



**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)’NDA THIAMETHOXAM KAYNAKLI
HEMATOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE
İMMÜNOTOKSİSİTEYE KARŞI ULEXİTİN
MODÜLATÖR ROLÜ**

Ayşe GÜNAY

Su Ürünleri Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Arzu UÇAR

Yüksek Lisans Tezi

2023

(Her hakkı saklıdır.)

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

**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)'NDA THIAMETHOXAM KAYNAKLI
HEMATOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE İMMÜNOTOKSİSİTEYE KARŞI
ULEXİTİN MODÜLATÖR ROLÜ**

(Modulatory Role Ulexit Against Thiamethoxam-Induced Hematotoxicity, Oxidative Stress
and Immunotoxicity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*))

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşe GÜNAY

Danışman: Doç. Dr. Arzu UÇAR

Erzurum
Ocak, 2023

KABUL VE ONAY TUTANAĞI

Ayşe GÜNAY tarafından hazırlanan “**GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)’NDA THİAMETHOXAM KAYNAKLI HEMATOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES ve İMMÜNOTOKSİSİTEYE KARŞI ULEXİTİN MODÜLATÖR ROLÜ**” başlıklı çalışması 18/ 01/ 2023 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 <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Doç. Dr. Arzu UÇAR <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN <i>Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi</i>	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 *Doç. Dr. Arzu UÇAR* danışmanlığında sunulan “GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)’NDA THIAMETHOXAM KAYNAKLI HEMATOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE İMMÜNOTOKSİSİTEYE KARŞI ULEXİTİN MODÜLATÖR ROLÜ” 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	28	30
Kuramsal Temeller	14	30
Materyal ve Yöntem	11	35
Araştırma Bulguları	11	20
Tartışma	20	20
Sonuç ve Öneriler	5	20
Tezin Geneli	13	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
Ayşe GÜNAY	Doç. Dr. Arzu UÇAR
19.1.2023	19.1.2023
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 Doç. Dr. Arzu UÇAR'a, araştırmaların planlaması ve yürütülmesinde yanımda olup yardım eden Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi öğretim üyeleri Sayın Prof. Dr. Muhammed ATAMANALP'e, Prof. Dr. Gonca ALAK ve Doç. Dr. Veysel PARLAK' a, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ' e, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Aslı ÇİLİNGİR YELTEKİN' e ve Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü öğretim üyesi Sayın Fatma Betül ÖZGERİŞ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayşe GÜNAY

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖKKUŞAĞI ALABALIĞI (*Oncorhynchus mykiss*)’NDA THIAMETHOXAM KAYNAKLI HEMATOTOKSİSİTE, OKSİDATİF STRES VE İMMÜNOTOKSİSİTEYE KARŞI ULEXİTİN MODÜLATÖR ROLÜ

Ayşe GÜNAY

Danışman: Doç. Dr. Arzu UÇAR

Amaç: Günümüzde farklı insektisitlerle su ortamının kontaminasyonu, su ekosisteminde önemli bir endişe kaynağıdır. Bu nedenle, kurgulanan çalışmada, Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)’nda olumsuz etkileri üzerine sınırlı bilgi bulunan Thiamethoxam (TMX) üzerine yoğunlaşarak LC₅₀ değeri ve kan dokusunda hematotoksisite, oksidatif durum, sitotoksisite, DNA hasarı ve apoptotik durum göstergeleri üzerinde etkileri araştırılmıştır. Bununla birlikte TMX aracılı toksisitenin bertarafında Üleksit (UX) takviyesinin antitoksik potansiyeli belirlenmiştir.

Yöntem: Çalışmada ortalama ağırlıkları 20±3 gr olan 380 adet *O. mykiss* kullanıldı. Bu balıklardan 140 tanesi ile 7 konsantrasyon (100, 125, 150, 175, 200, 225, 250) x 2 tekerrürlü çalışarak LC₅₀ değeri belirlenmiştir. Diğer 240 balık ile oluşturulan deneme düzeni 4 grup [kontrol grubu (TMX ve/veya UX uygulanmayan), TMX (0,36 mg/l), TMX+UX (0,36 mg/l + 18,75 mg/l), UX (18,75 mg/l)] şeklinde oluşturulmuştur. Akut deneme periyodu sonunda kontrol ve uygulama gruplarından örneklenen balıklardan kan alınmış, hematolojik analizler, oksidatif stres parametreleri, inflamasyon, DNA hasarı ve apoptoz analizleri uygun biyomarkerler ile belirlenmiştir.

Bulgular: TMX için belirlenen LC₅₀ değeri 0,73 olarak belirlenmiştir. Hematoloji profili, TMX uygulaması sonucunda RBC, Hgb ve Hct değerleri kontrol grubuna göre zamansal olarak düşüş göstermiş, MCV, MCH ve MCHC değerlerinde ise artışlar belirlenmiştir. UX’ in ortama ilave edilmesiyle hematolojik parametrelerde inhibisyon/indüksiyonun yavaşlatıldığı tespit edilmiştir. Deneme süresince (48. ve 96. saatte) TMX’ in kortizol seviyesini indüklediği, UX takviyesinin ise bu indüklemeyi 48. saatte yavaşlattığı kaydedilmiştir. TMX uygulamasının antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx, GSH) aktivitelerinin önemli ölçüde inhibisyona uğradığı, ROS’un stimülasyonu sonucunda MDA ve MPO değerleri arttığı belirlenen diğer önemli değişimler arasındadır (p<0.05). Ortama ilave edilen UX’ in ise antioksidanlar lehine aktivite gösterdiği, MDA ve MPO seviyelerini inhibe etmeye çalıştığı belirlenmiştir. İnflamasyon parametrelerinden Nrf-2, uygulama ve kontrol grupları karşılaştırıldığında zamana bağlı olarak inhibisyona uğrattığı, IL-6, TNF-α, DNA hasarı ve apoptozu indüklediği ve UX’ in bu durumu baskıladığı belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar istatistik açıdan anlamlı olarak değerlendirilmiştir (p<0.05).

Sonuç: Gökkuşığı alabalıklarında TMX için LC 50 değeri belirlenmiş ve TMX aracılı biyokimyasal (oksidatif, apoptotik ve inflamatuvar) belirteçlerdeki değişimlerde UX uygulamasının toksik tablonun modülasyonunda etkili olduğu ve pestisit kaynaklı toksisiteelerde umut verici bir tıbbi ajan olarak avantajlı olabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Oncorhynchus mykiss*, Thiamethoxam, hematotoksisite, ulexite

Ocak 2023, 64 sayfa

ABSTRACT

MASTER THESIS

MODULATORY ROLE OF ULEXIT AGAINST THIAMETHOXAM-INDUCED HEMATOTOXICITY, OXIDATIVE STRESS AND IMMUNOTOXICITY IN RAINBOW TROUT (*Oncorhynchus mykiss*)

Ayşe GÜNAY

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Arzu UÇAR

Objective: Contamination of the aquatic environment with different insecticides is a major concern in the aquatic ecosystem today. For this reason, in the designed study, Thiamethoxam (TMX) for which there is limited information on its negative effects on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) was investigated, focusing on LC₅₀ value and its effects on hematotoxicity, oxidative status, cytotoxicity, DNA damage and apoptotic status indicators in blood tissue. However, the antitoxic potential of ulexide (UX) supplementation in the elimination of TMX-mediated toxicity has been determined.

Method: In the study, 380 *O. mykiss* with an average weight of 20±3 g were used. The LC₅₀ value was determined by working with 140 of these fish at 7 concentrations (100, 125, 150, 175, 200, 225, 250) x 2 replications. Trial set up with 240 other fish 4 groups [control group (without TMX and/or UX), TMX (0.36 mg/l), TMX+UX (0.36 mg/l + 18,75 mg/l), UX (18,75 mg /l)]. At the end of the acute trial period, blood was taken from the fish sampled from the control and application groups, hematological analyzes, oxidative stress parameters, inflammation, DNA damage and apoptosis analyzes were determined with appropriate biomarkers.

Results: LC₅₀ value determined for TMX 0.73 has been determined. As a result of hematology profile, TMX application, RBC, Hgb and Hct values showed a temporal decrease compared to the control group, while increases were determined in MCV, MCH and MCHC values. It was determined that the inhibition/induction of hematological parameters was slowed down by adding UX to the medium. During the trial (48th and 96th hours), it was noted that TMX induced cortisol level, while UX supplementation slowed this induction at 48th hour. Antioxidant enzyme (SOD, CAT, GPx, GSH) activities were significantly inhibited by TMX application, and MDA and MPO values increased as a result of the stimulation of ROS (p<0.05). It was determined that UX added to the medium showed activity in favor of antioxidants and tried to inhibit MDA and MPO levels. When Nrf-2, one of the inflammation parameters, was compared with the administration and control groups, it was determined that it inhibited depending on time, IL-6, TNF- α , DNA damage and apoptosis were induced, and UX suppressed this situation. The results obtained were evaluated as statistically significant (p<0.05).

Conclusion: The LC₅₀ value was determined for TMX in rainbow trout and it was concluded that UX application is effective in the modulation of the toxic picture in changes in TMX-mediated biochemical (oxidative, apoptotic and inflammatory) markers and may be advantageous as a promising therapeutic agent in pesticide-induced toxicities.

Keywords: *Oncorhynchus mykiss*, Thiamethoxam, hematotoxicity, ulexite

January 2023, 64 pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	11
MATERYAL VE METOD	17
MFZ için LC ₅₀ 96 Değerini Belirleme Prosedürü.....	17
Deneme Prosedürü	17
Kan Örneklerinin Alınması	17
Hematoloji parametreleri	18
Kortizol düzeyinin ölçülmesi	18
DNA hasarı ve apoptoz parametreleri.....	19
İstatistik Analizler	19
ARAŞTIRMA BULGULARI	20
TMX LC ₅₀ 96 Değerinin Belirlenmesi.....	20
Hematimetrik indeksler	20
Hematik antioksidan indeksleri (SOD, CAT, GPx, GSH)	24
Hematik oksidatif stres indeksleri (MDA/MPO)	26
Hematik İnflamatuar indeksleri	28
DNA hasarı ve apoptoz indeksleri	29
TARTIŞMA SONUÇ VE ÖNERİLER	31
Tartışma.....	31
Sonuç ve Öneriler.....	40
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	52

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Pestisitlerin akarsulara ve yeraltı sularına taşınması yolları	2
Şekil 2. TMX probit analizi.....	20
Şekil 3. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu RBC sayısı.....	21
Şekil 4. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu Hgb seviyesi.....	21
Şekil 5. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu Hct seviyesi.....	22
Şekil 6. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu MCV (mm ³), MCH (mg/hücre) ve MCHC (mg/hücre) indeksleri	22
Şekil 7. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu WBC sayısı.....	23
Şekil 8. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu PLT sayısı.....	23
Şekil 9. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu kortizol seviyesi.....	24
Şekil 10. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu SOD (EU/ml) seviyesi	25
Şekil 11. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu CAT (EU/ml) seviyesi	25
Şekil 12. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu GPx (EU/ml) seviyesi	26
Şekil 13. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu GSH (EU/ml) seviyesi	26
Şekil 14. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu MDA (nmol/ml) seviyesi.....	27
Şekil 15. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu MPO (u/l) seviyesi.....	27
Şekil 16. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu IL-6 (ng/l) seviyesi.....	28

Şekil 17. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu TNF- α (ng/l) seviyesi.....	28
Şekil 18. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu Nrf-2 (ng/ml) seviyesi.....	29
Şekil 19. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu 8-OHdG seviyesi.....	29
Şekil 20. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) <i>O. mykiss</i> ' in kan dokusu Caspase-3 aktivitesi.....	30



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
AChE	: Asetilkolinesteraz
ALAT	: Alanin aminotransferaz
ALT	: Alanin transaminaz
AR	: Arilesteraz
AST	: Aspartat transaminaz
ATP	: Adenin Trifosfat
BX	: Borik Asit
CAT	: Katalaz
CBG	: Kortizol Bağlayıcı Globulin
COL	: Kolemarit
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EC	: Elektriksel kondüktivite
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GPx	: Glutasyon Bağımlı Peroksidaz
GR	: Glukokortikoid Reseptörü
GST	: Glutasyon-s-transferaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
Hb	: Hemoglobin Konsantrasyonu
HPI	: (high pressure liquid) yüksek basınçlı sıvı
Hsc	: (high swirl combustion) yüksek türbülanslı yanma
Ht	: Hematokrit
IAP	: Kaspaz İnhibitörleri
IL	: İnterkolin
ISO	: Uluslararası Standardizasyon Örgütü (Teşkilatı)
LDH	: Laktat dehidrojenaz enzimlerinin hepatik aktivitesi
MCH	: (Mean Cell Hemoglobin) Ortalama Hücre Hemoglobini
MCHC	: (Mean Cell Hemoglobin Concentration) Ortalama Hücre Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: (Mean Cell Volume) Ortalama Hücre Hacmi
MDA	: Lipid Peroksidasyon

MDA	: Molondialdehit
MN	: Mikronükleus
MPO	: Miyeloperoksidaz
MR	: Mineralokortikoid Reseptörü
MYC	: Miklobutanil
OECD	: İktisadi İşbirliği ve Gelişme Teşkilatı
PCO	: protein karbonil
PCO	: Protein Karbonil
PCV	: Paketlenmiş hücre hacmi
PON	: Paraoksonaz
RBC	: (Red Blood Cell) Eritrosit Sayısı
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SOD	: Süperoksit Dist�maz
TBARS	: Tiobarbitürik asit
TMX	: Thiamethoxam
TNF-�	: Tümör nekroz faktörü
UX	: Üleksit
WBC	: (White Blood Cell) Beyaz Kan H�creti

GİRİŞ

Su ürünleri yetiştiriciliği küresel olarak en hızlı büyüme oranına sahip gıda üretim teknolojisi olmuştur. 2050 yılına kadar 10 milyara ulaşması beklenen küresel nüfusun, değişen sosyo-ekonomik demografi ve sağlıklı gıdalara yönelik beslenme eğilimleri her zamankinden daha önemli hale gelecektir. Hem tatlı su hem de deniz ortamlarından elde edilen su ürünleri, gıda ve beslenme güvenliği hedeflerine ulaşmak ve potansiyel olarak daha çevresel olarak sürdürülebilir hayvansal kaynaklı gıdalar sağlamak için merkezi öneme sahiptir (Tacon *et al.* 2022).

1995 yılında FAO'nun Sorumlu Balıkçılık Davranış Kurallarını onaylanmasından bu yana, su ürünlerine yönelik sürekli artan talep ve tüketim, su ürünleri yetiştiriciliğinin giderek daha önemli bir gıda kaynağı haline getirmiş, balıkçılık ve su ürünleri sektörü önemli ölçüde değişmiştir. Bu dönüşüm, FAO Balıkçılık Komitesi'nin (COFI) 2021 Sürdürülebilir Balıkçılık ve Su Ürünleri Bildirgesi'nde de kabul edilmektedir. Deklarasyon, daha verimli, kapsayıcı, esnek ve sürdürülebilir sucul gıda sistemlerini teşvik etmek ve sektörün 2030 hedeflerine katkısını artırmak için ek çabanın gerekli olduğu bir dizi öneriyi özetlemektedir. FAO bünyesinde Öncelikli Program Alanı haline gelen Mavi dönüşüm vizyonu ve yol haritası;

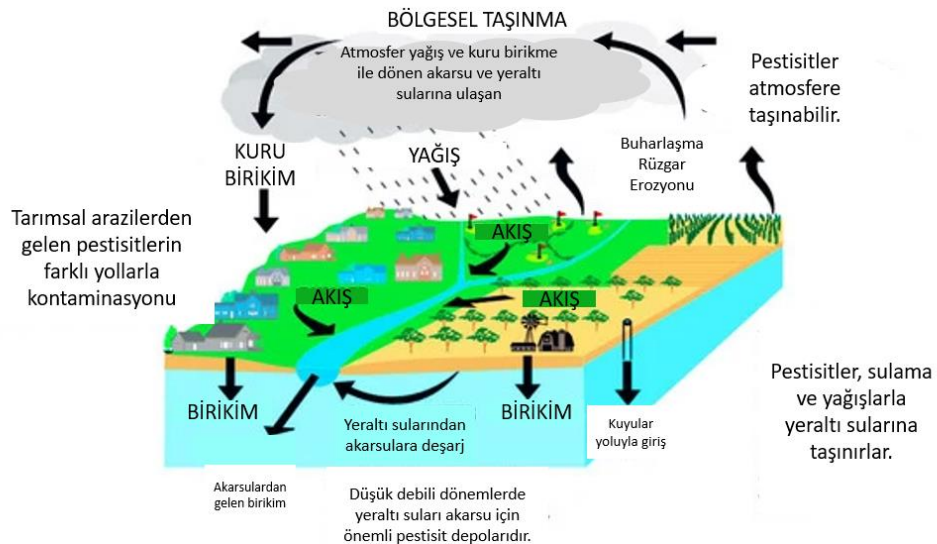
- 1 – Su ürünlerine yönelik küresel talebi karşılamak ve su ürünleri yetiştiriciliğinin sürdürülebilir genişletilmesi.
 - 2 – Sağlıklı stoklar ve geçim kaynakları sağlamak için tüm balıkçılığın etkin yönetimi
 - 3 – Sudaki gıda zincirinin sosyal, ekonomik ve çevresel uygulanabilirliğini sağlamak
- şeklinde üç önemli noktaya odaklanmıştır (FAO 2022).

Farklı kaynaklardan gelen farklı çevresel kirleticiler/kimyasallar su kütlelerinde kolayca ve doğrudan karıştığı için su ekosistemindeki organizmaların karasal hayvanlara kıyasla sayısız sorunla karşı karşıya olduğu bilinmektedir (Rehman *et al.* 2020). Tatlı su ekosistemleri dünya çapında en fazla kirlilikle karşı karşıya kalan ortamlardır. Bu ortamlardaki akuatik canlılar en yaygın kirlilik kaynakları olan hava değişiklikleri, asidik maddeler, kanalizasyon kirliliği ve kimyasal maddeler gibi birçok stresöre maruz kalırlar. Kimyasalların, özellikle tarımda pestisitlerin rastgele kullanımı, ekosistemi kirleterek balıklar da dahil olmak üzere tüm su organizmaları için ciddi bir risk oluşturmaktadır. İç su ekosistemlerinin ve destekledikleri balıkçılık hizmetlerinin gelecekteki katkısı, su kaynaklarının ve tarımsal genişlemenin neden olduğu habitat tahribatı ve çevresel bozulma, su kalitesi sorunları ve insan nüfusundan

kaynaklanan artan balıkçılık baskısı dahil olmak üzere, ekonomik ve kentsel kalkınma ile bağlantılı çok sayıda stres faktörü tarafından tehdit edilmektedir (Reid *et al.* 2018; Tickner *et al.* 2020).

Pestisitler, herhangi bir zararlıyı yok etmek veya kontrol altına almak için tasarlanmış kimyasal veya biyolojik içerikli maddeler / karışımlarıdır. Pestisitler, tarımsal amaçlı, endüstriyel ve evsel ortamlarda zararlıları yönetmek için, tarımsal / kentsel alanlarda haşere uygulamalarındaki etkinliğini artırmak ve maliyetini azaltmak sebebi ile sıklıkla kullanılmaktadır. Pestisit uygulaması için kullanılan yöntemler (püskürtme ve tozlama), su ekosistemine girmelerini sağlamaktadır. Bundan dolayı, suda yaşayan organizmalar toksikolojik ve yapısal olarak farklı pestisitlerin maruziyeti altında kalmaktadır (Barcchetta, 2014). Hızla artan pestisit miktarı, temel olarak küresel tarım arazilerinin %64'ünün birden fazla etken madde nedeniyle pestisit kirliliği riski altında olduğunu ve %31'inin yüksek risk altında olduğunu açıklamaktadır.

Pestisitler, nehirler ve yeraltı suları gibi doğal su kütlelerine de taşınabilir; örneğin, bir mısır tarlasından gelen pestisitler, akış nedeniyle yakındaki bir akarsuya girebilir veya yeraltı suyuna sızabilir (Struger *et al.* 2017). Havadaki pestisitlerden kaynaklanan tozunumlar da bu kirliliğe katkıda bulunabilir. Bu taşınım şekilleri birbirinden bağımsız olarak meydana gelmezler, ancak Majewski ve Capel (1995) tarafından gözlemlenen ve önerilen, ABD Jeolojik Araştırmasına dayanan ve Şekil 1'de tasvir edilen döngüsel bir süreçler ağıyla yakından bağlantılıdır (Adegun *et al.* 2020).



Şekil 1. Pestisitlerin akarsulara ve yeraltı sularına taşınması yolları (Adegun 2020)

Tarımsal etkinliklerde sürekli olarak aynı insektisitlerin kullanılması böcek türlerinin zamanla bu insektisitlere karşı duyarlılığını kaybederek dirençli duruma gelmesine sebep olmakta ve bu da kimyasalların sürekli olarak yenilenme gereksinimini ortaya çıkarmaktadır.

Bundan dolayı uzun yıllardır kullanımlarına bağılı olarak organoklorlu, organofosforlu ve karbamat türü insektisitlerin azalan etkinliğine bağılı olarak tarımsal uygulamaları zamanla azalmış ve bu kimyasallara alternatif olarak piretroitler ve daha sonraları da neonikotinoid türü insektisitler geliştirilmiştir (Fırat, 2018). Piretroitler de dahil olmak üzere günümüzde kullanılan insektisitlerin geleneksel insektisitlere göre daha az biyolojik birikime sahip olduğu bilinmektedir, ancak ne yazık ki yüksek kullanımları nedeniyle sıklıkla su ortamına karışmakta ve akuatik organizmalarda olumsuz etkilere yol açmaktadır.

Insektisitlerin yeni bir sınıfı olan neonikotinoidler, tarımsal uygulamalarda 30 yılı aşkın süredir kullanılmaktadır. Dünya çapında diğer bilinen insektisitlere (organoklorlu, organofosforlu, karbamat ve piretroitler gibi) karşın daha çok kullanılan tarım ilaçları haline gelmiştir. Günümüzde neonikotinoidler 20’den fazla ülkede insektisit olarak kullanılmaktadır (Fırat, 2018)

Neonikotinoid insektisitler, böceklerle bağlanmaya daha fazla afiniteleri nedeniyle gıda ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Jeschke *et al.* 2011, Yan *et al.* 2016, Gül *et al.* 2019). Thiamethoxam (TMX), sucul biyotada toksisiteye neden olabilecek, tarım alanından böcekleri kontrol etmede etkili potansiyeli nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir neonikotinoid insektisittir (El Euony *et al.* 2020). Bu insektisit, balıkların yaşadığı su kaynaklarına yağışlardan ve sulama kanallarından kolayca ulaşabilir ve toksisiteye neden olabilir. Son zamanlarda, omurgalılar, vahşi yaşam popülasyonları ve su popülasyonu dahil olmak üzere hedef ve hedef olmayan yaşam türlerinde farklı pestisitlerin geniş spektrumlu toksisitesi hakkında büyük endişeler ortaya çıkmıştır.

TMX, balıklar ve omurgasızlar dahil olmak üzere birçok suda yaşayan organizma için toksik olabilir. Yüksek yıkama kapasitesi, topraktan düşük absorpsiyon, suda yüksek çözünürlük ve biyolojik arıtmaya direnç sebebiyle özellikle balıklarda, TMX’ in hepatorenal hasara, oksidatif strese, immünotoksisiteye, hemato-biyokimyasal değişikliklere ve metabolik bozukluklara sebep olabileceği bildirilmiştir (Hasan *et al.* 2022). Yetiştirilen sucul türlerin bağışıklık sisteminin zayıflamasıyla sonuçlanan stresli koşullar birçok araştırma ile belgelenmiştir (Roosta ve Hoseinifar 2016).

“Green aquaculture” (antibiyotiksiz) yetiştiricilik şekli hastalık tedavisinin zorlukları göz önüne alındığında, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ile büyük önem taşımaktadır (Ringø *et al.* 2016). Mevcut yaklaşımlar arasında, çevre dostu bir immünomodülasyon aracı olarak bir takım maddelerinin uygulanması önerilmiştir (Pohlenz & Gatlin III, 2014; Dawood ve Koshio 2016). Su ürünleri yetiştiriciliği çalışmalarında terapötik uygulamalar hakkında bilgi mevcut olsa da, etki mekanizmalarını ve uygulama yöntemlerini

oluşturmak ve çevre üzerinde olumsuz etkisi olmayan ürünlerin kullanımlarının potansiyel faydalarını göstermek adına bu ürünlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır.

Bor, hidrosferde ve litosferde yaygın olarak dağılmış, fotosentetik metabolizmaya ve kalsiyum hareketine katılımı nedeniyle bitki gelişimi için temel bir mikro elementtir. En önemli ticari borat ürün ve mineralleri; boraks pentahidrat, boraks, sodyum perborat, borik asit (BX), kolemanit (COL) ve üleksit (UX) olarak bilinmektedir. Üleksit, borat minerali, $\text{NaCaB}_5\text{O}_6(\text{OH})_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, hidratlı sodyum ve kalsiyum borattan oluşur (Britanica 2018). BX, COL ve UX gibi boratların hayvan ve insan beslenmesinde kullanılması organizmanın çeşitli metabolik ve fizyolojik sistemleri üzerinde önemli etkilere sahip olabilir (Alak *et al.* 2020). Bor mineralleri hormon ve lipid metabolizmasının yanı sıra birçok enzimin aktivitesinde de etki göstermektedir. Boratların metabolize olmadığı ve oksidatif stres parametrelerini değiştirerek organizmanın uğradığı hasarı kontrol etmeye çalıştığı bildirilmiştir (Alak *et al.* 2020). Daha önce yapılan çalışmalarda UX' in düşük dozlarının zebra balıklarında (*Danio rerio*) MN frekanslarını değiştirmediğini, oksidatif strese neden olmadığı ve karaciğer dokusundaki tüm enzim aktivitelerini desteklediğini göstermiştir. UX' in *O. mykiss*' in beyin dokusunda DNA hasarı veya apoptozu hızlandırmadığı ve UX' in sucul ortamlarda güvenle kullanılabileceği de bildirilmiştir (Uçar *et al.* 2022).

Su ürünleri üretimi, hayvansal üretim araştırmaları içinde önemini kabul ettirmiş, hızla gelişen bir üretim dalıdır. İç su balıkları, küresel olarak tanımlanan tüm balık türlerinin en az %50' sini oluşturur (Fricke *et al.* 2020), bu da küresel biyolojik çeşitliliğin önemli bir bileşenini temsil eder (Loh *et al.* 2005).

Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) ve 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). Gökkuşağı alabalığı ekonomik değerinin yüksek oluşu dikkate alındığında 100 yılı aşkın süredir kültürü yapılan ve en fazla araştırma konusu olan balık türlerinden birisi konumunda olup, kolay elde edilebilirliği nedeniyle akuatik toksikoloji çalışmalarında, toksik maddelerin etkisini belirlemede önemli biomarkerlardandır (Wu *et al.* 2014).

Su kütleleri üzerinde son yıllarda tarımsal ve endüstriyel kimyasalların varlığı artış göstermektedir. Bu kimyasalların sucul canlılar tarafından bünyelerine alınması, su, sediment, suda asılı partikül madde ve besin yoluyla olabilmektedir. Organizmalar tarafından alınan çevresel kirleticiler, serbest radikaller ile mücadelede rol oynayan metabolik süreçlerin bozulmasına sebep olmaktadır (Akbulut, 2014). Pestisitlerin yaygın kullanımları, tarımsal arazilerden gelen akışlar yoluyla göllere ve nehirlerle zarar vermekte, biyolojik olarak birikme

ve besin zincirini bozma kapasiteleri nedeniyle hayvanlar ve insanlar için risk oluşturmaktadır (Bodnar *et al.* 2022). Balıklar, tatlı su - deniz ekosistemlerinin temel bir bileşenini temsil eder ve dengelerinin korunmasında önemli bir rol oynar. Akut pestisit maruziyeti balıkların ani ölümüne neden olabilirken, düşük dozda fakat uzun süreli maruziyetler, sağlık durumunu bozan ve onları ek stres faktörlerine karşı savunmasız hale getiren hücresel ve doku hasarına neden olabilir (Khatip *et al.* 2022). Stres genellikle, Wendelaar Bonga (1997) tarafından yorumlandığı gibi, genellikle stres etkeni olarak adlandırılan yerleşik veya dışsal uyaranlardan dolayı homeostaz olarak adlandırılan bir organizmanın enerjik kararlılığının bozulduğu bir durum olarak tanımlanır (Chrousos and Gold 1992). Bir organizmanın stresli bir duruma tepkisi türden türe değişir ve çevrelerine uyum sağlama yeteneklerine bağlıdır. Balıklarda stres koşulları hematolojik parametreler aracılığıyla değerlendirilebilir (Fernandez and Mazon 2003). Stresin hematolojik parametrelere yansması, maruz kalma süresinin yanısıra stres düzeyine de bağlıdır.

Balıklar çevreleriyle çok yakın temas halinde yaşarlar ve bu nedenle kan hücresi bileşenlerine yansıyabilecek fiziksel ve kimyasal değişikliklere karşı çok hassastırlar. Balık sağlığını gözlemleyebilmek için standartlaştırılmış, ekonomik olan yöntemlerin kullanılması ve doğrulanması, balık üretiminin geniş ölçüde yaygınlaşması için gereklidir. Hematolojik parametrelerin araştırılması, besleme, su kalitesi ve hastalıkla ilgili değişikliklere cevap olarak balıkların sağlık durumuna ilişkin göstergelerin geliştirilmesini sağlayabilir (Fazio, 2019). Hematolojik profil, akuatik canlıların fizyolojik durumunu ve sağlığını yansıttığı için strese sebep olan koşulları ve/veya üretim performansını etkileyen hastalıkları belirlemek ve değerlendirmek adına diğer rutin teşhis yöntemleriyle birlikte kullanılabilir. Hematolojik değerler arasındaki farklılıklar, çok sayıda içsel ve dışsal faktörden etkilenir (Fazio, 2019). Rutin hematolojik analizler, kan hücresi sayımlarının ve diğer hücre ile ilgili parametrelerin değerlendirilmesinden ayrı olarak biyokimyasal göstergelerin ölçümlerini de içermektedir. Stres, hematolojik parametreleri (Ht, Hb, RBC, MCV) ve çeşitli biyokimyasal indeks (örn. glikoz, katekolamin ve kortizol seviyeleri) seviyelerini olumsuz etkileyebilir. Balıklarda en fazla bulunan, önemli bir tanı parametresi olan RBC (Eritrositler) tüm kan hücrelerinin % 98-99' unu oluştururlar. Kandaki eritrosit içeriğinin en basit ölçüsü olan Hematokrit (Ht), kan hacmindeki eritrosit yüzdesi olarak bilinir. Hemogloblin konsantrasyonu (Hb), balık kırmızı kan hücreleri, diğer omurgalılarda olduğu gibi, tetramerik hemogloblin içermektedir. Eritrosit ilişkili indeksler (MCV, MCH ve MCHC) ayrıca kırmızı kan hücrelerinin morfolojisini ve özelliklerini tanımlayan analizleri de içerir (Witeska, 2022). Mutlak değerler, eritrositlerin boyutu ve hemogloblin içeriği temelinde aneminin belirlenmesi ve sınıflandırılmasında faydalıdır. Pestisit zehirlenmesi, sırasıyla anizositoz ve poikilositoz

olarak adlandırılan RBC' lerin boyutunda ve şeklinde değişikliklere neden olur. Mutlak değerlerdeki değişiklik, normal MCV değerlerine sahip normal şekil ve boyuttaki normositik RBC' ler, daha yüksek MVC değerlerine sahip genişlemiş makrositik RBC' ler veya daha düşük MCV değerlerine sahip küçük mikrositik RBC' ler ile de karakterize edilebilir. Aynı şekilde, hemoglobin (Hb) içeriği temelinde, eritrositler de üç sınıfa ayrılır; normal Hb içeriğine sahip normokromik, az miktarda Hb içeriğine sahip hipokromik ve daha yüksek Hb seviyelerine sahip hiperkromik RBC'ler. Balıklarda bu parametrelerde pestisit kaynaklı değişiklikler, eritropoez, hemopoez veya demir içeriği ile etkileşime bağlı olarak meydana gelebilir (Sinha *et al.* 2022). Lökosit sayısı (WBC), omurgalılarda bağışıklık durumunun değerlendirilmesinde önemli bir parametredir (Witeska, 2022).

Herhangi bir ortamın ekolojik olarak bozulması, esas olarak antropojenik faktörlerin veya sonuçta balıklarda strese neden olan zararlı/bulaşıcı ajanların ortaya çıkmasının bir sonucudur. Periferik kan analizi genellikle balığın fizyolojik durumunu ve tehlikeli maddelerin sonuçlarını teşhis etmek için kullanılır (Svobodova and Vykusova, 1991).

Stresin balıklarda hematolojik parametreleri etkileyen önemli bir faktör olduğu tespit edilmiştir. Her türlü stres altında hemoglobin içeriğindeki değişiklikler, kandaki oksijen taşınması balıkların kanındaki RBC' lerin hemoglobin içeriğine bağlı olduğundan, metabolizmanın yanısıra oksijen kullanımı üzerinde de belirgindir. Bu nedenle Hb miktarı ve RBC sayısı kirlilik stresinin yansıtıcıları olarak alınır. Farklı lökosit tipleri ve sayısındaki değişiklikler, balıklarda artan stresin ana göstergelerinden biridir (Wedemeyer *et al.* 1990). Ek olarak, stresörlere verilen fizyolojik tepkiler, uygun tepkinin organizasyon aşamasına göre birincil, ikincil ve üçüncül olarak oluşur. Bu tepkilerin çeşitliliği, balıklarda stresin nicel göstergeleri olarak kullanılmaktadır. Birincil stres tepkileri, katekolaminlerin HSC eksenini ve kortizolün HPI tarafından sentezlenmesini ve salınmasını içerir (Schreck and Tort, 2016). İkincil tepkiler, bu hormonların etkisi ile desteklenir (Barton, 2002) ve stresli durumla başa çıkmak için enerji substratlarının mobilizasyonunu içerir (Koolhaas *et al.* 2011). Son olarak, uzun süreli stres dönemlerinden sonra yüksek kortizol seviyeleri büyümeyi, üremeyi, bağışıklık sistemini ve hatta hayatta kalmayı etkileyebilir (Schreck, 2010). Bu steroid hormonunun salınımı ve etkileri, stres etkenlerinin maruz kalma süresi ve yoğunluğu ile ilgilidir. Akut (kısa süreli) süreçler altında, plazma kortizol, eustress olarak bilinen bir süreç olan homeostatik bir durumun iyileşmesine yol açar (McEwen ve Wingfield, 2003). Ancak kronik durumlarda kortizol bazal seviyelere dönmez, allostatik yük balık toleransını açar ve fizyolojik etkiler artık adaptif olarak kabul edilmez (Schreck ve Tort, 2016; Jerez-Cepa *et al.* 2019).

Kortizol salgılanması, çeşitli stresörler aracılığıyla uyarılır. Kortikosteroid salınımı ile tetiklenen ana metabolik süreç, enerji rezervlerinin glikoliz ve glukoneogenez yoluyla mobilizasyonudur (Sadoul and Vijayan, 2016), hayvanın durumun enerjisel gereksinimlerini karşılamasını sağlar (Mommsen *et al.* 1999). Balıklarda kortizol, baş böbreği içinde seyrek olarak dağılan ve kana salınan böbrekler arası hücreler tarafından üretilir. Plazmadaki bağlanmamış kortizol, fizyolojik olarak aktif tek form olarak kabul edilir. Balıklarda kendi başına kortizol bağlayıcı globulin (CBG) tespit edilmemiş olsa da, diğer birçok omurgalıdan farklı olarak (Breuner & Orchinik, 2002), kortizolün biyoyararlanımını azaltan bazı moleküller tanımlanmıştır. Salmonidlerde, kortizolün % 30-55' inin plazmaya bağlandığı tahmin edilmektedir (Idler & Freeman, 1968). Bu bağlayıcı moleküllerin kesin doğası ve rolü hala net değildir. Plazmadan temizleme esas olarak katabolizma ve doku alımından kaynaklanır. Katabolizma, kortizolün 11 β -oksidasyonu ile farklı organlarda (örneğin, böbrek, karaciğer) meydana gelir ve biyolojik olarak aktif olmayan metabolit olan kortizolün salınmasıyla sonuçlanır (Mommsen *et al.* 1999). Hücreler tarafından kortizol alımı, molekülün hidrofobik ve yüksek oranda lipofilik yapısından dolayı muhtemelen pasif difüzyonla gerçekleşir. Hedef dokuların hücrelerine girdikten sonra kortizol, glukokortikoid ve mineralokortikoid reseptörlerine (GR ve MR) bağlanır. Daha sonra gen ekspresyonunu modüle eder (Faught *et al.* 2016; Sadoul and Geffroy 2019). Glukokortikoidler, organizmaların stresörlerle başa çıkmasına izin veren hücresel süreçlerin kritik düzenleyicileridir. Teleostlarda kortizol, dolaşımdaki birincil glukokortikoiddir ve bu hormon bir dizi fizyolojik tepkiye, en önemlisi akut stres adaptasyonu için gerekli olan enerji substrat mobilizasyonuna aracılık eder. Kortizol sinyali kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Bu çalışmaların çoğu, bir ligand-bağlı transkripsiyon faktörü olan glukokortikoid reseptörünün (GR) aktivasyonu ve ilişkili aşağı akış transkripsiyonel ve protein tepkileri üzerine olmuştur. Bu hormonun akut stres adaptasyonundaki rolüne rağmen, çok az sayıda çalışma bu hormonun hücresel fonksiyon üzerindeki hızlı etkilerini incelemiştir. Hızlı (saniye - dakika) olan ve transkripsiyon ve translasyondan bağımsız olan nongenomik kortikosteroid etkileri, ikinci haberci yollarında ve efektör proteinlerde değişiklikleri içerir. Ancak bu yol aktivasyonunda yer alan birincil reseptörler belirsiz kalır. Kortizolün ölçülmesi, belirli bir stres etkeninin balıklar üzerindeki etkisini değerlendirmek için uzun zamandır mükemmel bir yaklaşım olmuştur. Artık plazmada iyi kabul edilen bir akut stres göstergesidir, ancak allostatik aşırı yüklenmenin bir sonucu olarak HPI duyarsızlaşması nedeniyle mutlaka bir kronik stres durumunu yansıtmaz (Aerts *et al.* 2015).

Oksidatif stres, insanlarda ve hayvanlarda toksisitenin ana mekanizması olan ve izleme çalışmalarında yararlı bir parametre olarak pestisitlerin neden olduğu olumsuz etkileri gösteren bir veri olarak bildirilmiştir. ROS' taki dengesizlikleri, çeşitli antioksidan enzim seviyelerinde

ve lipid peroksidasyonunda değişikliklere yol açan antioksidan savunmaları içerir. Oksidatif stres, pro-oksidanlar ve antioksidanlar oranı arasında bir dengesizlik olduğunda gelişir ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna yol açar. Çevresel kirleticiler ROS retimi ile suda yaşayan organizmalarda oksidatif hasara neden olduğu bilinmektedir (Nwani,2013). Son çalışmalarda da balıklardaki pestisit toksisitesinin bir sonucu olarak artan reaktif oksijen türlerinin oksidatif hasara neden olduğu belirlenmiştir. Oksidatif stres genotoksik etkilere, lipid peroksidasyonuna ve enzim inhibisyonlarına neden olarak hücre ve canlı yaşamını önemli ölçüde olumsuz etkilemektedir. Balıklarda da bu oluşan oksidatif stresle baş etmek için önemli savunma mekanizmaları bulunmaktadır. Bununla birlikte, çoğu araştırma, ROS'u doğrudan detoksifiye eden birincil antioksidan enzimleri ve işlevlerini destekleyen ilişkili enzimleri içeren yüksek moleküler ktelli antioksidanların çalışmasına odaklanmıştır. Birincil antioksidan enzimler arasında $O^{\cdot -2}$ 'yi H_2O_2 ' ye dönüştüren süperoksit dismutaz (SOD, EC 1.15.1.1) ve moleküler oksijen, H_2O_2 ' yi yok eden katalaz (EC 1.1.1.1.6) ve glutatyon bağımlı peroksidaz (GPx, EC 1.11.1) gibi peroksidazlar bulunur. Bunlar arasında SOD ve CAT antioksidan savunma sisteminin önde gelen enzimleridir. SOD, süperoksit radikalının hidrojen peroksite indirgenmesini katalize ederken, CAT onu oksijen ve suya dönüştürür. Öte yandan GSR, oksitlenmiş glutatyonun (GSSH) indirgenmiş glutatyona (GSH) katalitik dönüşümüyle normal GSH seviyesini korur. Normal GSH seviyesi, serbest radikallerin, özellikle hidrojen peroksitin (H_2O_2) indirgenmesi için bir n aşamadır. Genellikle, serbest radikallerin nötralizasyonu sırasında GSH tükenir (Awasthi, 2018). GSH (L-glutamil-sistenil-glisin), SOD ve CAT gibi hücreleri oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı koruyan önemli bir enzimatik olmayan antioksidan molekdr. Pestisitlerin toksik etkilerinden biri de lipid peroksidasyonuna yol açmalarıdır. Hücre zarlarının yapısal ve işlevsel bütünlüğünün bozulmasına neden olan lipid peroksidasyonu oksidatif stresin önemli belirteçlerinden biridir ve malondialdehit (MDA) düzeylerinin ölçülmesiyle gösterilebilmektedir (Fırat, 2018).

Bağışıklık tepkisi, bir canlının yabancı maddeleri “kendinden” ayırt etmesine ve onları devre dışı bırakmasına ve/veya ortadan kaldırmasına olanak tanıyan, homeostatik bir süreçle dengelenmiş karmaşık, çok hücreli, metabolik veya fizyolojik süreçlerin bir dizisi olarak tanımlanır (Magnadttir, 2006). İmmün fonksiyonlar ve bunların etkinliği, organizmada immünsüpresyon veya immnostimlasyon süreçlerine yol açan çeşitli eksojen ve endojen faktörlerden etkilenir (Nawaz *et al.* 2018). Hücresel savunma sistemi, işlevi ROS seviyesini düzenlemek olan antioksidan enzimler üretir. Bu tür enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikler ilgili organizmada oksidatif stres olasılığını daha da artırır (Gupta, 2020). İnektisitlerin neden olduğu immnotoksiste, immünoglobulinlerin konsantrasyonu, immün hücrelerdeki fizyolojik değişiklikler ve sitokin üretimi dahil olmak üzere çeşitli parametrelere dayalı olarak

değerlendirilir (Yang *et al.* 2021). Sitokinler, bağışıklık, iltihaplanma ve hematopoeziye aracılık etmek ve düzenlemek için salınan proteinlerdir. Doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık sistemlerindeki çok işlevli enflamatuvar sitokinler, bağışıklık tepkileri ile hücre etkileşiminde önemli bir rol oynar (Secombes *et al.* 2001; Rehberger *et al.* 2021). Bu nedenle, TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi enflamatuvar sitokinlerdeki transkripsiyonel değişiklikler de balıklarda immünotoksisitenin indüklenmesi için önemli faktörlerdir. Ana proinflamatuvar sitokinler, Tümör nekroz faktörü-a (TNF-a), Interlökin 1 (IL-1) ve Interlökin 6 (IL-6) 'dan oluşur. TNF-a, hücre gelişimi, çoğalma, apoptoz, iltihaplanma ve bağışıklık mekanizmalarında bulunmaktadır. TNF- α genleri çeşitli balık türlerinde belirtilmiş olmasına rağmen biyolojik fonksiyonlarının detaylı araştırmalarla açıklanma ihtiyacı devam etmektedir. Nrf-2 aktivitesi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artmasında çok önemli bir katkısı bulunmaktadır. Çevresel kirleticilerin metabolizmasından ve oksidatif strese karşı savunma sürecinden kaynaklanır. Bir pleiotropik sitokin olan IL-6, sadece humoral immün yanıtta değil, bunun dışında B hücrelerinin plazma hücrelerine farklılaşmasını indüklemeye de görev alır. Aynı zamanda antikor salgılayan hücreler için de antikor üretir (Uçar *et al.* 2022). Sıklıkla immüno-uyarıcılar olarak tanımlanan birçok doğal veya sentetik immüno-uyarıcı ajan, patofizyolojik süreçleri normalleştirme veya modüle etme yeteneğine sahiptir. Ayrıca, immünomodülatörler, immün restoratifler, immüno-arttırıcılar veya biyolojik tepki modifiye ediciler olarak bilinen doğuştan gelen (spesifik olmayan) veya adaptif (spesifik) bağışıklıkların herhangi bir bileşenini modüle edebilir, baskılayabilir ve/veya uyarabilirler (Hoseinifar *et al.* 2020).

Balık eritrositleri oksidatif strese duyarlıdır ve bu nedenle oksidatif stres kaynaklı apoptoz için model olarak kullanılır (Li *et al.* 2013). Hidroksil radikalleri, balık eritrositlerinde kaspaz proteinlerinin aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum üretimini ve apoptozu indükler (Li *et al.* 2015). Bu apoptoz süreci, mitokondriden sitokrom c' nin salınmasını ve ardından kaspaz-9 ve kaspaz-3' ün aktivasyonunu takiben DNA parçalanmasını içerir (Li *et al.* 2016). Kirleticilerin sebep olduğu oksidatif stres, lipidler, DNA ve proteinler gibi hücresel makromolekülleri bozabilir. Hücre ölümü, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve protein peroksidasyonu, oksidatif stresten sonra apoptotik veya nekrotik mekanizmalarla ortaya çıkar. Apoptozun (programlanmış hücre ölümü) çok önemli bir fenomen olduğu ve bundan dolayı birçok bozukluk ve hastalığın balıklarda hücre proliferasyonu/farklılaşmasına ve hücre ölümüne sebep olabileceği öngörülmektedir (Uçar *et al.* 2022). 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin (8-OHdG), DNA'daki reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu yirmi üç oksidatif baz hasarının en yaygın ve duyarlı olanıdır. Oksidatif hasarın en önemli göstergesi olan 8-OHdG, DNA uyarımı sonucu oluşur ve oksidatif strese bağlı olarak artış gösterir. Apoptoz; (i) reseptör aracılı apoptotik yol ve (ii) mitokondri aracılı apoptotik yol olmak üzere iki farklı şekilde

gerçekleşmektedir. Bu yolların her ikisi de efektör kaspaz olarak kaspaz-3 ile çalışmaktadır. Kaspaz-3, hem mitokondriyal hem de apoptotik yolların düzenlenmesinde önemli bir moleküldür, aynı zamanda hücre apoptozunu ve nekrozunu indükleyen reaktif oksijen türlerinin üretimi ile aktive edilebilir (Uçar *et al.* 2022).

DNA hasarına sebebiyet veren çevresel faktörler fiziksel ve kimyasal ajanlardır. DNA üzerinde 23 farklı tipte oksidatif baz hasarı vardır ancak, en fazla bulunan baz modifikasyonu 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG)' dir. Bundan dolayı, en yaygın olarak ölçülen baz hasarı 8-OHdG' dir ve oksidatif DNA hasarının bir belirteci olarak kabul görmüştür. DNA hasarının oluşumunda poli (ADP-riboz) polimeraz enzimi (DNA Polimeraz enzimleri) inhibe olur ve DNA kırılmaları meydana gelir. DNA hasarı durumunda hücre apoptoza yönlendirilerek elimine edilir. Apoptotik programın merkezi bileşeni kaspazlardır. Kaspaz aktivasyonu hücreye özgüdür ve kaspaz inhibitörlerinin (IAP) efektör kaspazları inhibe ettiği ve apoptozu inhibe ettiği belirtilmiştir (Alak *et al.* 2020). Yüksek seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROS) ve/veya baskılanmış antioksidan savunmalar, DNA oksidasyonuna ve özellikle çevresel genotoksik maddeler bağlamında genotoksisitenin altında yatan iyi bilinen bir süreç olan, sabit durumdaki onarılmamış DNA seviyelerinin artmasına neden olabilir (Guilherme, 2012).

Güncel literatürlerde, neonikotinoidlerin, besin ağını kesintiye uğratarak (Yamamuro *et al.* 2019; Li *et al.* 2020) dolaylı olarak balıkçılık verimini azalttığını ve ayrıca omurgalıların gelişimini, üremesini ve davranışlarını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (Thompson *et al.* 2020). Neonikotinoidlerin hidrofilik doğası ve bunun sonucunda sucul sistemlerde kalıcılığı, hedef olmayan organizmalar için maruz kalma süresini uzatır. Bu bulgular, neonikotinoidlerin biçimlerinin ötesinde, özellikle çevreyle ilgili konsantrasyonlarda maruz kalma sırasında ek toksisite yollarının araştırılmasına yönelik acil bir ihtiyacı ortaya koymuştur.

Bu doğrultuda çalışmanın amacı, TMX insektisitinin *O. mykiss*' in kan dokusunda neden olduğu oksidatif stresi iyileştirmek için antioksidan potansiyeli olduğu düşünülen UX takviyesinin potansiyel rolü ve koruyucu mekanizma etkisinin bir incelemesini sunmaktır. Bunların yanısıra, günümüzde kullanılan piretroidin neden olduğu oksidatif stres aracılı toksisitenin bütünleşik bir anlayışı da ortaya konulmuştur.

KURAMSAL TEMELLER

Shen *et al.* (2021), miklobutanil (MYC) ve thiamethoxam' ın (THI) zebra balığı (*Danio rerio*) üzerindeki kombine toksik etkisinin çoklu biyobelirteçler kullanarak incelendiği araştırmada, MYC ve THI kombinasyonlarının, zebra balığı embriyolarında sinerjik toksisite meydana getirdiği bildirilmiştir.

Victoria *et al.* (2022), minnowların TMX'in akut ve kronik maruziyetin nörodavranışsal toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında, embriyoların TMX'e karşı akut maruziyetinin 1 dakika içinde spontan kasılmaları uyarmadığı saptanırken, embriyoların 1.57 µg veya daha fazla TMX/L'ye kronik etkisi altında mortalitenin artmasına ve spontan kasılma frekansında (SCF) hafiflemeye sebep olduğunu rapor etmişlerdir.

Jasmin *et al.* (2018), difenokonazol ve TMX' e maruz kalan balığın *Labeo rohita* türünde hematolojik parametrelerinde olumsuz bir etki ortaya çıkardığını bildirmişlerdir. Bu değişikliklerin, balıkların hayatta kalmalarını bozabilecek potansiyelde olduğunu, balık sağlığının değerlendirilmesinde balıkçılık yöneticilerine ve biyologlara yardımcı olabilecek değerli bilgiler sağlayacağını kaydetmişlerdir.

Hasan *et al.* (2022) bantlı gurami (*Trichogaster fasciata*) balığını TMX' in (0, 0.02, 0.2, 2, 20, 200 mg/L) farklı dozlarına 3 gün süreyle maruz bırakarak yumurtadan çıkma oranı, kuluçka süresi, ölüm oranı, embriyo ve larvaların malformasyonları incelemiştir. Embriyo için TMX' in 24 saatlik LC₅₀' si 4,24 mg/L, 1 günlük larvalar için 24 saat, 48 saat, 72 saat ve 96 saatlik LC₅₀ değerlerinin ise sırasıyla 12.20, 3.80, 0.78 ve 0.27 mg/L olduğu belirlenmiştir. Genel gelişimsel malformasyonlar arasında lordoz, notokord anormalliği, yolk kesesi ödemi, koyu kahverengi yolk kesesi, kanama ve düzensiz kuyruk yüzgeci olduğu saptanmıştır.

Yang *et al.* (2020), TMX, klorpirifos, beta- sipermetrin, tetrakonazol ve azoksistrobin pestisitlerinin *Gobiocypris rarus* türü üzerinde tekli ve birleşik toksisitelerini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarda TMX'in, 37,85 ila 351,9 mg / L⁻¹ arasında değişen LC₅₀ değerleriyle en düşük toksik etkiyi gösterdiği, thiamethoxam-tetraconazole pestisit karışımının *G. rarus*' a karşı sinerjik toksisite meydana getirdiği rapor edilmiştir.

Roy *et al.* (2011), Thiamethoxam (TMX)' in *Oreochromis niloticus* üzerinde subletal konsantrasyonlarının etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarda; hemoglobin, eritrosit, lökosit sayısı gibi önemli hematolojik parametrelerde, TMX uygulaması sonrasında anlamlı bir

değişimin olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda bu insektisit hematojik parametrelerde olumsuzluklara sebep olduğunu ve bunun da balıkların hastalıklarla mücadele kabiliyetinin bozulmasına ve sonuçta hayatta kalma şansının azalmasına yol açtığını rapor etmişlerdir.

Stonayova *et al.* (2016), TMX'in farklı konsantrasyonlarının (6.6 mg l^{-1} , 10 mg l^{-1} ve 20 mg l^{-1}) 96 saat boyunca *Aristichthys nobilis* türünde etkisinin araştırıldığı çalışmada; laktat dehidrojenaz enzimleri (LDH), aspartat aminotransferaz (ASAT) ve alanin aminotransferaz (ALAT) parametreleri ölçülmüştür. Balıkların enzimatik aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla önemli seviyede arttığı ($p < 0.05$) bildirilmiştir. Aynı zamanda, enzimatik aktivite, artan TMX konsantrasyonlarıyla orantılı olarak artış göstermiş ve karaciğer dokusunda insektisit konsantrasyonu ile biyokimyasal değişikliklerin yanı sıra histolojik ve histokimyasal değişikliklerin ekspresyonunun şiddeti arasında bir ilişki olduğu rapor edilmiştir.

Yan *et al.* (2015), TMX' in farklı konsantrasyonlarının (0.30 , 1.25 ve 5.00 mg/L) *Danio rerio* türünde 7., 14., 21. ve 28. günlerde toksik etkilerini araştırmak için reaktif oksijen türleri (ROS), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon-s-transferaz (GST), malondialdehit (MDA) içeriği ve DNA hasarı incelenmiştir. Kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında, maruziyet döneminde ROS düzeyinde artış belirlenmiştir. SOD ve CAT aktiviteleri, erken maruziyet sırasında önemli ölçüde artmış ve ardından inhibisyona uğramıştır. GST aktivitesi sadece 28. günlerde artış gösterirken, MDA içeriği 21. ve 28. günlerde yükselmiştir. Ek olarak, DNA hasarı için açık bir doz-yanıt ilişkisi bulunmuştur. Sonuç olarak, TMX' in zebra balığı üzerinde oksidatif stres ve DNA hasarına neden olabileceği rapor edilmiştir.

Georgieva *et al.* (2014), TMX' in *Cyprinus carpio* solungaçlarının histolojik yapısı üzerindeki etkisini araştırmışlardır. TMX' in üç farklı (6.6 , 10 ve 20 mg/l) konsantrasyonuna maruz bırakıldıktan sonra elde edilen sonuçlarda; solungaç epitelinde, ödem, glandüler hücrelerin proliferasyonu ve epitelyum, solungaç filamentini kapsayan farklı histolojik değişiklikler, füzyon ve dejeneratif değişiklikler belirlenmiştir. Ayrıca, ekspresyon derecesi artan TMX konsantrasyonlarıyla orantılı olan solungaç histolojik değişikliklerinin artmasına yönelik bir eğilim olduğu bildirilmiştir.

Hasan *et al.* (2022) TMX' in *Trichogaster fasciata* karaciğer ve böbrek dokuları üzerindeki etkisi histopatolojik gözlemler kullanılarak incelemiştir. Balıklar, 90 gün boyunca TMX' in (9.37 , 18.75 , 37.5 , 75 ve 150 mg/L) ve 0 mg/L 'nin (kontrol) beş konsantrasyonuna (üç tekrür) maruz bırakılmıştır. TMX maruziyetinin 30, 60 ve 90. günlerinde balık karaciğerleri ve böbreklerinde histopatolojik değişiklikler karaciğerde otoliz,

akut hücre şişmesi, vakuolasyon, nekroz ve yağlı değişiklik; böbrekte de düzensiz renal korpüskül ve hücresel doku bozulması ortaya çıktığı bildirilmiştir.

Saraiva *et al.* (2017), TMX' in *Chironomus riparius* üzerindeki akut ve kronik etkilerini (organizma ve biyokimyasal düzeylerde) belirlenmesi için 48 saatlik uygulama yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, düşük TMX konsantrasyonlarının Cat aktivitesini ve LPO seviyelerini önemli ölçüde azalttığını; AChE, GST ve ETS faaliyetlerinde değişimin olmadığı bildirilmiştir. TMX konsantrasyonlarına maruz kalan *C. riparius*' un hayatta kalma, gelişme oranları ve biyokimyasal tepkileri açısından sonuçlar değerlendirildiğinde bu neonikotinoidin tarım alanlarına yakın olan tatlısu ortamlarında yaşayan su böcekleri üzerindeki potansiyel zararlı etkilerinin olduğu bildirilmiştir.

El Euony *et al.* (2020), Afrika yayın balıklarında (*Clarias garipenus*) tiamethoxam (TMX) kaynaklı hepatorenal hasar, oksidatif stres ve immünotoksisitenin modülasyonunda probiyotik *Bacillus subtilis* (BS) ve *Thymus vulgaris* esansiyel yağının (TVEO) modülatör rolü araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlarda, BS veya TVEO' nun birlikte uygulamasının, TMX' in toksik etkilerini kısmen azalttığı, TVEO' nun yayın balığı diyetlerine dahil edilmesinin, potansiyel anti-inflamatuvar, antioksidan, anti-apoptotik ve bağışıklık uyarıcı etkilerine yanıt olarak TMX kaynaklı toksisiteye karşı BS' den daha iyi koruma sağladığını rapor etmişlerdir.

Kocamaz and Oruc 2020, *Oreochromis niloticus* balığında TMX ve λ cyhalothrin' in endokrin bozucu etkileri araştırılmıştır. Balıklar, 7 ve 15 gün boyunca 96-h LC50 değerinin 1/20, 1/10'u kadar tiametoksam ve λ sihalotrin (477,29 mg/L, 2,901 μ g/L)'ye ayrı ayrı ve karışımlar halinde maruz bırakılmıştır. Balıklar daha sonra 7 gün boyunca pestisit içermeyen suda depurasyona tabi tutulmuştur. Sonuçlar, asetihkolinesteraz, katalaz ve estradiol/testosteron seviyelerinin azaldığını, etoksiresorufin-Odeetilaz (EROD), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon (GSH) ve protein karbonil (PCO) miktarının arttığını göstermiştir. İyileşme döneminden sonra EROD, GST, malondialdehit, estradiol/testosteron seviyeleri kontrole göre daha düşük bulunmuştur. Pestisit karışım grubunda antioksidan enzimlerin aktivitesi en yüksek olmuş ve hormon seviyesi düşmüştür. Karışım pestisit grubu, yalnızca tiyametoksam veya λ sihalotrin maruziyetinden daha yüksek lipid peroksidasyonu ve protein karbonilasyonu göstermiştir. Sonuç olarak, insektisit karışımı, bireysel pestisit maruziyetine kıyasla tilapia gonadı üzerinde daha toksik bir etki göstermiştir. Ayrıca 7 günlük depurasyon süresinin çalışılan insektisitlerin toksik etkilerini gidermesi için yeterli olmadığı rapor edilmiştir.

Ghaffar *et al.* (2020), *Labeo rohita* balığını 120 saat boyunca çeşitli konsantrasyonlarda (0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2,0 mg/L) TMX' e maruz bırakmıştır. Sonuçlar, TMX uygulanmış balıklarda,

RBC' ler, PCV ve Hb konsantrasyonlarının önemli ölçüde düşük olduğunu WBC' ler ve nötrofil sayılarının önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Çeşitli nükleer (mikronükleus, nükleer kalıntılı eritrositler, yoğun çekirdekli eritrositler ve çekirdeksiz eritrositler) ve morfolojik değişikliklerin (leptositler, stomatositler, bölünen eritrositler) sıklığı, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Hussain *et al.* (2020), *Labeo rohita* balığını TMX' in farklı (0, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 µmg/L) konsantrasyonlarına maruz bırakmış, TMX uygulanmış balıklarda üre ve kreatinin konsantrasyonlarında önemli ölçüde ($p<.05$) artışın olduğunu belirlemişlerdir. TMX' e maruz kalan balıklarda karaciğer fonksiyon testleri (aspartat aminotransferaz, aspartat aminotransferaz ve alkalın fosfataz), kardiyak fonksiyon testleri (kolesterol, trigliseritler) ve lipid peroksidasyon ürünü (malondialdehit konsantrasyonları) konsantrasyonları önemli ölçüde artarken serum toplam proteinleri ve globulinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Ayrıca, TMX ile muamele edilmiş balıklarda DNA içeriğinin önemli ölçüde arttığı rapor edilmiştir.

Veedu *et al.* (2022), *Catla catla* balığında asetamiprid (0,5 mg/L ve 1 mg/L) ve TMX' in (0,01 mg/L ve 0,5 mg/L) tek ve birlikte (0,5 mg/L asetamiprid + 0,01 mg/L TMX) toksisitesinin araştırıldığı çalışmada, solungaç dokusunda SOD aktivitesinde önemli bir azalma meydana gelirken, ikili karışımlar uygulanmasının SOD aktivitesini büyük oranda artırdığı rapor edilmiştir.

Uçkun *et al.* (2021), *Astacus leptodactylus* türünde TMX' in çeşitli biyobelirteçler (asetilkolinesteraz, karboksilesteraz, glutatyon S-transferaz, glutatyon, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz ve adenosintrifosfatazlar) kullanılarak etkisi incelenmiştir. 96 saatlik LC₅₀ değeri 8,95 mg olarak hesaplanan TMX' in dozu artırıldığında, antioksidan enzimlerin inhibisyonu/aktivasyonu ile oksidatif stres indüklenirken, asetilkolinesteraz, karboksilesteraz ve adenosintrifosfatazların aktivitelerinin inhibisyona uğradığı ve TMX' in kerevitler üzerinde oldukça toksik etkisi olduğu rapor edilmiştir.

Mukherjee *et al.* (2022), TMX' in subkronik ve kronik süreleri kapsayan subletal toksisitesinin *Clarias batrachus*' ta araştırıldığı çalışmada 96 saatlik LC₅₀ değeri 138,60 mg/L olarak belirlenmiştir. Biyobelirteç etkileri, solungaç ve karaciğer dokusunda antioksidan enzim yanıtları (CAT, SOD), nörotransmisyon (asetilkolinesteraz aktivitesi), hematolojik ve serum biyokimya değişiklikleri (hemogloblin içeriği, toplam eritrosit sayısı ve serum albümin toplam lökosit sayısı, toplam serum proteini, serum globulin, trigliserit, kolesterol dahil yüksek yoğunluklu lipoprotein, çok düşük yoğunluklu lipoprotein, düşük yoğunluklu lipoprotein, fosfolipit ve toplam serum glikozu) ve histopatolojik değişiklikler kullanılarak belirlenmiştir. TMX' e maruz kalan balıklarda hemogloblin içeriğinde, toplam eritrosit sayısında ve serum

albümin seviyelerinde belirgin bir azalma belirlenirken solungaç ve karaciğer antioksidan enzim aktivitesi (CAT, SOD) ve nörotransmisyon (asetilkolinesteraz) da 15. günde sub-kronik maruz kalma ile 45. günde kronik tepkiler arasında tepkiler kaydedilmiştir.

Zhu *et al.* (2019) tarafından *Gobiocypris rarus* türü TMX' in farklı (0, 0.5, 5 ve 50 µg/L) konsantrasyonlarına 90 gün boyunca maruz bırakılmıştır. Farklı cinsiyetlerde vücut uzunluğunda ve plazma T4'te azalma olduğu, 50 µg/L tiyametoksam uygulamasında her iki cinsiyette de karaciğerde histolojik hasar ve gecikmiş gonadal gelişim olduğu rapor edilmiştir.

Temiz *et al.* (2021), *Oreochromis niloticus* türünün karaciğer ve beyin dokusunda TMX' in farklı (50, 100 ve 150 mg/L) konsantrasyonlarının toksik etkisini inceledikleri araştırmada, TMX' in oksidatif stres biyobelirteçleri, genotoksisite parametresi 8-OHdG seviyeleri ve HSP70 seviyelerindeki değişiklikler ile model organizmada toksik etkilere neden olduğunu rapor etmişlerdir.

Ergenler *et al.* (2022), *Cyprinus carpio* türünü TMX'in farklı (1.0, 1.5 ve 2,0 mg L⁻¹) konsantrasyonlarına maruz bırakmıştır. Genotoksik etkisinin mikronükleus testi kullanılarak belirlemeye çalışıldığı araştırmada elde edilen bulgularda en yüksek mikronükleus frekansı ve eritrosit anormallikleri 2,0 mg L⁻¹ grubunda (p<0.001), en yüksek hasar frekansları (%) 74.000±1.732 ve 68.000±1.732 olarak 2,0 mg L⁻¹ grubunda olduğunu kaydetmişlerdir. Sonuç olarak TMX' in *C. carpio*'daki mikronükleus ve DNA iplik kopmalarının sıklıklarında belirgin artışlar meydana geldiğini ve bu nedenle bu pestisit balıklar üzerindeki genotoksik potansiyeli olduğunu rapor etmişlerdir.

Fırat *et al.* (2018), *Oreochromis niloticus* türünü 4 ve 14 günlük sürelerle TMX' in farklı (60 ve 120 mg/L) konsantrasyonlarına maruz bırakmış ve solungaç ve bağırsak dokularında oksidatif stres parametrelerini incelemişlerdir elenmiştir. Elde edilen bulgularda; CAT, SOD aktiviteleri ile GSH ve MDA düzeyleri belirlenmiştir. TMX' in etkisinde özellikle de yüksek ortam derişiminde CAT aktivitesinde solungaç ve bağırsak dokularında 4 günlük süre sonunda anlamlı bir artış; 14 günlük süre sonunda ise solungaç dokusunda anlamlı bir azalış belirlenmiştir (P<0.05). SOD aktivitesi solungaçta her iki etki süresi sonunda insektisidin düşük ve yüksek ortam derişimlerinde; bağırsakta ise 14 günlük süre sonunda ve yüksek ortam derişiminde artış göstermiştir (P<0.05). GSH düzeyi özellikle de 120 mg/L TMX etkisinde her iki dokuda da 4 günlük süre sonunda anlamlı bir artış; 14 günlük süre sonunda ise önemli bir azalış göstermiştir (P<0.05). Solungaç ve bağırsak dokularındaki MDA düzeyi ise, 14 günlük süre sonunda thiametoksamın yüksek ortam derişiminde önemli düzeyde artmıştır (P<0.05). Sonuçlar değerlendirildiğinde, thiametoksamın özellikle de yüksek ortam derişiminde *O. niloticus*' ta oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

Alak *et al.* (2020), *Danio rerio* türünü 96 saat boyunca UX' in farklı (5, 10, 20 ve 40 mg/L) konsantrasyonlarına maruz bırakarak yaptıkları çalışmada kan ve karaciğer dokularında mikronükleus (MN) oranları, oksidatif DNA hasarı (8-OHdG), apoptoz (Kaspaz-3), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), miyeloperoksidaz (MPO), paraoksonaz (PON), arilesteraz (AR) ve lipid peroksidasyon (MDA) düzeylerini incelemişlerdir. UX ile genotoksik hasar, kan MN testinde sadece 40 mg/L' de ortaya çıktığı görülmüştür. Denenen bu dozda karaciğerde oksidatif stres, oksidatif DNA hasarı ve apoptoz meydana geldiğini de rapor etmişlerdir. Ayrıca, 5-20 mg/L dozları karaciğer dokularında antioksidan sistemi teşvik ederek DNA hasarı ve apoptoz düzeylerinin azalmasına sebep olduğu görülmüştür. UX, nispeten daha düşük dozlarda zebra balığının kan ve karaciğer dokuları üzerinde, beslenme ve tıbbi endüstrilerle ilgili olabilecek faydalı olabileceği de bildirilmiştir.



MATERYAL VE METOD

MFZ için LC₅₀96 Değerini Belirleme Prosedürü

Çalışmamızda LC₅₀96 değerini belirleme analizleri için, 7 konsantrasyon (100, 125, 150, 175, 200, 225, 250) TMX kullanıldı ve iki tekerrürlü deney yapıldı. Balıkların ölüm oranı, 96 saatlik deney süresi boyunca her 24 saatte bir TMX maruziyeti sonrasında belirlendi. 96 saatlik LC₅₀ değeri 0,73 olarak belirlenmiştir. LC₅₀ değerinin subletal dozuna (%50- 0,36 mg/lt) 96 saat süreyle maruz bırakılmış ve balıklardan 48. ve 96. saatlerde kan doku örnekleri alınmıştır. MFZ'nin *O. mykiss* üzerindeki akut toksik etkisini bulmak için LC50 belirleme yöntemi kullanıldı. EPA Probit Analiz Programında LC₅₀ değeri elde edilmiştir (V.1.5).

Alak *et al.* (2019,2021) zebrafish için ve Uçar *et al.* (2022) rainbow trout için, UX'in 18,75 mg/l konsantrasyonda antioksidan kapasiteyi desteklediğini açıkça göstermiştir. Bu nedenle çalışmada 18,75 mg/L Ulexite kullanılmıştır.

Deneme Prosedürü

Çalışmanın canlı materyalini oluşturan, ortalama ağırlığı 20-25 gr- 380 adet gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Atatürk Üniversitesi İç Su Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilerek iki hafta boyunca aklimizasyona tabi tutulmuştur. Bu balıklardan 140 tanesi ile 7 konsantrasyon x 2 tekerrürlü çalışılarak LC₅₀ değeri belirlenmiştir. Diğer 240 balık ile oluşturulan deneme düzeni; [kontrol grubu (TMX ve/veya UX uygulanmayan), TMX (0,36 mg/L), TMX+UX (0,36 mg/L + 18,75 mg/L), UX (18,75 mg/L)], n= 15 x 4 tekerrür şeklinde kurgulanmıştır.

Kan Örneklerinin Alınması

Deneysel prosedür tamamlandıktan sonra 48. ve 96. saatlerin sonunda steril şırınga ile kaudal venadan girilerek balıklardan kan örnekleri alınmış ve alınan kan örnekleri ikiye bölünerek bir kısmında hematolojik indeks değerleri belirlendi. Geri kalan kan santrifüjlenerek süpernatant kısmında oksidatif stres parametreleri, inflamasyon, DNA hasarı ve apoptoz analizleri uygun biyomarkerlar ile belirlendi (Uçar *et al.* 2021).

Hematoloji parametreleri

İlgili kan parametreleri lökosit sayısı (WBC), eritrosit sayısı (RBC), hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) hematolojik otoanalizör ile çalışıldı. Otoanalizörde okutulan örnekler için aynı zamanda manuel çalışılarak standardizasyon sağlandı.

Kortizol düzeyinin ölçülmesi

Çalışmada balık için hazırlanmış olan ELISA kit (BT LAB Bioassay Technology Laboratory Cat. No: EA0004FI) kullanıldı. Analiz esnasında kullanılacak tüm ajanlar ve standart solüsyonlar oda sıcaklığında 30dk bekletilip oda sıcaklığına getirilerek çalışmaya başlandı.

1. ELISA kit içerisindeki Microelisa Strip Plate kuyucuklarından kör olanlara substrat solüsyonu A, substrat solüsyonu B ve stop solüsyon eklendi.
2. Plate üzerindeki diğer kuyucuklara 50µl numune ve üzerine 50µl biyotin antijeni eklenerek playt shakerda 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.
3. İnkübasyon süresinden sonra hazırlanan yıkama solüsyonu ile her kuyucukda 300 ml olacak şekilde 5 kez yıkama yapıldı.
4. Yıkama işlemi tamamlanıp kurutulduktan sonra numune ve standart kuyucuklarına 50µl streptavidin-HRP çözeltisi eklendi. Kuyulardaki çözeltiler karıştırılıp plakanın üzeri kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.
5. İnkübasyon süresinden sonra hazırlanan yıkama solüsyonu ile her kuyucukda 300 ml olacak şekilde 5 kez tekrar yıkama yapıldı.
6. Yıkama işlemi tamamlanıp kurutulduktan sonra her bir kuyucuğa 50µl substrat solüsyon A ve ardından substrat solüsyon B eklenerek kuyucukların bulunduğu plaka 37°C’de karanlıkta playt shaker üzerinde 10 dakika bekletildi.
7. Süre tamamlanınca plaka üzerindeki her bir kuyucuğa 50µl stop solüsyonu eklenip 10dk içerisinde Microelisa Strip Plate üretici firma protokolü uygulanarak absorbansı 450 nm olan ELISA (Plate Reader) cihazında ölçüm yapıldı.
8. Standartlarının optik dansitelerine ve konsantrasyonlarına uygun standart grafiği çizilerek oluşturulan formüle göre örneklerdeki kortizol düzeyleri hesaplandı.

Antioksidan/oksidan enzim parametreleri

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, Sun *et al.* (1988)’e göre 550 nm’de süperoksit radikali tarafından sitokrom C azalma hızının inhibisyonu sonrasında belirlendi.

Catalaz (CAT) aktivitesi, Aebi, (1974)'e göre katalaz aktivitesinin H_2O_2 yıkımının spektrofotometrik yöntemle 240 nm' de ölçümü esasına göre belirlendi.

Glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi, Beutler, (1984)'e göre 340 nm'de nikotinamid adenin dinükleotit fosfatın (NADPH) t-bütül varlığında oksidasyonu yoluyla belirlendi.

Glutathion (GSH) seviyesi, Beutler and Kelly'nin (1963) yöntemine göre 5.5'-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit) (Ellmann çözeltisi) ve sülfhidril gruplarının sarı renk oluşumu prensibinden hareketle 412 nm' de ölçüldü.

Malondialdehit (MDA) seviyesi, Luo *et al.* (2016)' göre MDA'nın tiobarbütirik asit ile reaksiyonu sonucu oluşan pembe kırmızı rengin spektrofotometrik olarak 532 nm dalga boyunda ölçümü esasına dayanmaktadır.

Myeloperoxidase (MPO), Bradley *et al.* (1982)'e göre 460 nm dalga boyunda hidrojen peroksit varlığında o-dianisidin'in MPO ile oksidasyonundan kaynaklanan sarımsı-turuncu renkli kompleksin ölçümüne dayanmaktadır.

Tumor Necrosis Factor Alfa (TNF- α), düzeylerinin belirlenmesinde ELISA kit (YLA0053FI, YLbiant), **İnterlökin – 6 (IL-6)**, düzeyinin belirlenmesi için IL-6 ELISA kit (YLA 0017FI, YLbiant), **Nükleer faktör eritroid 2 düzeyinin (Nrf-2)**, belirlenmesi için ELISA kit (BT-LAB, E0254F) kullanıldı ve prosedür takibi yapılan tüpler inkubasyon sonucu 450 nm absorbansta okunarak hesaplandı.

DNA hasarı ve apoptoz parametreleri

Süpernatantlarda, ELISA Kiti aracılığıyla önerilen protokol izlenerek 8-OHdG [Fish (8-OHdG) Catalogue No: 201-00-0041/SunRed)] ve caspase-3 [Fish (CASP3) ELISA Kit (Catalogue No:201-00-0031) (SunRed trade)] seviyeleri belirlendi (Alak *et al.* 2018).

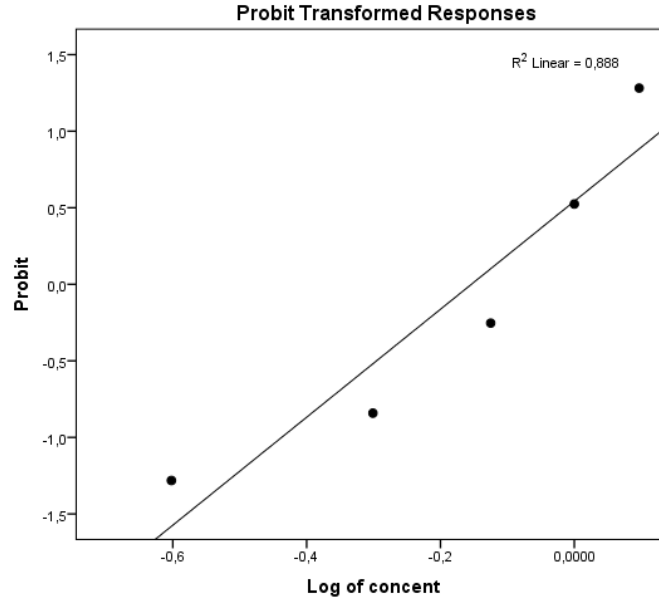
İstatistik Analizler

İstatistiksel analizler, SPSS istatistiksel analiz paketi (versiyon 24.0) kullanılarak yapıldı ve istatistiksel anlamlılık seviyesi 0,05 seviyesinde belirlenmiştir. Bu analiz sonuçlarına göre önemli düzeyde farklı çıkan uygulamalar için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. Veriler ortalama $\pm$ SD olarak verilmiştir.

ARAŞTIRMA BULGULARI

TMX LC₅₀96 Değerinin Belirlenmesi

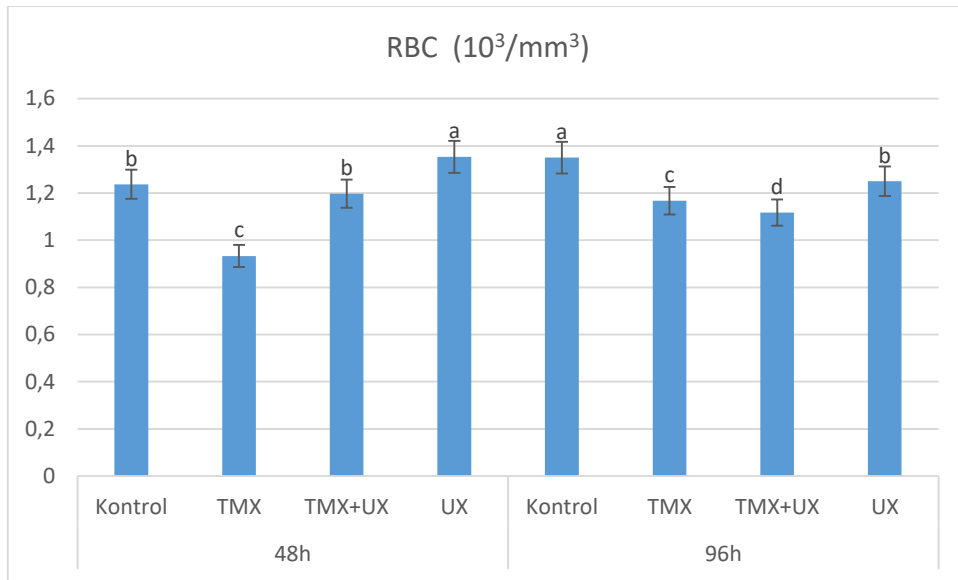
Mevcut çalışmada, Finney' in probit analizi, *O. mykiss* için TMX' in 96 saatlik LC₅₀'sinin ortalama değerinin 0,73 mg/L olduğunu göstermiştir (Şekil 2).



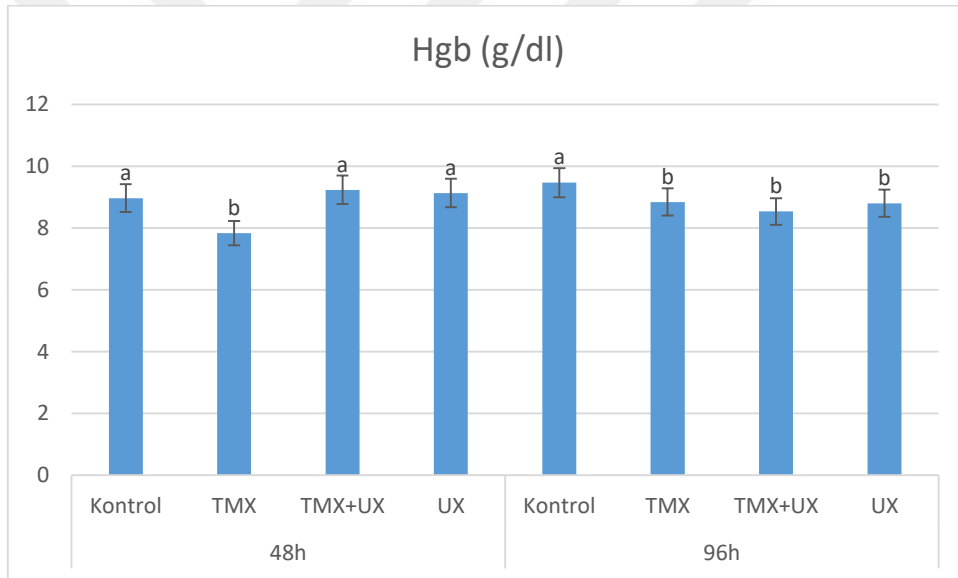
Şekil 2. TMX probit analizi

Hematimetrik indeksler

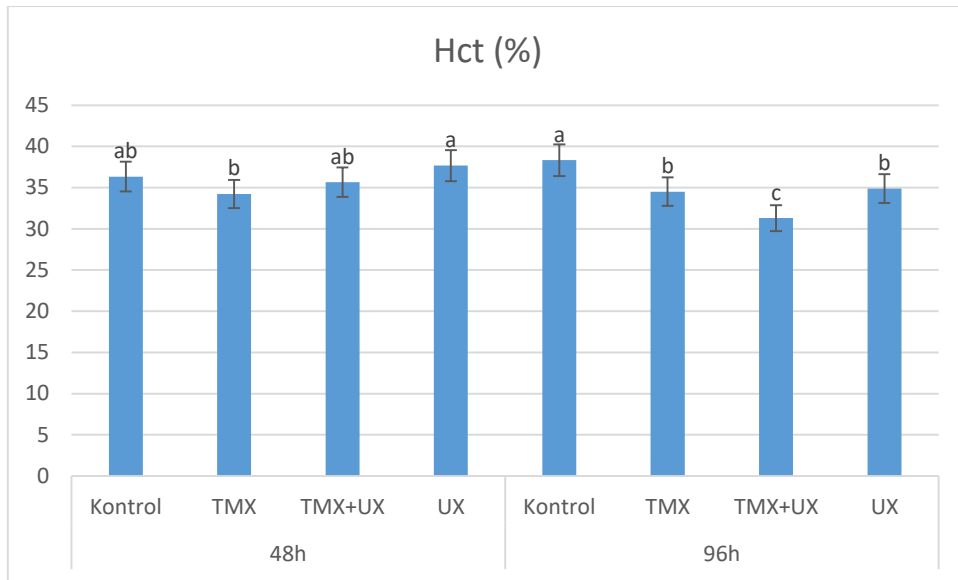
O. mykiss' in kan dokusunda 48. ve 96. saatlerde alınan kan örneklerinde incelenen hematoloji parametrelerinden RBC değerlerinde meydana gelen değişimlerin önemli olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). TMX+UX uygulanan grupta 48. saatte RBC kontrol grubu ile benzer bulunmuş, UX grubunda kontrol grubuna oranla daha yüksek oranda RBC tespit edilmiştir. 96. saat verilerinde ise kontrol grubuna oranla diğer tüm gruplarda meydana gelen değişimler anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). TMX uygulanan Hgb ve Hct değerlerinde 48. saat uygulamasında kontrol grubuna göre istatistik olarak önemli inhibisyonlar meydana gelmiştir. TMX+UX grubunda Hgb ve Hct parametrelerinde değişimler olmuş ve istatistik olarak kontrol grubuna yakın değerler tespit edilmiştir. Verilerimiz, uygulanan TMX' in *O. mykiss*' in hematopoetik dokusunda toksisite oluşturduğunu ve bu doğrultuda UX' inde potansiyel törepatik etkisini aktive ettiğini göstermektedir (Şekil 3-5).



Şekil 3. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu RBC sayısı. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

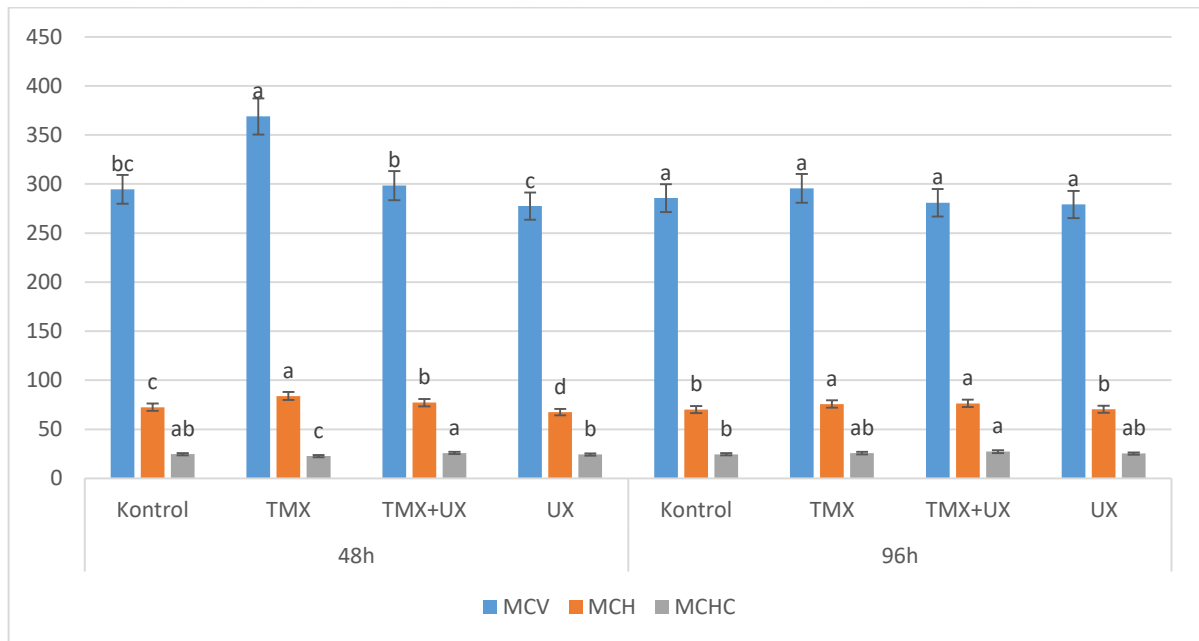


Şekil 4. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu Hgb seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi



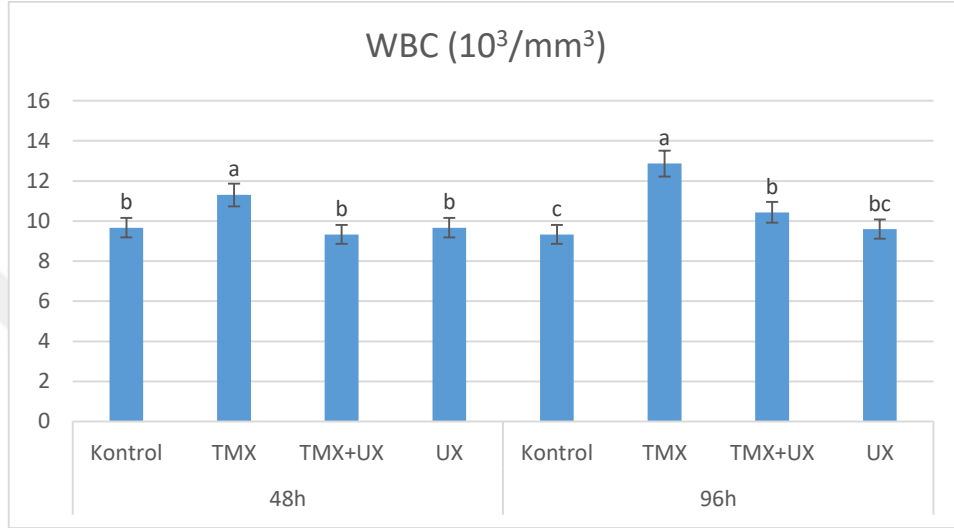
Şekil 5. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu Hct seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

RBC ile ilişkili olan MCV değerinde 48 saatte ortaya çıkan değişimler önemli olmasına rağmen 96. saatte meydana gelen farklılıklar istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. MCH ve MCHC değerlerinde ise zamana bağlı olarak önemli değişimler belirlenmiştir ($p < 0.05$). TMX ile birlikte uygulanan UX' in ortamda iyileştirici unsuru olarak denge oluşturmaya çalıştığı tespit edilmiştir (Şekil 6).



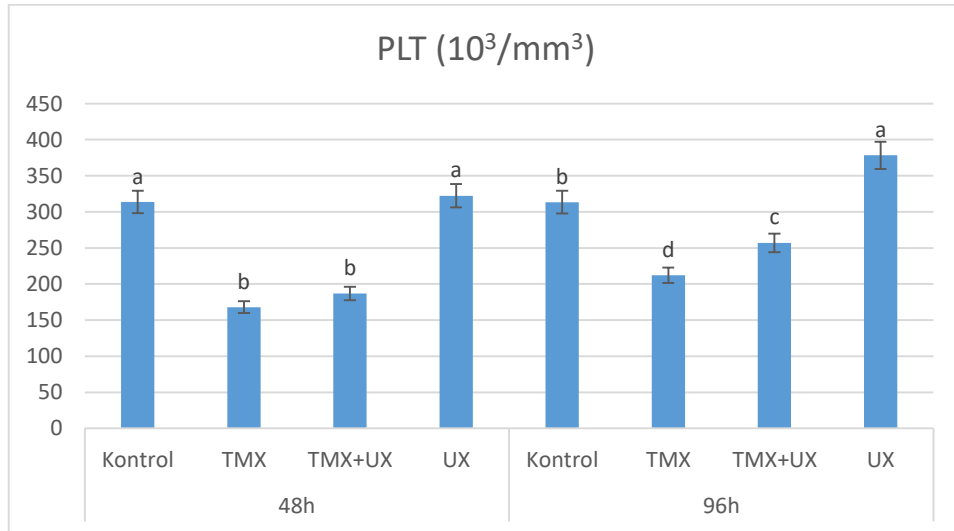
Şekil 6. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu MCV (mm³), MCH (mg/hücre) ve MCHC (mg/hücre) indeksleri. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

TMX uygulamasına maruz kalan *O. mykiss* ' in 48. saat ve 96. saatlerde WBC sayısının indüklendiği belirlenmiştir. Ortama UX' in ilavesiyle bu indüklenmenin yavaşladığı ve kontrole yakın değerlerin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. WBC sayısındaki zamana bağlı değişimler istatistik açıdan önemli olarak değerlendirilmiştir ($p<0,05$). WBC değerinin 96. saatte TMX uygulaması ile yüksek oranda indüklendiği ve TMX + UX' in WBC üzerinde olumlu katkıda bulunmaya çalıştığı tek başına UX uygulamasının ise kontrol grubuna yakın değerler oluşturduğu Şekil 7'de gösterilmiştir.



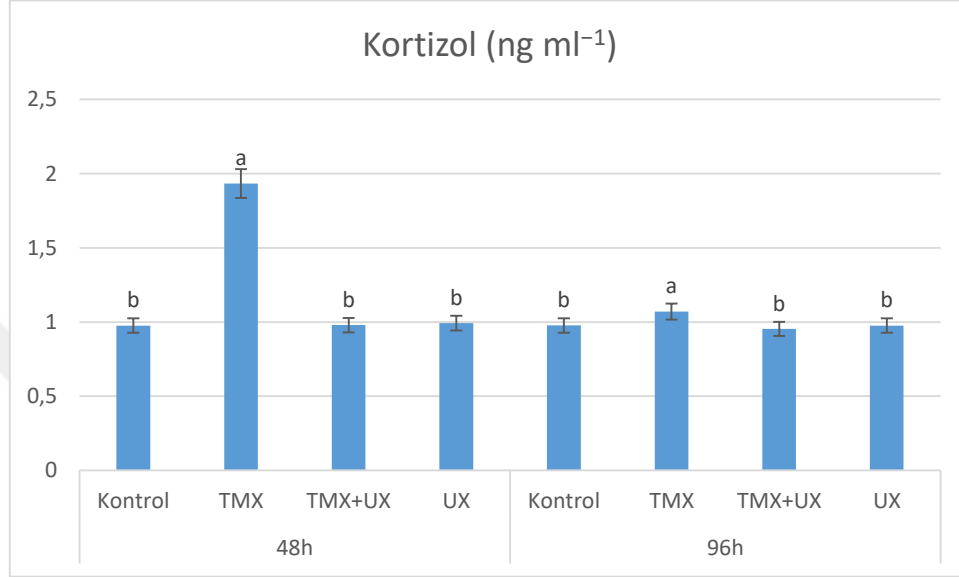
Şekil 7. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss* ' in kan dokusu WBC sayısı. Farklı harfler (a, b, c) istatisti olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

PLT değerleri dikkate alındığında zamansal olarak TMX' in tek veya UX ile birlikte uygulamasının kontrol grubuna göre inhibisyon oluşturduğu ve bu durumun istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 8).



Şekil 8. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss* ' in kan dokusu PLT sayısı. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

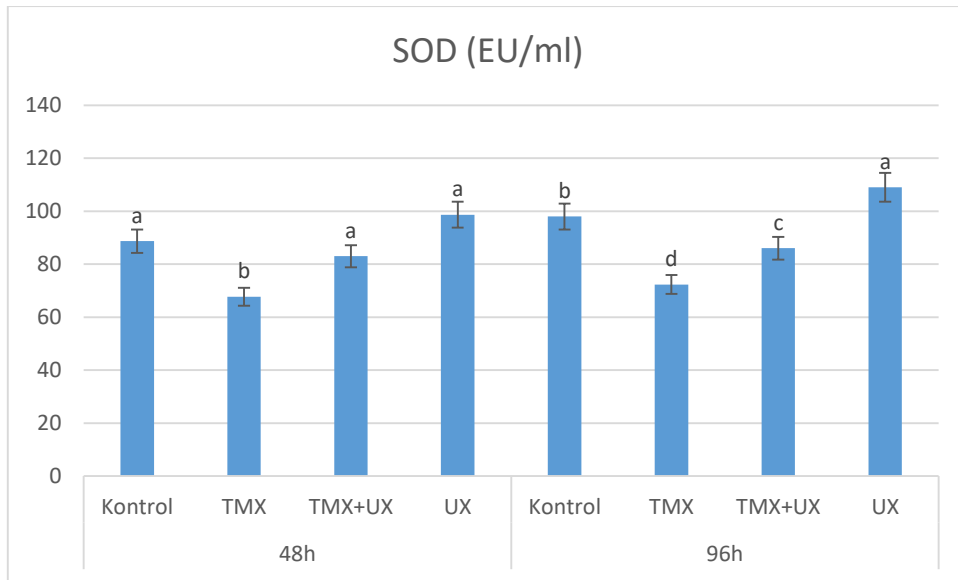
TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96) *O. mykiss*' in kan dokusu kortizol seviyesi 48. saatte önemli artış ile sonuçlandı. Kontrol, TMX+UX ve UX plazma kortizol seviyeleri farklılık göstermezken, TMX grubunun kortizol seviyeleri bu üç gruba kıyasla önemli ölçüde daha yüksekti. 96. saatte Kontrol, TMX+UX ve UX plazma kortizol seviyeleri benzer sonuçlar belirlenmiş ve TMX grubundaki artış istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. UX' in ortamda iyileştirici olarak kontrol grubuna benzer değerler oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 9).



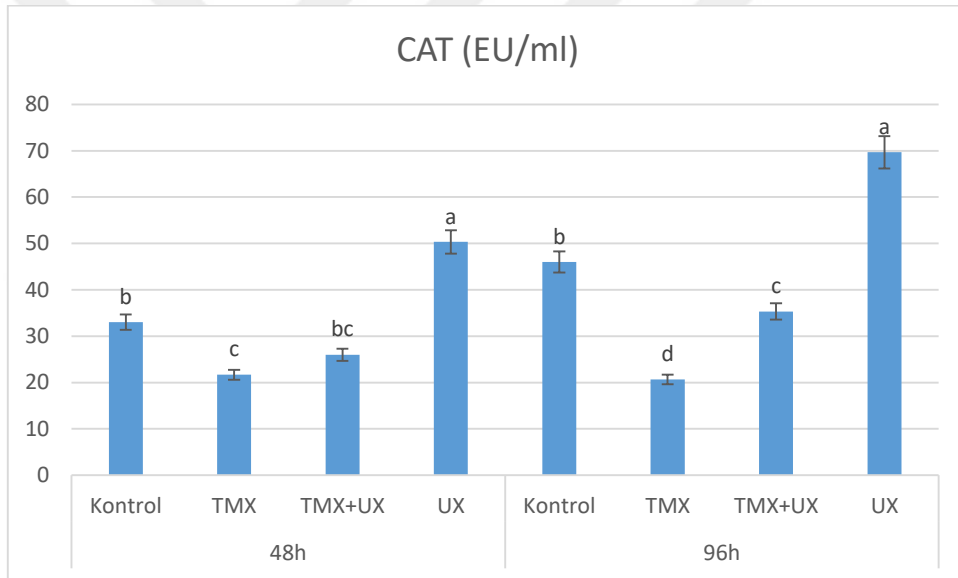
Şekil 9. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu kortizol seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi.

Hematik antioksidan indeksleri (SOD, CAT, GPx, GSH)

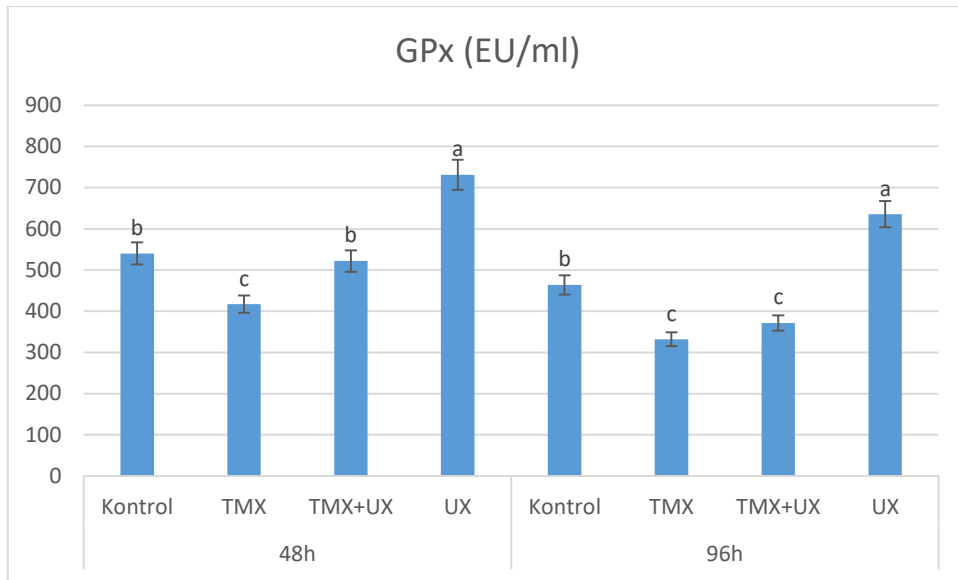
O. mykiss' in beyin dokusunda 48 ve 96 saat verileri incelendiğinde (oksidatif stres /antioksidan enzim) TMX uygulamasının oksidatif stres yönünde artış gösterdiği ve bu doğrultuda antioksidanların aktivitesini engelleyerek hücrelerin dengesini bozduğu elde edilen bulgularla anlaşılmıştır. SOD, CAT, GPx, GSH enzim aktivitelerinde TMX uygulaması ile inhibisyonlar oluşturduğu ve istatistik açıdan önemli olduğu ($p < 0.05$) Şekil 10-11-12-13'de gösterilmiştir.



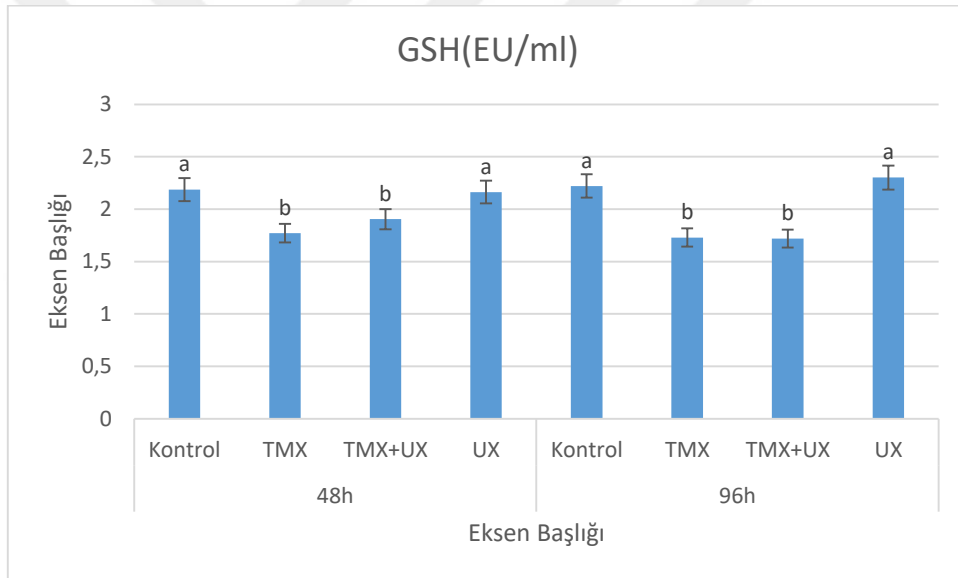
Şekil 10. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu SOD (EU/ml) seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi



Şekil 11. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu CAT (EU/ml) seviyesi. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi



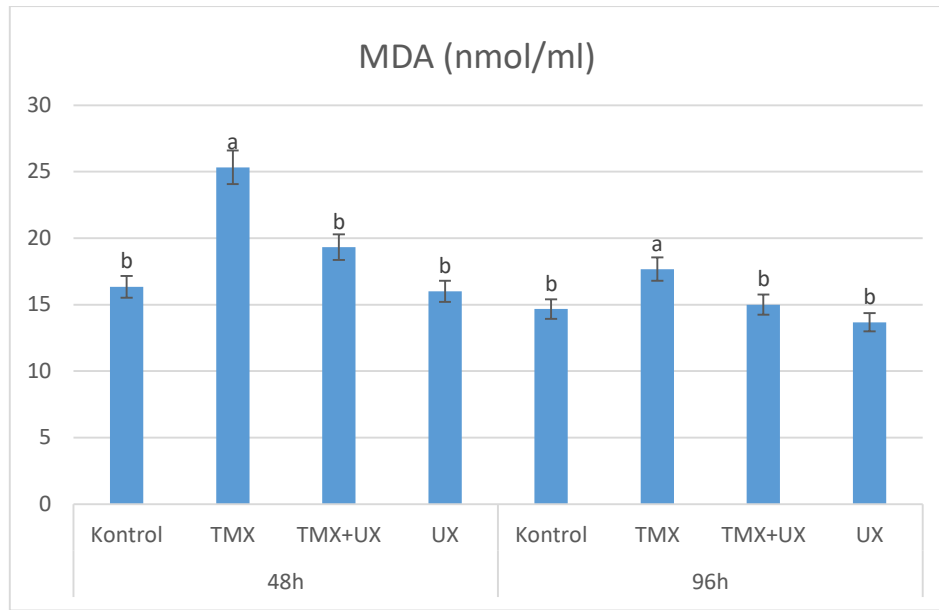
Şekil 12. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu GPx (EU/ml) seviyesi. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi



Şekil 13. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*'in kan dokusu GSH (EU/ml) seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

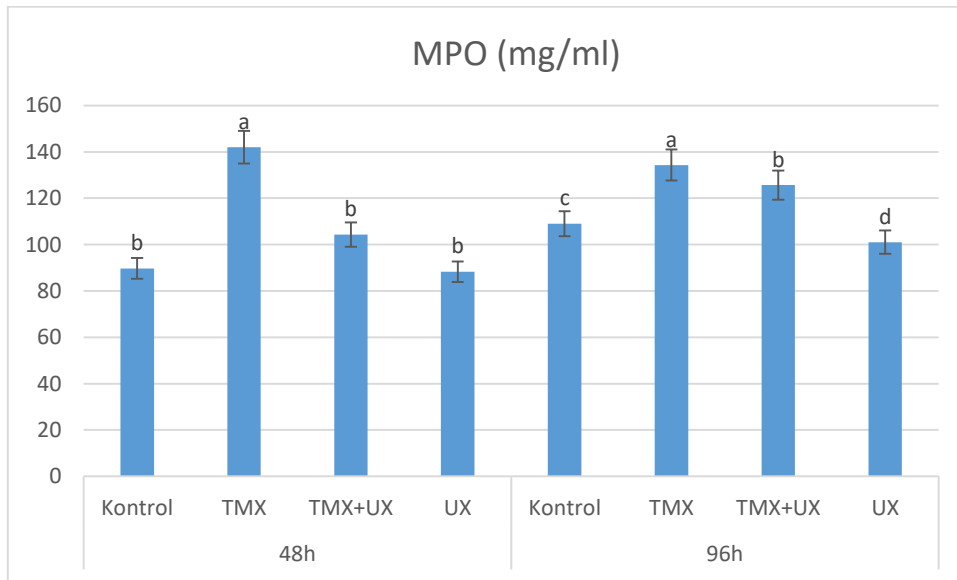
Hematik oksidatif stres indeksleri (MDA/MPO)

MDA değerleri yaygın olarak serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu için bir belirteç olarak kullanılır. TMX uygulanan *O. mykiss*' in kan dokusunda MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ($p < 0.05$). Öte yandan TMX + UX grubunda MDA düzeylerinin TMX grubuna göre anlamlı olarak ($p < 0.05$) azalışı kaydedildi (Şekil 14).



Şekil 14. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu MDA (nmol/ml) seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

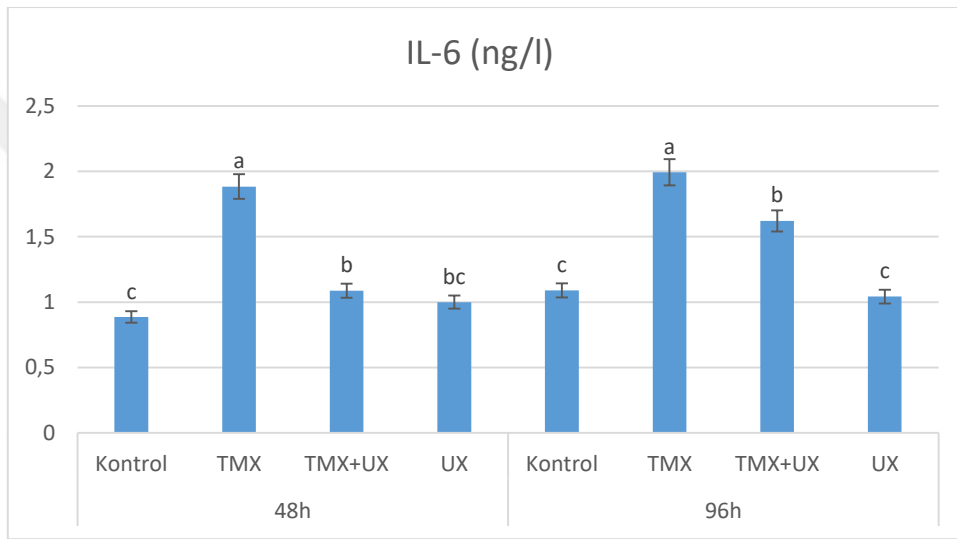
TMX uygulanan *O. mykiss*' in kan dokusunda MPO düzeyi, kontrol grubuna oranla anlamlı artışlar gösterdi ($p < 0.05$). TMX+UX grubunun MPO düzeyi ise 48. saatte kontrol grubuna benzer seviyede iken 96. saatte yakın seviyede belirlendi. UX' in tek uygulandığı grupta 96. saatte kontrol grubundan düşük seviyede belirlenen MPO değeri istatistik olarak önemli bulundu ($p < 0.05$) (Şekil 15).



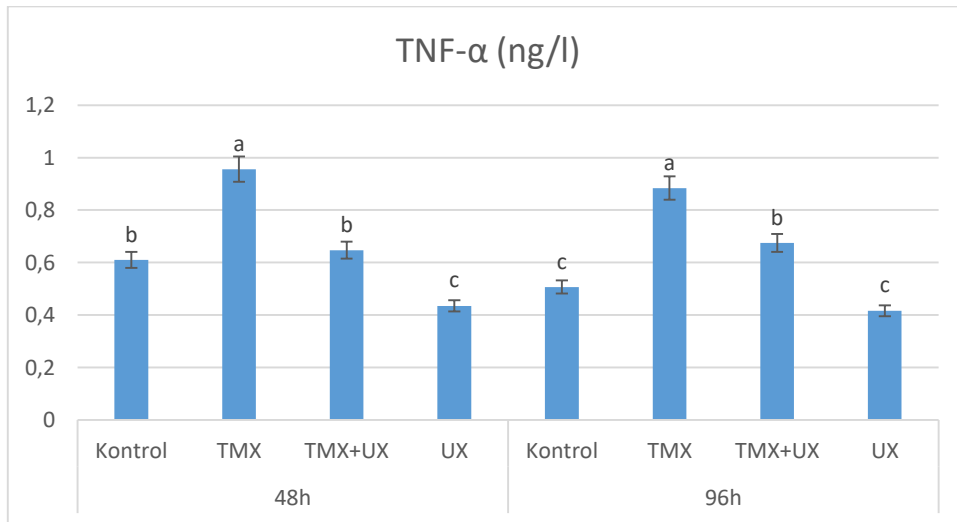
Şekil 15. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu MPO (u/l) seviyesi. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

Hematik İnflamatuar indeksleri

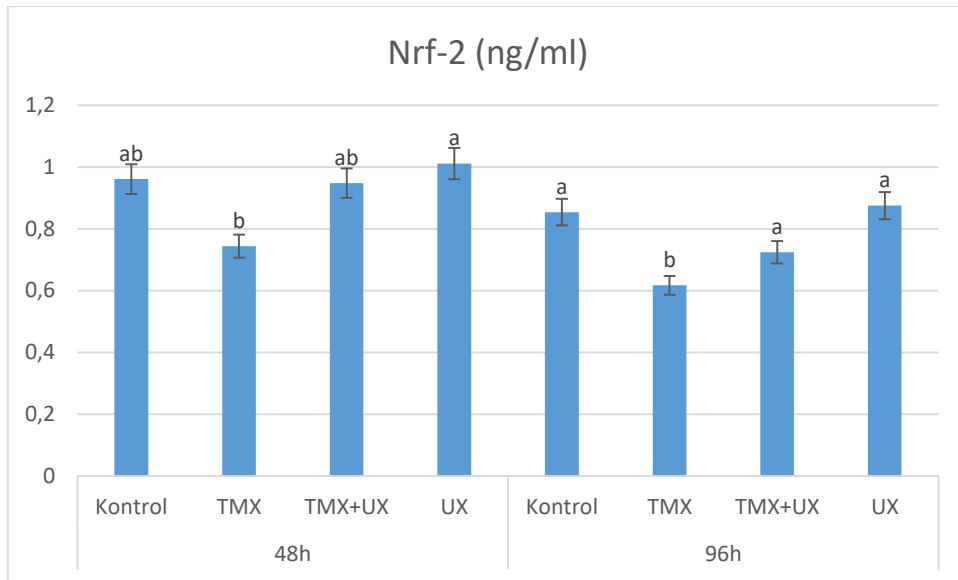
Proinflatuar sitokin göstergelerinden Nrf-2, TNF- α ve IL-6 hedef markırları incelendiğinde *O. mykiss*' in kan dokusunda 48 ve 96 saat verilerinde değişimler olduğu ve bu değişimlerin istatistik açıdan önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 16-17-18). IL-6 ve TNF- α aktivitesi TMX uygulaması ile tüm uygulama periyotlarında (48 ve 96 saatte) kontrol grubuna göre önemli derecede artış göstermiştir. TMX uygulamasına ilave edilen UX' in bu artışı baskılamaya çalıştığı belirlenmiştir. Nrf-2 seviyesinde ise TMX uygulaması ile inhibisyonlar ortaya çıkmış ve bu durum istatistik açıdan önemli olarak değerlendirilmiştir ($p<0.05$). Ortama dahil edilen UX' in inhibisyonu tersine çevirdiği ve bu parametrede kontrol grubuna yakın değerler ortaya çıktığı tespit edilmiştir.



Şekil 16. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu IL-6 (ng/l) seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi



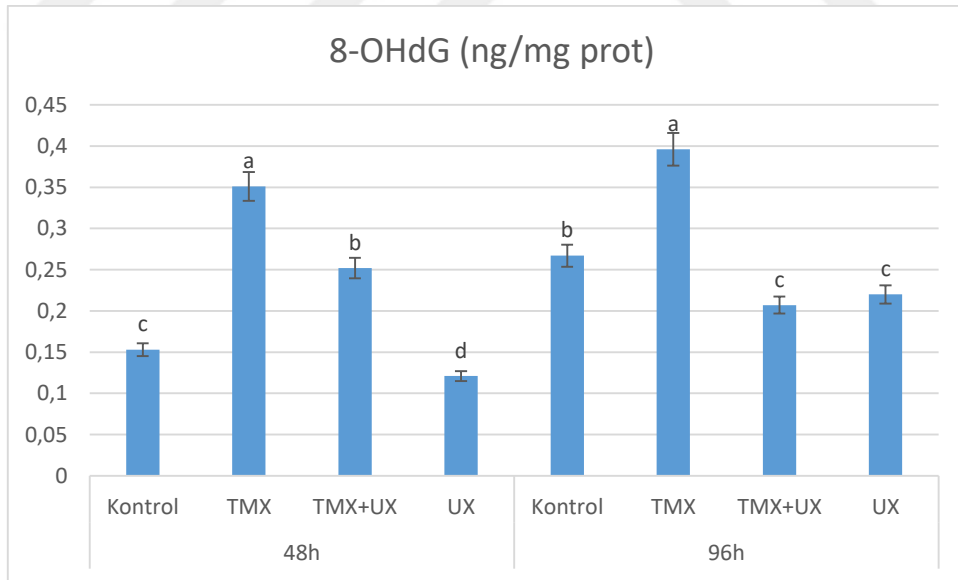
Şekil 17. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu TNF- α (ng/l) seviyesi. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi



Şekil 18. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu Nrf-2 (ng/ml) seviyesi. Farklı harfler (a, b) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

DNA hasarı ve apoptoz indeksleri

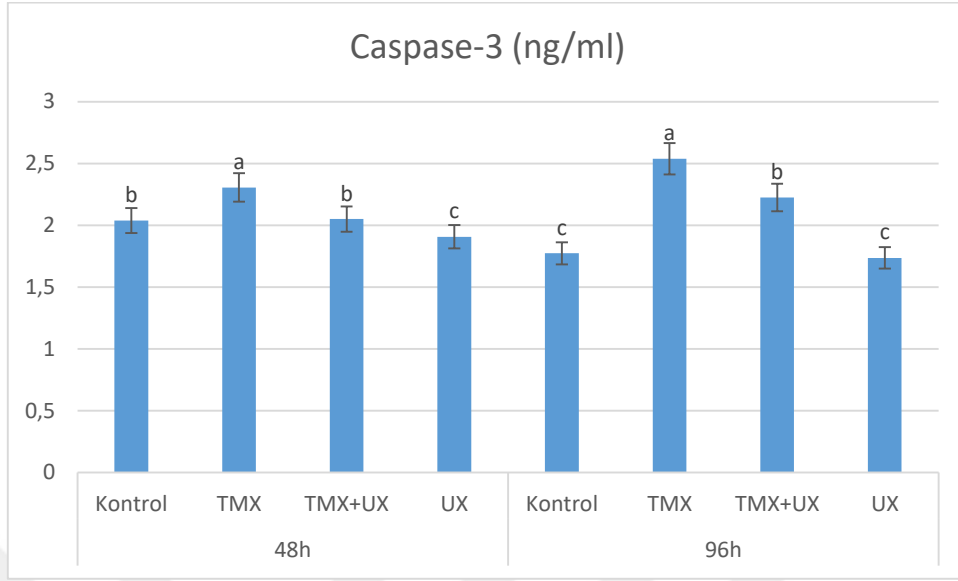
O. mykiss' in kan dokusunda 8-OHdG seviyesi Şekil 10' da gösterildiği gibi, TMX uygulamasının 48. ve 96 saatlerinde önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, UX uygulamasının 8-OHdG seviyesini büyük oranda inhibe ettiği tespit edilmiştir (Şekil 19).



Şekil 19. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu 8-OHdG seviyesi. Farklı harfler (a, b, c, d) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

Gökkuşluğu alabalığında TMX ve/veya UX kan dokusundaki caspase-3 aktivitesinde etkili olduğu bulunmuştur. Elde edilen bulgulara apoptozun belirteci olan bu indikatörde zamana bağlı olarak TMX uygulanan gruplarda artışlar tespit edilmiştir. Modülatör olarak UX' in (tek ve/veya TMX) caspase-3 aktivasyonundaki yukarı yöndeki ivmeyi baskıladığı tespit

edilmiştir. Yapılan analizler sonucunda ortaya çıkan değişimlerin istatistik açıdan anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 20).



Şekil 20. TMX/UX uygulama periyotlarında (48 / 96 h) *O. mykiss*' in kan dokusu Caspase-3 aktivitesi. Farklı harfler (a, b, c) istatistik olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p<0.05$). Bulgular ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi

TARTIŞMA SONUÇ VE ÖNERİLER

Tartışma

Kan, eritrosit (kırmızı kan hücreleri), lökosit (beyaz kan hücreleri), trombosit (memeli trombositlerinin analogları), elektrolit ve besin içerikleri açısından kompleks bir karışımdır (Fazio, 2019). Balık kanı, bir dizi kritik öneme sahip maddeyi (gazlar, su, mineraller, besinler, hormonlar, bağışıklık efektörleri, toksinler ve atık ürünler) taşıdığından, incelenmesi balık fizyolojisi ve sağlığının durumu hakkında fikir verebilir. Metabolik ve enzimatik içerikler, hormonal profiller gibi bilgilendirici kana dayalı göstergelerdeki değişiklikler, homeostazdaki değişikliklere verilen sistemik reaksiyonları yansıtır ve bu nedenle aquatik canlıların fizyolojik uygunluğunu izlemek için kullanılabilir (Shahjahan *et al.* 2022).

Elde edilen bulgularda *O. mykiss*'in TMX'e maruz kalması sonrasında gözlemlenen eritrosit sayısı (RBC), hemoglobin içeriği (Hb) ve hematokrit (Hct) düzeyindeki azalma, eritrosit hemolizinin olası bir sonucunu ortaya koymuştur (Samajdar ve Mandal 2015). Hb içeriğinin azalması, hemoglobinin methemoglobine hızlı oksidasyonundan veya TMX'in toksik etkisiyle radikal olarak indüklenen O₂'nin serbest bırakılmasından (Ramesh ve Saravanan 2008), ve stresörün Hb sentezinden sorumlu enzim sistemi üzerindeki inhibitör etkisinden kaynaklanabilir (Pamila *et al.* 1991). Genel bir senaryo, kirlilik nedeniyle balıklarda Hb, RBC ve Hct değerlerinin düştüğünü gösterir, çünkü bu kirleticiler Hb ve Hct değerlerini etkileyen balıklardaki RBC'lere zarar verir. Hemoglobin konsantrasyonu, bir organizmanın oksijen kaynağını temsil eder. Mevcut çalışmanın düşük hemoglobin konsantrasyonu, eritrosit yıkımının neden olduğu ciddi anemiye gösterebilir. Hemoglobin içeriğindeki uzun süreli azalmalar oksijen dağıtımına zararlıdır ve toksik maddelere maruz kalan balıklarda herhangi bir kan diskrazisi ve eritrosit dejenerasyonu sağlıklı olarak kabul edilebilir. Aerobik glikolizin inhibisyonu, de novo hemoglobin sentezini normal bir seviyeye düşürür. Hemoglobin seviyelerindeki azalma, çeşitli dokulara oksijen erişimini sınırlandırarak yavaş metabolizma hızına ve düşük enerji üretimine neden olabilir (Ahmad *et al.* 1995) ve bu durum eritrositlerin yıkımı, hemoliz ve/veya eritrosit üretiminin başarısızlığı anlamına gelebilir. Aerobik metabolizmayı sağlamak için solungaçlar tarafından O₂ alımının artmasını destekleyen dalak kasılmaları eritrositleri kan dolaşımına salmaktadır (Heath, 1995). Bu durum farklı ksenobiyotiklere maruz kalan çok sayıda balık türünde kanın oksijen taşıma kapasitesini iyileştirmeye yönelik ortak bir yanıt ve ilk göstergedir (Pereira *et al.* 2013; Ramesh *et al.* 2018).

Bu tür toksik stres altında eritrosit yıkım hızının, üretiminden çok daha yüksek olacağı rapor edilmiştir (Özok *et al.* 2018). Eritrosit sayısı ve hemoglobin konsantrasyonundaki azalmanın birleşik etkisi, kanın oksijen içeriğini, aynı zamanda dokulara ulaşacak oksijen miktarını azaltarak balıklarda hipoksemi gelişimine yol açacaktır. Carvalho and Fernande (2006), artan MCV' nin, artan olgunlaşmamış RBC' lerden kaynaklanabileceğini rapor etmiştir. Kirleticilere maruz kalan balıklarda MCV, MCH ve MCHC değerinde önemli bir artış olmuştur, bunun nedeni olgunlaşmamış RBC' lerin artması, RBC' lerin şeklini değiştirmesi ve toksik maruziyete yanıt olarak eritrositlerin şişmesi olabilir. Eritrositlerin şişmesi, Na^+/H^+ değişiminin aktivasyonu ve Na^+ ile birleştirilmiş suyun RBC' ye pasif akışı ile indüklenir (Chiocchia ve Motais, 1989). Bu çalışmada, TMX'e maruz bırakılan balıklarda, RBC, Hb ve Hct parametrelerindeki azalma ile karakterize edilen anemi görülmüştür. Benzer olarak TMX ve florfenikole maruz kalan *Piaractus mesopotamicus*' ta da artan MCV gözlenmiştir (Carraschi *et al.* 2017). MCV' deki artış, büyük miktarda daha büyük, daha eski eritrositlerin varlığından veya olgunlaşmamış eritrositlerdeki artıştan kaynaklanabilir (Carvalho and Fernandes 2006).

Sunulan çalışmada, TMX' nin lökosit (WBC) sayısının kontrol grubuna göre zamana bağlı olarak yükseldiği belirlenmiştir. Bulgularımıza paralel olarak, TMX'e maruz kalan *Labeo rohita*'da WBC ve lenfosit sayılarının önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Ghaffar *et al.* 2020). WBC sayısındaki artış, çeşitli kirleticilere maruz kalan balıkların bağışıklık sistemine destek olmak için daha fazla antikör oluşumu ile ilişkilendirilebilir (Malik and Maurya 2014; Mohamed *et al.* 2022). Balıklardaki WBC'ler, enfeksiyonlar ve kimyasal tahriş ediciler dahil olmak üzere çeşitli stres faktörlerine yanıt verir. Bu nedenle, artan WBC, toksik maddelere maruz kalma üzerine normal bir reaksiyondur. Anusiya *et al.* (2015) bu durumu, lenfomiyeloid dokularda lenfositozun uyarılmasına ve ardından salınmasına bağlamıştır. Mevcut çalışmada WBC sayısındaki artış TMX maruziyetine karşı koruyucu bir bağışıklık adaptif yanıt olarak kabul edilebilir.

WBC'ler, balıklarda spesifik olmayan immünolojik fonksiyonu düzenlemek için bir savunma mekanizması görevi görür ve vücudu çeşitli yabancı maddelerden korur. WBC'ler balıklara maruz kaldıktan hemen sonra tepki verir. Ayoola *et al.* (2011), WBC sayısındaki artışın, böbrek ve dalak gibi hematopoietik dokulardaki lökosit üretiminin artmasından kaynaklandığını gözlemlemiştir. Gill and Pant (1985) ve Maheswaran *et al.* (2008), balıklarda toplam lökosit sayısındaki artışın, toksik maddeye akut maruz kalmaya tepki olarak doku hasarı ile oluşturulan bağışıklık sisteminin uyarılmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Patil *et al.* (2016), toksik maddeye maruz kaldıktan sonra balıklardaki toplam lökosit sayısının artmasının, böbrek ve dalaktan kan dolaşımına olgunlaşmamış lökosit salınımından kaynaklandığını

gözlemlemiştir. Ramesh and Saravanan (2008), toksik maddelerin toksisite etkisini tolere edebilmek adına daha fazla antikor üretimi için balıklarda toplam lökosit sayısında bir artış olduğunu bildirmiştir. Mevcut araştırmada, balıkların TMX'e tepki verdiği ve daha fazla WBC üretmeye yönelik immünolojik reaksiyonlar gösterdiği belirlenmiştir. TMX, mitokondriyal membranın depolarizasyonunu, çeşitli hücresel yolakta yer alan enzimlerin inaktivasyonunu ve lizozomların hasar görmesini indükler. Elde edilen bulgular, TMX'in ROS'a bağlı bir pathway ile lökositlerde sitotoksositeye neden olabileceğini ve böylece balıkların bağışıklık durumunu düşürebileceğini, bununla birlikte UX'in (tek ve/veya TMX) uygulamasının ise parametrelerde elde edilen değerlerin kontrole yakınlaşması yönünde belirlenen toksisite pathwayde olumlu etkilerinin olduğu sonucunu destekler.

Balık trombositlerinin (PLT) koruyucu bir bariyer oluşturan kan fagositleri olduğu ve savunma mekanizmalarına katıldığını gösteren raporlar vardır (Stosik *et al.* 2001; Tavares-Dias and Moraes, 2004; Fazio *et al.* 2013). Balık trombositleri doğuştan gelen ve adaptif bağışıklık (Passantino *et al.* 2005) ve bağışıklık işlevinde yer alan yüzey ve hücre içi molekülleri eksprese etme (Kollner *et al.* 2004) arasındaki bağlantıyı temsil eder. Çalışmamızda, TMX'e maruz kalmanın *O. mykiss*' PLT sayılarında önemli azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Bu azalma trombositlerin dalakta salınımının engellenmesi, trombosit üretiminin azalması veya trombosit yıkımının artması ile ilişkili olabilir (Babu *et al.* 2016; Riaz-ul-Haq *et al.* 2018). Aynı zamanda TMX'in toksik stresi nedeniyle trombosit veya kan pıhtılaşma proteini konsantrasyonlarının düşük kaldığı bir durum olan trombositopeninin nedensel etkisi de olabilir (Seth ve Saxena, 2013; Bej *et al.* 2021). Bor türevleri ve benzeri bileşiklerin koruyucu ve iyileştirici etkileri *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla doğrulanmıştır. Bor türevlerinin terapötik etkisi nedeniyle hematolojik parametrelerdeki iyileşmeye ve Hb/Htc değerlerindeki artışa mineral salınımını nedeniyle katkıda bulunmuş olduğu düşünülmektedir (Atamanalp *et al.* 2022). Bununla birlikte, UX'in hematolojik indeksler üzerindeki hafifletici etkisi, antioksidan aktivitesine de bağlanabilir.

Basu *et al.* (2001), balıklardaki stres tepkisini; (i) nöroendokrin/endokrin tepki (ii) endokrin bozulma ile ilgili fizyolojik değişiklikler ve (iii) canlının stresi telafi edemediği veya uyum sağlayamadığı ve organizma düzeyindeki değişiklikler olarak rapor etmişlerdir. Birincil aşamada, balık stresör etkisini ayırt edebilir ve evrensel bir stres tepkisi olarak kabul edilen bir nöroendokrin/endokrin tepkisi başlatabilir (Balasch and Tort, 2019). Genellikle stres tepkisi fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklerden sorumlu olan katekolaminler ve kortikosteroidler gibi moleküler araçların üretilmesi olarak tanımlanır. İnterrenal hücreler tarafından üretilen kortikosteroidlerden biri olan kortizol, birçok balık türünde standart bir stres

göstergesi haline gelmiştir; bu nedenle, balıklardaki plazma kortizol seviyelerinin ölçülmesi, uygun olmayan çevresel koşulları tespit etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Çeşitli fizyolojik süreçlerin modülatörü olan kortizolün plazmadaki artışı, potansiyel bir stres etkenine verilen birincil yanıt olarak değerlendirilir (Barcellos *et al.* 2006; Salbego *et al.* 2020). Bu çalışmada, plazma kortizol seviyeleri, uygulamanın ilk periyodunda (48. saat) TMX tarafından indüklenmiştir. Bu durum, kortizolün stresle başa çıkma mekanizması olarak interrenal dokudan salınmasına veya bozulmuş bağışıklık fonksiyonuna bağlı olabilir.

Oksidatif stres, pro-oksidan ve antioksidan savunma mekanizmaları arasında bir dengesizliğe yol açan, pestisit kaynaklı toksisitenin çok aşamalı bir yolunun son göstergesidir (Banerjee *et al.* 2001). Mevcut çalışmada, TMX, kan dokusunda oksidatif hasara neden olmuş ve antioksidan enzimler inhibisyona uğramıştır. Oksidatif stres esas olarak ROS üretiminin artmasından ve/veya hücrel antioksidan savunmasındaki düşüşten kaynaklanır (Carney Almroth, 2008). 96 saat boyunca TMX'e maruz kalmanın bir sonucu olarak aşırı ROS üretimiyle antioksidanların (SOD, CAT ve GPx) tükenmesine neden olduğu söylenebilir. TMX ve UX'in birlikte uygulandığı (TMX+UX) grupta UX takviyesi nedeniyle yüksek enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Bu etki, radikallerin hücrel bileşenlerine ulaşmasını engelleme, serbest radikalleri parçalayarak ROS'u hedefleme ve baskılama kapasitelerinden kaynaklanıyor olabilir (Liu *et al.* 2008). UX'in antioksidan özelliği, süpürücü aktiviteye sahip olan monoterpenlerin oluşumu ile de ilişkili olabilir. Bununla birlikte, piretroidlerin de hücrel oksidatif hasarı indüklediği ve peroksidasyon ürünlerini biriktirdiği bilinmektedir. Bu oksidatif ürünler aynı zamanda yaygın oksidatif stres belirteçleri olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada, TMX' e maruz kalma sonucunda lipid peroksidasyonu ürünlerinin, yani MDA ve MPO' nun önemli ölçüde yükselmesi oksidatif hasara yol açan TMX' in neden olduğu lipid peroksidasyonunun bir göstergesidir. Elde ettiğimiz bulgular, UX uygulamasının, TMX'e maruz kalan *O. mykiss* kan dokusunda MDA ve miyeloperoksidaz (MPO) düzeylerini büyük ölçüde kontrole yakın seviyelere taşıdığını gösterdi. Bu tablo, muhtemelen terapötik ajan olarak UX' in serbest radikal süpürücü özellikleri ve lipid peroksidasyonu inhibitörü aracılığıyla TMX' in oksidatif etkilerini modüle etme yeteneğinden kaynaklanmaktadır.

MPO, öncelikle nötrofillerin azurofilik granüllerinde ve ayrıca makrofajlarda bulunan bir enzim olup pro-oksidatif ve proinflamatuvar özelliklerinden dolayı oksidatif stres ve inflamasyonun bir biyobelirteci olarak kabul edilir (Anatoliotakis *et al.* 2013). İnflamatuvar durum sırasında MPO, H₂O₂ ve klorürün hipoklorite dönüşümünü katalize eder ve inflamasyon bölgesinde, üretilen hipoklorit ile diğer oksitleyici ara maddeler de doku hasarına katkıda

bulunur (Bal *et al.* 2022). Bu çalışmada, TMX uygulanan *O. mykiss*'in kan dokusunda MPO aktivitesindeki artış, TMX'in makrofaj aracılı doku hasarının yanı sıra nötrofilden sorumlu olabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, MPO seviyesi, UX uygulanan gruplarda önemli ölçüde azalmıştır. Bu inhibisyon UX'in vücuttaki antioksidan enzim seviyesini iyileştirdiğini; ROS up-regülasyonundan sorumlu enzimleri etkisiz hale getirdiğini artan SOD ve CAT aktivitesi sonuçları ile de desteklemiştir.

Pestisitlere maruz kalma, genellikle antioksidan savunma sisteminin bozulması ve enzimatik olmayan antioksidanların tükenmesi ile karakterize edilir (Uçar *et al.* 2022; Alak *et al.* 2020; Atamanalp *et al.* 2022; Parlak *et al.* 2022). Çalışmamızda, TMX' e maruz kalan *O. mykiss*' in kan dokusunda GSH ve antioksidan potansiyeli belirgin şekilde azalmıştır. Bu azalma, TMX' in antioksidan sistemini bozma yeteneğini göstermiştir. GSH, ya kendi tiyol grubunun ROS ile doğrudan etkileşimi ya da ksenobiyotiklerin biyokimyasal konjugasyonu için bir ko-substrat olma yoluyla enzimatik olmayan bir antioksidan görevi görebilir (Lushchak, 2012). GPx, hücresel sistemlerde hidroperoksitlerin GSH' ye bağlı detoksifikasyonunda yer alan bir peroksidazdır. Çalışmamızda gözlemlenen GPx aktivitesindeki azalma, dokularda serbest radikal reaksiyonunu sonlandırmada antioksidan olarak kullanılmasından dolayı GSH tükenmesine bağlanabilir (Afolabi *et al.* 2019). GSH bir antioksidan görevi görür ve stres durumunda lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Ayrıca hidrojen peroksitlerin ve çeşitli glutatyon peroksitlerin detoksifikasyonuna katılır ve lipid peroksidasyon ürünlerini konjuge etmek için GST' lerin substratıdır (Dias *et al.* 2013). Bu çalışmada enzimatik olmayan antioksidan GSH önemli ölçüde azalmıştır. Bunun nedeni, toksik madde uygulanan grupta şiddetli glutatyon eksikliği olabilir (Arslan *et al.* 2017). Uçkun *et al.* (2021), tiyametoksama maruz kalan kerevit (*A. leptodactylus*)' te GST düzeyinde önemli bir düşüş gözlemlemiş ve ROS oluşumunun neden olduğu oksidatif hasara karşı antioksidan savunma sisteminin uyarıldığını bildirmiştir. Ayrıca, pestisit toksisitesi nedeniyle faz II biyotransformasyonun bozulması da GST seviyesinin düşmesine neden olabilir (Veedu *et al.* 2022). Antioksidan kapasite, dokudaki toplam antioksidan sistemin nispi kümülatif kapasitesinin bir yansımasıdır. Bu nedenle, oksidatif stres belirteçlerinin yükselmesi ile birlikte, azalan GSH ve GPx seviyesi, kan dokusunun enzimatik olmayan sisteminde bir dengesizliği göstermektedir. Ayrıca enzimatik olmayan antioksidan içeriğindeki azalma, organların serbest radikal türlerinin zarar görme olasılığını artırmıştır. Bununla birlikte, TMX' in UX ile birlikte uygulanması, *O. mykiss*' in GSH ve GPx içeriğini iyileştirmiştir. Antioksidan enzimler, oksidan moleküllerin dokular üzerindeki olumsuz etkisini sınırlayan ve serbest radikalleri temizleyerek oksidatif hücre hasarına karşı koruyan hücresel savunma mekanizmalarının bir parçasıdır. Reaktif oksijen türlerini ortadan kaldırma yetenekleri, hücresel lipitlere, proteinlere ve DNA' ya artan oksidatif

hasarın sonucu olarak fizyolojik konsantrasyonlardaki sapma ile engellenebilir (Schieber and Chandel 2014). Bu çalışmada, UX uygulanan *O. mykiss*' in kan dokusunda SOD ve CAT aktivitesinde bir artış gözlenmiştir. Antioksidan savunmadaki ilk enzim olan SOD, oksijen radikallerinin dokulardaki zararlı etkilerini önlemek için süperoksit radikallerini H_2O_2 ' e dönüştürür. SOD aktivitesindeki artış, TMX tarafından üretilen ROS' un toksik etkilerini azaltmak için UX uygulamasının serbest radikallerin artan varlığına telafi edici bir adaptif yanıt anlamına gelmektedir. Hem çözünür hem de hücre zarına bağlı formlarda bulunan bir enzim olan CAT, H_2O_2 ' nin H_2O ' ya ayrışmasını katalize eder (Guimarães-Souza *et al.* 2015). Bununla birlikte, daha yüksek peroksidaz aktivitesine sahip membrana bağlı CAT oksidatif hasara eğilimlidir. Serbest radikaller zar geçirgenliğinde bir azalmaya ve zara bağlı enzimlerin inaktivasyonuna yol açar (Garcia *et al.* 2014). SOD' un organlardaki serbest radikaller üzerindeki dismutaz aktivitesinden kaynaklı H_2O_2 ' deki artışı, bu organlardaki düşük CAT aktivitesinden kısmen sorumlu olabilir. Azalan CAT aktivitesi, Fenton aracılı reaksiyon yoluyla daha fazla H_2O_2 ' nin hidroksil radikaline dönüşümünü ifade eder (Badgujar *et al.* 2015). Bununla birlikte, TMX' nin UX ile birlikte uygulanması, piretroidin etkilerinin ya tamamen ya da kontrol düzeyine yakın bir şekilde tersine çevrilmesiyle sonuçlanmıştır. UX uygulamasından sonra CAT aktivitesindeki artış, GSH'yi içeren savunma mekanizmalarının dengelenmesiyle açıklanabilir. Bu, UX' in bir antioksidan olarak, doğrudan serbest radikalleri temizleyen ve ayrıca antioksidan enzimlerin aktivitelerini modüle eden potansiyeline atfedilebilir. Araştırmalardan elde edilen mevcut deneysel kanıtlar, tüm pestisit sınıflarının farklı hücre tiplerinde ve hayvan modellerinde oksidatif stres ile Reaktif Nitrojen Türleri (RNS) / ROS' u indüklediğini ve oksidatif stresin pestisit toksisitesinin en önemli mekanizmalarından biri olduğunu göstermektedir.

Balıklar, su ortamına salınan çeşitli ksenobiyotiklere sürekli olarak maruz kaldıkları için, bağışıklık tepkisinde bozulma insidansı açısından birincil tehlike arz eden su canlılarıdır. Ayrıca, ksenobiyotiklere yanıt olarak var olan çeşitli büyüme, hematolojik ve bağışıklık bozukluklarını modüle etmek için birkaç çalışma yapılmıştır. Balıklardaki kan, besinler, hormonlar, mineraller, bağışıklık bileşenleri, gibi çeşitli bileşenleri taşır. Kanın en önemli işlevleri; hücre dokularına oksijen ve besin maddelerinin (glikoz, amino asitler ve yağ asitleri dahil) taşınması, atıkların (karbondioksit, üre ve laktik asit gibi) uzaklaştırılması, ve immünolojik işlevlerdir. Bu işlev ajanlarından biri olan RBC, ksenobiyotiklerin sitotoksitesini membran değişikliği/deformasyonu ve herhangi bir inflamatuvar yanıtı değerlendirmek için iyi bir gösterge olarak kullanılmaktadır (Pagano and Faggio, 2015; Silva-Herdade *et al.* 2016; Farag and Alagawany, 2018; Burgos-Aceves *et al.* 2019). Mevcut çalışmada inflamatuvar markırı olan TNF- α TMX uygulanan gruplarda 48. ve 96. saat sonunda yükselmiş, iki ajanın

(TMX+UX) birlikte uygulandığı grupta örnekleme sürelerinde kontrole göre artış/azalışlar, TMX'e göre ise azalışlar belirlenmiştir. Bu durum TMX orjinli toksisite de UX uygulamasının oluşan hasar üzerinde olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. TMX uygulaması sonucunda hücredeki ROS seviyesinin artması ve dolayısıyla oksidatif stresin oluşması, mitokondriyal bozulmaya ve DNA hasarına neden olan tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve interlökinler gibi inflamatuvar faktörlerin seviyelerini etkileyebilir. Özellikle, TNF- α gibi tümör-nekroz faktörlerinin inflamasyon, apoptoz ve hücre proliferasyonunda rol oynadığı, nihayetinde apoptotik yanıtın aktivasyonunu ve hücre ölümünü indüklediği rapor edilmiştir (Ajday et al. 2018; Horie and Tabei 2021). Proinflamatuvar sitokinler, esas olarak makrofajların ve lenfositlerin aktivasyonu ile salgılanan düşük molekül ağırlıklı proteinlerdir (Benzer et al. 2018). Çevresel kirleticiler bu sitokinlerin salgılanmasını indükleyebilir. Bu sitokinlerin üretimlerini teşvik eden mekanizmalardaki düzensizlik, inflamatuvar durumlar ve kanser gibi patolojik durumlarla ilişkilendirilmiştir. Toksik maddeler tarafından tetiklenebilen oksidatif stresin, NF-kB gibi redoks-duyarlı transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu yoluyla inflamatuvar yanıtları indüklediği bilinmektedir (Forrester et al. 2018). Çalışmamızda, bu transkripsiyon faktörleri, TMX'in indüklediği artan oksidatif stres tarafından aktive edilerek, gözlenen yüksek IL-6 ve TNF- α seviyelerini üretmiş olabilir. Bu nedenle, TMX'e maruz kalan O. mykiss'de IL-6 ve TNF- α seviyelerinde gözlenen artış enflamasyonun indüklendiğini ima eder. Ayrıca, mevcut araştırma, UX ile tedavi sonrasında plazma IL-6 ve TNF- α seviyelerini önemli ölçüde azalttığından, UX'in TMX ile indüklenen inflamasyonu baskılama kabiliyetini ortaya koymuştur. Ayrıca, inflamasyon sürecinde, endotel kaynaklı araçlar ve tamamlayıcı faktörler, inflamasyon araçlarının salınımı ile lökosit adezyonunu uyarır. UX'in bu lökosit adezyon sürecini baskıladığı, böylece oksidanların ve inflamatuvar mediatörlerin salınımını ve bunun sonucunda dokulara zarar gelmesini önlediği bilinmektedir (Uçar et al. 2022). UX' in lökosit adezyonunu baskılama yeteneği bu çalışmada gözlemlenen anti-inflamatuvar etkisinde ek bir rol oynayabilir. Bununla birlikte, alınan UX, kimyasal modifikasyonlara uğrar ve bu ürünler, doğal bileşiğin yanı sıra biyolojik etkiye önemli ölçüde katkıda bulunur.

Hasarlı dokuların araştırılması, pestisitlerden etkilenen birçok farklı yola ile çok hedefli bir mekanizma gerektirmektedir. Vücudun toksik ve zararlı ajanlarla mücadelede uyguladığı ana mekanizmalardan biri bağışıklık sistemidir. Bağışıklık yanıtı, antijene özgü olmayan (doğuştan gelen) ve antijene özgü (adaptif) yanıtı oluşur (de la Vega et al. 2018). Araştırmalar, pestisitlere maruz kalmanın bağışıklık sistemi üzerinde zararlı etkiler gösterdiğini bildirmiştir (Rodriguez et al. 2003; Nakao et al. 2011). İmmünokompetan hücreler sitokinler, kemokinler, ROS ve RNS gibi inflamatuvar araçları salgılar. Özellikle sitokinler, ilgili reseptörlere spesifik bağlanma yoluyla doğal veya adaptif bağışıklığı, hematopoezi, inflamatuvar

süreçleri ve diğer birçok hücrel aktiviteyi düzenleyebilir (Robledinos-Antón *et al.* 2019). Homeostaz, organizma sağlığı ve hayatta kalmanın anahtarıdır. Çevresel stres her yerde ve tüm canlılar için kaçınılmazdır ve hücre fonksiyonlarını bozmakla tehdit eder. Organizmalar, tanımlanmış düzenleyici mekanizmalar aracılığıyla streslere tepki verir ve bunlara uyum sağlar. Balıklarda, bağışıklık mekanizmalarının modülasyonu, stres tepkisi sırasında salgılanan hormonlar, özellikle kortizol tarafından düzenlenir (Yada and Tort 2016). Kortizol'ün bağışıklık hücreleri üzerindeki reseptöre bağlanması, birkaç sitokin transkripsiyonunu uyarabilir veya inhibe edebilir (Pijanowski *et al.* 2015). Aksi takdirde, sitokinler ve kemokinler hormonal sekresyonu modüle ederek etkili olabilir. Bir immün yanıt sırasında, TNF- α , interleukin-1 (IL-1), IL-6 ve IL-12 gibi sitokinler, stres sisteminin aktivasyonuna neden olmaktadır (Calcagni and Elenkov 2006). Balıklarda, sitokin üreten lenfoid hücreler, kortizol ve katekolaminler üreten endokrin hücreler böbreklerde bulunur (Geven and Klaren 2017). IL-6 sitokin ailesi, hematopoezde olduğu kadar nöroendokrin ve bağışıklık sistemlerinde de önemli oyuncular, pro- ve anti-inflamatuar özelliklere sahiptir. Örneğin, IL-6, onkogene, iltihaplanma, bağışıklık düzenlemesi ve hematopoez dahil olmak üzere çok sayıda biyolojik işlevde yer alan bir pleiotropik enflamatuar sitokindir (Wang and Secombes 2009). Çalışmamızda, *O. mykiss*'in kan dokusunda artan TNF- α ve IL-6 seviyeleri, TMX maruziyetinin immünotoksositeye ve inflamasyona neden olduğunu düşündürmektedir. Artan sitokinler, doku hasarına yanıt olarak makrofajlar tarafından üretilen yanıt faktörleridir, bu nedenle serumda proinflamatuar sitokinlerin yükselmesinin nedeninin TMX olduğunu düşündürmektedir. Çünkü indüklenen oksidatif stres doku hasarına ve takiben proinflamatuar sitokinlerin kana salınmasına neden olur. Balık bağışıklık ve endokrin sistemlerinin tek bir organdaki bu benzersiz organizasyonu, bu sistemler arasındaki çift yönlü sinyali daha güçlü ve dolayısıyla ilgi çekici hale getirir (de Mello *et al.* 2019). Nükleer faktör eritroid 2 (Nrf-2) hücrel ksenobiyotik ve oksidatif stres tepkisinin ana düzenleyicilerinden biri olarak bilinir. Nrf-2, antioksidan savunma sistemlerini çeşitli mekanizmalar yoluyla düzenleyerek ROS ve RNS'nin homeostazını doğrudan etkiler (He *et al.* 2020). Nrf-2, hücreler tarafından her yerde ve yapısal olarak eksprese edilir, böylece oksidatif, inflammatuar ve metabolik streslere karşı hızlı koruyucu tepkilerini sağlar.

Metabolizma sırasında, pestisitler tarafından üretilen ROS, hidroksil radikali, süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit DNA zincirinde kırılmalar oluşturarak nükleik asit ile etkileşime girer ve ayrıca pürin ve pirimidin bazlarına zarar verir (Mohanty and Mohanty, 2018). Canlı organizmalar bu DNA hasarlarını onarabilen spesifik enzimleri sentezleme ve kontrol etme yeteneğine sahiptir (Naz *et al.* 2022). 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), reaktif oksijen türlerinin etkileri sonucu hücrelerde nükleer ve mitokondriyal DNA'da gözlenen formlardan

biridir ve oksidatif stres için bir biyobelirteç olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda *O. mykiss*'in kan dokusunda TMX maruziyetinin 48. ve 96. saatlerde 8-OHdG düzeylerinde artış saptanmıştır. Araştırmalar, 8-OHdG düzeylerindeki artışın oksidatif strese bir yanıt olduğunu bildirmektedir (Karataş *et al.* 2019; Temiz *et al.* 2021). Sonuçlarımıza benzer olarak yapılan bir çalışmada, TMX maruziyetinin zebra balığı karaciğerinde farklı konsantrasyonlarda DNA hasarına neden olduğu bildirilmiştir (Yan *et al.* 2016).

Pestisit toksisitesinde yer alan mekanizmaların oksidatif stresi indüklediği moleküler pathwayde apoptoza varan bir süreçte kendini gösterdiği mevcut çalışmamızda farklı biyobelirteçlerle desteklenmiştir. Organizmalarda dışarıdan gelen fiziksel ve kimyasal uyaranlar (ısı, yanma, toksik madde) hücrenin iyon dengesini bozar. Böylece sıvı alan hücrede organeler şişer, plazma ve zar bütünlüğü bozulur ve ozmotik basınç nedeniyle hücre patlar. Hücre ölümünü takiben hücre içeriğinin hücreler arası boşluğa salınması iltihaplanmaya neden olur ve bu iltihaplanma önemli bir nekroz belirtisidir. Arsenik, siyanür, insektisitler ve ağır metaller gibi zehirli maddeler nekroza neden olur. İnflamasyon, sitokinlerin salınımını aktive eden, doku rejenerasyonu, embriyonik gelişim, inflamasyon ve immün regülasyonda merkezi öneme sahip olduğu bilinen indüklenebilir hücre peptitleridir (Korkmaz and Örün 2022). Lipitlere, DNA'ya ve proteinlere yönelik oksidatif hasar, hücresel onarım mekanizmalarının kapasitesini aştığında apoptoz yoluyla programlanmış hücre ölümüne neden olabilir (Kannan and Jain, 2000). Apoptozun takibi, kaspaz ailesine bağlıdır ve kaspaz genellikle iki temel sinyal yolu ile aktive edilir. Bunlar hücre yüzeyi ölüm reseptörleri ve hücre içi mitokondri aracılı kademeli reaksiyonlardır (Shi 2002). Mevcut çalışmamızda, kan dokusunda önemli bir apoptotik yürütücü kaspaz-3'ün yukarı regülasyonu ile gösterilen apoptoz indüksiyonuna dair kanıtlar; inflamasyon parametreleri ve oksidatif hasar sonuçları ile desteklendi. Bu çalışmada, akut TMX maruziyeti GSH seviyesini azalttığı (Rouabhi *et al.* 2018), bunun sonucunda kaspaz kaskad reaksiyonlarının başlatılmasına yol açtığı söylenebilir (Wilks *et al.* 2013; Zhang *et al.* 2018; Zhao *et al.* 2021). Ortama ilave edilen UX'in potansiyel koruyucu etkisi DNA hasarı ve apoptozu modüle etme yeteneğini ortaya koymuştur.

Bazen endojen antioksidan sistem yetersiz hale gelir ve indüklenen oksidatif stresi temizlemede yetersiz kalır. Çeşitli çalışmalar, enzimatik antioksidan sistemlerinde değişiklikler sergileyen hayvan modellerinde pestisit kaynaklı toksisiteye karşı eksojen antioksidan vitamin ve minerallerin potansiyel koruyucu etkisini bildirmiştir (Sauer *et al.* 2014). Pestisit maruziyetinin zararlı etkilerini azaltmak için farklı terapötik ajanların araştırılması gereklidir. Bu gerçekten yola çıkılarak kurgulanan mevcut çalışmada, UX'in (tek ve/veya UX+TMX) uygulamasının serbest radikallerin fazlalığını nötralize ederek, koruyucu olduğu ve çalışılan parametreler üzerinde olumlu katkısının olduğu söylenebilir.

Sonuç ve Öneriler

Tek bir biyobelirteç, toksik maddenin sudaki yaşam formları üzerindeki toksisitesinin gerçek ve pratik bir değerlendirmesini veremez ve bu nedenle, bir organizmanın toksik maddelere tepkisini anlamak için birleştirilmiş biyobelirteç çalışmasının kullanılması tavsiye edilir.

Çalışmalar, antioksidanların pestisit toksisitesini azaltmak için faydalı olabileceğini öne sürse de, daha ileri çalışmalar, pestisit maruziyetinin yan etkilerini sadece eksojen antioksidanlar yoluyla değil, pestisit kaynaklı oksidatif strese dahil olan sinyal yollarını etkileyerek iyileştirmenin olası yollarına odaklanmalıdır. Pestisit kaynaklı toksisitede başka herhangi bir hücresel yolun dahil olup olmadığını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, *O. mykiss*' in kan dokusunda hematoloji, bağışıklık tepkisi, antioksidan durumu, apoptoz ve DNA hasarı göstergeleri TMX toksisitesinin karakterize edilmesinde kullanıldı. Bununla birlikte belirlenen bu toksik etkide UX'in ortama dahil edilmesi, TMX'in hematoloji, antioksidan kapasite, bağışıklık tepkileri ve DNA hasarı / apoptoz üzerindeki toksik etkilerini önemli ölçüde tersine çevirdi.

Toksikoloji çalışmalarında, modülatör potansiyeli olduğu bilinen katkı maddelerinin ortama ilave edilmesi canlılarda muhtemel hasarı önlemede pozitif bir yaklaşım ortaya koymaktadır. Sonuçlarımız, TMX+UX ve UX kombinasyonlarının *O. mykiss* 'te antioksidatif yeteneğini, TMX aracılı toksisitede yüksek oksidatif zarara karşı koymak için artırdığını göstermiştir.

Bu çalışmada, TMX'e maruz kalmanın hematik toksisite yanı sıra baskılanan bir bağışıklık tepkisine neden olduğu belirlenmiştir. UX'in ortama dahil edilmesi üzerine, *O. mykiss*'in antioksidan savunmayı desteklediği sonuç olarak daha fazla doğal bileşen üreterek TMX'in bağışıklık bastırıcı etkisini modüle ettiği, böylece benzer toksisite çalışmalarında gelecek vaat eden bir modülatör takviyesi olduğu ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

- Adegun, A. O., Akinnifesi, T. A., Ololade, I. A., Busquets, R., Hooda, P. S., Cheung, P. C., ... & Barker, J. (2020). Quantification of neonicotinoid pesticides in six cultivable fish species from the River Owena in Nigeria and a template for food safety assessment. *Water*, 12(9), 2422.
- Aerts, J., Metz, J. R., Ampe, B., Decostere, A., Flik, G., & De Saeger, S. (2015). Scales tell a story on the stress history of fish. *PLoS One*, 10(4), e0123411.
- Afolabi, O. K., Aderibigbe, F. A., Folarin, D. T., Arinola, A., & Wusu, A. D. (2019). Oxidative stress and inflammation following sub-lethal oral exposure of cypermethrin in rats: mitigating potential of epicatechin. *Heliyon*, 5(8), e02274.
- Ahmed, S. (1995). Çevresel kirleticilerden kaynaklanan oksidatif stres. *Böcek Biyokimyası ve Fizyolojisi Arşivleri*, 29 (2), 135-157.
- Ajdary, M., Keyhanfar, F., Moosavi, M. A., Shabani, R., Mehdizadeh, M., & Varma, R. S. (2021). Potential toxicity of nanoparticles on the reproductive system animal models: A review. *Journal of Reproductive Immunology*, 148, 103384.
- Akbulut, C., Kaymak, G., Esmer, H.E., Yön, N.D., Kayhan, F.E., 2014. Oxidative stress mechanisms induced by heavy metals and pesticides in fish. *Ege J Fish Aqua Sci* 31(3): 155-160. doi: 10.12714/egejfas.2014.31.3.07
- Alak, G., Özgeriş, F. B., Yeltekin, A. Ç., Parlak, V., Ucar, A., Çağlar, O., ... & Atamanalp, M. (2020). Hematological and hepatic effects of ulexite in zebrafish. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 80, 103496.
- Al-Thomali, A. W., Tag, H. M., Mohammadein, A., El-Shenawy, N. S., & El-Naggar, M. S. (2022). Mercaptophos impacts on redox status biomarkers of common carp (*Cyprinus carpio*) as an endocrine disruptor. *Aquaculture Reports*, 22, 100959.
- Anatoliotakis, N., Deftereos, S., Bouras, G., Giannopoulos, G., Tsounis, D., Angelidis, C., ... & Stefanadis, C. (2013). Myeloperoxidase: expressing inflammation and oxidative stress in cardiovascular disease. *Current topics in medicinal chemistry*, 13(2), 115-138.
- Anusiya Devi, K., Binukumari, S., & Vasanthi, J. (2015). Effects of monocrotophos on haematological analysis of blood in an Indian freshwater fish, *Labeo rohita*. *International Journal of Recent Advanced Multidisciplinary Research*, 2, 870-874.
- Arslan, H., Altun, S., & Özdemir, S. (2017). Acute toxication of deltamethrin results in activation of iNOS, 8-OHdG and up-regulation of caspase 3, iNOS gene expression in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquatic Toxicology*, 187, 90-99.
- Atamanalp, M., Türkez, H., Yeltekin, A. Ç., Özgeriş, F. B., Ucar, A., Çağlar, Ö., ... & Alak, G. (2022). Borax relieved the acrylamide-induced hematotoxic, hepatotoxic, immunotoxic and genotoxic damages in rainbow trout by regulating apoptosis and Nrf2 signaling pathway. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 259, 109396.
- Awasthi, Y., Ratn, A., Prasad, R., Kumar, M., & Trivedi, S. P. (2018). An in vivo analysis of Cr⁶⁺ induced biochemical, genotoxicological and transcriptional profiling of genes

- related to oxidative stress, DNA damage and apoptosis in liver of fish, *Channa punctatus* (Bloch, 1793). *Aquatic toxicology*, 200, 158-167.
- Ayoola, S. O., Idowu, A. A., Ikenweiwe, N. B., & Ajagbe, E. F. (2010). Hematological Changes in *Clarias gariepinus* Exposed to Cypermethrin. *Journal of Environmental Extension*, 9, 63-71.
- 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.
- Bacchetta, C., Rossi, A., Ale, A., Campana, M., Parma, M. J., & Cazenave, J. (2014). Combined toxicological effects of pesticides: a fish multi-biomarker approach. *Ecological Indicators*, 36, 532-538.
- Badgajar, P. C., Pawar, N. N., Chandratre, G. A., Telang, A. G., & Sharma, A. K. (2015). Fipronil induced oxidative stress in kidney and brain of mice: protective effect of vitamin E and vitamin C. *Pesticide biochemistry and physiology*, 118, 10-18.
- Balasch, J. C., & Tort, L. (2019). Netting the stress responses in fish. *Frontiers in Endocrinology*, 10, 62.
- Baldissera, M. D., Souza, C. F., Seben, D., Sippert, L. R., Salbego, J., Marchesan, E., ... & Golombieski, J. I. (2018). Gill bioenergetics dysfunction and oxidative damage induced by thiamethoxam exposure as relevant toxicological mechanisms in freshwater silver catfish *Rhamdia quelen*. *Science of the Total Environment*, 636, 420-426.
- Banerjee, D., O'Shea, E., Doyle, J. G., & Goossens, M. (2001). Signatures of very long period waves in the polar coronal holes. *Astronomy & Astrophysics*, 380(2), L39-L42.
- Barcellos, L. J. G., Kreutz, L. C., & Quevedo, R. M. (2006). Previous chronic stress does not alter the cortisol response to an additional acute stressor in jundiá (*Rhamdia quelen*, Quoy and Gaimard) fingerlings. *Aquaculture*, 253(1-4), 317-321.
- 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, 103717.
- Benzer, F., Kandemir, F. M., Kucukler, S., Comaklı, S., & Caglayan, C. (2018). Chemoprotective effects of curcumin on doxorubicin-induced nephrotoxicity in wistar rats: by modulating inflammatory cytokines, apoptosis, oxidative stress and oxidative DNA damage. *Archives of physiology and biochemistry*, 124(5), 448-457.
- Bodnar, O. I., Horyn, O. I., Soroka, O. V., Nimko, K. V., & Falfushynska, H. I. (2022). Pesticide Pollution of Aquatic Ecosystems: Environmental risks and mechanisms of impact on aquatic organisms (a Review). *Hydrobiological Journal*, 58(2).
- Bonomo, M. M., de Castro Sachi, I. T., Paulino, M. G., Fernandes, J. B., Carlos, R. M., & Fernandes, M. N. (2021). Multi-biomarkers approach to access the impact of novel metal-insecticide based on flavonoid hesperidin on fish. *Environmental Pollution*, 268, 115758.
- Breuner, C. W., & Orchinik, M. (2002). Beyond carrier proteins: plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *J. Endocrinol*, 175, 99-112.

- 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.
- Calcagni, E., & Elenkov, I. (2006). Stress system activity, innate and T helper cytokines, and susceptibility to immune-related diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1069(1), 62-76.
- Carney Almroth, B. (2008). Oxidative damage in fish used as biomarkers in field and laboratory studies. Department of Marine Ecology; Institutionen för marin ekologi.
- Carraschi, S. P., Florêncio, T., Ignácio, N. F., Ikefuti, C. V., Cruz, C., & Ranzani-Paiva, M. J. T. (2017). Hematological and histopathological assessment of pacu (*Piaractus mesopotamicus*) after treatment of pathogens with veterinary medicinal products. *Comparative Clinical Pathology*, 26(1), 105-114.
- Carvalho, C. S., & Fernandes, M. N. (2006). Effect of temperature on copper toxicity and hematological responses in the neotropical fish *Prochilodus scrofa* at low and high pH. *Aquaculture*, 251(1), 109-117.
- Chrousos, G. P., & Gold, P. W. (1992). The concepts of stress and stress system disorders: overview of physical and behavioral homeostasis. *Jama*, 267(9), 1244-1252.
- Dawood, M. A., Koshio, S., & Esteban, M. Á. (2018). Beneficial roles of feed additives as immunostimulants in aquaculture: a review. *Reviews in Aquaculture*, 10(4), 950-974.
- de Mello, M. M. M., de Faria, C. D. F. P., Zanuzzo, F. S., & Urbinati, E. C. (2019). β -glucan modulates cortisol levels in stressed pacu (*Piaractus mesopotamicus*) inoculated with heat-killed *Aeromonas hydrophila*. *Fish & Shellfish Immunology*, 93, 1076-1083.
- Dias, I. H., Chapple, I. L., Milward, M., Grant, M. M., Hill, E., Brown, J., & Griffiths, H. R. (2013). Sulforaphane restores cellular glutathione levels and reduces chronic periodontitis neutrophil hyperactivity in vitro. *PLoS One*, 8(6), e66407.
- 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 garipenus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 27(18), 23108-23128.
- Ergenler, A., & Turan, F. (2022). Assessment of the genotoxic effect of thiamethoxam in *Cyprinus carpio* by the micronucleus and Comet assays. *Journal of the Black Sea/Mediterranean Environment*, 28(1).
- FAO. 2022. FAO Fisheries and Aquaculture Division. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb8609en>
- Farag, M. R., & Alagawany, M. (2018). Erythrocytes as a biological model for screening of xenobiotics toxicity. *Chemico-biological interactions*, 279, 73-83.
- Faught, E., Best, C., & Vijayan, M. M. (2016). Maternal stress-associated cortisol stimulation may protect embryos from cortisol excess in zebrafish. *Royal Society open science*, 3(2), 160032.
- Fazio, F. (2019). Fish hematology analysis as an important tool of aquaculture: a review. *Aquaculture*, 500, 237-242.
- Fazio, F., Marafioti, S., Arfuso, F., Piccione, G., & Faggio, C. (2013). Comparative study of the biochemical and haematological parameters of four wild Tyrrhenian fish species. *Veterinární medicína*, 58(11), 576-581.

- Fernandes MN, Mazon AF (2003) Environmental pollution and fish gill morphology. In: Val AL, Kapoor BG (eds) Fish adaptation. Science, Enfield, pp 203–231
- Firat, Ö., & Aytekin, T. (2018). Neonikotinoid insektisit thiamethoxamın *Oreochromis niloticus*’ ta oksidatif stres parametreleri üzerine etkisi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20(2), 224-234.
- Finnegan, M. C., Emburey, S., Hommen, U., Baxter, L. R., Hoekstra, P. F., Hanson, M. L., ... & Hamer, M. (2018). A freshwater mesocosm study into the effects of the neonicotinoid insecticide thiamethoxam at multiple trophic levels. *Environmental Pollution*, 242, 1444-1457.
- Forrester, S. J., Kikuchi, D. S., Hernandez, M. S., Xu, Q., & Griendling, K. K. (2018). Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. *Circulation research*, 122(6), 877-902.
- Forrester, S. J., Preston, K. J., Cooper, H. A., Boyer, M. J., Escoto, K. M., Poltronetti, A. J., ... & Eguchi, S. (2020). Mitochondrial fission mediates endothelial inflammation. *Hypertension*, 76(1), 267-276.
- García, J. J., López-Pingarrón, L., Almeida-Souza, P., Tres, A., Escudero, P., García-Gil, F. A., ... & Bernal-Pérez, M. (2014). Protective effects of melatonin in reducing oxidative stress and in preserving the fluidity of biological membranes: a review. *Journal of pineal research*, 56(3), 225-237.
- Georgieva, E., Stoyanova, S., Velcheva, I., & Yancheva, V. (2014). Histopathological alterations in common carp (*Cyprinus carpio* L.) gills caused by thiamethoxam. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57, 991-996.
- Geven, E. J., & Klaren, P. H. (2017). The teleost head kidney: Integrating thyroid and immune signalling. *Developmental & Comparative Immunology*, 66, 73-83.
- Ghaffar, A., Hussain, R., Noreen, S., Abbas, G., Chodhary, I. R., Khan, A., ... & Niaz, M. (2020). Dose and time-related pathological and genotoxic studies on thiamethoxam in fresh water fish (*Labeo rohita*) in Pakistan. *Pakistan veterinary journal*, 40(2), 151-156.
- Gill, T. S., & Pant, J. C. (1985). Erythrocytic and leukocytic responses to cadmium poisoning in a freshwater fish, *Puntius conchonus* Ham. *Environmental Research*, 36(2), 327-337
- Guilherme, S., Gaivão, I., Santos, M. A., & Pacheco, M. (2012). DNA damage in fish (*Anguilla anguilla*) exposed to a glyphosate-based herbicide—elucidation of organ-specificity and the role of oxidative stress. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 743(1-2), 1-9.
- Guimarães-Souza, N. K., Yamaleyeva, L. M., Lu, B., Ramos, A. C. M. D. S., Bishop, C. E., & Andersson, K. E. (2015). Superoxide overproduction and kidney fibrosis: a new animal model. *Einstein (Sao Paulo)*, 13, 79-88.
- Gupta, P., & Verma, S. K. (2022). Evaluation of genotoxicity induced by herbicide pendimethalin in fresh water fish *Clarias batrachus* (linn.) and possible role of oxidative stress in induced DNA damage. *Drug and Chemical Toxicology*, 45(2), 750-759.
- Hasan, M. M., Uddin, M. H., Islam, M. J., Biswas, S., Sumon, K. A., Prodhan, M. D. H., & Rashid, H. Histopathological Alterations in Liver and Kidney Tissues of Banded Gourami (*Trichogaster fasciata*) Exposed to Thiamethoxam.
- Hasan, M., Sumon, K. A., Siddiquee, M. M., Bhandari, R. K., Prodhan, M. D. H., & Rashid, H. (2022). Thiamethoxam affects the developmental stages of banded gourami (*Trichogaster fasciata*). *Toxicology Reports*.

- Heath, C., & Gonzalez, R. (1995). Interaction with others increases decision confidence but not decision quality: Evidence against information collection views of interactive decision making. *Organizational Behavior and Human Decision Processes*, 61(3), 305-326.
- Horie, M., & Tabei, Y. (2021). Role of oxidative stress in nanoparticles toxicity. *Free radical research*, 55(4), 331-342.
- Hussain, R., Ghaffar, A., Abbas, G., Jabeen, G., Khan, I., Abbas, R. Z., ... & Khan, A. (2020). Thiamethoxam at sublethal concentrations induces histopathological, serum biochemical alterations and DNA damage in fish (*Labeo rohita*). *Toxin Reviews*, 1-11.
- Idler, D. R., & Freeman, H. C. (1968). Binding of testosterone, 1 α -hydroxycorticosterone and cortisol by plasma proteins of fish. *General and Comparative Endocrinology*, 11(2), 366-372.
- Jabłońska-Trypuć, A. (2017). Pesticides as inducers of oxidative stress. *React. Oxyg. Species*, 3(8), 96-110.
- Jasmin, J., Rahman, M. M., & Rahman, M. M. (2018). Haematological changes in *Labeo rohita* (H.) due to exposure of pesticides, Difenconazole and Thiamethoxam. *International Journal of Contemporary Research and Review*, 9(01).
- Jenkins, J. A., Hartop, K. R., Bukhari, G., Howton, D. E., Smalling, K. L., Mize, S. V., ... & Brown, B. L. (2021). Juvenile African Clawed Frogs (*Xenopus laevis*) Express Growth, Metamorphosis, Mortality, Gene Expression, and Metabolic Changes When Exposed to Thiamethoxam and Clothianidin. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13291.
- Jerez-Cepa, I., Gorissen, M., Mancera, J. M., & Ruiz-Jarabo, I. (2019). What can we learn from glucocorticoid administration in fish? Effects of cortisol and dexamethasone on intermediary metabolism of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 231, 1-10.
- Kannan, K., & Jain, S. K. (2000). Oxidative stress and apoptosis. *Pathophysiology*, 7(3), 153-163.
- Karatas, T., Yildirim, S., Arslan, H., & Aggul, A. G. (2019). The effects on brown trout (*Salmo trutta fario*) of different concentrations of deltamethrin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 226, 108606.
- Khatib, I., Rychter, P., & Falfushynska, H. (2022). Pesticide Pollution: Detrimental Outcomes and Possible Mechanisms of Fish Exposure to Common Organophosphates and Triazines. *Journal of Xenobiotics*, 12(3), 236-265.
- Kocamaz, D., & Oruc, E. (2020). Effect of Thiamethoxam and λ Cyhalothrin, administered individually and in mixture on the endocrine function and antioxidant defense of gonads of *Oreochromis niloticus*. *Pakistan Journal of Zoology*, 52(3).
- Kollner B, Fischer U, Rombout JHWM, Taverne-Thiele JJ, Hansen JD (2004): Potential involvement of rainbow trout thrombocytes in immune functions: a study using a panel of monoclonal antibodies and RT-PCR. *Development and Comparative Immunology* 28, 1049–1062.
- Koolhaas, J. M., Bartolomucci, A., Buwalda, B., de Boer, S. F., Flügge, G., Korte, S. M., ... & Fuchs, E. (2011). Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 35(5), 1291-1301.
- Korkmaz, N., & Örün, İ. (2022). Effects of pesticide NeemAza-T/S on thyroid, stress hormone and some cytokines levels in freshwater common carp, *Cyprinus carpio* L. *Toxin Reviews*, 41(2), 496-505.

- Lee, K. M., Park, S. Y., Lee, K., Oh, S. S., & Ko, S. B. (2017). Pesticide metabolite and oxidative stress in male farmers exposed to pesticide. *Annals of occupational and environmental medicine*, 29(1), 1-7.
- Li, Y., Miao, R., & Khanna, M. (2020). Neonicotinoids and decline in bird biodiversity in the United States. *Nature Sustainability*, 3(12), 1027-1035.
- Lushchak, V. I. (2012). Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *Journal of amino acids*, 2012.
- Magnadóttir, B. (2006). Innate immunity of fish (overview). *Fish & shellfish immunology*, 20(2), 137-151.
- Maheswaran, R., Devapaul, A., Muralidharan, S., Velmurugan, B., & Ignacimuthu, S. (2008). Haematological studies of fresh water fish, *Clarias batrachus* (L.) exposed to mercuric chloride.
- Majewski, M.S.; Capel, P.D. *Pesticides in The Atmosphere-Distribution, Trend, and Governing Factors*; Ann Arbor Press Inc.: Chelsea, MI, USA, 1995; p. 118.
- Malik, D. S., & Maurya, P. K. (2014). Heavy metal concentration in water, sediment, and tissues of fish species (*Heteropneustis fossilis* and *Puntius ticto*) from Kali River, India. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 96(8), 1195-1206.
- Marchand, H., Barst, B. D., Boulanger, E., Vachon, N., Houde, M., Xia, J., ... & Head, J. A. (2022). Exposure to contaminated river water is associated with early hatching and dysregulation of gene expression in early life stages of the endangered copper redhorse (*Moxostoma hubbsi*). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(8), 1950-1966
- McMahon, M., Thomas, N., Itoh, K., Yamamoto, M., & Hayes, J. D. (2004). Redox-regulated turnover of Nrf2 is determined by at least two separate protein domains, the redox-sensitive Neh2 degron and the redox-insensitive Neh6 degron. *Journal of Biological Chemistry*, 279(30), 31556-31567.
- Michel, S. (2021). Evaluating the Neurobehavioral Toxicity of the Neonicotinoid Pesticide, Thiamethoxam, in Two Fish Species (Doctoral dissertation, University of Wisconsin-La Crosse).
- Mohamed, I. A., Hamed, M., Abdel-Tawab, H. S., Mansour, S., Soliman, H. A., Lee, J. S., & Sayed, A. E. D. H. (2022). Multi-biomarkers approach to assess the toxicity of novel insecticide (Voliam flexi®) on *Clarias gariepinus*: From behavior to immunotoxicity. *Fish & Shellfish Immunology*, 125, 54-64.
- Mohanty, G. and J. Mohanty (2018). Potentiality of short – term cultured cells of carps in DNA damage and repair studies. *Int. J. Biotechnol. Biomed. Sci.* 4(2): 67-73.
- Mommsen, T. P., Vijayan, M. M., & Moon, T. W. (1999). Cortisol in teleosts: dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. *Reviews in fish biology and fisheries*, 9(3), 211-268.
- Mukherjee, D., Saha, S., Chukwuka, A. V., Ghosh, B., Dhara, K., Saha, N. C., ... & Faggio, C. (2022). Antioxidant enzyme activity and pathophysiological responses in the freshwater walking catfish, *Clarias batrachus* Linn under sub-chronic and chronic exposures to the neonicotinoid, Thiamethoxam®. *Science of The Total Environment*, 836, 155716.
- Nakao, M., Tsujikura, M., Ichiki, S., Vo, T. K., & Somamoto, T. (2011). The complement system in teleost fish: progress of post-homolog-hunting researches. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12), 1296-1308.

- Nath, S., Bose, S., & Kundu, I. (2012, December). Effects of thiamethoxam on liver protein of *Oreochromis niloticus* (Trewavas). In Proceedings of the Zoological Society (Vol. 65, No. 2, pp. 118-120). Springer-Verlag.
- Nawaz, A., Irshad, S., Hoseinifar, S. H., & Xiong, H. (2018). The functionality of prebiotics as immunostimulant: Evidences from trials on terrestrial and aquatic animals. *Fish & shellfish immunology*, 76, 272-278.
- Naz, H., Abdullah, S., Ahmed, T., Abbas, K., Ijaz, M. U., Kumar, S., ... & Shah, S. Q. A. (2022). Toxicity, oxidative stress and geno-toxicity: lethal and sub-lethal effects of three different insecticides mixtures on *Cirrhina mrigala*. *Journal of Animal and Plant Sciences-Japs*, 32(1), 256-265.
- Nwani, C. D., Nagpure, N. S., Kumar, R., Kushwaha, B., & Lakra, W. S. (2013). DNA damage and oxidative stress modulatory effects of glyphosate-based herbicide in freshwater fish, *Channa punctatus*. *Environmental toxicology and pharmacology*, 36(2), 539-547.
- Oluah, N. S., Aguzie, I. O., Ekechukwu, N. E., Madu, J. C., Ngene, C. I., & Oluah, C. (2020). Hematological and immunological responses in the African catfish *Clarias fariatus* exposed to sublethal concentrations of herbicide Ronstar®. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 201, 110824.
- Özok, N., Oğuz, A. R., Kankaya, E., & Yeltekin, A. Ç. (2018). Hemato-biochemical responses of Van fish (*Alburnus tarichi* Guldenstadt, 1814) during sublethal exposure to cypermethrin. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 24(8), 2240-2246.
- Pagano, M., & Faggio, C. (2015). The use of erythrocyte fragility to assess xenobiotic cytotoxicity. *Cell biochemistry and function*, 33(6), 351-355.
- Pamila, D., Subbaiyan, P. S., & Ramaswamy, M. (1991). Toxic effects of chromium and cobalt on *Sarotherodon mossambicus* (Peters). *Indian Journal of Environmental Health*, 33(2), 218-224.
- Passantino L, Cianciotta A, Patruno R, Ribaud MR, Jirillo E, Passantino GF (2005): Do fish thrombocytes play an immunological role? Their cytoenzymatic profiles and function during an accidental piscine candidiasis in aquarium. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* 27, 345–356
- Paunescu, A., Soare, L. C., Fierascu, I., Fierascu, R. C., Mihaescu, C. F., Tofan, L., & Ponopal, C. M. (2022). Ecotoxicological Studies on the Action of Actara 25 WG Insecticide on Prussian Carp (*Carassius gibelio*) and Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*). *Toxics*, 10(3), 114.
- Pereira, L., Igea, A., Canovas, B., Dolado, I., & Nebreda, A. R. (2013). Inhibition of p38 MAPK sensitizes tumour cells to cisplatin-induced apoptosis mediated by reactive oxygen species and JNK. *EMBO molecular medicine*, 5(11), 1759-1774.
- Pijanowski, L., Jurecka, P., Irnazarow, I., Kepka, M., Szejser, E., Verburg-van Kemenade, B. M. L., & Chadzinska, M. (2015). Activity of the hypothalamus–pituitary–interrenal axis (HPI axis) and immune response in carp lines with different susceptibility to disease. *Fish physiology and biochemistry*, 41(5), 1261-1278.
- Ramesh, M., & Saravanan, M. (2008). Haematological and biochemical responses in a freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to chlorpyrifos. *International journal of integrative biology*, 3(1), 80-83.

- Ramesh, M., Anitha, S., Poopal, R. K., & Shobana, C. (2018). Evaluation of acute and sublethal effects of chloroquine ($C_{18}H_{26}ClN_3$) on certain enzymological and histopathological biomarker responses of a freshwater fish *Cyprinus carpio*. *Toxicology reports*, 5, 18-27.
- Rashid, P. (2021). Histopathological alterations in the gills of banded gourami (*Trichogaster fasciata*) exposed to thiamethoxam. Hasan MM, Hasan MM, Uddin MH, Sumon KA, Al-Amin, Rashid H, 49-56.
- Rehberger, K., Escher, B. I., Scheidegger, A., Werner, I., & Segner, H. (2021). Evaluation of an in vitro assay to screen for the immunotoxic potential of chemicals to fish. *Scientific reports*, 11(1), 1-16.
- Riaz-ul-Haq, M., Javeed, R., Iram, S., Rasheed, M. A., Amjad, M., & Iqbal, F. (2018). Effect of Diafenthiuron exposure under short and long term experimental conditions on hematology, serum biochemical profile and elemental composition of a non-target organism, *Labeo rohita*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 62, 40-45.
- Ringø, E., Zhou, Z., Vecino, J. G., Wadsworth, S., Romero, J., Krogh, A., ... & Merrifield, D. L. (2016). Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story?. *Aquaculture nutrition*, 22(2), 219-282.
- Robledinos-Antón, N., Fernández-Ginés, R., Manda, G., & Cuadrado, A. (2019). Activators and inhibitors of NRF2: a review of their potential for clinical development. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019.
- Rodriguez, A., Cuesta, A., Ortuno, J., Esteban, M. A., & Meseguer, J. (2003). Immunostimulant properties of a cell wall-modified whole *Saccharomyces cerevisiae* strain administered by diet to seabream (*Sparus aurata* L.). *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 96(3-4), 183-192.
- Roosta, Z., & Hoseinifar, S. H. (2016). The effects of crowding stress on some epidermal mucus immune parameters, growth performance and survival rate of tiger barb (*Puntius tetrazona*). *Aquaculture Research*, 47(5), 1682-1686.
- Rouabhi, R., & Gasmi, S. (2018). Mitochondrial dysfunction of rat Wistar nervous system after an exposure to abamectin (oxidative stress status, caspase-3, stromal enzymes and mitochondrial respiration and swelling). In *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions: Proceedings of Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration (EMCEI-1)*, Tunisia 2017 (pp. 517-519). Springer International Publishing.
- Roy, B., & Nath, S. (2011). Some haematological investigations on *Oreochromis niloticus* (Trewavas) following exposure to Thiamethoxam. *Acta Zoologica Lituanica*, 21(4), 301-305.
- Sadoul, B., & Geffroy, B. (2019). Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology*, 94(4), 540-555.
- Sadoul, B., Vijayan, M.M., 2016. 5 - Stress and Growth, in: L.T. Schreck, Anthony P. Farrell and Colin J. Brauner Carl B. (Ed.), *Fish physiology, biology of stress in fish* (pp. 167–205). London, England: Academic Press.
- Salbego, J., Seben, D., Sippert, L. R., Gressler, L. T., Arruda da Cunha, J., Zanella, R., ... & Golombieski, J. I. (2020). Toxicological response of silver catfish (*Rhamdia quelen*) after acute exposure to a commercial insecticide containing thiamethoxam. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 55(8), 749-

- Samajdar, I., & Mandal, D. K. (2015). Acute toxicity and impact of an organophosphate pesticide, chlorpyrifos on some haematological parameters of an Indian minor carp, *Labeo bata* (Hamilton 1822). *International Journal of Environmental Sciences*, 6(1), 106-113.
- Saraiva, A. S., Sarmiento, R. A., Rodrigues, A. C., Campos, D., Fedorova, G., Žlábek, V., ... & Soares, A. M. (2017). Assessment of thiamethoxam toxicity to *Chironomus riparius*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 240-246.
- Schieber, M., & Chandel, N. S. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Current biology*, 24(10), 453-462.
- Schreck, C. B. (2010). Stress and fish reproduction: the roles of allostasis and hormesis. *General and comparative endocrinology*, 165(3), 549-556.
- Schreck, C. B., & Tort, L. (2016). The concept of stress in fish. In *Fish physiology* (Vol. 35, pp. 1-34). Academic Press.
- Secombes, C. J., Wang, T., Hong, S., Peddie, S., Crampe, M., Laing, K. J., ... & Zou, J. (2001). Cytokines and innate immunity of fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 25(8-9), 713-723.
- Seth, N., & Saxena, K. K. (2013). Intoxication of Alphamethrin on the Haematology of *Channa punctatus*. *G-Journal of Environmental Science and Technology*, 1(2), 43-46.
- Shahjahan, M., Islam, M. J., Hossain, M. T., Mishu, M. A., Hasan, J., & Brown, C. (2022). Blood biomarkers as diagnostic tools: An overview of climate-driven stress responses in fish. *Science of the Total Environment*, 156910.
- Shen, W., Yang, G., Guo, Q., Lv, L., Liu, L., Wang, X., ... & Wang, Y. (2021). Combined toxicity assessment of myclobutanil and thiamethoxam to zebrafish embryos employing multi-endpoints. *Environmental Pollution*, 269, 116116.
- Shi, Y. (2002). Mechanisms of caspase activation and inhibition during apoptosis. *Molecular cell*, 9(3), 459-470.
- Silva-Herdade, A. S., Andolina, G., Faggio, C., Calado, Â., & Saldanha, C. (2016). Erythrocyte deformability—A partner of the inflammatory response. *Microvascular research*, 107, 34-38.
- Sinha, B. K., Gour, J. K., Singh, M. K., & Nigam, A. K. (2022). Effects of pesticides on haematological parameters of fish: Recent updates. *Journal of Scientific Research*, 66(1), 270-283.
- Smirna, A. H., Samira, B., Mohamed, D., & Houria, B. (2016). Evaluation of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and catalase activities in the land snail *Helix aspersa* exposed to thiamethoxam. *J. Ent. Zool*, 4, 369-374.
- SS, P., Patil, M. U., & Bhoi, S. S. (2015). Effect of fenvalerate synthetic pyrethroid on a certain haematological parameters of freshwater fish *Channa marulius* (Ham-Bach). *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res*, 2(3).
- Stosik H, Deptula W, Travnicek M (2001). Studies on the number and ingesting ability of thrombocytes in sick carps (*Cyprinus carpio*). *Veterinarni Medicina* 46, 12–16.
- Stoyanova, S., Georgieva, E., Velcheva, I., Atanasova, P., & Yancheva, V. (2019). Lipid accumulation in *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1785) liver induced by thiamethoxam. *ZooNotes*.

- Stoyanova, S., Georgieva, E., Velcheva, I., Yancheva, V., & Atanasova, P. (2012). Effects of the insecticide "Actara 25 WG" on the glycconeogenesis in the liver of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Journal of BioScience & Biotechnology*, 1(3).
- Stoyanova, S., Yancheva, V., Iliev, I., Vasileva, T., Bivolarski, V., Velcheva, I., & Georgieva, E. (2016). Biochemical, histological and histochemical changes in *Aristichthys nobilis* Rich. liver exposed to thiamethoxam. *Periodicum biologorum*, 118(1).
- Struger, J., Grabuski, J., Cagampan, S., Sverko, E., McGoldrick, D., & Marvin, C. H. (2017). Factors influencing the occurrence and distribution of neonicotinoid insecticides in surface waters of southern Ontario, Canada. *Chemosphere*, 169, 516-523.
- Tacon, A. G. (2022). Contribution of Fish and Seafood to Global Food and Feed Supply: An Analysis of the FAO Food Balance Sheet for 2019. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, 1-10.
- Temiz, Ö., Kargin, D., & Coğun, H. Y. (2021). In vivo effects on stress protein, genotoxicity, and oxidative toxicity parameters in *Oreochromis niloticus* tissues exposed to thiamethoxam. *Water, Air, & Soil Pollution*, 232(6), 1-17.
- Thompson, D. A., Lehmler, H. J., Kolpin, D. W., Hladik, M. L., Vargo, J. D., Schilling, K. E., ... & Field, R. W. (2020). A critical review on the potential impacts of neonicotinoid insecticide use: current knowledge of environmental fate, toxicity, and implications for human health. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 22(6), 1315-1346.
- Tickner, D., Opperman, JJ, Abell, R., Acreman, M., Arthington, AH, Bunn, SE, ... & Young, L. (2020). Küresel tatlı su biyolojik çeşitlilik kaybı eğrisini bükme: acil durum kurtarma planı. *BioScience*, 70 (4), 330-342.
- Ucar, A., Parlak, V., Ozgeris, F. B., Yeltekin, A. C., Arslan, M. E., Alak, G., ... & Atamanalp, M. (2022). Magnetic nanoparticles-induced neurotoxicity and oxidative stress in brain of rainbow trout: Mitigation by ulexite through modulation of antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic activities. *Science of The Total Environment*, 838, 155718.
- Uçkun, M., Yoloğlu, E., Uçkun, A. A., & Öz, Ö. B. (2021). Acute Toxicity of Insecticide Thiamethoxam to Crayfish (*Astacus leptodactylus*): Alterations in Oxidative Stress Markers, ATPases and Cholinesterase. *Acta Chimica Slovenica*, 68(3), 521-531.
- Uğurer, O. (2020). Permethrine maruz kalmış sazan balıklarında (*Cyprinus carpio* L. 1758) antioksidan değişimlerin incelenmesi (Master's thesis, Aksaray Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Veedu, S. K., Ayyasamy, G., Tamilselvan, H., & Ramesh, M. (2022). Single and joint toxicity assessment of acetamiprid and thiamethoxam neonicotinoids pesticides on biochemical indices and antioxidant enzyme activities of a freshwater fish *Catla catla*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 257, 109336
- Vega, M. R., Chapman, E., & Zhang, D. D. (2018). NRF2 and the Hallmarks of Cancer. *Cancer cell*, 34(1), 21-43.
- Velcheva, P., & Atanasova, V. Y. Lipid accumulation in *Cyprinus carpio* (Linnaeus, 1785) liver induced by thiamethoxam.
- Victoria, S., Duffy, S., Harrahy, E., & King-Heiden, T. (2022). Embryonic exposure to thiamethoxam reduces survival and alters neurobehavior of fathead minnows. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 41(5), 1276-1285.
- Wang, T., & Secombes, C. J. (2009). Identification and expression analysis of two fish-specific IL-6 cytokine family members, the ciliary neurotrophic factor (CNTF)-like and M17

genes, in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Molecular immunology, 46(11-12), 2290-2298.

Wedemeyer, G., Barton, B. B., & McLeay, D. J. (1990). Stress and acclimation.

Witeska, M., Kondera, E., Ługowska, K., & Bojarski, B. (2022). Balıklarda hematolojik yöntemler–Yalnızca yeni başlayanlar için değil. *Su Ürünleri*, 547, 737498.

Yada, T., & Tort, L. (2016). Stress and disease resistance: immune system and immunoendocrine interactions. In *Fish physiology* (Vol. 35, pp. 365-403). Academic Press.

Yamamuro, M., Komuro, T., Kamiya, H., Kato, T., Hasegawa, H., & Kameda, Y. (2019). Neonicotinoids disrupt aquatic food webs and decrease fishery yields. *Science*, 366(6465), 620-623.

Yan, S. H., Wang, J. H., Zhu, L. S., Chen, A. M., & Wang, J. (2016). Thiamethoxam induces oxidative stress and antioxidant response in zebrafish (*Danio rerio*) livers. *Environmental Toxicology*, 31(12), 2006-2015.

Yang, G., Lv, L., Di, S., Li, X., Weng, H., Wang, X., & Wang, Y. (2021). Combined toxic impacts of thiamethoxam and four pesticides on the rare minnow (*Gobiocypris rarus*). *Environmental Science and Pollution Research*, 28(5), 5407-5416.

Yıldız, P. O. (2019). Turunçgil kabuk yağlarının gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) filetolarının raf ömrü üzerine etkileri. *Journal of Limnology and Freshwater Fisheries Research*, 5(1), 17-26.

Zhao, Q., Jiang, Y., Xiang, S., Kaboli, P. J., Shen, J., Zhao, Y., ... & Xiao, Z. (2021). Engineered TCR-T cell immunotherapy in anticancer precision medicine: pros and cons. *Frontiers in Immunology*, 12, 658753.

Zhu, L., Li, W., Zha, J., Li, N., & Wang, Z. (2019). Chronic thiamethoxam exposure impairs the HPG and HPT axes in adult Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*): docking study, hormone levels, histology, and transcriptional responses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 185, 109683.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı :	Ayşe GÜNAY
Doğum tarihi :	
Doğum Yeri :	
Uyruğu :	
Adres :	
Tel :	
E-mail:	
Eğitim	
Lise :	
Lisans :	
Yüksek lisans:	
Doktora :	
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce :	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
Tezden Üretilmiş Yayınlar	