn edilmiştir (Şekil 5).



Şekil 5. Araştırma ünitesi

Sipermetrin (CYP) ve çörek otu yağı (NS)

Çalışmada kullanılan sipermetrin (Koruma Tarım) ve çörek otu yağı (Zade Vital) ticari firmalardan temin edilmiştir. Denemede kullanılan pestisit konsantrasyonu (2.05×10^{-3} mg/L Atamanalp *et al.* 2002; Atamanalp *et al.* 2021) referans alınarak 2 µl olarak, çörek otu yağı ise (gökkuşuğu alabalığında olumlu etki gösterdiği rapor edilen %1,5 oranı dikkate alınarak %2,5 ve %5 olarak) (Awad *et al.* 2013) referans alınarak belirlenmiştir.

Metot

Deney balıklarının bakım ve beslenmesi

Denemeye alınan balıklar aklımasyon sürecinde (14 gün) pelet yem ile canlı ağırlığının %2'si oranında günde 2 kez olacak şekilde beslenmiştir. Akvaryumlar her gün tahliye borusu yardımıyla sifonlanarak yem ve dışkı atıklarının ortamdan uzaklaştırılması sağlanmıştır (Bricknell *et al.* 1999).

Deneme dizaynı

Çalışmada toplam 6 grup [kontrol grubu (uygulama olmayan), A grubu (2 µL sipermetrin), B grubu (2 µL sipermetrin + %2,5 çörek otu yağı), C grubu (2 µL sipermetrin + %5 çörek otu yağı), D grubu (%2,5 çörek otu yağı) ve E grubu (%5 çörek otu yağı)] oluşturulmuş her grupta 12 adet balık olacak şekilde rastgele dağıtım yapılmıştır.

Ticari alabalık ekstrüde yemleri öğütülmüş ardından çörek otu yağı ve sipermetrinin belirlenen konsantrasyonları (tekli ve birlikte olacak şekilde, Tablo 1) yavaş yavaş karıştırılarak rasyonlara eklenmiştir. Diyetler, dondurularak kurutulduktan sonra laboratuvar peletleme makinesi ile hazırlanmıştır. Diyetler yaklaşık 0,7-2 mm boyutunda ezilerek, kullanılıncaya kadar -20°C'de tutulmuştur. Kontrol yemleri ise aynı prosedürle hazırlanmış ancak bitkisel yağ ve CYP takviyesi yapılmamıştır (Arslan *et al.* 2012; Sönmez *et al.* 2015). Balıklar 14 gün boyunca ad libitum olarak günde iki kez yemlenmiştir. Deneme sonunda yüzme performansı, hematoloji ve oksidatif stres yanıtı değerlendirilmesi için örneklenmiştir.

Tablo 1. Deneme dizaynı

Kontrol	-	-
CYP	2 µL CYP	
CYP+NS %2,5	2 µL CYP	%2,5 NS
CYP+NS %5	2 µL CYP	%5 NS
NS %2,5	-	%2,5 NS
NS %5	-	%5 NS

Yüzme performansının belirlenmesi

Deneme süresi sonunda kontrol ve uygulama gruplarında yüzme performansı testleri yapılmıştır. Yüzme performansı değerlendirme sistemi Şekil 6' da gösterilmiştir.



Şekil 6. Yüzme performansı sistemi

Kritik yüzme hızı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Yeğin and Uçar 2017).

$$U_{crit} = U_i + (T_i / T_{ii}) U_{ii}$$

U_{crit} =Kritik yüzme hızı (cm/sn veya bl/sn)

U_i = Belirlenen zaman aralığının tamamında sürdürülebilen hız (cm/sn)

U_{ii} =Balığın yorgun düştüğü hız (cm/sn)

T_i =Balığın yorgun düştüğü hızda yüzebildiği süre (sn)

T_{ii} =Kritik yüzme hızı için belirlenen süre (30 dk)

Hematoloji analizleri

Deneme periyodu sonunda kontrol ve uygulama gruplarından örneklenen balıkların kuyruk yüzgecinden şırınga ile girilerek kaudal venadan kan alınmış ve hematolojik analizler yürütülmüştür (Şekil 7).



Şekil 7. Balıklardan kan örneklerinin alınması

Hematolojik parametreler kapsamında; eritrosit sayısı (RBC), lökosit sayısı (WBC), trombosit sayısı (Plt), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin miktarı (MCHC) parametreleri otomatik hematoloji analiz cihazı (PE-6800, Shenzen) kullanılarak tam kanda analiz edilmiştir. Lökosit sayıları, Tavares-Dias and Moraes'e (2006) göre hematoksilen (H) ve eozin (E) ile boğyanmış kan yaymaları kullanılarak ölçülmüştür. Tüm kan örnekleri aynı operatör tarafından üç tekrar halinde analiz edilmiştir. Otomatik yöntemin güvenilirliğini doğrulamak için tüm numunelerde manuel hematolojik analiz de yapılmıştır (Uçar *et al.* 2021).

Enzim analizleri

Homojenat hazırlama: Besleme denemesi sonunda kontrol ve uygulama gruplarından disekte edilen dokular (beyin, karaciğer ve solungaç) örnek ağırlığının 3 katı kadar fosfat tamponu ile optimum süre ve hız limitinde (doku tipi dikkate alınarak) homojenize edilmiş (Triton-X 100 yardımıyla) ardından 13000 rpm de doku bazlı olarak 15-30 dk arasında 4 °C de santrifüjlenmiştir. Elde edilen süpernatantlar enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmak üzere -20 °C'de depolanmıştır (Alak *et al.* 2013). AChE aktivitesi ise sadece beyin dokusunda belirlenmiştir. Homojenatların protein içerikleri Bradford (1976) standart olarak sığır serum albümini kullanarak 595 nm'de belirlenmiştir.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, süperoksit radikalının (O_2^-) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene (O_2) dönüşmesini katalizleyen aktivitede beyin, solungaç ve karaciğer homojenatlarında süperoksit radikali tarafından sitokrom C azalma hızının inhibisyonu belirlenmiştir (Sun *et al.* 1988). Ksantin-ksantin oksidaz sistemi, sırasıyla 560 ve 450 nm'de nitro blue tetrazolium (NBT) veya WST-1'i karşılık gelen formazan absorpsiyonlarına indirgeyen O_2^- üretir. SOD varlığında, süperoksit radikali O_2^- , formazan oluşumunu azaltan O_2 ve H_2O_2 'ye bir dismutasyona uğrar. Dolayısıyla, bu rekabet SOD aktivitesinin dolaylı ölçümüne yol açar (Şekil 2).

Catalaz (CAT) aktivitesi, H_2O_2 yıkımının spektrofotometrik yöntemle 240 nm de ölçümü esasına göre belirlenmiştir. Bu yöntem 240 nm'de absorbans azalmasından H_2O_2 ayrışmasının izlenmesi prensibine dayanmaktadır (Aebi 1974).

Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi, nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) t-bütil varlığında oksidasyonunun 340 nm'de gösterdiği düşüşler dikkate alınarak belirlenmiştir (Beutler 1984).

Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi, nörotoksisite biyomarkırı olarak kullanılan bu enzimin aktivitesi yalnızca beyin dokusunda takip edilmiştir. Tiokolin, oksitleyici bir madde olan 5,5-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) ile reaksiyona girerek biri 5-tiyo 2-nitrobenzoik asit veya 412 nm'de UV radyasyonunu emen nitrobenzoat olan iki ürün oluşturur. Bu prensipten hareketle enzimin aktivitesi, 412 nm'de absorbanstaki artışı takip ederek belirlenmiştir (Ellman *et al.* 1961).

Malondialdehit (MDA) seviyesi, doku lipid peroksidasyon seviyeleri Luo *et al.* (2016) 'e göre MDA'nın tiobarbütirik asit ile (TBA) ile 95°C'de inkübasyondan sonra ölçülmüştür. Bu reaksiyonlarla üretilen pembe renk, 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

İstatistik analizler

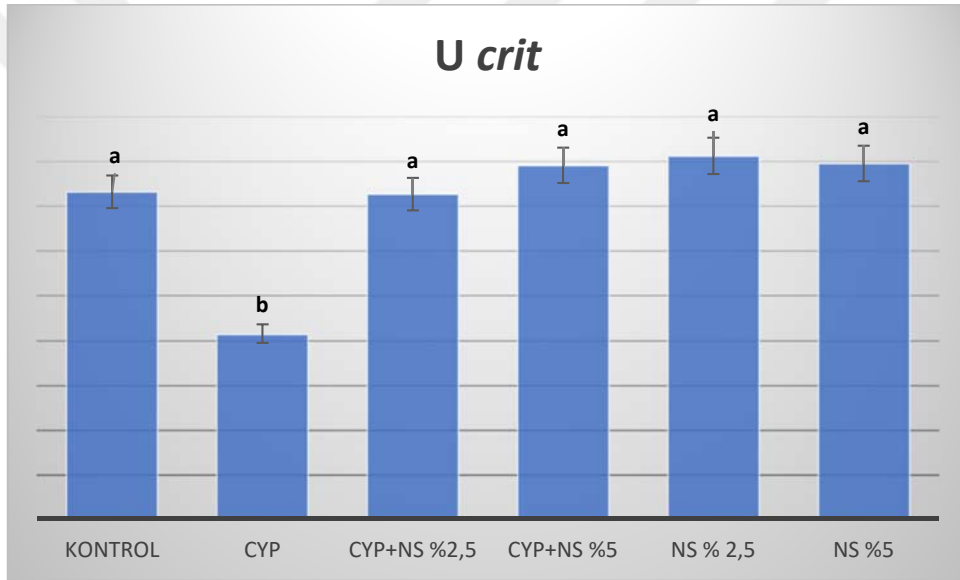
Deneme süresi sonunda elde edilen bulguların yorumlanmasını sağlamak adına veriler SPSS v25 paket programı ile öncelikle normal dağılım testine tabi tutulmuş ve normal dağılım gösteren verilere varyans analiz testi yapılmıştır. İstatistiki olarak 0.05 önemlilik seviyesinde anlam düzeyi belirlenerek önemli düzeyde farklı çıkan uygulamalar için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır (Alak *et al.* 2017).



ARAŞTIRMA BULGULARI

Yüzme Performansı Sonuçları

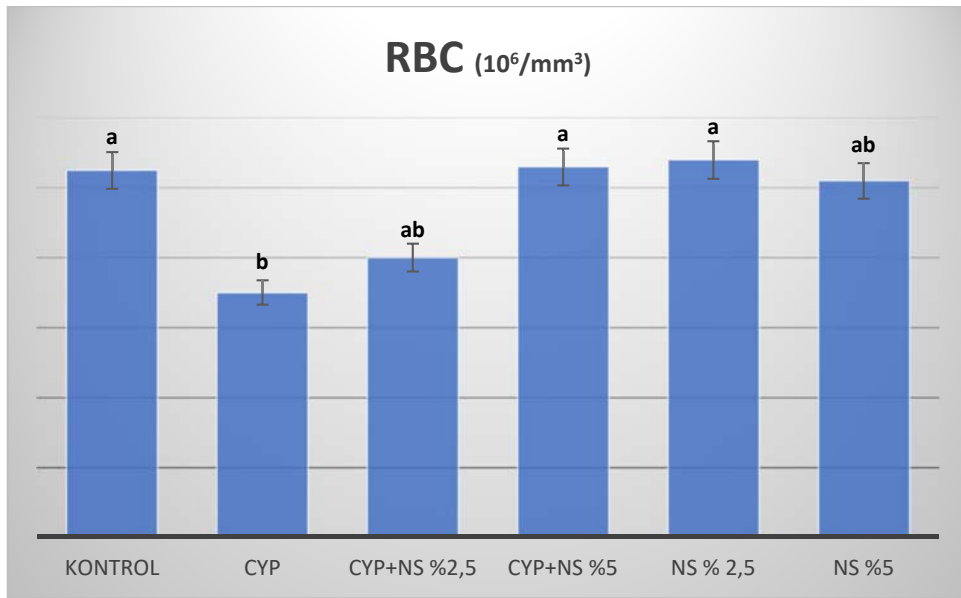
Mevcut çalışmada, yüzme performansı ile ilgili veriler incelendiğinde CYP uygulamasının *O. mykiss*'in U_{crit} değerinde kontrol grubuna göre önemli oranda düşüş gösterdiği belirlenmiştir. CYP+%2,5 NS grubunda kontrol grubuna yakın bir U_{crit} değeri belirlenirken CYP+%5 NS grubunda daha aktif bir yüzme performansı ortaya çıkmıştır. Buna ilaveten %2,5 NS uygulanan grupta en aktif yüzmenin olduğu ve %5'lik grupta kontrolden daha yüksek bir aktivite oluşturduğu belirlenmiştir (Şekil 8).



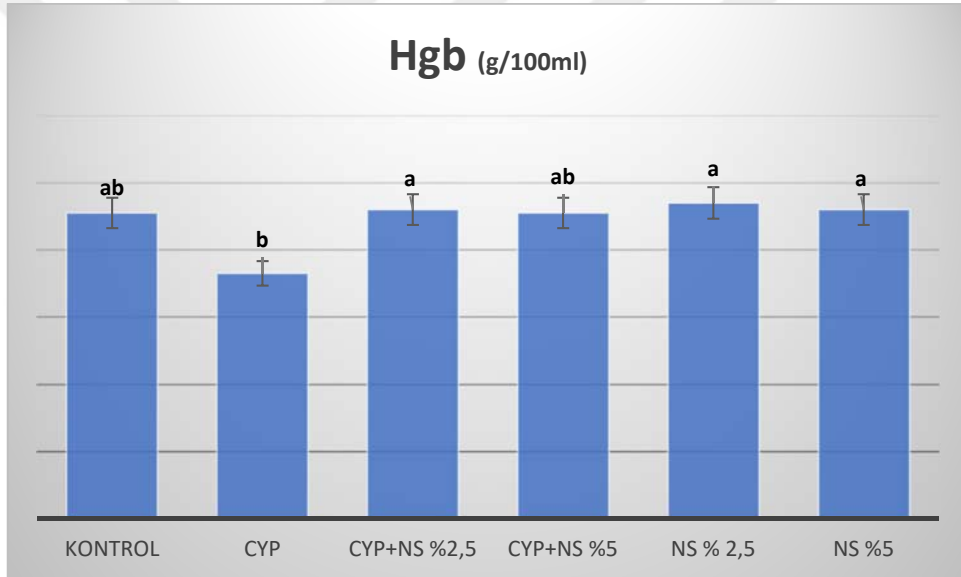
Şekil 8. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in yüzme performansı üzerine etkisi

Hematoloji Analizleri Sonuçları

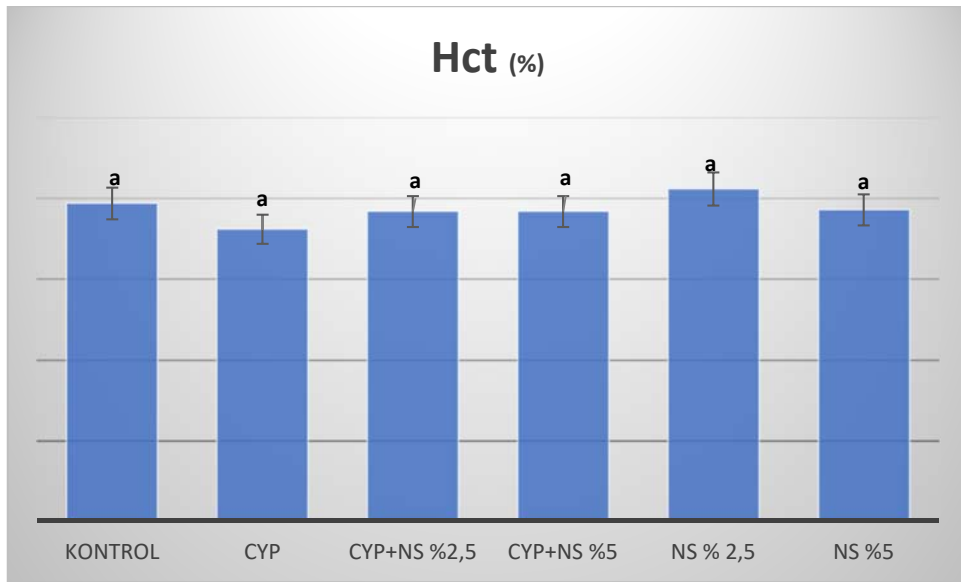
O. mykiss'in kan dokusunda incelenen hematoloji parametrelerinden RBC, Hgb ve Hct değerlerinde oluşan değişimlerin istatistik olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Verilerimiz, uygulanan CYP'nin *O. mykiss*'in hematopoetik dokuda eritrosit ve ona bağlı parametrelerde toksisite oluşturduğunu ve bu doğrultuda NS'nin potansiyel terapötik etkisini aktive ettiğini göstermektedir (Şekil 9, 10, 11).



Şekil 9. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in RBC sayısı üzerine etkisi

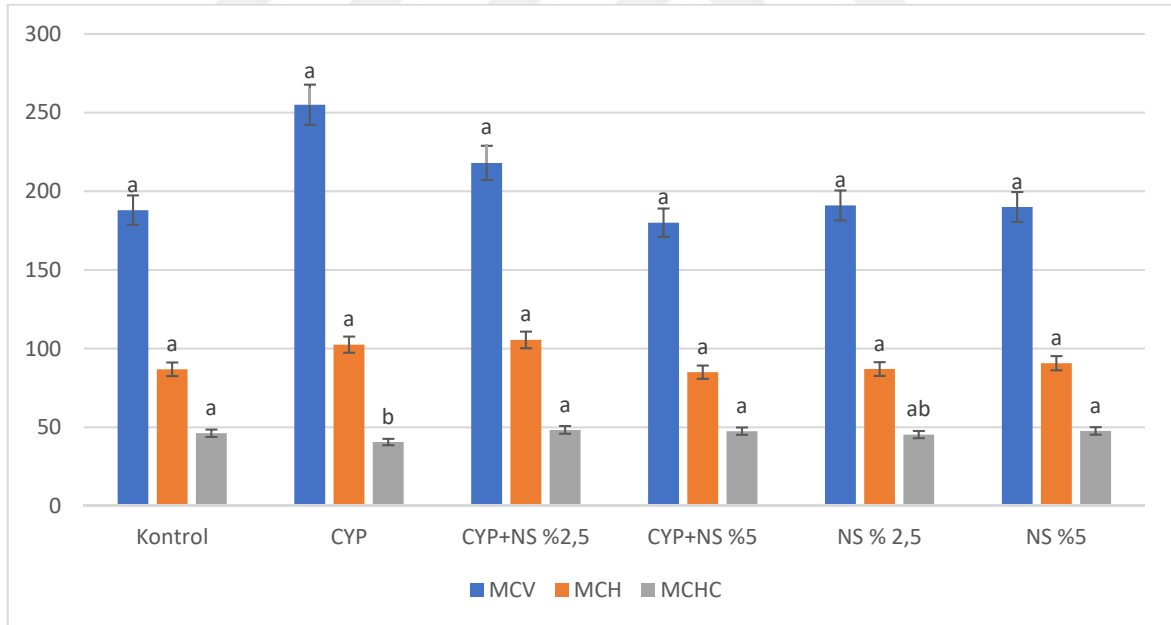


Şekil 10. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in Hgb düzeyine etkisi



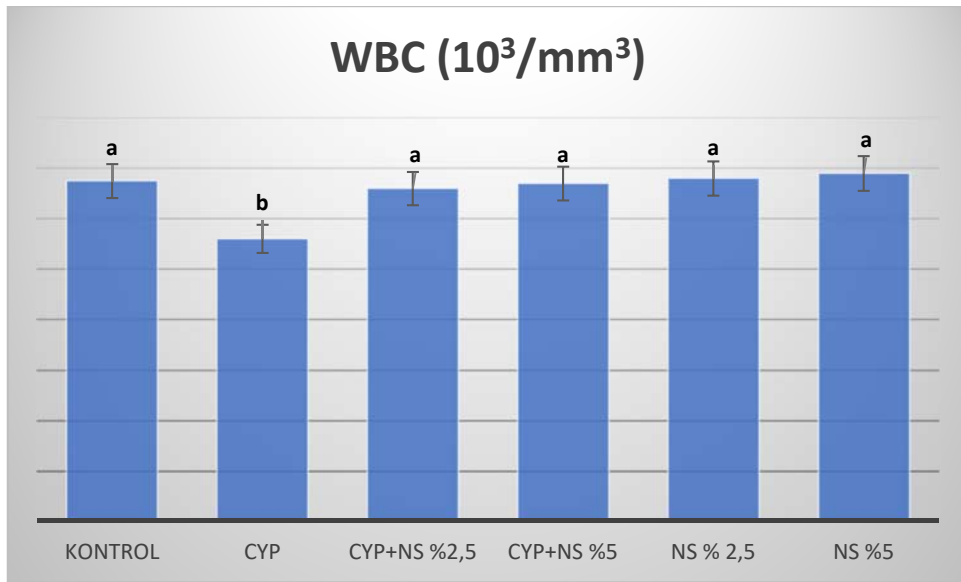
Şekil 11. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in Hct üzerine etkisi

RBC ile ilişkili olan MCHC değerinde ortaya çıkan değişimler önemli ($p<0.05$) olmasına rağmen, MCV ve MCH değerlerinde önemli değişimler belirlenmemiştir. CYP ile birlikte uygulanan NS'nin ortamda iyileştirici unsuru olarak denge oluşturmaya çalıştığı tespit edilmiştir (Şekil 12).

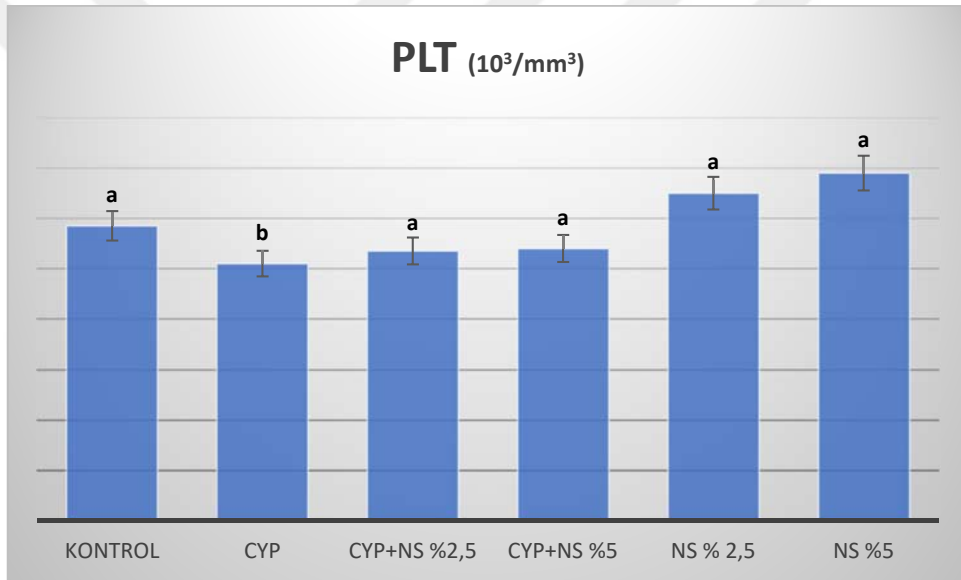


Şekil 12. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in MCV, MCH ve MCHC üzerine etkisi

WBC değerinin CYP uygulaması ile inhibe olduğu ve NS'nin WBC üzerinde olumlu katkıda bulunmaya çalıştığı Şekil 13'de gösterilmiştir. PLT değerleri dikkate alındığında CYP'nin tek veya NS ile birlikte uygulamasının kontrol grubuna göre inhibisyon oluşturduğu ve bu durumun istatistik açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Farklı oranlarda ilave edilen NS'nin kontrol grubuna göre PLT sayısını artırdığı Şekil 14'de gösterilmiştir.



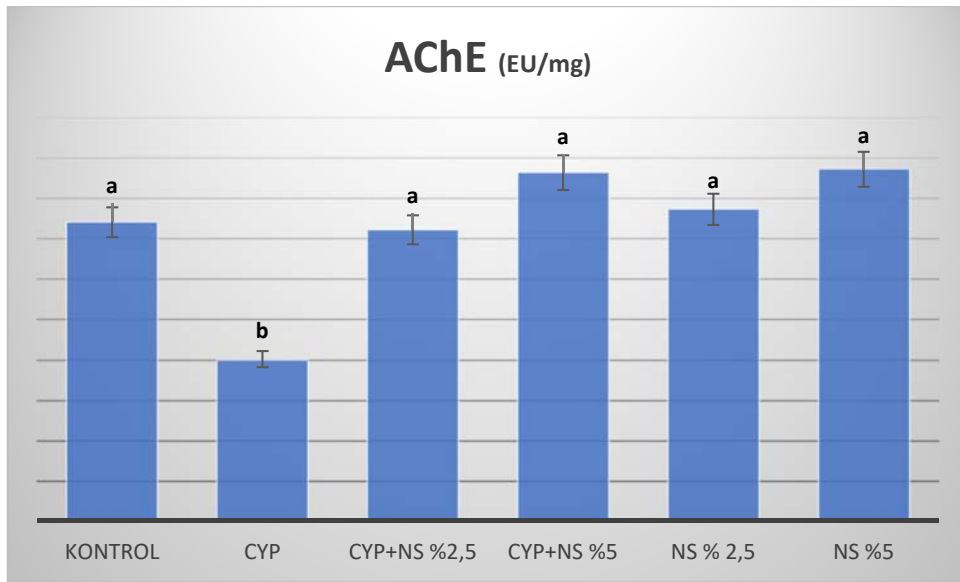
Şekil 13. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in WBC üzerine etkisi



Şekil 14. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in PLT üzerine etkisi

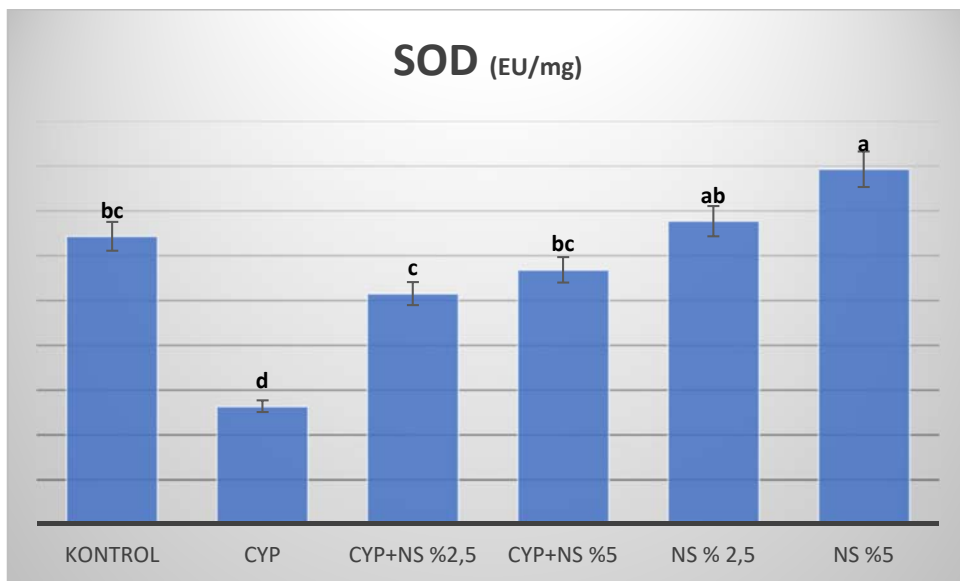
Beyin Dokusu Enzim Analizi Sonuçları

O. mykiss'in beyin dokusunda AChE aktivitesinin CYP uygulanan grupta istatistik açıdan anlamlı bir inhibisyona uğradığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). AChE aktivitesinde NS nin tek ve/veya CYP ile birlikte uygulandığı gruplarda doza bağlı olarak değişimler belirlenmiş ve bu değişimler kontrol grubuna benzer seviyede ortaya çıkmıştır (Şekil 15). Sonuçlar değerlendirildiğinde beyin dokusunda AChE'nin kontrol grubuna göre CYP uygulanan grupta düşüş gösterdiği, ancak NS uygulamasının (tek ve/veya CYP) indüksiyonu tersine çevirerek bir stimulant olarak görev yaptığı söylenebilir. AChE için yapılan analizler istatistik açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$)

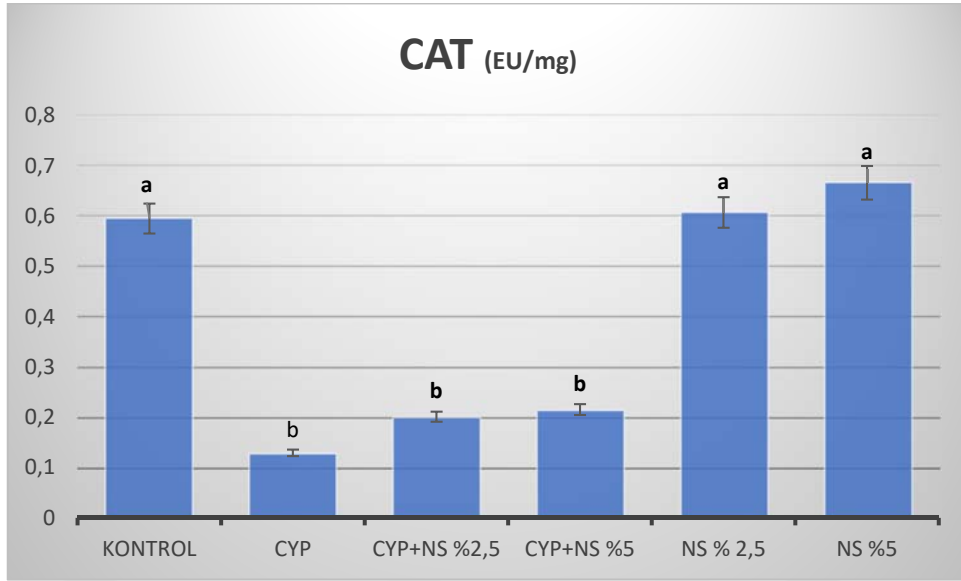


Şekil 15. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in beyin dokusu AChE aktivitesi üzerine etkisi

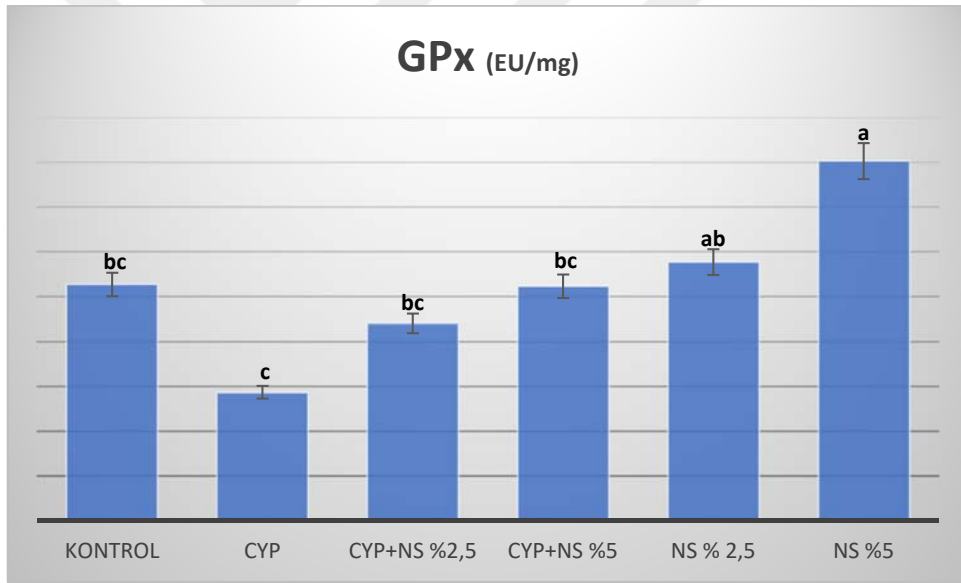
O. mykiss'in beyin dokusunda oksidatif stres ve antioksidan enzim verileri incelendiğinde CYP uygulamasının oksidatif stres yönünde artış gösterdiği ve bu doğrultuda antioksidanların aktivitesini engelleyerek hücrelerin dengesini bozduğu elde edilen bulgularla anlaşılmıştır. SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerinde CYP uygulaması ile inhibisyonlar olduğu ve istatistik açıdan önemli olduğu ($p<0.05$) Şekil 16-18' de gösterilmiştir. Oksidatif stres göstergelerinden MDA seviyesinde artışlar belirlenmiş ve istatistik açıdan anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Şekil 19). CYP uygulaması ile kontrol grubuna göre önemli derecede inhibisyon olurken, ortama ilave edilen NS'nin bu artışı baskılamaya çalıştığı belirlenmiştir ($p<0.05$).



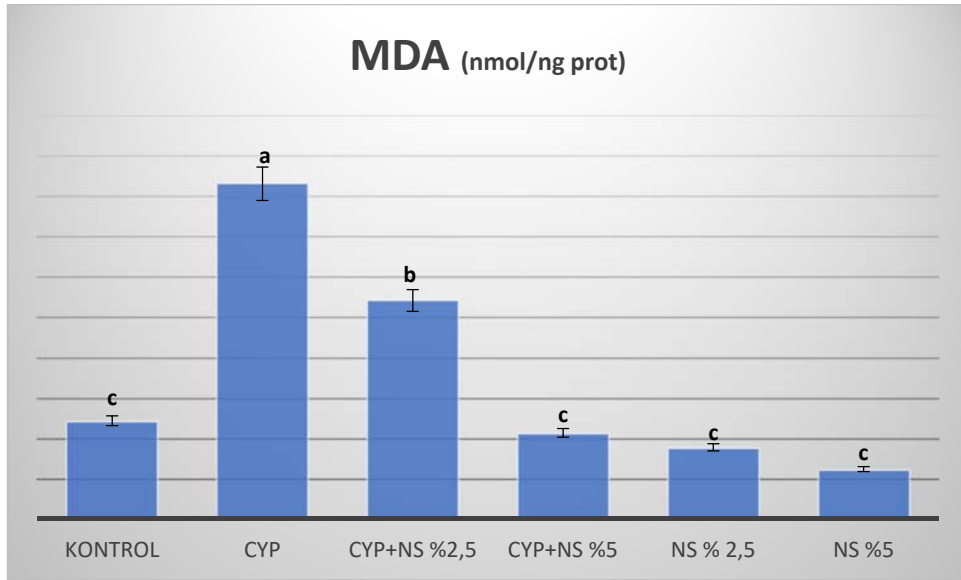
Şekil 16. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in *O. mykiss* beyin dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 17. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in *O. mykiss* beyin dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi



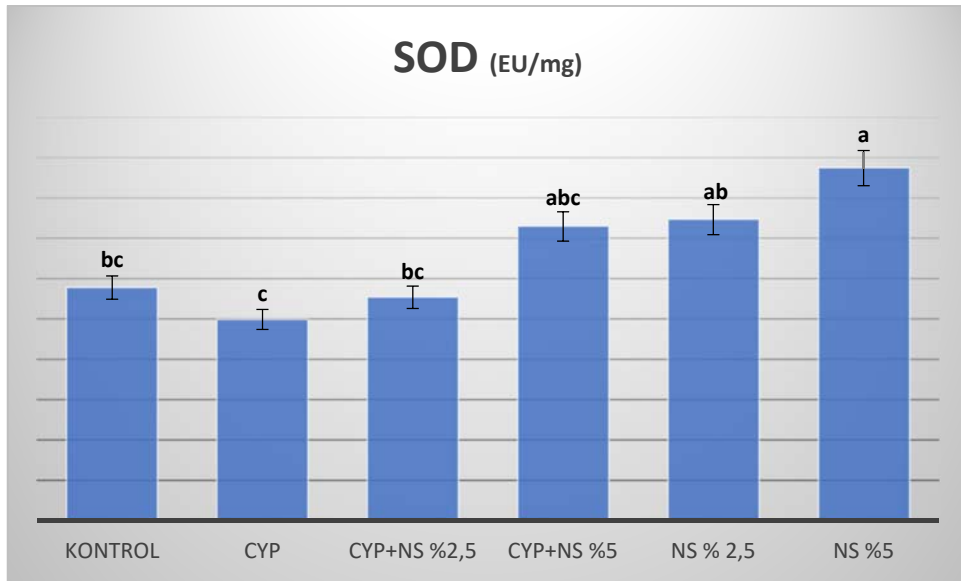
Şekil 18. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in *O. mykiss* beyin dokusu GPx aktivitesi üzerine etkisi



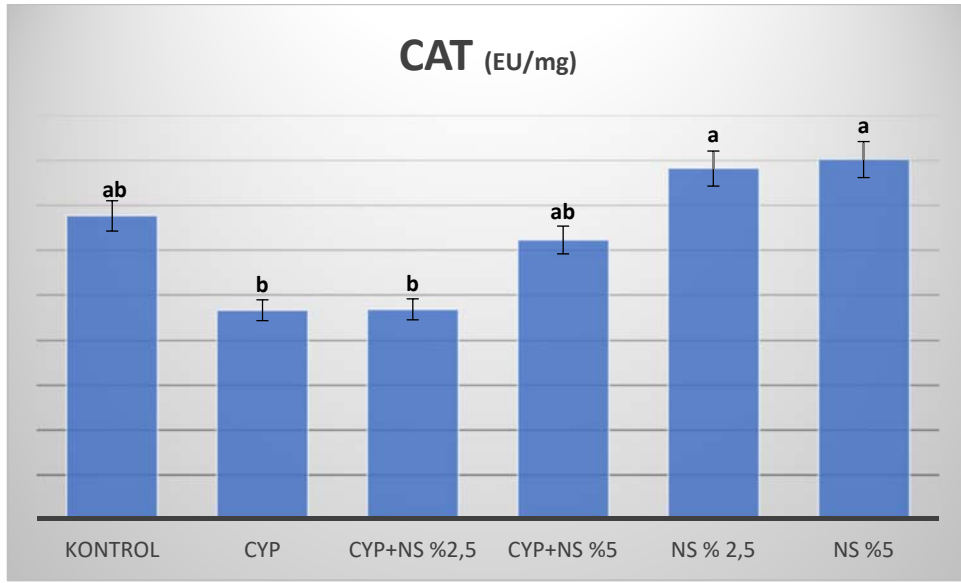
Şekil 19. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in *O. mykiss* beyin dokusu MDA seviyesi üzerine etkisi

Solungaç Dokusu Enzim Analiz Sonuçları

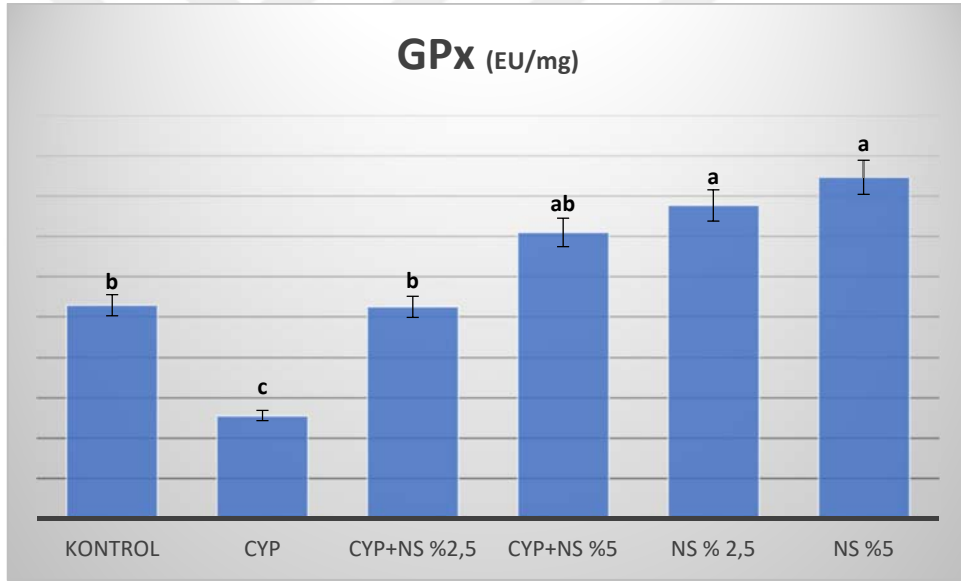
Gökkuşığı alabalığına uygulanan CYP'nin akut toksisitesi solungaç dokusunda antioksidan enzim biyomarkırları ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda; SOD, CAT, GPx, aktivitelerinde kontrol grubuna göre inhibisyonlar belirlenirken, MDA değerinde indüklenme meydana gelmiştir (Şekil 20, 21, 22). Bu sonuçlar istatistiki açıdan önemli olarak değerlendirilmiştir ($p < 0.05$). Ortama ilave edilen farklı oranlardaki (%2,5- %5) NS'nin antioksidan denge üzerinde olumlu etki gösterdiği ve MDA'nın CYP ile yükselişini inhibe etmeye çalıştığı belirlenmiştir (Şekil 23).



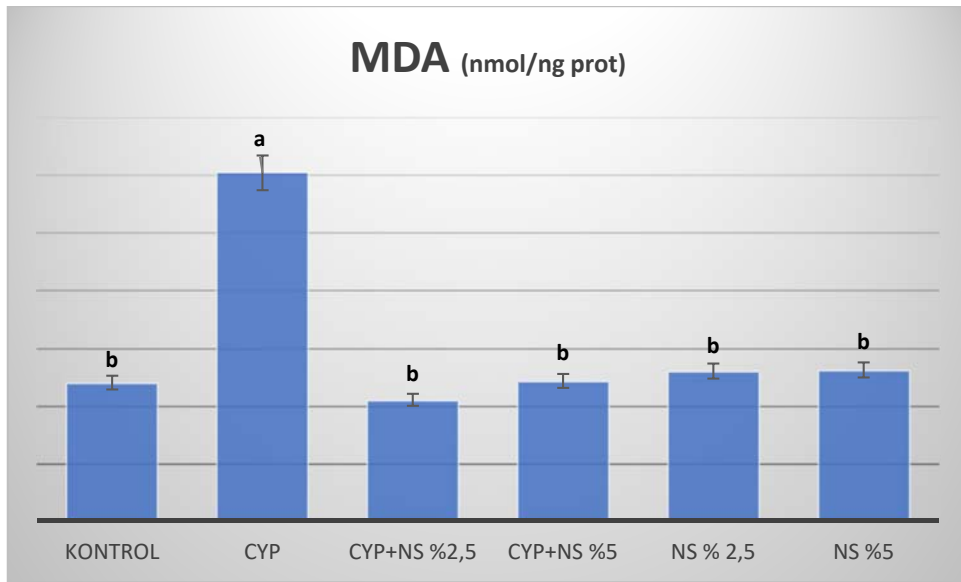
Şekil 20. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in solungaç dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 21. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in solungaç dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi



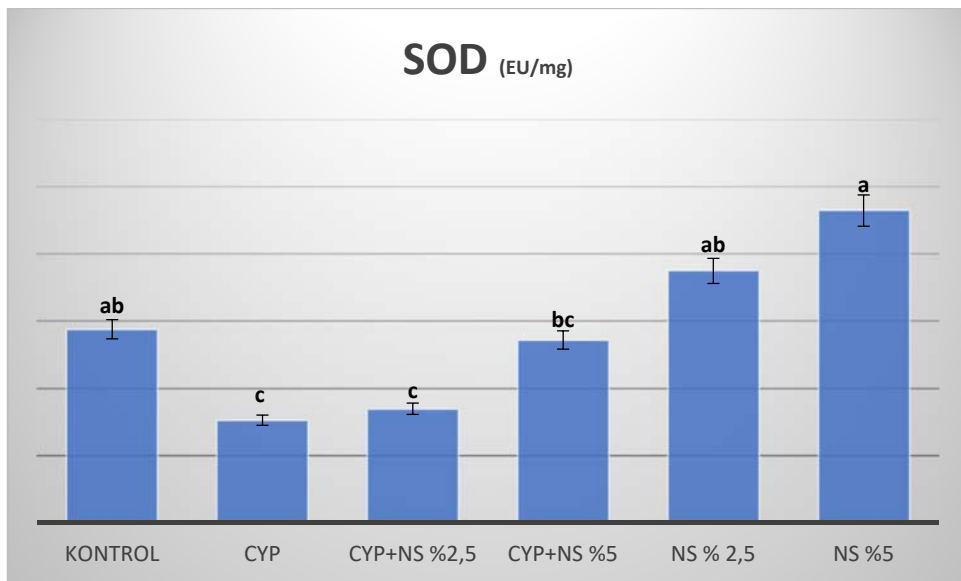
Şekil 22. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in solungaç dokusu GPx aktivitesi üzerine etkisi



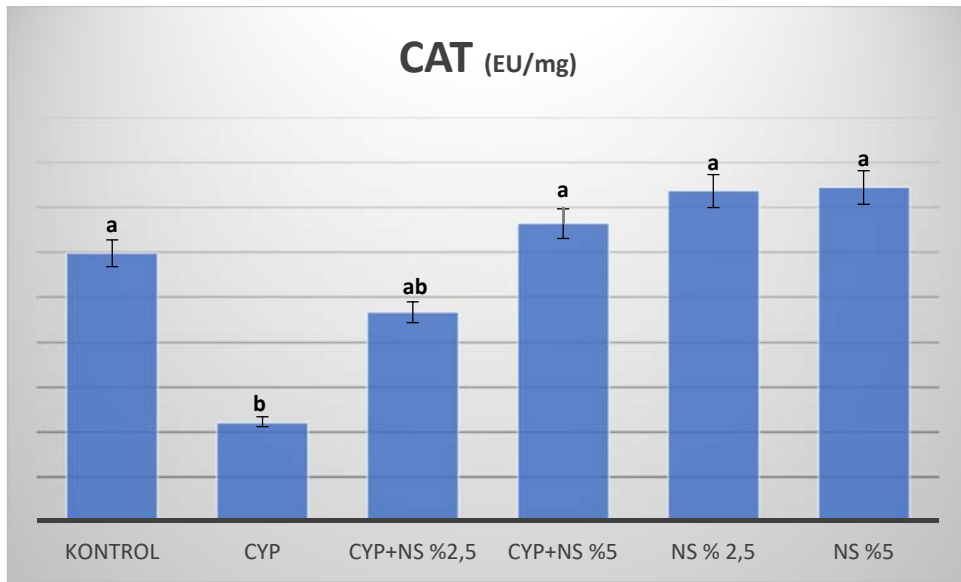
Şekil 23. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in solungaç dokusu MDA seviyesi üzerine etkisi

Karaciğer Dokusu Oksidatif Stres Bulguları

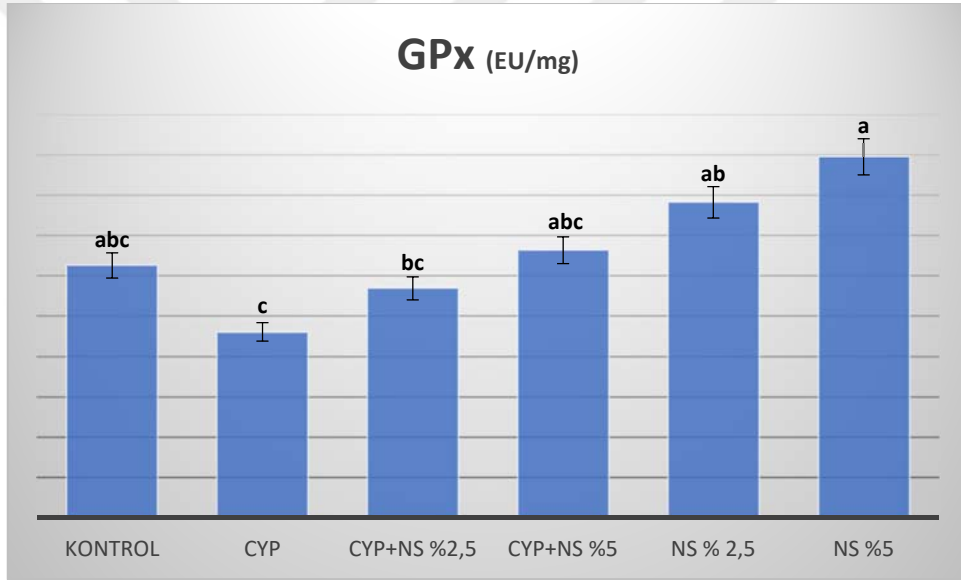
CYP uygulaması sonucunda kontrol grubu ile uygulama grupları karşılaştırıldığında karaciğer dokusunda antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx) aktivitelerinin önemli ölçüde inhibisyona uğradığı kaydedilmiştir. Karaciğer dokusundaki antioksidan enzim aktivitelerinin, CYP maruziyeti sonrasında aşırı üretilen ROS'u ortadan kaldırmak için yeterli olmadığı MDA seviyesinin artışıyla desteklenmiştir. Ortama ilave edilen NS'nin ise antioksidanlar lehine aktivite gösterdiği ve MDA seviyesini inhibe etmeye çalıştığı belirlenmiştir (Şekil 24, 25, 26, 27). Karaciğer dokusunda antioksidan durum için ortaya çıkan değişimler istatistik açıdan önemli olarak belirlenmiştir ($p < 0.05$).



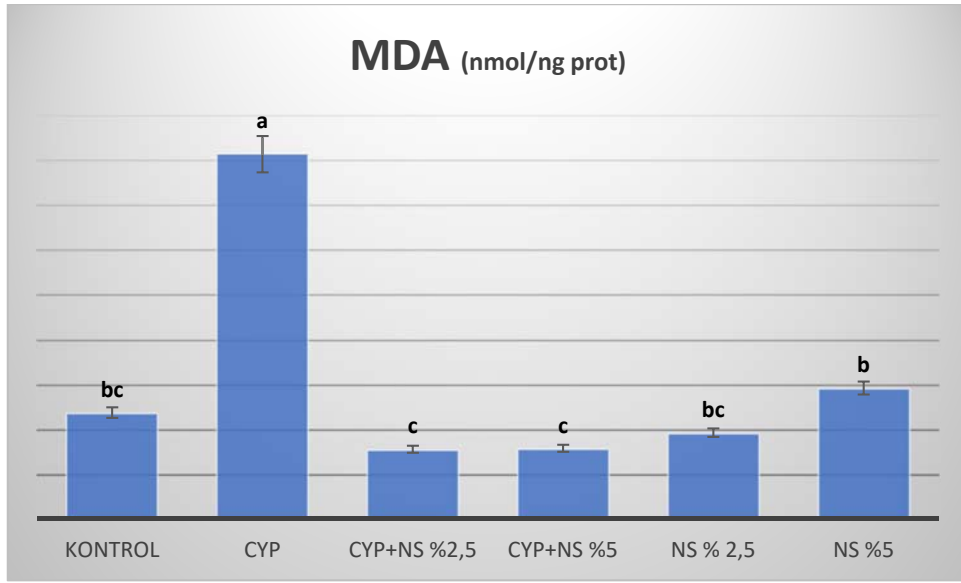
Şekil 24. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in karaciğer dokusu SOD aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 25. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in karaciğer dokusu CAT aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 26. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in karaciğer dokusu GPx aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 27. CYP ve/veya NS uygulamasının *O. mykiss*'in karaciğer dokusu MDA seviyesi üzerine etkisi

TARTIŞMA

Pestisitler, tarımsal ürünlerde miktar ve kalite yükseltmek için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Kullanımları daha yüksek verimle sonuçlansa da çevre, hayvan ve insan sağlığına yönelik tehditler oluşturmaktadır. Bu tehditler hedef dışı organizmalarda fizyolojik, davranış, metabolik vb. açılardan büyük olumsuzluklara neden olmaktadır. Özellikle balıklarda oksidatif strese bağlı vücut fonksiyonlarını değiştirerek, nörotoksisite, hematotoksisite, endokrin sistemlerin bozulması, gelişimsel toksisite, immünotoksisite ve genotoksisiteyi indükleyerek hayatta kalmasında / büyümesinde toksik etkilere yol açtığı rapor edilmiştir (Ullah *et al.* 2018). Bu anlamda sucül model organizmalar ile elde edilen bilgilerden yararlanmak büyük avantaj sağlamaktadır. Balık modelleri hem nörotoksisitede hem de ekotoksikolojik çalışmalarda, ilgili toksisite mekanizmalarını dikkate alan araştırmalarda toksikolojik yolların açıklanmasında etkin olarak kullanılmaktadır.

CYP'nin Yüzme Performansı Üzerindeki Etkisi ve NS ile Modülasyonu

Lipid metabolizması ve yağ asidi oksidasyonu, balıklar için sürdürülebilir enerji kaynağı sağlamada özellikle üreme ve yüzme gibi enerji gerektiren işlevler sırasında oldukça önemlidir (Watanabe 1982). Gökkuşluğu alabalığı (*O. mykiss*) gibi yüksek kritik yüzme (U_{crit}) hızına sahip balıklarda lipid metabolizmasında rol oynayan mitokondriyal enzimlerin yüksek aktiviteleri lipid metabolizmasının yüzme performansı ile pozitif interaksiyonunda önemlidir (Farrell 1991). Mevcut çalışmada, yüzme performansı ile ilgili veriler incelendiğinde *O. mykiss*'in CYP uygulaması sonucunda U_{crit} değerinin kontrol grubuna göre önemli oranda düşüş gösterdiği belirlenmiştir. CYP+%2,5 NS grubunda kontrol grubuna yakın bir U_{crit} değeri belirlenirken CYP+%5 grubunda daha aktif bir yüzme performansı ortaya çıkmıştır. NS'nin farklı oranlarda uygulandığı gruplardan %2,5 NS uygulanan grupta en aktif yüzmenin olduğu ve %5'lik grupta kontrolden daha yüksek bir aktivite oluşturduğu belirlenmiştir. Bilinen bir durum olarak piretroidlere maruz kalma, dopamin taşıyıcı aktivitesini aşağı regüle ederek düzensiz davranışlara neden olmaktadır (Ullah *et al.* 2019). Balıklarda piretroid pestisitler tarafından oksidatif stres indüksiyon mekanizması, balık hücre hatlarında daha fazla araştırma gerektirir. Bu, sinyal yollarındaki değişiklikler, hücresel organellerin bozulması ve mikrotübüllerde hasar gibi piretroid pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres tarafından kontrol edilen çeşitli fizyolojik olaylara dayanan sitotoksik mekanizmaların belirlenmesine yardımcı olabilir.

Sonuçlarımıza paralel olarak permetrine maruz kalan gökkuşuğu alabalıklarında yüzme performansının azaldığı belirtilmiştir (Kumaraguru and Beamish 1983). Sandoval-Herrera *et al.* (2019), ChE aktivitesi ve reaksiyon süresi arasındaki ilişkinin, pestisit kaynaklı ChE inhibisyonunun balıklarda kaçış kabiliyetini azalttığını, çok düşük konsantrasyonlarda kısa süreli maruziyetlerde bile bu etkinin görülebileceğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda CYP'nin davranış değişikliklerine neden olmasında beyin dokusunda kan-beyin bariyerini geçerek nörotoksisite oluşturması etkili olmuştur (Akhtar *et al.* 2021). Bu durum AChE enzim aktivitesindeki inhibisyonlarla da ortaya konulmuştur. Ayrıca, çalışmamızda CYP uygulaması sonucunda yüzme performansındaki düşüş; CYP'nin nörotoksisiteyi indüklediğini ve GABA reseptörlerinde, klor, potasyum ve kalsiyum kanalları, glutamat (uyarıcı nöro-verici) işlevi, asetilkolin reseptörleri ve adenosin trifosfat düzeylerini modüle etmesiyle nöronal hücrelerde DNA hasarlarının oluşumuyla oksidatif strese neden olduğu yönünde yorumlanabilir (Yaji *et al.* 2021). Benzer şekilde kirleticiler balığın fizyolojik mekanizmasını farklılaştırarak yüzme kabiliyetinin azalmasına neden olmaktadır. Farklı maddelere akut maruz kalma sonucunda solungaçlar zarar gördüğünden dolayı solunumun etkilendiği oksijen ve iyon dengesine bağlı olarak ta kritik yüzme hızının azaldığı rapor edilmiştir (Yegin ve Uçar 2017). Çalışmamızda solungaç dokusuna ait oksidatif stres cevabı verileri balıkların yüzme performansı ile ilgili bulguları desteklemektedir. Bunun yanı sıra farklı araştırmalarda CYP'nin biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Parma *et al.* 2007; Fırat *et al.* 2011; Poletta *et al.* 2013).

CYP'nin Hematotoksisite Fonksiyonu Üzerindeki Etkisi ve NS ile Modülasyonu

Hematolojik ve biyokimyasal çalışmalar, toksik maddelerin etki mekanizmasının tahmini ve teşhisi için kullanılabilir. Bu parametrelerdeki değişiklikler, canlılarda özellikle kan ve kan oluşturan organlar üzerinde toksik stres gösterir. Kan biyokimyasal parametrelerindeki değişiklikler, karaciğer ve diğer dokulardaki anormalliklerin tespiti için önemli bir tanı aracı olarak kullanılabilir (Uçar *et al.* 2020; Uçar *et al.* 2021).

Eritrosit (RBC), hematokrit (Ht), hemoglobin (Hb), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) dahil olmak üzere balıktaki hematolojik indeksler içsel ve dışsal faktörlerden etkilenebilir. Toksikoloji çalışmaları, farklı insektisitlerin böbrek ve dalak gibi eritropoietik doku üzerindeki yıkıcı etkisinin, anemik bir işaret olarak eritrosit sayısını ve hemoglobin içeriğini azaltabileceğini ve hatta balıkların ölümüne yol açabileceğini göstermektedir. Mevcut araştırmada CYP uygulaması eritrosit sayısı ve hemoglobin değerinde düşümlere yol açmıştır. Bu durum anemi veya şiddetli kanamanın olduğunu gösterir. Anemi, aşırı kanama, diyet

eksikliği veya transfüzyon reaksiyonu nedeniyle hücrelerin yok edilmesi veya hemoglobinin oluşumundaki anormallik gibi eritrositlerin sayısını veya boyutunu azaltan durumlardan kaynaklanır. Hematolojik parametrelerdeki değişiklikler hemosentez veya eritropoezin inhibisyonuna, tahrip olmasına, hipoksiye bağlı olarak az sayıda eritrosit oluşumuna bağlanabilir (Ullah *et al.* 2019). Eritrosit sayısı ve hemoglobin miktarında düşüş olması eritrositlerin yıkımı sonucunda eritropoetik dokuya karşı pestisitinin zarar mekanizmasından kaynaklanmış olabilir (Uçar *et al.* 2021).

Hb ile kombinasyon halinde olan RBC'ler vücut hücrelerine oksijen sağlamada önemli bir rol oynar ve Hct, RBC'lerin sayısı ve boyutundan etkilenen, kandaki RBC'lerin hacimsel yüzdesi olarak tanımlanır. Eritrositlerin sayısındaki veya boyutundaki azalma, kapladıkları alan miktarını da azaltarak daha düşük hematokrit ile sonuçlanır. Bu nedenle, RBC'lerin veya Hb'nin sayısı ve boyutundaki herhangi bir artış, Hct indeksi değişikliğine neden olabilir. Stres sırasında artan adrenalin, H^+ 'nın Na^+ ile değişimine ve takiben Na^+ ve Cl^- iyonlarının RBC'ye akışına neden olur. Osmoz yoluyla su girişi sonrasında eritrosit hacmi artarak eritrositlerin hemolizlerine yol açabilir. Balıklarda eritrosit hemolizi (MCV ve Hct'de artış), dalak eritrosit rezervinin salınımı veya artan eritropoezi (Ht, Hb ve RBC'de artış) içerebilir. Sunulan çalışmada CYP'ye maruz bırakılan *O. mykiss*'in kan dokusunda incelenen hematoloji parametrelerinde değişimlerin olduğu belirlenmiştir. Eritrositlerin sayısında CYP uygulanan grupta kontrol grubuna göre düşüşler meydana gelmiştir. Kan parametrelerinin düşük değerleri, hematopoietik dokuların zayıf rolünün, uygun olmayan osmoregülatuar mekanizmaların ve kan oluşturan organlardaki RBC'lerde artan hasarın göstergesidir (Ghaffar *et al.* 2021). Azalan hemoglobin, methemoglobine oksidasyonu, daha az gaz değişimi ve serbest radikal kaynaklı hasar nedeniyle olabilir. Ek olarak, stres reaksiyonu ile birlikte metabolizmada yüksek enerji harcamasını takiben oksijen taşınmasının baskılanması stresle ilgili adaptif mekanizmalardan biri olduğundan, bu düşüşlerin stres nedeniyle olduğu söylenebilir. Eritropoietin, normal dolaşımdaki RBC sayısını korumak için eritropoezi uyaran önemli bir faktördür ve eritrosit sayısındaki düşüş CYP toksisitesine bağlı olarak azalmış eritropoietinin içeriği ile ilişkilendirilmiştir. Ortama ilave edilen farklı oranlardaki NS'nin bu inhibisyonu tersine çevirebildiği ve kontrole yakın değerler ortaya çıktığı belirlenmiştir. Normal RBC boyutunun geri kazanılması, NS'nin biyoaktif bileşenlerinin içsel antioksidan ve serbest radikal süpürücü özellikleri sayesinde lipid peroksidasyonu ile savaşmak için (Hadi *et al.* 2016) ikincil zarı stabilize etmedeki başarısından ortaya çıkabilir. Hematolojik parametreler, MCV, MCH ve MCHC canlılarda anemi tipini saptamak için önemli göstergelerdir (Uçar *et al.* 2021). Çalışmamızda MCV değeri CYP uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre değişimler gösterirken MCHC önemli bir düşüş gösterdi (Şekil 12). Bu parametreler CYP'ye maruz kalan

balıkların hipokromik makrositik anemi ile ilgili durumunu gösterir. Toksinlere karşı savunma reaksiyonu veya RBC'lere bağlı olarak MCV ve MCHC'deki değişimlerin ortamda ki kirleticiden kaynaklandığı düşünülmektedir. NS'nin gıda takviyesi olarak dahil edilmesi, CYP'ye maruz kalan balıkların RBC sayısında, doza bağlı artışlarla sonuçlandı. Bu bulgular, eritropoietin üretimindeki ve eritrositik stabilitedeki artışa bağlanabilir (Ashour *et al.* 2014). NS'nin eritrositik karakterleri MCV, MCH ve MCHC seviyelerinde değiştirme kabiliyetini ifade etmeye devam etmesi, Al-Shehri (2013) 'nin bulgusuna benzerlik göstermektedir. Pestisit maruziyeti, sırasıyla anizositoz (değişik boyutlarda kırmızı kan hücrelerinin varlığı), poikilositoz (değişik şekillerde kırmızı kan hücrelerinin varlığı) olarak adlandırılan RBC'lerin boyutunda ve şeklinde değişikliklere neden olur. Eritrosit indekslerindeki değişiklik, normal MCV değerlerine sahip normal şekil ve büyüklükteki (normositik) RBC'ler, daha yüksek MCV değerlerine sahip genişlemiş makrositik RBC'ler veya daha düşük MCV değerlerine sahip küçük mikrositik RBC'ler ile de karakterize edilebilir. Benzer şekilde, Hb içeriği temelinde, eritrositler de üç sınıfa ayrılır - normal Hb içeriğine sahip normokromik, az miktarda Hb'ye sahip hipokromik ve daha yüksek Hb seviyelerine sahip hiperkromik RBC'ler. Balıklarda bu parametrelerde pestisit kaynaklı değişiklikler, eritropoez veya hemopoez veya demir içeriği ile etkileşime bağlı olarak meydana gelebilir. Çalışma bulgularında CYP'nin uygulandığı grupta Hb değerinin düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Toksik stres altındaki balıkların hemoglobin konsantrasyonundaki progresif azalma, (i) hemoglobin yıkım hızının artması (ii) hemoglobin sentez hızının azalması (iii) balığın hemopoietik potansiyelinin baskılanması (Sawhney and Johal 2000; Das *et al.* 2004) (iv) maruziyetin ardından işlevsiz RBC'lerin uzaklaştırılmasına ek olarak yeni RBC üretiminin inhibisyonu etkisiyle olabilmektedir (Kumar and Banerjee 2016).

Sunulan çalışmada, lökosit sayısı (WBC), CYP uygulanan gruplarda düşerken ortama farklı oranlarda NS ilavesi indüksiyon yönünde değişimlere neden olmuştur. Lökositlerdeki bu artış, balığın CYP tarafından inhibe olan lökosit hücrelerinin NS ilavesinin immünolojik bağışıklığı artırma potansiyeline atfedilebilir. Eritrositlerden sayıca daha az olan WBC'ler, vücudun enfeksiyonla mücadelede birincil yoludur ve stresörün varlığına tepki vermede rol oynar. Banaei *et al.* (2008), diazinon'un subletal konsantrasyonunun adi sazanlarda lökosit sayısında önemli bir düşüşe neden olduğunu bildirmişlerdir. Düşük lökosit sayısı, hematolojik dokularda (dalak ve böbrek) işlev bozukluğu anlamına gelebilir. Lökositler yüksek fagositik aktivite sergilerler ve trombositler hem kanın pıhtılaşmasında hem de organizmanın savunma sisteminde görev alırlar (da Silva *et al.* 2018). CYP ile ilişkili olduğu düşünülen lökopeni, lipopolisakkaritin neden olduğu lökosit proliferasyonunu baskılama kabiliyetine karşılık gelir (Shelley *et al.* 2012). Bu bulgu proliferasyon/apoptoz oranındaki azalmaya bağlanabilir (Yao

et al. 2007). NS takviyesinden sonra WBC sayısında belirgin artış Tousson *et al.* (2016) ile benzerdir. Bu durum aynı zamanda NS içeriğinde bulunan timokinonun T hücrelerinde apoptozu doğrudan veya dolaylı (yıkımı azaltarak) azaltmadaki yararlı rolü ile açıklanabilir (Guida *et al.* 2016; Abou Khalil *et al.* 2017) (Şekil 13).

Trombositler pıhtılaşma sürecinin önemli bir parçası olup protrombini trombine dönüştürürler. Fink *et al.* (2015) trombositlerin immün fonksiyona katıldığını ve fagositik aktivite sergilediğini öne sürmüştür (Tavares-Dias and Moraes, 2006; Fazio 2019). Sunulan çalışmada gökkuşağı alabalığı trombosit sayısının CYP uygulamasıyla azaldığı belirlenmiştir. Düşük trombosit sayısı, pestisit etkisi altında doku hasarı ve hematopoezi azalması ile açıklanabilir. NS uygulanan gruplardaki trombosit artışı ise konsantrasyona paralel olarak kemik iliği stimülasyonu ile açıklanabilir (Ucar *et al.* 2021) (Şekil 14).

CYP'nin Solungaç ve Karaciğer Fonksiyonu Üzerindeki Etkisi ve NS ile Modülasyonu

Balıklarda oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki denge, balıkların su ortamına fizyolojik adaptasyonu için gereklidir (Wu *et al.* 2017). Piretroidlere maruz kalan balıkların solungaç, karaciğer, kas ve böbrek gibi organlarında oksidatif strese dayalı toksisiteyi teşvik ettiği bildirilmiş olsa da, bütüncül bir yaklaşımda araştırmaların yapılması gereklidir. Bu nedenle, balıklarda piretroid maruziyeti, başta lipid peroksidasyonundaki artış ve antioksidan enzim aktivitesindeki değişiklikler olmak üzere, oksidatif stresin aracılık ettiği etkilerin incelenmesi önem kazanmaktadır. Kirletici madde ile uyarılan ROS üretimi, balıklarda oksidatif hasara neden olarak bir toksisite mekanizması başlatır (Yang *et al.* 2020). Toksik bir madde ile ilişkili herhangi bir ölçülebilir biyokimyasal ve fizyolojik değişiklik olarak tanımlanan biyobelirteçlerin kullanılması gereklidir. Bazı biyobelirteçler, makromoleküller üzerinde ROS neden olduğu hasar açısından oksidatif stresi değerlendirmek için biyokimyasal düzeyde analizleri içerir. Oksidatif stres, vücuttaki ROS ve antioksidan sistemlerin dengesizliği ile üretilir (Barata *et al.* 2005). Birçok ksenobiyotiğin toksik etkilerine redoks döngüsünün bir sonucu olarak ROS oluşumu aracılık eder (Abdollahi *et al.* 2004). Pestisitler, aşırı ROS sentezi ve birikmesi nedeniyle oksidatif duruma zarar verebilir ve dengesizliğe neden olabilir (Wang *et al.* 2018). ROS kaynaklı hücresel hasar sonucunda organizmaların oksidatif hasarı dengelemek için kullandıkları antioksidan enzimler arasında, O₂'yi H₂O₂'ye dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD); H₂O₂'yi suya indirgeyen katalaz (CAT); ve H₂O₂'yi veya organik hidroperoksitleri suya detoksifiye eden glutatyon peroksidaz (GPx) (Barata *et al.* 2005; Moniruzzaman *et al.* 2020) bulunmaktadır.

Piretroid pestisitler, hedef olmayan organizmalardaki düşük toksisitelerinden dolayı geleneksel pestisitlere alternatif olarak, yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, birkaç çalışma, piretroidleri hidrolize eden enzimlerin eksikliği nedeniyle balıkların su ortamlarına taşınan piretroid pestisitlere karşı özellikle savunmasız olduğunu göstermektedir. Ek olarak, balığın solungaçları piretroid pestisitlerin taşınımını daha da artırır.

Piretroid pestisitlerin balık dokularında değişikliklere yol açtığı ana mekanizma oksidatif strestir. Deltametrin, sipermetrin ve lambda-sihalotrin dahil olmak üzere piretroid pestisitler, solungaçlarda, karaciğerde ve balık kaslarında lipid peroksidasyonuna yol açan ROS üretimini indükler. Diğer çevresel kirleticilerle çoklu maruziyet, piretroid pestisitlerin neden olduğu oksidatif stresin etkilerini artırır veya azaltır. Tatlı su balıklarında solungaçlar, asit-baz homeostazını, vücudun ozmotik basıncını ve su girişi ile iyon akışının düzenlenmesini sağlamak için O_2 ve Na^+ , K^+ ve Cl^- gibi diğer iyonların taşınmasında önemli bir role sahiptir. Solungaçlar balıklarda ilk temas noktası olması nedeniyle, kirleticiler için ana hedef organdır (Monteiro *et al.* 2005). CYP, oksidatif stresi indükleyebilir, hidrofobik bir bileşik olarak hücre zarlarında birikebilir ve yapılarını bozabilir. Bozulmuş membran yapısı, oksidatif stresi indükleyerek serbest radikal oluşumunu teşvik eder. Reaktif oksijen türlerinin ortadan kaldırılmasından sorumlu iki ana enzim SOD ve CAT' dir. SOD, süperoksit radikallerinin temizleyicisi olarak hareket eder ve oksit başına hidrojen üretir (H_2O_2), bu da CAT aktivitesi ile suya indirgenir (Mates, 2000). Çalışmamızda elde edilen solungaç ve karaciğer enzim aktivitelerinde SOD ve CAT enzimlerinde CYP'nin uygulandığı grupta inhibisyonların olduğu belirlenmiştir. Piretroid pestisitler, balıklardaki antioksidan enzimlerin aktivitesinde etki göstermektedir. CYP'ye maruz kalan gruptaki enzim inhibisyonlarında reaktif oksijen türlerinin oluşması ve söz konusu enzimlerin (SOD, CAT ve GPx) oluşan ROS'u inaktive edememesi ya da antioksidanda bulunan enzimatik sistein ve diğer amino asitlerin ROS tarafından oksidasyonunu ile açıklanabilir. Çalışma bulgularımızda enzim aktiviteleri dikkate alındığında, NS'nin bu enzimlerin üretimini teşvik ederek stimulan etkisi gösterdiği ve kontrole yakın/benzer seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun incelenen dokuların oksidatif dengesinin korunmasındaki önemi ile ilgili olabileceği ve detoksifikasyon süreçlerinin genellikle karaciğerde çoklu oksidatif reaksiyonlar ve yüksek serbest radikal oluşumu meydana geldiğinde tetiklenmesi sonucu olduğu düşünülmektedir (de Oliveira *et al.* 2018). SOD, antioksidan savunmanın ilk mekanizması ve ROS'un varlığının neden olduğu toksik etkileri dengelemekten sorumlu ana enzimdir. Bu özellikle mitokondriyal solunumun küçük bir ürünü olan ve SOD tarafından hidrojen peroksite biyotransforme edilen süperoksit iyonu durumunda geçerlidir, bu mekanizmayı takiben H_2O_2 'nin H_2O 'ya dismutasyonu sonucunda CAT ve GPx oluşur (Barata *et al.* 2005).

Çalışmamızda, karaciğer ve solungaçta kontrol grubuna göre NS uygulanan gruplarda antioksidan enzim aktivitelerinin indüklendiği belirlenmiştir. Karaciğer ve solungaçtaki bu aktivitedeki önemli artış, NS'nin incelenen dokuların metabolizmasının bu biyobelirteçteki artıştan sorumlu olan O₂ anyonunun oluşumunu desteklediği gerçeğiyle açıklanabilir (Islas-Flores *et al.* 2013). Benzer şekilde NS'nin veya aktif maddelerinin (yani timokinon) balık diyetine dahil edilmesinin büyüme performansını, yem dönüşümünü ve et kalitesini olumlu yönde etkileyebileceği rapor edilmiştir. Ek olarak, su ortamında bulunabilecek ağır metal toksik maddelere karşı balık diyetlerinde NS'nin veya türevlerinin diyet takviyesi, yalnızca bağışıklık tepkilerini arttırmakla kalmaz, balık kanındaki biyokimyasal profili iyileştirir, istilacı patojenik bakterilere karşı koruma sağlar, aynı zamanda balıkların oksidatif stres tepkilerini iyileştirmeye yardımcı olduğu bildirilmiştir (El Hack *et al.* 2021). Çalışma bulgularında incelenen parametreler düzeyinde NS'nin potansiyel törepatik etkisi olduğu sonucuna varılmıştır.

Balıkların çevre kirliliğinden korunması için antioksidan aktivite ile ROS üretimi arasındaki denge önemli olsa da (Wilhelm Filho *et al.* 2007) balıkların dokularında ROS üretimini doğrudan gözlemlemek zordur (Mugoni *et al.* 2014). Bununla birlikte, ROS oluşumunu takip eden lipid peroksidasyonu da dahil olmak üzere belirli fenomenlerin gözlemlenmesi, piretroid pestisitler tarafından oksidatif stres oluşumunu doğrulayabilir (Sreejai and Jaya 2010). Bu durum incelenen dokuların oksidatif dengesinin korunmasındaki önemi ile ilgili olabilir, çünkü detoksifikasyon süreçleri genellikle karaciğerde çoklu oksidatif reaksiyonlar ve yüksek serbest radikal oluşumu meydana geldiğinde tetiklenir (de Oliveira *et al.* 2018). Çalışma bulgularında, solungaç ve karaciğerde antioksidan enzimlerin tükenmesi ile birlikte yüksek düzeyde MDA kaydedilmiştir. Oksidatif stres, piretroidlerin neden olduğu gelişimsel toksisitede önemli bir rol oynar (Sulthana 2021). CYP'nin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisi, hidrofobik yapısı nedeniyle doğrudan veya dolaylı olabilir.

Balıklarda piretroidlerin yüksek toksisitesi, üç faktörün kombinasyonuna atfedilmiştir: (i) hassas bir merkezi sinir sistemi, (ii) oldukça yavaş bir hidrolitik detoksifikasyon ve (iii) maruz kaldıktan sonra içselleştirme yolu (yani solungaçlar yoluyla kan dolaşımına doğrudan emilim). Ayrıca, piretroidler ikincil olarak toksisitesine katkıda bulunan ozmotik dengesizliği de indükleyebilir (Saha and Kaviraj 2009).

CYP'nin Beyin Dokusunda AChE Aracılı Nörotoksosite Üzerindeki Etkisi ve NS ile Modülasyonu

Biyosensörler, biyolojik sistemdeki sensör olabilen prosesin, yapının veya fonksiyonun biyokimyasal veya hücresel bileşenlerinde kirleticilerin neden olduğu değişiklik olarak tanımlanır. Bir biyobelirteç, toksik veya fizyolojik değişikliklere maruz kalmanın bir sonucu

olarak metabolik bir yol boyunca meydana gelen ölümcül olmayan moleküler ve/veya hücrel değişiklikleri (biyokimyasal, fizyolojik ve histolojik) yansıtan canlı organizmadaki bir göstergedir (Parikha 2016). Kolinesterazlar, çevresel kontaminasyonun izlenmesinde uzun yıllardır ilginç biyobelirteçler ve biyosensör olarak kabul edilmektedir (Wilson 2010; Umar and Aisami 2020).

Son zamanlarda, ksenobiyotik maruziyetini ve bunun su ekosistemi üzerindeki etkilerini izlemek, kontrol etmek ve müdahale etmek nihai hedefiyle insektisitlerin balıklardaki zarar mekanizmalarını belirlemek için birçok çalışma yapılmıştır. Organofosfat ve karbamat insektisitlerinin ana etki mekanizması, yoğun kolinerjik stimülasyonun belirti ve semptomlarına neden olan enzim asetilkolinesterazın blokajıdır. Piretroidler Na kanalını bloke edebilir ve sinir hücrelerindeki GABA (Gama aminobütirik asit) reseptörlerinin işlevine etki edebilir. Oksidatif stres, hücre ölümü ile sonuçlanan insektisitlerin toksisitesi için başka bir mekanizmadır ve hücrel nekroz / apoptoz, hücrel fizyolojideki işlev bozukluğu, hücrelerin metabolik ve hayati fonksiyonlarındaki değişiklikleri içerir.

Çalışmamızda değerlendirilen AChE enzimi sinir sisteminde çok önemli bir biyomarkıdır. Bu enzim, nörotransmitter asetilkolinin hidrolizini sağlayarak sinir uyarılarını sona erdirir (Lionetto *et al.* 2013). AChE'nin ksenobiyotikler tarafından inhibisyonu, asetilkolin birikimine ve reseptörlerin hiperstimülasyonuna neden olur (Colovic *et al.* 2013). Çevresel toksisitenin öncülerinden CYP'nin AChE'nin güçlü bir inhibitörü olduğu bilinmektedir (Reddy 2011; Murthy *et al.* 2013). Mevcut çalışma bulgularında CYP uygulamasının beyin dokusunun kolinerjik nöronlarında tahribata yol açtığını ve bunun sonucunda AChE aktivitesini inhibe ettiğini söyleyebiliriz (Tian *et al.* 2018). Beyin, lipid zenginliği ve antioksidan enzimlerin düşük ekspresyonu özellikleri nedeniyle savunmasız bir organdır (Thyagarajan and Deshpande, 2014; Ali *et al.* 2020). Piretroidler, sinir hücrelerinde Na⁺ kanallarının geçirgenliğini değiştirerek, tekrarlayan deşarjlara, sinaptik bozulmaya ve aşırı uyarılabilirliğe neden olur (Narahashi 1996; Soderlund *et al.* 2002). Bu fenomen nihayetinde merkezi sinir sisteminin ve diğer birçok fizyolojik fonksiyonun bozulmasına yol açabilir (Menéndez-Helman *et al.* 2012). Ek olarak, piretroidler, periferik ve merkezi sinir sisteminin aksonları üzerinde hareket eder ve sinir hücresi zarlarının iyon iletkenliğinde değişiklik üreten sodyum kanalı geçitleme mekanizmaları ile etkileşime girer (Kaloyanova *et al.* 1991). Sodyum kanallarının bloke edilmesinin, nöronal bağlantının ince modelini büyük ölçüde değiştirdiği ve büyük apoptotik nörodejenerasyon ile sonuçlandığı iyi bilinmektedir (Catalano and Shatz, 1998; Ikonomidou *et al.* 1999). Ayrıca, CYP, nöronal sistemde oksidatif strese yol açan serbest radikallerin oluşumunu indükler

(Tiwari *et al.* 2019) ve bu da dopaminerjik nörodejenerasyona yol açar (Nasuti *et al.* 2007; Jindal and Sharma, 2019).).

Mevcut çalışmamızda CYP uygulaması ile AChE inhibisyonu yüzme performansı ve MDA seviyesi bulguları ile de desteklenmektedir. Elde edilen sonuçlarımız piretroid toksisitesi için yapılan çalışmalarla uyumludur (Köprucu *et al.* 2006). Yine CYP kaynaklı AChE inhibisyonunda söz konusu pestisit beyin dokusu sinir fonksiyonunu bozması ile aşırı ACh birikimi neden olması ile açıklanabilir (Topal *et al.* 2017a, Topal *et al.* 2017b). Yapılan çalışmalarda GABA reseptörleri sinir uyarılarının iletimini engellediği, dolayısıyla bu reseptördeki rahatsızlıklar da sinirlerin aşırı uyarılmasına yol açtığı bildirilmiştir (Zhao *et al.* 2021). Benzer şekilde Alak *et al.* (2019), CYP maruziyeti altında gökkuşağı alabalığının beyindeki AChE aktivitesinin azaldığı bildirmiştir.

Redoks dengesinin korunduğu sağlıklı beyinde, ortaya çıkan ROS yararlı ve hatta gereklidir. Bununla birlikte, redoks dengesi bozukluğu, nörodejenerasyon ile yakından ilgili olan oksidatif stres olarak bilinen bir duruma neden olur (Samet and Wages 2018). Toksik madde kaynaklı nörotoksite mekanizması ayrıca oksidasyon-antioksidan sisteminin dengesizliğinin bir sonucu olabilir. Dolayısıyla, bu nörotoksik pestisitlerin çevre ve canlı organizmalar üzerindeki risk değerlendirmesi hakkında daha fazla bilgi sahibi olmak için toksikolojik pathwaylerin değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Mevcut çalışmada, pestisit uygulaması ile beyin dokusunda oksidatif stresi gösteren antioksidan enzim seviyelerinde önemli bir azalma tespit edilmiştir. Bu, CYP'nin lipofilik karakteri nedeniyle, geçiş metallerinin varlığı ile birleştiğinde oksidatif stres ile sonuçlanan ROS oluşumunu teşvik etmesiyle açıklanabilir (Jia *et al.* 2009). Oksidatif stresle sonuçlanan aşırı ROS'un oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki endojen dengesizlikten kaynaklandığı açıktır. Bu perspektifte, her ikisi de H₂O₂'yi katabolize ettiğinden, CAT aktivite düşüşünü telafi etmek için ilk seçenek GPx aktivitesinde bir artış olacaktır. NS ilavesi sonrasında, CAT aktivitesinin artışı, GR aktivitesinde eşlik eden artışla savunma mekanizmalarının güçlendirilmesiyle dengelendiği söylenebilir.

SONUÇ ve ÖNERİLER

Toksik etkileri nedeniyle çevre ve gıdanın çeşitli alanlarında pestisitlerin izlenmesi kritik bir araştırma alanı olarak kabul edilmektedir. Bu pestisitler geniş çapta izlenmekte, ancak yine de önemli sayıda pestisit farklı tür canlılarda toksik etkileri bilinmemektedir. Bu pestisitlerden biri olan ve yaygın kullanımı nedeniyle önemli bir endişe kaynağı olan CYP'nin güvenli sınırlar içinde tutulması ve değerlendirmesi oldukça önemlidir. Pestisitlerin izin verilen sınırlar içinde tutulması çevre, insan ve hayvan sağlığı için sorun oluşturmamaktadır. Ancak, süre, maruziyet, yaş, tür, cinsiyet, suş, maruz kalma oranı, yol ve dozdaki farklılıklara rağmen, CYP'nin balıklar için toksik olduğu ve balıklar da dahil olmak üzere farklı organizmalarda CYP'nin neden olduğu toksik etkileri gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Balıklarda piretroid pestisitler tarafından oksidatif stres indüksiyon mekanizması, balık hücre hatlarında daha fazla araştırma gerektirir. Bu, sinyal yollarındaki değişiklikler, hücresel organellerin bozulması ve mikrotübüllerde hasar gibi piretroid pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres tarafından kontrol edilen çeşitli fizyolojik olaylara dayanan sitotoksik mekanizmaların belirlenmesine yardımcı olabilir.

Ancak yine de toksisite patwaylerinin aydınlatılması CYP aracılı toksisitenin multubiyomarker yaklaşımla mekanizmada rol alan dokular bazlı değerlendirilmesine ihtiyaç vardır. Bu bağlamda çalışmanın bu toksikolojik pathway üzerindeki bulguları şunları göstermektedir: (i) CYP'nin neden olduğu yüzme performansındaki düşüş NS ilavesi ile iyileşme meydana gelmiştir (ii) CYP'ye maruz kalma, *O. mykiss*'in beyin, karaciğer ve solungaç dokusunda ROS oluşumunu şiddetlendirebilir ve doku hasarına neden olabilir (iii) *O. mykiss* antioksidan savunma sistemi, CYP 'lere maruz kaldıktan sonra ROS'un toksik etkilerine karşı koymak için aktive edilmiştir (iv) Terapötik ajan olarak kullanılan NS'nin gökkuşağı alabalığı beyin, karaciğer, solungaç ve kan dokusunda CYP'nin etkisini hafifleterek antioksidan savunması üzerinde güçlendirici bir etkiye sahip olduğunu ve NS'nin oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bozulan dengeyi yeniden kurma yeteneği gösterdiği belirlenmiştir. CYP uygulanan *O. mykiss*'in dokulardaki NS'nin nöroprotektif, heparprotektif, hemaprotektif etkisi, ROS ve diğer serbest radikallerin temizlenmesi üzerindeki uyarıcı etkisinden kaynaklanıyor olabilir. Mevcut çalışmada NS uygulamasının, her iki konsantrasyonda da CYP maruziyetine karşı önemli bir SOD-CAT sistemi modülatörü olduğu kaydedildi. Böylece NS reseptör proteini aracılığıyla dolaylı olarak etkili bir antioksidan olarak işlevini yerine getirdiği

ve oksidatif stres altında antioksidatif enzimlerin sentezini ve aktivitesini yapısal olarak uyardığı söylenebilir.



KAYNAKLAR

- Abdollahi, M., Ranjbar, A., Shadnia, S., Nikfar, S., & Rezaie, A., 2004. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 10(6), 141-147.
- Abou Khalil, N., Abd-Elkareem S., M., & Sayed, A., H., 2017. *Nigella sativa* seed protects against 4-nonylphenol-induced haematotoxicity in *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822): Oxidant/antioxidant rebalance. *Aquaculture Nutrition*, 23(6), 1467-1474.
- Adhikari, S., Sarkar, B., A., Chatterjee, Mahapatra, C., T., & Ayyappan, S., 2004. Effects of cypermethrin and carbofuran on certain hematological parameters and prediction of their recovery in a freshwater teleost, *Labeo rohita* (Hamilton). *Ecotoxicology and Environmental safety*, 58(2), 220-226.
- Aebi, H., 1974. Catalase. In *Methods of enzymatic analysis* (pp. 673-684). Academic press.
- Ahmadifar, E., Sheikhzadeh, N., Roshanaei, K., Dargahi, N., & Faggio, C. 2019. Can dietary ginger (*Zingiber officinale*) alter biochemical and immunological parameters and gene expression related to growth, immunity and antioxidant system in zebrafish (*Danio rerio*)?. *Aquaculture*, 507, 341-348.
- Akhtar, N., Khan, M., F., Tabassum, S., Ahmad, M., S., & Badshah, K., D., 2021. Effects of cypermethrin on the hematological parameters, biochemical components of blood and histopathological changes in different organs of chirruh snow trout (*Schizothorax esocinus*). *Pakistan Journal of Zoology*, 53(3), 943-953.
- Alak, G., Atamanalp, M., Topal, A., Arslan, H., Kocaman, E., M., & Oruc, E., 2013. Effect of sub-lethal lead toxicity on the histopathological and antioxidant enzyme activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fresenius Environmental Bulletin*, 22(5), 733-738.
- Alak, G., Ucar, A., Parlak, V., Yeltekin, A., Ç., Taş, I., H., Ölmez, D., ... & Yanık, T., 2017. Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, gene expression and antioxidant enzyme activity on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues exposed to biopesticide. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 203, 51-58.
- Alak, G., Yeltekin, A., Ç., Özgeriş, F., B., Parlak, V., Uçar, A., Keleş, M., S., & Atamanalp, M. 2019. Therapeutic effect of N-acetyl cysteine as an antioxidant on rainbow trout's brain in cypermethrin toxicity. *Chemosphere*, 221, 30-36.
- Ali, M., Majid, M., Hussain, I., Kali, S., Naz, T., Niazi, M., B., ... & Zafar, M., I., 2020. Chlorpyrifos mediated oxidative damage and histopathological alterations in freshwater fish *Oncorhynchus mykiss* in Northern Pakistan. *Aquaculture Research*, 51(11), 4583-4594.
- Alonso, M., B., Feo, M., L., Corcellas, C., Vidal, L., G., Bertozzi, C., P., Marigo, J., ... & Barceló, D., 2012. Pyrethroids: a new threat to marine mammals?. *Environment International*, 47, 99-106.
- Al-Shehri, E., A., 2013. Immunological & hematological impacts and antioxidants stability by the effect of some seeds, a spice and root diets. *Journal of Applied Sciences Research*, 9, 4638– 4644.

- Arisekar, U., Shakila, R., J., Jeyasekaran, G., Shalini, R., Kumar, P., Malani, A., H., & Rani, V., 2019. Accumulation of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in fish, water, and sediments in the Thamirabarani river system of southern peninsular India. *Environmental nanotechnology, monitoring & management*, 11, 100-194.
- Arslan, M., Sirkecioglu, N., Bayir, A., Arslan, H., & Mevlut, A., R., A., S., 2012. The influence of substitution of dietary fish oil with different vegetable oils on performance and fatty acid composition of brown trout, *Salmo trutta*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 12(3).
- Ashour, A., E., Abd-Allah, A., R., Korashy, H., M., Attia, S., M., Alzahrani, A., Z., Saquib, Q., ... & Rishi, A., K., 2014. Thymoquinone suppression of the human hepatocellular carcinoma cell growth involves inhibition of IL-8 expression, elevated levels of TRAIL receptors, oxidative stress and apoptosis. *Molecular and cellular biochemistry*, 389(1), 85-98.
- Atamanalp, M., Keleş, M., S., Haliloğlu, H., İ., & Aras, M., S., 2002. The effects of cypermethrin (a synthetic pyrethroid) on some biochemical parameters (Ca, P, Na and TP) of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 26(5), 1157-1160.
- Atamanalp, M., Parlak, V., Özgeriş, F., B., Çilingir Yeltekin, A., Ucar, A., Keleş, M., S., & Alak, G., 2021. Treatment of oxidative stress, apoptosis, and DNA injury with N-acetylcysteine at simulative pesticide toxicity in fish. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(3), 224-234.
- Atchison, G., J., Henry, M., G., & Sandheinrich, M., B., 1987. Effects of metals on fish behavior: a review. *Environmental Biology of fishes*, 18(1), 11-25.
- Awad, E., Austin, D., & Lyndon, A., R., 2013. Effect of black cumin seed oil (*Nigella sativa*) and nettle extract (Quercetin) on enhancement of immunity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Aquaculture*, 388, 193-197.
- Babu Velmurugan, E., I., C., Senthilkumaar, P., Uysal, E., & Satar, A., 2016. Hematological parameters of freshwater fish *Anabas testudineus* after sublethal exposure to cypermethrin. *Environ. Pollut. Prot*, 1, 32-39.
- Ballesteros, M. L., Rivetti, N., G., Morillo, D., O., Bertrand, L., Amé, M., V., & Bistoni, M., A., 2017. Multi-biomarker responses in fish (*Jenynsia multidentata*) to assess the impact of pollution in rivers with mixtures of environmental contaminants. *Science of the Total Environment*, 595, 711-722.
- Ballesteros, M. L., Wunderlin, D., A., & Bistoni, M., A., 2009. Oxidative stress responses in different organs of *Jenynsia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(1), 199-205.
- Banaei, M., MIR, V., A., Rafei, G., R., & Majazi, A., B., 2008. Effect of sub-lethal diazinon concentrations on blood plasma biochemistry.
- Barata, C., Varo, I., Navarro, J., C., Arun, S., & Porte, C., 2005. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the freshwater cladoceran *Daphnia magna* exposed to redox cycling compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(2), 175-186.
- Barton, B., A., 2002. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. *Integrative and comparative biology*, 42(3), 517-525.
- Bej, S., Ghosh, K., Chatterjee, A., & Saha, N., C., 2021. Assessment of biochemical, hematological and behavioral biomarkers of *Cyprinus carpio* on exposure to a type-II

- pyrethroid insecticide Alpha-cypermethrin. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 87, 103-117.
- Beutler, H., O., 1984. A., new enzymatic method for determination of sulphite in food. *Food chemistry*, 15(2), 157-164.
- Birben, E., Sahiner, U., M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O., 2012. Oxidative stress and antioxidant defense. *World allergy organization journal*, 5(1), 9-19.
- Birnie-Gauvin, K., Costantini, D., Cooke, S., J., & Willmore, W., G., 2017. A., comparative and evolutionary approach to oxidative stress in fish: a review. *Fish and Fisheries*, 18(5), 928-942.
- Bonansea, R., I., Wunderlin, D., A., & Amé, M., V., 2016. Behavioral swimming effects and acetylcholinesterase activity changes in *Jenynsia multidentata* exposed to chlorpyrifos and cypermethrin individually and in mixtures. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 129, 311-319.
- Boskabady M.,H., Shahabi M., 1997. Bronchodilatory and anticholinergic effects of *Nigella sativa* on isolated Guinea pig tracheal chains. *Iran J., Med. Sci.*, 22 pp. 133-136
- Bradford, M., M., 1976. A., rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Bricknell, I., R., Bowden, T., J., Bruno, D., W., MacLachlan, P., Johnstone, R., & Ellis, A., E., (1999). Susceptibility of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.) to infection with typical and atypical *Aeromonas salmonicida*. *Aquaculture*, 175(1-2), 1-13.
- Burgos-Aceves, M., A., Lionetti, L., & Faggio, C., 2019. Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish. *Science of the total environment*, 670, 1170-1183.
- Carriquiriborde, P., Díaz, J., Mugni, H., Bonetto, C., & Ronco, A., E., 2007. Impact of cypermethrin on stream fish populations under field-use in biotech-soybean production. *Chemosphere*, 68(4), 613-621.
- Catalano, S., M., & Shatz, C., J., 1998. Activity-dependent cortical target selection by thalamic axons. *Science*, 281(5376), 559-562.
- Clauss, T., M., Dove, A., D., & Arnold, J., E., 2008. Hematologic disorders of fish. *Veterinary clinics of North America: Exotic animal practice*, 11(3), 445-462.
- Coats, J., R., Symonik, D., M., Bradbury, S., P., Dyer, S., D., Timson, L., K., & Atchison, G., J., 1989. Toxicology of synthetic pyrethroids in aquatic organisms: an overview. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 8(8), 671-679.
- Colovic, M., B., Krstic, D., Z., Lazarevic-Pasti, T., D., Bondzic, A., M., & Vasic, V., M., 2013. Acetylcholinesterase inhibitors: pharmacology and toxicology. *Current neuropharmacology*, 11(3), 315-335.
- Conte, F., S., 2004. Stress and the welfare of cultured fish. *Applied Animal Behaviour Science*, 86(3-4), 205-223.
- da Silva, E., B., da Silva Corrêa, S., A., de Souza Abessa, D., M., da Silva, B., F., X., Rivero, D., H., R., F., & Seriani, R., 2018. Mucociliary transport, differential white blood cells, and cyto-genotoxicity in peripheral erythrocytes in fish from a polluted urban pond. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(3), 2683-2690.

- Das, B., K., & Mukherjee, S., C., 2003. Toxicity of cypermethrin in *Labeo rohita* fingerlings: biochemical, enzymatic and haematological consequences. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 134(1), 109-121.
- Das, P., C., Ayyappan, S., Jena, J., K., & Das, B., K., 2004. Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.): acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological parameters. *Aquaculture*, 235(1-4), 633-644.
- de Moraes, F., D., Venturini, F., P., Rossi, P., A., Avilez, I., M., da Silva de Souza, N., E., & Moraes, G., 2018. Assessment of biomarkers in the neotropical fish *Brycon amazonicus* exposed to cypermethrin-based insecticide. *Ecotoxicology*, 27(2), 188-197.
- de Oliveira Ramos, C., Campos, K., K., D., de Paula Costa, G., Cangussu, S., D., Talvani, A., & Bezerra, F., S., 2018. Taurine treatment decreases inflammation and oxidative stress in lungs of adult mice exposed to cigarette smoke. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 98, 50-57.
- de Souza, R., M., Seibert, D., Quesada, H., B., de Jesus Bassetti, F., Fagundes-Klen, M., R., & Bergamasco, R. 2020. Occurrence, impacts and general aspects of pesticides in surface water: A review. *Process Safety and Environmental Protection*, 135, 22-37.
- Dorlikar, A., V., Mohite, A., S., & Thengare, M., R., 2021. Determination of acute toxicity (LC₅₀) values of cypermethrin (25% EC) on Sharp Tooth African Catfish *Clarias gariepinus*. *Environment and Ecology*, 39(3), 558-563.
- Dubey, S., & Gaur, K., K., 2018 Effect of Cypermethrin on Enzymes in Muscles of *Channa punctatus*. *Journal of Advanced Laboratory Research in Biology*, 9(3), 77-81.
- El Euony, O., I., Elblehi, S., S., Abdel-Latif, H., M., Abdel-Daim, M., M., & El-Sayed, Y., S., 2020. Modulatory role of dietary *Thymus vulgaris* essential oil and *Bacillus subtilis* against thiamethoxam-induced hepatorenal damage, oxidative stress, and immunotoxicity in African catfish (*Clarias gariepinus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 27(18), 23108-23128.
- El-Hack, A., Mohamed, E., Abdelnour, S., A., Khafaga, A., F., Taha, A., E., & Abdel-Latif, H., M., 2021. Nigella sativa Seeds and Its Derivatives in Fish Feed. In *Black cumin (Nigella sativa) seeds: Chemistry, Technology, Functionality, and Applications* (pp. 297-315). Springer, Cham.
- Ellman, G., L., Courtney, K., D., Andres Jr, V., & Featherstone, R., M., 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, 7(2), 88-95.
- Enayat Gholampour, T., Fadaei Raieni, R., Pouladi, M., Larijani, M., Pagano, M., & Faggio, C., 2020. The dietary effect of Vitex agnus-castus hydroalcoholic extract on growth performance, blood biochemical parameters, carcass quality, sex ratio and gonad histology in Zebrafish (*Danio rerio*). *Applied Sciences*, 10(4), 1402.
- Faggio, C., Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., & Piccione, G., 2015. Oral administration of Gum Arabic: effects on haematological parameters and oxidative stress markers in Mugil cephalus.
- Farrell, A., P., 1991. From hagfish to tuna: a perspective on cardiac function in fish. *Physiological Zoology*, 64(5), 1137-1164.
- Fazio, F., 2019. Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500, 237-242.
- Fernandes, E., S., Passos, G., F., Medeiros, R., da Cunha, F., M., Ferreira, J., Campos, M., M., ... & Calixto, J., B., 2007. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and

- trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. European journal of pharmacology, 569(3), 228-236.
- Firat, Ö., Cogun, H., Y., Yüzereroğlu, T., A., Gök, G., Firat, Ö., Kargin, F., & Kötemen, Y., 2011. A., comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Physiology and Biochemistry, 37(3), 657-666.
- Fink, I., R., Ribeiro, C., M., Forlenza, M., Taverne-Thiele, A., Rombout, J., H., Savelkoul, H., F., & Wiegertjes, G., F., 2015. Immune-relevant thrombocytes of common carp undergo parasite-induced nitric oxide-mediated apoptosis. Developmental & Comparative Immunology, 50(2), 146-154.
- Fuller, N., Magnuson, J., T., Huff Hartz, K., E., Fulton, C., A., Whitledge, G., W., Acuña, S., ... & Lydy, M., J., 2021. Effects of dietary cypermethrin exposure on swimming performance and expression of lipid homeostatic genes in livers of juvenile Chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. Ecotoxicology, 30(2), 257-267.
- Ganie, P., A., Yousuf, D., J., Bhat, R., A., H., Bhat, I., A., Kunal, K., Pandey, P., K., & Sarma, D., 2018. Investigation of acute toxicity and behavioral response of Indian major carp, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) in response to Cypermethrin (25% EC). Journal of Entomology and Zoological Studies, 6(6), 194-199.
- Georgieva, E., Yancheva, V., Stoyanova, S., Velcheva, I., Iliev, I., Vasileva, T., ... & Antal, L., 2021. Which is more toxic? Evaluation of the short-term toxic effects of chlorpyrifos and cypermethrin on selected biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758). *Toxics*, 9(6), 125.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Ahmad, N., Ghafoor, R., Akram, M., W., Khan, I., & Khan, A., 2021. Evaluation of hemato-biochemical, antioxidant enzymes as biochemical biomarkers and genotoxic potential of glyphosate in freshwater fish (*Labeo rohita*). Chemistry and Ecology, 37(7), 646-667.
- Glickman, A., H., & Lech, J., J., 1982. Differential toxicity of trans-permethrin in rainbow trout and mice: II. Role of target organ sensitivity. Toxicology and Applied Pharmacology, 66(2), 162-171.
- Gobi, N., Vaseeharan, B., Rekha, R., Vijayakumar, S., & Faggio, C., 2018. Bioaccumulation, cytotoxicity and oxidative stress of the acute exposure selenium in *Oreochromis mossambicus*. Ecotoxicology and environmental safety, 162, 147-159.
- Goulding, A., T., Shelley, L., K., Ross, P., S., & Kennedy, C., J., 2013. Reduction in swimming performance in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) following sublethal exposure to pyrethroid insecticides. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 157(3), 280-286.
- Gratzek, J., B., & Reinert, R., 1982. Physiological responses of experimental fish to stressful conditions. Cancer Mortality in the United States, 1950-1977, 1(65), 187.
- Guida, M., S., Abd El-Aal, A., Kafafy, Y., Salama, S., F., Badr, B., M., & Badr, G., 2016. Thymoquinone rescues T lymphocytes from gamma irradiation-induced apoptosis and exhaustion by modulating pro-inflammatory cytokine levels and PD-1, Bax, and Bcl-2 signaling. Cellular Physiology and Biochemistry, 38(2), 786-800.
- Hadi, M., A., Almamoori, A., M., Al-Hassnawi, A., T., & Hameedi, E., H., 2017. Oxidative response associated with treatment of male Albino rats with *Eruca sativa* Mill leaves extract and correlations with complete blood picture. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 9(11), 2278-2285.

- Hagger, J., A., Jones, M., B., Lowe, D., Leonard, D., P., Owen, R., & Galloway, T., S., 2008. Application of biomarkers for improving risk assessments of chemicals under the Water Framework Directive: a case study. *Marine Pollution Bulletin*, 56(6), 1111-1118.
- Halliwell, B., & Gutteridge, J., M., 2015. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford university press, USA.
- Hamed, H., S., Ali, R., M., Shaheen, A., A., & Hussein, N., M., 2021. Chitosan nanoparticles alleviated endocrine disruption, oxidative damage, and genotoxicity of Bisphenol-A-intoxicated female African catfish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 248, 109104.
- Hodkovicova, N., Chmelova, L., Sehonova, P., Blahova, J., Doubkova, V., Plhalova, L., ... & Faggio, C., 2019. The effects of a therapeutic formalin bath on selected immunological and oxidative stress parameters in common carp (*Cyprinus carpio*). *Science of the total environment*, 653, 1120-1127.
- Ikonomidou, C., Bosch, F., Miksa, M., Bittigau, P., Vockler, J., Dikranian, K., ... & Olney, J., W., 1999. Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*, 283(5398), 70-74.
- Islas-Flores, H., Gómez-Oliván, L., M., Galar-Martínez, M., Colín-Cruz, A., Neri-Cruz, N., & García-Medina, S., 2013. Diclofenac-induced oxidative stress in brain, liver, gill and blood of common carp (*Cyprinus carpio*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 92, 32-38.
- Jabeen, F., Chaudhry, A., S., Manzoor, S., & Shaheen, T., 2015. Examining pyrethroids, carbamates and neonicotinoids in fish, water and sediments from the Indus River for potential health risks. *Environmental monitoring and assessment*, 187(2), 1-11.
- Jia, J., Zhu, F., Ma, X., Cao, Z., W., Li, Y. X., & Chen, Y., Z., 2009. Mechanisms of drug combinations: interaction and network perspectives. *Nature reviews Drug discovery*, 8(2), 111-128.
- Jiang, C., Y., Qin, X., Y., Yuan, M., M., Lu, G., J., & Cheng, Y., 2018. 2, 3, 5, 4-tetrahydroxystilbene-2-o-beta-d-glucoside reverses stress-induced depression via inflammatory and oxidative stress pathways. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018.
- Jindal, R., & Sharma, R., 2019. Neurotoxic responses in brain of *Catla catla* exposed to cypermethrin: A semiquantitative multibiomarker evaluation. *Ecological Indicators*, 106, 105485.
- Kakko, I., Toimela, T., & Tähti, H., 2003. The synaptosomal membrane bound ATPase as a target for the neurotoxic effects of pyrethroids, permethrin and cypermethrin. *Chemosphere*, 51(6), 475-480.
- Kaloyanova, F., Ivanova-Chemishanska, L., Zaykov, H., R., Baynova, A., Mihaylova, A., Mircheva, V., ... & Halkova, Z., H., 1991. Toxicological evaluation of agromet (Metalaxyl) preparation. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology, and Immunology*, 35(4), 375-382.
- Kanter, M., Meral I., Yener Z., Ozbek H., Demir H., 2003. Partial regeneration/proliferation of the beta-cells in the islets of Langerhans by *Nigella sativa* L. in streptozotocin-induced diabetic rats. *Tohoku J. Exp. Med.*, 201 (4) 213-219
- Kaymak, G., Kayhan, F., E., Yön, N., D., Sesal, N., C., & Akbulut, C., 2014. Evaluation of Oxidative Stress After Exposure to Different Doses of Deltamethrin and Cadmium in Swordtail Fish Gills. *Pakistan Journal of Zoology*, 46(5).

- Khafaga, A., F., Naiel, M., A., Dawood, M., A., & Abdel-Latif, H., M., 2020. Dietary *Origanum vulgare* essential oil attenuates cypermethrin-induced biochemical changes, oxidative stress, histopathological alterations, apoptosis, and reduces DNA damage in Common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquatic Toxicology*, 228, 105624.
- Khalil, K., A., Fouad, H., Elsarnagawy, T., & Almajhdi, F., N., 2013. Preparation and characterization of electrospun PLGA/silver composite nanofibers for biomedical applications. *Int J Electrochem Sci*, 8(3), 3483-3493.
- Khazri, O., Charradi, K., Limam, F., El May, M., V., & Aouani, E., 2016. Grape seed and skin extract protects against bleomycin-induced oxidative stress in rat lung. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 81, 242-249.
- Köprücü, S., Ş., Yonar, E., & Seker, E., 2008. Effects of deltamethrin on antioxidant status and oxidative stress biomarkers in freshwater mussel, *Unio elongatulus eucirrus*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 81(3), 253-257.
- Kumar, A., Rai, D., K., Sharma, B., & Pandey, R., S., 2009. λ -cyhalothrin and cypermethrin induced in vivo alterations in the activity of acetylcholinesterase in a freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Pesticide biochemistry and physiology*, 93(2), 96-99.
- Kumar, R., & Banerjee, T., K., 2016. Arsenic induced hematological and biochemical responses in nutritionally important catfish *Clarias batrachus* (L.)., *Toxicology Reports*, 3, 148-152.
- Kumaraguru, A., K., & Beamish, F., W., H., 1983. Bioenergetics of acclimation to permethrin (NRDC-143) by rainbow trout. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, 75(2), 247-252.
- Kurian, A., Van Doan, H., Tapingkae, W., & Elumalai, P., 2020. Modulation of mucosal parameters, innate immunity, growth and resistance against *Streptococcus agalactiae* by enrichment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) diet with *Leucas aspera*. *Fish & Shellfish Immunology*, 97, 165-172.
- Li, H., B., Cheng, K., W., Wong, C., C., Fan, K., W., Chen, F., & Jiang, Y., 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food chemistry*, 102(3), 771-776.
- 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.
- Little, E., E., & Finger, S., E., 1990. Swimming behavior as an indicator of sublethal toxicity in fish. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 9(1), 13-19.
- Luo, Z., Zhu, W., Guo, Q., Luo, W., Zhang, J., Xu, W., & Xu, J., 2016. Weaning induced hepatic oxidative stress, apoptosis, and aminotransferases through MAPK signaling pathways in piglets. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2016.
- Magnuson, J., T., Fuller, N., Huff Hartz, K., E., Anzalone, S., Whitledge, G., W., Acuña, S., ... & Schlenk, D., 2022. Dietary Exposure to Bifenthrin and Fipronil Impacts Swimming Performance in Juvenile Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Environmental Science & Technology*.
- Mahboub, H., H., Elsheshtawy, H., M., Sheraiba, N., I., Fahmy, E., M., Mohamed, E., A., Abdelnaeim, N., S., ... & Ahmed, S., A., 2022. Dietary black cumin (*Nigella sativa*) improved hemato-biochemical, oxidative stress, gene expression, and immunological response of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) infected by *Burkholderia cepacia*. *Aquaculture Reports*, 22, 100-943.

- Majumder, R., & Kaviraj, A., 2017. Cypermethrin induced stress and changes in growth of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *International Aquatic Research*, 9(2), 117-128.
- Mates, J., M., 2000. Effects of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, 153(1-3), 83-104.
- Maurya, P., K., Malik, D., S., Yadav, K., K., Kumar, A., Kumar, S., & Kamyab, H., 2019. Bioaccumulation and potential sources of heavy metal contamination in fish species in River Ganga basin: Possible human health risks evaluation. *Toxicology Reports*, 6, 472-481.
- Menéndez-Helman, R., J., Ferreyroa, G., V., dos Santos Afonso, M., & Salibián, A., 2012. Glyphosate as an acetylcholinesterase inhibitor in *Cnesterodon decemmaculatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88(1), 6-9.
- Moniruzzaman, M., Mukherjee, M., Das, D., & Chakraborty, S., B., 2020. Effectiveness of melatonin to restore fish brain activity in face of permethrin induced toxicity. *Environmental Pollution*, 266, 115230.
- Montanha, F., P., Fredianelli, A., C., Wagner, R., Sacco, S., R., Rocha, D., C., C., & Pimpão, C., T., 2014. Clinical, biochemical and haemathological effects in *Rhamdia quelen* exposed to cypermethrin. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 66, 697-704.
- Monteiro, S., M., Mancera, J., M., Fontaínhas-Fernandes, A., & Sousa, M., 2005. Copper induced alterations of biochemical parameters in the gill and plasma of *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 141(4), 375-383.
- Mugoni, V., Camporeale, A., & Santoro, M., M., 2014. Analysis of oxidative stress in zebrafish embryos. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (89), e51328.
- Murthy, K., S., Kiran, B., R., & Venkateshwarlu, M., 2013. A review on toxicity of pesticides in Fish. *International Journal of Open Scientific Research*, 1(1), 15-36.
- Naiel, M., A., Shehata, A., M., Negm, S., S., Abd El-Hack, M., E., Amer, M., S., Khafaga, A., F., ... & Allam, A., A., 2020. The new aspects of using some safe feed additives on alleviated imidacloprid toxicity in farmed fish: A review. *Reviews in aquaculture*, 12(4), 2250-2267.
- Narahashi, T., 1996. Neuronal ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacology & toxicology*, 79(1), 1-14.
- Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, M., L., Di Stefano, A., Sozio, P., & Cantalamessa, F., 2007. Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology*, 229(3), 194-205.
- Naylor, R., L., Hardy, R., W., Buschmann, A., H., Bush, S., R., Cao, L., Klinger, D., H., ... & Troell, M., 2021. A., 20-year retrospective review of global aquaculture. *Nature*, 591(7851), 551-563.
- Orun, I., Selamoglu, Z., Gulhan, M., F., & Erdogan, K., 2014. Role of propolis on biochemical and hematological parameters of *Oncorhynchus mykiss* exposed to cypermethrin. *Survey in Fisheries Sciences*, 1(1), 21-35.
- Özok, N., 2020. Effects of cypermethrin on antioxidant enzymes and lipid peroxidation of Lake Van fish (*Alburnus tarichi*). *Drug and Chemical Toxicology*, 43(1), 51-56.
- Parikha, M., 2016. Biosensors and their applications – A review. *J Oral Biol Craniofacial Res*. 6(2):153–9

- Parma, M., J., Loteste, A., Campana, M., & Bacchetta, C., 2007. Changes of hematological parameters in *Prochilodus lineatus* (Pisces, Prochilodontidae) exposed to sublethal concentration of cypermethrin. *Journal of Environmental Biology*, 28(1), 147-149.
- Pereira, V., M., Bortolotto, J., W., Kist, L., W., de Azevedo, M., B., Fritsch, R., S., da Luz Oliveira, R., ... & Bogo, M., R., 2012. Endosulfan exposure inhibits brain AChE activity and impairs swimming performance in adult zebrafish (*Danio rerio*). *Neurotoxicology*, 33(3), 469-475.
- Petitjean, Q., Jean, S., Gandar, A., Côte, J., Laffaille, P., & Jacquin, L., 2019. Stress responses in fish: From molecular to evolutionary processes. *Science of the Total Environment*, 684, 371-380.
- Pickering, A., D., & Pottinger, T., G., 1995. Biochemical effects of stress. *Biochemistry and molecular biology of fishes*, 5, 349-379.
- Poletta, G., L., Simoniello, M., F., & Mudry, M., D., 2016. Biomarkers of oxidative damage and antioxidant defense capacity in *Caiman latirostris* blood. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 179, 29-36.
- Prokić, M., D., Gavrilović, B., R., Radovanović, T., B., Gavrić, J., P., Petrović, T., G., Despotović, S., G., & Faggio, C., 2021. Studying microplastics: Lessons from evaluated literature on animal model organisms and experimental approaches. *Journal of Hazardous Materials*, 414, 125-476.
- Rashidian, G., Bahrami Gorji, S., Farsani, M., N., Prokić, M., D., & Faggio, C., 2020. The oak (*Quercus brantii*) acorn as a growth promotor for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): growth performance, body composition, liver enzymes activity and blood biochemical parameters. *Natural Product Research*, 34(17), 2413-2423.
- Reddy, P., H., 2011. Abnormal tau, mitochondrial dysfunction, impaired axonal transport of mitochondria, and synaptic deprivation in Alzheimer's disease. *Brain research*, 1415, 136-148.
- Rehman, M., U., Mir, M., U., R., Ahmad, S., B., & Shakeel, S., 2016. Endosulfan, a global pesticide: a review of its toxicity on various aspects of fish biology. *Int. J. Gen. Med. Pharm*, 5, 17-26.
- Rice-evans, C., A., Miller, N., J., Bolwell, P., G., Bramley, P., M., & Pridham, J., B., 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375-383.
- Romero, A., M., &, 2019. Neurotoxicity of organophosphate pesticides could reduce the ability of fish to escape predation under low doses of exposure. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.
- Saha, S., & Kaviraj, A., 2009. Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Chemosphere*, 74(9), 1254-1259.
- Salem M.,L., Hossain M.,S., 2000. Protective effect of black seed oil from *Nigella sativa* against *Murine cytomegalovirus* infection. *Int. J. Immunopharmacol.*, 22 (9), 729-740
- Samet, J., M., & Wages, P., A., 2018. Oxidative stress from environmental exposures. *Current opinion in toxicology*, 7, 60-66.
- San Juan, M., F., Cortelezzi, A., Alborno, C., B., Landro, S., M., Arrighetti, F., Najle, R., & Lavarias, S., M., L., 2020. Toxicity of pyrethroid cypermethrin on the freshwater snail *Chilina parhappii*: Lethal and sublethal effects. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 196, 110-565.

- Sánchez-Bayo, F., 2012. Insecticides mode of action in relation to their toxicity to non-target organisms. *J. Environ. Anal. Toxicol. S.*, 4, S4-002.
- Sandoval-Herrera, N., Mena, F., Espinoza, M., & Romero, A., 2019. Neurotoxicity of organophosphate pesticides could reduce the ability of fish to escape predation under low doses of exposure. *Scientific reports*, 9(1), 1-11.
- Savari, A., Hedayati, A., Safahieh, A., & Movahedinia, A., 2011. Characterization of blood cells and hematological parameters of yellowfin sea bream (*Acanthopagrus latus*) in some creeks of Persian Gulf. *World Journal of Zoology*, 6(1), 26-32.
- Sawhney, A., K., & Johal, M., S., 2000. Erythrocyte alterations induced by malathion in *Channa punctatus* (Bloch). *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 64(3), 398-405.
- Schreck, C., B., & Tort, L., 2016. The concept of stress in fish. In *Fish physiology* (Vol. 35, pp. 1-34). Academic Press.
- Serafim, A., Company, R., Lopes, B., Fonseca, V., F., França, S., Vasconcelos, R., P., ... & Cabral, H., N., 2012. Application of an integrated biomarker response index (IBR) to assess temporal variation of environmental quality in two Portuguese aquatic systems. *Ecological Indicators*, 19, 215-225.
- Sharma, R., & Jindal, R., 2020. Assessment of cypermethrin induced hepatic toxicity in *Catla catla*: A multiple biomarker approach. *Environmental Research*, 184, 109-359.
- Sharma, R., Jindal, R., & Faggio, C., 2021. *Cassia fistula* ameliorates chronic toxicity of cypermethrin in *Catla catla*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 248, 109-113.
- Shelley, L., K., Ross, P., S., & Kennedy, C., J., 2012. Immunotoxic and cytotoxic effects of atrazine, permethrin and piperonyl butoxide to rainbow trout following in vitro exposure. *Fish & Shellfish Immunology*, 33(2), 455-458.
- Shuman-Goodier, M., E., & Propper, C., R., 2016. A meta-analysis synthesizing the effects of pesticides on swim speed and activity of aquatic vertebrates. *Science of the Total Environment*, 565, 758-766.
- Sinha, D., Roy, S., Saha, P., Chatterjee, N., & Bishayee, A., 2021. Trends in research on exosomes in cancer progression and anticancer therapy. *Cancers*, 13(2), 326.
- Soderlund, D., M., & Bloomquist, J., R., 1989. Neurotoxic actions of pyrethroid insecticides. *Annual review of entomology*, 34, 77-96.
- Sönmez, A., Y., Bilen, S., Alak, G., Hisar, O., Yanık, T., & Biswas, G., 2015. Growth performance and antioxidant enzyme activities in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed diets supplemented with sage, mint and thyme oils. *Fish physiology and biochemistry*, 41(1), 165-175.
- Sreejai, R., & Jaya, D., S., 2010. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in fishes exposed to hydrogen sulfide. *Toxicology International*, 17(2), 71.
- Sulthana, R., N., 2021. Impact of the sublethal concentrations of cypermethrin toxicity on nitrogen metabolism in fresh water fish *Heteropneustes fossilis*. *Liver*, 12(14.10), 19-32.
- Sun, Y., I., Oberley, L., W., & Li, Y., 1988. A., simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clinical chemistry*, 34(3), 497-500.

- Suvetha, L., Ramesh, M., & Saravanan, M., 2010. Influence of cypermethrin toxicity on ionic regulation and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of a freshwater teleost fish *Cyprinus carpio*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 29(1), 44-49.
- Tang, F. H., Lenzen, M., McBratney, A., & Maggi, F., 2021. Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, 14(4), 206-210.
- Tavares-Dias, M., & de Moraes, F., R., 2006. Características hematológicas da *Tilapia rendalli* Boulenger, 1896 (Osteichthyes: Cichlidae) capturada em "Pesque-Pague" de Franca, São Paulo, Brasil. *Bioscience Journal*.
- Thyagarajan, B., & Deshpande, S., S., 2014. Cotrimoxazole and neonatal kernicterus: a review. *Drug and chemical toxicology*, 37(2), 121-129.
- Tian, X., Yang, W., Wang, D., Zhao, Y., Yao, R., Ma, L., ... & Lin, A., 2018. Chronic brain toxicity response of juvenile Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*) to the neonicotinoid insecticides imidacloprid and nitenpyram. *Chemosphere*, 210, 1006-1012.
- Tiwari, R., K., Singh, S., & Pandey, R., S., 2019. Assessment of the acute toxicity of chlorpyrifos and cypermethrin to *Heteropneustes fossilis* and their impact on acetylcholinesterase activity. *Drug and chemical toxicology*, 42(5), 463-470.
- Topal, A., Alak, G., Ozkaraca, M., Yeltekin, A., C., Comaklı, S., Acıl, G., ... & Atamanalp, M. (2017a). Neurotoxic responses in brain tissues of rainbow trout exposed to imidacloprid pesticide: Assessment of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine activity, oxidative stress and acetylcholinesterase activity. *Chemosphere*, 175, 186-191.
- Topal, A., Atamanalp, M., Oruç, E., & Erol, H., S., 2017. Physiological and biochemical effects of nickel on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues: assessment of nuclear factor kappa B activation, oxidative stress and histopathological changes. *Chemosphere*, 166, 445-452.
- Tousson, E., Hafez, E., Zaki, S., & Gad, A., 2016. The cardioprotective effects of L-carnitine on rat cardiac injury, apoptosis, and oxidative stress caused by amethopterin. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(20), 20600-20608.
- Uçar, A., & Yeğin, Y., 2017. The effects of different doses of copper sulphate pentahydrate (CuSO₄.5H₂O) on critical swimming speed and haematology parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) . *Aquaculture Studies*, 17 (3) , 245-257.
DOI: 10.17693/yunusae.v17i30729.304263
- Uçar, A., Parlak, V., Çilingir Yeltekin, A., Özgeriş, F., B., Çağlar, Ö., Türkez, H., ... & Atamanalp, M., 2021. Assesment of hematotoxic, oxidative and genotoxic damage potentials of fipronil in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, Walbaum. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 31(1), 73-80.
- Uçar, A., Parlak, V., Özgeriş, F., B., et al. Determination of Fipronil toxicity by different biomarkers in gill and liver tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Animal* 56, 543–549 2020. <https://doi.org/10.1007/s11626-020-00480-3>
- Ullah, S., Zuberi, A., Alagawany, M., Farag, M., R., Dadar, M., Karthik, K., ... & Iqbal, H., M., (2018). Cypermethrin induced toxicities in fish and adverse health outcomes: its prevention and control measure adaptation. *Journal of Environmental Management*, 206, 863-871.
- Umar, A., M., & Aisami, A., 2020. Acetylcholinesterase enzyme (AChE) as a biosensor and biomarker for pesticides: A Mini Review. *Bulletin of Environmental Science and Sustainable Management* (e-ISSN 2716-5353), 4(1), 7–12.
<https://doi.org/10.54987/bessm.v4i1.526>

- Uner, N., Oruc, E., O., Canli, M., & Sevgiler, Y., 2001. Effects of cypermethrin on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in liver and kidney of the freshwater fish, *Oreochromis niloticus* and *Cyprinus carpio* (L.). Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 67(5), 657-664.
- Van Dyk, J. S., & Pletschke, B., 2011. Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. Chemosphere, 82(3), 291-307.
- Wang, Y., Branicky, R., Noë, A., & Hekimi, S., 2018. Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. Journal of Cell Biology, 217(6), 1915-1928.
- Watanabe, T., 1982. Lipid nutrition in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry, 73(1), 3-15.
- Weber, D., N., & Spieler, R., E., 1994. Behavioral mechanisms of metal toxicity in fishes.
- Wilhelm Filho, D., Althoff, S. L., Dafré, A. L., & Boveris, A., 2007. Antioxidant defenses, longevity and ecophysiology of South American bats. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 146(1-2), 214-220.
- Wilson, B., W., 2010. Cholinesterases. In Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology (pp. 1457-1478). Academic Press.
- Wu, J., Zhao, Y., Qi, H., Zhao, X., Yang, T., Du, Y., ... & Wei, Z., 2017. Identifying the key factors that affect the formation of humic substance during different materials composting. Bioresource technology, 244, 1193-1196.
- Wu, Z., Wang, S., Zhao, J., Chen, L., & Meng, H., 2014. Synergistic effect on thermal behavior during co-pyrolysis of lignocellulosic biomass model components blend with bituminous coal. Bioresource technology, 169, 220-228.
- Yaji, A., Ogueji, E., O., & Ekpenyong, J., J., 2021. Sublethal behavioral and biochemical toxicity of cypermethrin in juvenile in a static bioassay. Fisheries & Aquatic Life, 29(3), 148-157.
- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S., & Georgieva, E., 2015. Fish in Ecotoxicological Studies. Ecologia balkanica, 7(1).
- Yang, C., Lim, W., & Song, G., 2020. Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 234, 108758.
- Yao, H., Tang, X., Shao, X., Feng, L., Wu, N., & Yao, K., 2007. Parthenolide protects human lens epithelial cells from oxidative stress-induced apoptosis via inhibition of activation of caspase-3 and caspase-9. Cell research, 17(6), 565-571.
- Yousefi, M., Adineh, H., Reverter, M., Hamidi, M., K., Vatnikov, Y., A., Kulikov, E., V., ... & Van Doan, H., 2021. Protective effects of black seed (*Nigella sativa*) diet supplementation in common carp (*Cyprinus carpio*) against immune depression, oxidative stress and metabolism dysfunction induced by glyphosate. Fish & Shellfish Immunology, 109, 12-19.
- Zhao, H., Wang, Y., Guo, M., Liu, Y., Yu, H., & Xing, M., 2021. Environmentally relevant concentration of cypermethrin or/and sulfamethoxazole induce neurotoxicity of grass carp: involvement of blood-brain barrier, oxidative stress and apoptosis. Science of The Total Environment, 762, 143054.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Veysel Karani GÜLTEKİN
Doğum tarihi:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Kahramankazan Mesleki ve Teknik Anadolu Lisesi Kahramankazan/ANKARA
Lisans:	Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Mühendisliği
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	A1 düzey