

Effect of Lambda-cyhalothrin on the Gill Phospholipid (PL) Subclass of *Oreochromis niloticus*

Murat YOLCU^{1,*}, Elif İpek SATAR¹, Mehmet BAŞHAN², Veysi KIZMAZ³

¹Dicle University, Faculty of Pharmacy, Department of Basic Sciences of Pharmacy, Diyarbakir, TÜRKİYE

²Dicle University, Faculty of Science, Department of Biology, Diyarbakir, TÜRKİYE

³Mardin Artuklu University, Vocational Higher School of Healthcare Studies Medical Laboratory Techniques, Mardin, TÜRKİYE

ORCID ID: Murat YOLCU: <https://orcid.org/0000-0003-3067-8755>; Elif İpek SATAR: <https://orcid.org/0000-0002-7540-3686>;

Mehmet BAŞHAN: <https://orcid.org/0000-0002-1228-9548>; Veysi KIZMAZ: <https://orcid.org/0000-0002-7864-5912>

Received: 02.12.2023

Accepted: 30.12.2023

Published online: 31.12.2023

Issue published: 31.12.2023

Abstract: Fatty acids have a crucial role in providing energy and performing essential functions in living organisms. Moreover, these substances exhibit the most significant alterations in their structure based on ecotoxicological parameters when viewed from a biochemical perspective. These bioactive chemicals are present in the cellular architecture. The study of these fatty acids, crucial for maintaining the integrity and permeability of cell membranes, holds great significance for all living organisms. Consequently, doing fatty acid analysis specifically at the phospholipid level holds significant importance.

The impact of lambda cyhalothrin on the fatty acid content of several phospholipid subclasses (phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), and phosphatidylserine (PS) in the gill tissue of *O. niloticus* (Perciformes: Cichlidae) was assessed using gas chromatography. The alterations in the fatty acid composition was analyzed 21 days after exposure.

Following the complete extraction of lipids from gill tissue, the tissue was subsequently separated into different subclasses of phospholipids using thin layer chromatography. The samples were subjected to methylation and then evaluated using Gas Chromatography to determine the percentage of the fatty acid. After doing the analysis, a grand total of 16 fatty acids were identified. The research revealed that the primary fatty acids were 16:0 and 18:0 of saturated fatty acids, monounsaturated 18:1n-9, and polyunsaturated 18:2n-6, 20:4n-6, and 22:6n-6. Upon analyzing the distribution of fatty acids, it was observed that PC, PE, and PI included 16:0, PE contained 18:1, PE and PS contained C18:2n-6 and 20:4n-6, and significant alterations in C22:6n-3 were detected in PE. Our investigation revealed that the n-3/n-6 ratio of fish in the PE subclass was the lowest when compared to PC, PI, and PS.

Keywords: Pyrethroid insecticide, fatty acid composition, phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine, phosphatidylinositol, phosphatidylserine.

Lambda-cyhalothrin'nin *Oreochromis niloticus*'un Solungaç Fosfolipid (PL) Alt Sınıfı Üzerine Etkisi

Öz: Yağ asitleri hem enerji kaynağı olarak hem de canlı sistemler için fonksiyonel görevler açısından oldukça önemlidir. Ayrıca bu bileşikler biyokimyasal açıdan ekotoksikolojik faktörlere bağlı olarak en fazla değişim gösteren yapılardır. Bu biyokimyasal bileşikler hücre yapısında bulunur. Bu nedenle yaşamda membran bütünlüğü ve geçirgenliği için çok önemli olan bu yağ asitlerinin analizi canlılar için oldukça önemlidir. Bu nedenle fosfolipit düzeyinde yağ asidi analizi oldukça önemlidir.

Sentetik piretroidler (SP'ler), güçlü bir pestisit aktiviteye sahip olmalarının yanı sıra çevrede biyolojik olarak parçalanabilmeleri nedeniyle tarımda kullanılan geniş spektrumlu pestisitlerdir. Bu çalışmada, bu pestisitlerin, çevredeki toksinlerin neden olduğu kirliliğin değerlendirilmesi ve biyoizlenmesi için önemli bir belirteç olan *Oreochromis niloticus*'un solungaç dokusunda fosfolipit alt sınıflarına ait yağ asitlerinin maruziyet etkisinin belirlenmesi amaçlandı. Lambda cyhalothrin, *O. niloticus*'un (Perciformes: Cichlidae) solungaç dokusundaki fosfolipid alt sınıflarının (fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidilserin (PS)) yağ asidi bileşimindeki etkileri gaz kromatografisi ile belirlendi. Yağ asidi profilindeki değişiklikler, maruziyetten 21gün sonra analiz edildi.

Solungaç dokusunun total lipid ekstraksiyonu yapıldıktan sonra ince tabaka kromatografisi ile fosfolipid alt sınıflarına ayrıldı. Metilasyon işleminden sonra numuneler Gaz Kromatografisi ile yağ asidi olarak kalitatif olarak analiz edilmiştir. Analiz sonucunda toplam 16 yağ asidi tespit edildi. Analizler sonucunda doymuş yağ asitlerinden 16:0 ve 18:0; tekli doymamışlardan 18:1n-9; çoklu doymamış olanlardan 18:2n-6, 20:4n-6 ve 22:6n-6 ana yağ asitleri olarak belirlendi. Yağ asidi dağılımı incelendiğinde, PC, PE ve PI'da 16:0; PE'de 18:1; PE ve PS'de C18:2n-6 ve 20:4n-6; PE'de C22:6n-3'te önemli değişiklikler bulundu. Çalışmamızda balıkların PE alt sınıfı n-3/n-6 oranı PC, PI ve PS'ye göre en düşük düzeyde bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Piretroid insektisit, yağ asidi bileşimi, fosfatidilkolin, fosfatidiletanolamin, fosfatidilinositol, fosfatidilserin.

1. Giriş

Piretroidler, *Chrysanthemum* cinsinin çiçeklerinde doğal olarak bulunan maddeler olan piretrinlerden türetilen sentetik böcek öldürücülerdir (Katsuda, 1999). Piretrinler hafif ve havada kararsız olan bileşikler olduğundan

tarımda böcek ilacı olarak kullanımları sınırlıdır (Elliott et al., 1973; Soderlund et al., 2002).

Piretroidler, organofosfatlara ve karbamatlara dirençli böceklerle karşı etkili ve geniş spektrumlu bir etkiye sahip oldukları için 1980'lerde popüler hale geldi.

Ayrıca piretroidlerin memeliler üzerinde daha az akut toksisitesi vardır ve önceki insektisitlere göre çevrede daha hızlı bozunurlar (Katsuda, 1999). Tarımda, halk sağlığında ve evsel ortamlarda dünya çapında en yaygın kullanılan insektisitler arasındadırlar (Katsuda, 1999; Zhang, 2018).

Piretroidler esas olarak ağızdan emilir ancak dermal yoldan zayıf bir şekilde emilir. Daha az toksik bileşiklere metabolize edildikleri ve lipofilik olmalarına rağmen biyolojik birikime uğramadıkları için güvenli kabul edilirler (Soderlund et al., 2002). Bununla birlikte, köpeklerin yağ dokusunda (Andrade et al., 2010), yunus karaciğerinde (Alonso et al., 2012), balıklarda (Corcellas et al., 2015) ve büyükbaş hayvan ve insan sütünde piretroid kalıntıları zaten bulunmuştur (Bedi et al., 2015; Corcellas et al., 2012). Bu bileşiklerin çevredeki kalıcılıkları kimyasal yapıya ve çevre koşullarına göre değişmekle birlikte genellikle toprakta ve sedimentte bozunurlar (Meyer et al., 2013).

Deniz balıkları, yüksek düzeyde çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), özellikle eikosapentaenoik asit (EPA, C20:5 n-3) ve dokosaheksaenoik asit (DHA, C22:6 n-3) ile karakterize edilir (Huynh & Kitts, 2009).

DHA ve EPA'nın kardiyovasküler hastalıkları azaltmadaki potansiyel etkisi ilk olarak Grönland Eskimolarında gösterildi; burada miyokard enfarktüsü ve iskemik kalp hastalığından düşük ölüm oranı, yüksek DHA ve EPA alımıyla ilişkilendirildi (Innes & Calder, 2020). Ayrıca Innis (2003), DHA'nın bebek retinal ve sinir fonksiyonunun gelişiminde önemli bir rol oynadığını bildirmiştir. Hodge et al. (1996), DHA ve EPA'nın eklem iltihabı ve kronik bronşit üzerinde önleyici etkileri olduğunu, DHA ve EPA'nın oksidatif metabolitlerinin ise inflamatuvar etkilere neden olabileceğini bildirmiştir (Jin et al., 2018).

Deniz ürünlerine yönelik artan talebi karşılamak amacıyla su ürünleri yetiştiriciliği son yıllarda önemli ilerlemeler kaydetmiştir. FAO'nun son raporuna göre, 2018 yılında 263,6 milyar ABD dolarına ulaşmış 114,5 milyon ton su ürünleri üretimi olmuştur (FAO, 2020). Aynı istatistiklere göre balık yetiştiriciliği, küresel su ürünleri üretiminin neredeyse yarısını (%47) oluşturuyor.

Bir organizmanın çevresel değişikliklere verimli bir şekilde uyum sağlama kapasitesinin ağırlıklı olarak metabolik esnekliğine bağlı olduğu iyi bilinmektedir (Smith et al., 2018). Bu olgu, hayvanın enerji gereksinimindeki artışları karşılamasına ve yeni çevresel koşullar altında homeostaziyi sürdürmesine olanak tanıyan bir dizi metabolik yeniden düzenlemeyi ve biyokimyasal ayarlamayı içerir (Baldisserotto et al., 2019). Deniz ekosistemlerindeki en yoğun enerji formu ve hücre zarının temel bileşenleri olan lipitler ve bunların temel bileşenleri olan yağ asitleri (FA), suda yaşayan organizmaların yeni çevre koşullarına adaptasyonunda anahtar rol oynar (Fokina et al., 2017). Bu bağlamda, çeşitli çalışmalar farklı abiyotik ve biyotik etmenlere bağlı olarak balıkların FA kompozisyonunda yüksek değişkenlik olduğunu bildirmiştir (Kaushik et al., 2006; Shirai et al., 2002). FA bileşimindeki değişikliklerin, reseptörler ve kanallar dahil olmak üzere membran proteinlerinin konformasyonel yeniden yapılanmasını tetiklemesi muhtemeldir ve sonuçta hücre dışı zorluklara

karşı hücre tepkilerini etkiler (Brown, 1994). FA, bu bileşiklerin temel ve ayrılmaz bir parçasını temsil eden iki ana alt sınıfa ayrılır. Lipid sınıfları genel olarak nötr, esas olarak triasilgliserol (TAG'ler) ve polar lipitlere (fosfolipitler gibi) bölünebilir. Fosfolipidler (PL'ler), biyolojik membranların ana yapısal bileşenleridir. Membran bütünlüğünün ve geçirgenliğinin korunmasında rol oynarlar ve çok çeşitli katalitik süreçlerin işlevi için matris sağlarlar (Rabeh et al., 2022). Organizmaların biyolojik olarak en önemli fosfolipidleri fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidilserindir (PS). Bu lipit sınıfları özellikle membran bütünlüğünün ve akışkanlığının korunmasında ve balıkların çevresel koşullardaki değişikliklere alışma sürecinin sağlanmasındaki rolleriyle bilinmektedir (Murzina et al., 2020).

2. Materyal ve Metod

2.1. Deneysel Kullanılacak Canlıların Elde Edilmesi ve Laboratuvar Koşullarına Adapte Edilmesi

Çukurova Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından sağlanan *O. niloticus* örnekleri, laboratuvar çalışmalarında deney materyali olarak kullanılmıştır. Getirilme aşamasında balıklara anestezi madde uygulanmıştır. Balık örneklerinin boy ve ağırlık değerleri bakımından olabildiğince birbirlerine yakın olmasına dikkat edilmiştir. Cinsiyetin sebep olabileceği değişiklikleri ortadan kaldırmak için de dişi balık örnekleri tercih edilmiştir. Çalışmamızda etik kurul belgesi, Dicle Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulunun 30.12.2015 tarih 6 no'lu karar ve 2015/62 protokol numaralı onayı ile alınmıştır.

Laboratuvara getirilen *O. niloticus* örnekleri, balıklar için özel olarak tasarlanmış iklimlendirme odasına alınmıştır. İklimlendirme odasına, içerisine musluk suyu (Tablo 1) dinlendirilerek eklenmiş ve merkezi havalandırma tertibatı bulunan 40×35×40 cm ebatlarında 6 adet akvaryum konulmuştur. Akvaryumların her birine 15'er balık bırakılarak, 15 gün boyunca laboratuvar şartlarına adaptasyonları sağlanmıştır. İklimlendirme odasındaki foto periyod, 4 adet floresan lamba (Daylight 36W/54) kullanılarak yapılmıştır. Fotoperiyodun bir günlük döngüsü; 14 saat aydınlık/10 saat karanlık olarak dizayn edilmiştir. İklimlendirme odasının sıcaklığı, uyum ve deney sırasında, termostatlı klima ile 26±1°C olacak şekilde tutulmuştur. Uyum sürecinde, balıklar ticari pellet diyetlerle günde 1 kez beslenmiştir. Adaptasyon süreci boyunca balıklar, gözlenerek herhangi bir hastalık belirtisine sahip olduğu düşünülen bireyler derhal ortamdan alınmıştır.

Tablo 1. Laboratuvar şartlarında kurulan akvaryumdaki suyun kimyasal özellikleri

Table 1. Chemical properties of water in the aquarium established under laboratory conditions

Chemical Parameters	
pH	7.8
Dissolved oxygen	6.7 mg/L
Total chlorine	0.05 mg/L
CaCO ₃ Ca	167 mg/L
CaCO ₃ Mg	221 mg/L

2.2. Deney Gruplarının Hazırlanması

Deneyde kullanılan Lambda-cyhalothrinin %99 saflıktaki teknik formülasyonları, Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Uygulanacak konsantrasyonlar hazırlanırken, akvaryumda bulunan suyun her bir litresine göre, LC₅₀ değerlerinin onda biri dikkate alınarak hesaplamalar yapılmıştır. Bu kimyasallar, asetonla çözülmüş ve çözücünün canlıda herhangi bir etkiye neden olmaması için, asetonun en düşük değerinin kullanılmasına dikkat edilmiştir. Deneyde lambda-cyhalothrin uygulanan bir grup, kontrol ve aseton kontrol olmak üzere toplam 3 grup belirlenmiştir. Yapılan bir araştırmada, (Piner & Üner, 2012), lambda-cyhalothrinin *O. niloticus* için LC₅₀ değerini 2,901 µg/L olarak bildirmişlerdir. Bundan dolayı bu gruptaki canlılara 0,29 µg/L lambda-cyhalothrin verilmiştir. Grupların her birinde 10 canlı olmak üzere toplamda 30 canlı kullanılarak sub-akut çalışma gerçekleştirilmiştir. Deney süresi 21 gün olarak belirlenmiştir.

Grup Numarası	Grup Adı
Grup I	Kontrol
Grup II	Aseton Kontrol
Grup IV	0,29 µg/L Lambda-cyhalothrin Maruziyet

2.3. Doku Örneklerinin Alınması ve Yağ Asidi Analizi İçin Balıklara Uygulanan İşlemler

Toksikolojik değişiklikleri saptamak amacıyla, her 3 gruptan; 7., 14. ve 21. günlerde 3 adet örnek alınarak, yağ asitlerinde meydana gelecek değişikliklerin belirlenmesi amaçlandı.

Alınan balık örnekleri, içinde karanfil yağı (40 mg/L) bulunan başka bir akvaryuma alındı ve bu akvaryumun içerisinde yaklaşık 2-3 dakika bırakılarak balıkların hareketsiz hale gelmesi sağlandı. Karanfil yağı, balıklar için doğal anestetik madde olarak kullanıldı.

Daha sonra balıklar sakrifiye edildi. Sakrifiye işlemine tabi tutulan balıkların solungaç ve karaciğer dokuları alındı. Alınan dokular kloroform-matanol (2:1) karışımına konularak analiz işlemine kadar derin dondurucuda saklandı.

2.4. Total Lipitlerin Fraksiyonlandırılması ve Yağ Asidi Metil Esterlerinin (FAME) Hazırlanması

Fosfolipit alt sınıflarının ayrılmasında (Vaden et al., 2005)'nin yöntemi kullanıldı. Önceden hazırlanmış pleytlerin nemlendirilme işleminde %1,8 borik asit çözeltisi kullanıldı. Pleytler kurutma işleminin ardından 100 °C ısıda aktivasyonu sağlandı. Kurutma işleminden sonra plakalara dokudan ekstrakte edilen lipit numunesi tatbik edildi ve yürütme için kloroform/etanol/su/trietilamin (30:35:7:35, v/v) karışımının yer aldığı tank içine konuldu. Havada kurutulma işlemine tabi tutulan pleytler 2'7' dikloroflorosein yardımı ile Fosfolipit altgrup fraksiyonları UV ışığında tespit edilerek reaksiyon tüplerine alınmıştır. Reaksiyon tüplerine, metanol ve sülfürik asit katılarak geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Böylece yağ asitlerinin, yağ asiti metil esterlerine dönüşümü sağlanmıştır. Çözelti soğuduktan sonra, heksan kullanılarak metil esterleri ekstrakte edilmiştir. PL alt sınıfına ait yağ asiti metil esterlerinin

analizi için FID dedektörüne sahip gaz kromatografi aleti kullanılmıştır.

2.5. Gaz kromatografisi koşulları

Metil esterleri haline getirilen yağ örneklerinin yağ asit analizleri, SHIMADZU GC 2010 PLUS model Gaz Kromatografisi cihazında, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve DB-23 (Bonded 50% cyanopropyl) (J & W Scientific, Folsom, CA, USA) kapiller kolon (30m X 0.25mm iç çapı X 0.25µm film kalınlığı) kullanılarak analizler yapılmıştır. Dedektör sıcaklığı: 250°C; enjektör sıcaklığı: 250°C; enjeksiyon: Split-model 1/20.

Yağ asidi metil esterlerinin analizi yapılırken, gaz kromatografisi koşulları şu şekildedir. Gaz akış hızları: Taşıyıcı gaz: 30m'lik kolon için helyum 0.5 ml / dk; hidrojen: 30 ml / dk; kuru hava: 400 ml / dk. Kolon (fırın) sıcaklığı: 170°C de, bekleme süresi, 2 dakika: 210°C'ye 2°C / dakika, bekleme süresi 20 dakika; toplam analiz süresi: 42 dakika. Örnek alete 1 mikrolitre enjekte edilmiştir. Yağ asitlerinin teşhisinde, standart olarak yağ asitlerinin metil esterleri karışımı (Sigma-Aldrich Chemicals) kullanılmıştır. Yağ asitleri metil esterlerinin kromatogramları ve toplam yağ asitleri miktarları, bilgisayarda GC Solution (Versiyon 2.4) bilgisayar programı ile elde edilmiştir. Analiz edilen örneklerin kromatogramındaki pikler, standarttaki bütün yağ asitlerinin metil esterlerinin alıkonma zamanları ile karşılaştırılarak teşhis edilmiştir. Sonuçlar kalitatif değer olarak %yağ asidi üzerinden verilmiştir.

2.6. Verilerin İstatiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler Windows için SPSS 18.0 yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Kontrol ve pestisite maruz kalan balıkların ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık p<0.05 düzeyinde değerlendirildi. Tablolardaki veriler ortalama ± standart hata (SE) olarak ifade edildi.

3. Bulgular

Kontrol balıklarının Solungaç dokusundaki fosfolipid (PL) alt sınıflarındaki yağ asitleri değerlendirildiğinde (Tablo 2), önemli görülen yağ asitleri ΣSFA'dan C16:0, C18:0, ΣMUFA'dan C18:1, ΣPUFA'dan C18:2n-6, C20:4n-6 ve C22:6n-3 olarak tespit edilmiştir. 21. günün sonunda artış ve azalışlarda düzensizlik tespit edildi. İstatistiksel olarak sonuçlar p<0.05 düzeyinde anlamlı görülmüştür.

21 gün Lambda-cyhalothrin'in subletal konsantrasyonunun etkisi altında kalan deneklerin solungaçlarındaki fosfatidilkolin (PC) yağ asitlerinde, kontrol grubu ile kıyaslandığında kayda değer farklılıklar bulundu. C16:0'da %23.09 ve C22:6n-3'te %35.10 oranında artış; C18:0'da %15.67, C18:1'de %4.25, C18:2n-6'da %29.30 ve C20:4n-6'da %40.28 seviyesinde önemli bir azalış tespit edilmiştir.

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin etkisinde kalan balıkların 21. günde PC'nin ΣSFA, ΣMUFA ve ΣPUFA'larınabakıldığında, ΣSFA'da %15.14 artış bulundu. ΣSFA'daki bu artışa C16:0'ın etki ettiği tespit edildi. ΣMUFA'da %6.80 azalış görüldü. ΣMUFA'daki bu azalış C16:1 ve C18:1'den dolayı olduğu tespit edildi. ΣPUFA'da ise C18:2n-6 ve C20:4n-6'dan kaynaklı %18.58'lik bir azalış bulundu. n-3 PUFA'da %12.86'lık

artma, n-6 PUFA'da %29.60'lık azalma görülmüştür. n-3 PUFA'daki artma C22:6n-3'ten, n-6 PUFA'daki azalış C18:2n-6 ve C20:4n-6'dan meydana gelmiştir. n-3/n-6

oranına baktığımızda %60.32 oranında bir artış tespit edilmiştir (Şekil 1).

Tablo 2. Kontrol ve Lambda-cyhalothrine maruz kalan grubun solungaç dokularından ekstrakte edilen fosfolipid alt sınıflarındaki (PC, PE, PI ve PS) yağ asitlerinin yüzdeleri

Table 2. Percentages of fatty acids in phospholipid subclasses (PC, PE, PI and PS) extracted from gill tissues of the control and Lambda-cyhalothrin-exposed group

Yağ asitleri	Fosfatidilkolin (PC)		Fosfatidiletanolamin (PE)		Fosfatidilinositol (PI)		Fosfatidilserin (PS)	
	Kontrol grup	Lambda-cyhalothrin	Kontrol grup	Lambda-cyhalothrin	Kontrol grup	Lambda-cyhalothrin	Kontrol grup	Lambda-cyhalothrin
1 C14:0	1.66±0.12	2.45±0.25a	0.46±0.07	1.13±0.11b	1.39±0.25	2.88±0.23c	4.27±0.43	2.04±0.28d
2 C15:0	0.68±0.13	0.59±0.08a	0.21±0.10	0.25±0.01b	0.28±0.01	0.44±0.14c	3.16±0.32	0.23±0.07d
3 C16:0	36.94±1.63	45.47±2.23a	19.74±0.71	24.04±1.22b	19.42±0.37	29.97±1.29c	23.34±0.92	26.49±1.19
4 C17:0	0.86±0.14	0.74±0.14a	0.74±0.32	0.43±0.06b	1.02±0.21	0.78±0.05c	0.76±0.19	0.87±0.17
5 C18:0	9.87±1.42	8.32±1.35a	16.54±0.46	12.04±1.05b	19.06±1.10	20.75±1.29	18.83±2.48	17.49±1.06
SFA	50.01±	57.58±1.44a	37.69±4.32	37.89±2.49	41.17±2.36	54.81±1.44cc	50.36±1.71	47.12±2.51
6 C16:1	2.24±0.22	1.73±0.06a	1.05±0.35	2.69±0.23b	3.76±1.12	3.08±0.45c	3.99±0.29	5.57±0.54d
7 C18:1	11.98±0.28	11.47±1.16	8.27±0.37	21.05±1.95b	10.76±0.48	7.90±0.54c	9.78±1.22	12.92±0.82d
8 C20:1	0.36±0.12	0.39±0.08	0.36±0.01	0.71±0.02b	0.66±0.10	0.32±0.02c	0.25±0.01	0.91±0.25d
MUFA	14.58±0.63	13.59±1.03	9.68±0.82	24.45±1.22b	15.18±1.03	11.30±1.01c	14.02±1.04	19.40±1.56d
9 C18:2n-6	10.84±0.43	7.66±0.71a	7.54±1.39	15.67±1.05b	6.14±0.51	8.91±1.61c	9.57±0.87	5.38±0.77d
10 C18:3n-6	0.32±0.03	0.37±0.08a	0.20±0.03	0.43±0.06b	0.70±0.03	0.51±0.03c	0.60±0.07	0.81±0.51d
11 C18:3n-3	0.24±0.12	0.19±0.04a	0.19±0.04	0.17±0.01	0.72±0.07	0.56±0.10c	0.32±0.02	0.47±0.02d
12 C20:2n-6	0.76±0.16	0.98±0.07a	0.39±0.07	0.25±0.01b	0.82±0.07	0.28±0.01c	0.22±0.02	0.28±0.01
13 C20:3n-6	0.88±0.14	0.81±0.51a	0.67±0.07	0.46±0.15b	1.84±0.02	1.02±0.21c	0.67±0.07	1.69±0.11d
14 C20:4n-6	11.36±0.24	6.78±0.70a	17.30±1.09	9.13±1.30b	18.42±	13.95±1.13c	12.86±1.00	6.32±1.37d
15 C20:5n-3	1.27±0.11	1.08±0.50a	1.66±0.65	1.68±0.61	1.88±0.28	1.48±0.32c	1.27±0.21	6.62±0.22d
16 C22:4n-6	0.84±0.14	1.16±0.11a	1.67±0.12	2.13±0.72b	3.25±0.31	1.59±0.18c	1.29±0.27	1.27±0.21
17 C22:5n-6	1.22±0.14	0.70±0.14a	1.73±0.08	1.80±0.24	1.50±0.22	0.97±0.21c	1.25±0.13	0.94±0.19d
18 C22:5n-3	1.82±0.13	1.77±0.20	2.60±0.43	0.68±0.09b	1.66±0.10	0.88±0.03c	1.42±0.25	2.73±1.02d
19 C22:6n-3	5.86±0.42	7.33±0.71a	18.68±1.08	5.26±0.77b	6.72±0.63	3.75±0.66c	6.15±0.85	6.97±1.81
PUFA	35.41±2.40	28.83±1.21a	52.63±1.52	37.66±1.84b	43.65±1.40	33.89±2.37c	35.62±1.35	33.49±2.29
n-3	9.19±1.38	10.37±0.19	23.13±1.13	7.80±1.68	10.98±0.48	6.66±0.60	9.16±0.02	16.79±0.76
n-6	26.22±2.67	18.46±1.03a	29.50±1.30	29.86±1.19	32.67±2.05	27.23±1.25	26.46±1.19	16.70±1.05
n-3/n-6	0.35	0.56	0.78	0.26	0.34	0.24	0.35	1.01

Values are provided as mean ± SE

SFA saturated fatty acid, MUFA monounsaturated fatty acid, PUFA polyunsaturated fatty acid

Significant differences at the P < 0.05 level are indicated by 'a', 'b', 'c' and 'd' for PC, PE, PI and PS, respectively.

21 gün süre zarfında Lambda-cyhalothrin'in subletal konsantrasyonu ile muamele ettiğimiz balıkların solungaç dokularındaki fosfatidiletanolamin (PE)'deki yağ asitleri kontrol grubuna göre anlamlı farklılıklar gösterdi. 21. günde C16:0'da %21.76, C18:1'de %154.48 ve C18:2n-6'da %107.76 oranında artış; C18:0'da %27.20, C20:4n-6'da %47.21 ve C22:6n-3'te %71.84 seviyesinde azalış kayda değerdir. Ayrıca C16:1'deki artış önemlidir.

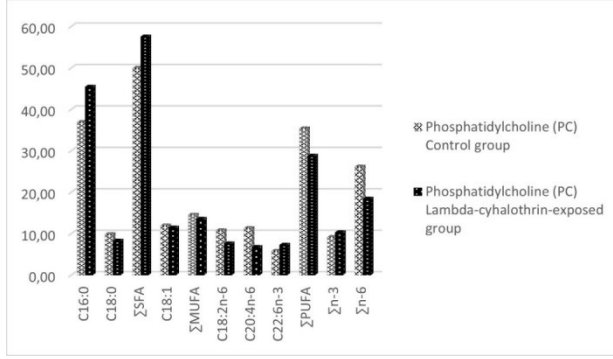
Lambda-cyhalothrine maruz bırakılan balıkların 21. günde PE ΣSFA, ΣMUFA ve ΣPUFA'ları değerlendirildiğinde, ΣSFA'da C16:0'dan kaynaklı %0.53'lük bir artış bulundu. ΣMUFA'da C18:1'den kaynaklı %152.58 seviyesinde artış görüldü. ΣPUFA'da

ise C20:4n-6 ve C22:6n-3'ten kaynaklı %28.44'lük bir azalma bulundu. n-3 PUFA'da %66.29 oranında C22:6n-3 kaynaklı azalış, n-6 PUFA'da ise C18:2n-6 kaynaklı %1.23 oranında artış kaydedilmiştir. n-3/n-6 oranı değerlendirildiğinde %66.70 seviyesinde bir azalma tespit edilmiştir (Şekil 2).

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin ile muamele edilen *O. niloticus* örneklerinin solungaç dokularında bulunan fosfatidilinositol (PI) yağ asitleri 21. günde; C16:0'da %54.30, C18:0'da %8.88 ve C18:2n-6'da %45.03 değerinde artış; C18:1'de %26.60, C20:4n-6'da %24.24 ve C22:6n-3'te %44.23'lük azalma kayda değer sayılmaktadır.

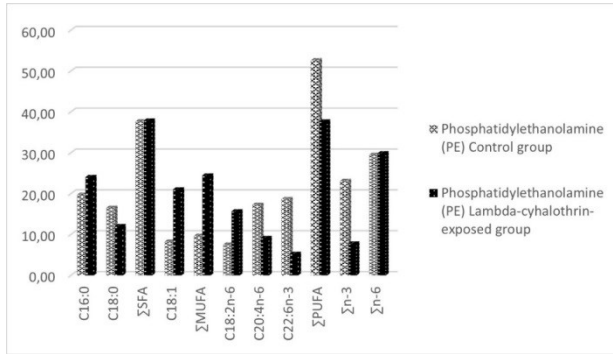
21. günde Lambda-cyhalothrin ile muamele edilen

örneklerin PI Σ SFA, Σ MUFA ve Σ PUFA'larına bakıldığında, Σ SFA'da C16:0 ve C18:0'dan kaynaklı %33.14'lük artış saptandı. Σ MUFA'da C18:1'den kaynaklı %25.57 azalış bulundu. Σ PUFA'da ise C20:4n-6 ve C22:6n-3'ten kaynaklı %22.36 seviyesinde bir azalış görüldü. n-3 PUFA'da % 39.31, n-6 PUFA'da % 16.67'lik azalış görülmüştür. n-3 PUFA'daki azalma C22:6n-3'ten meydana gelirken, n-6 PUFA'daki azalış C20:4n-6'dan kaynaklanmıştır. n-3/n-6 oranı değerlendirildiğinde %27.17 değerinde bir azalış tespit edilmiştir (Şekil 3).



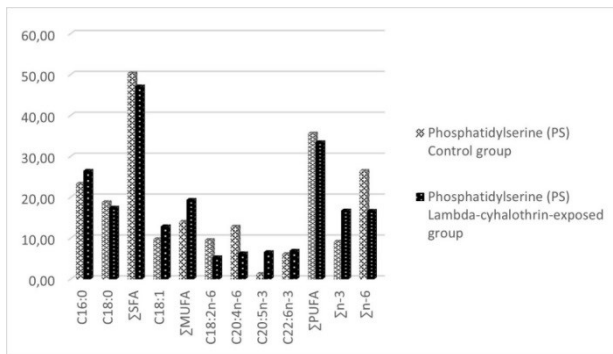
Şekil 1. Kontrol ve Lambda-cyhalothrine maruz kalan grubun solungaç dokularından ekstrakte edilen fosfolipid alt sınıflarındaki (PC) yağ asitlerinin yüzdeleri

Figure 1. Percentages of fatty acids in phospholipid subclasses (PC) extracted from the gill tissues of control and Lambda-cyhalothrin-exposed group



Şekil 2. Kontrol ve Lambda-cyhalothrine maruz kalan grubun solungaç dokularından ekstrakte edilen fosfolipid alt sınıflarındaki (PE) yağ asitlerinin yüzdeleri

Figure 2. Percentages of fatty acids in phospholipid subclasses (PE) extracted from the gill tissues of control and Lambda-cyhalothrin-exposed group

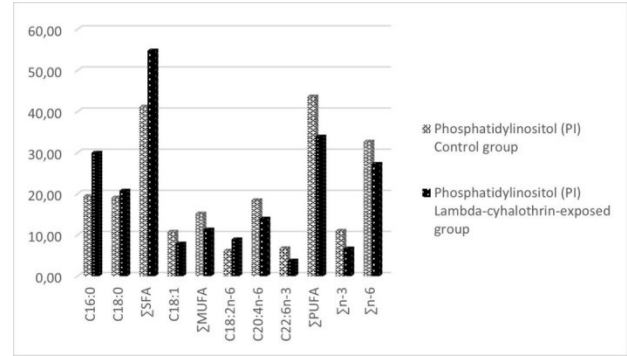


Şekil 4. Kontrol ve Lambda-cyhalothrine maruz kalan grubun solungaç dokularından ekstrakte edilen fosfolipid alt sınıflarındaki (PS) yağ asitlerinin yüzdeleri

Figure 4. Percentages of fatty acids in phospholipid subclasses (PS) extracted from the gill tissues of control and Lambda-cyhalothrin-exposed group

21 gün boyunca Lambda-cyhalothrin etkisine bıraktığımız balıkların solungaç dokularındaki fosfatidilserin (PS) yağ asitleri, kontrol grubuna kıyasla kayda değer farklılıklar gösterdi. C16:0'da %13.51, C16:1'de %39.58, C18:1'de %32.08 ve C22:6n-3'te %13.39'lük artış; C18:0'da %7.13, C18:2n-6'da %43.74 ve C20:4n-6'da %50.87 oranında azalış önemli görülmüştür. Buna ek olarak C20:5n-3'te de önemli bir artış tespit edildi.

0.29 µg/L Lambda-cyhalothrin ile muamele edilen balıkların 21. günde PS'nin Σ SFA, Σ MUFA ve Σ PUFA'ları incelendiğinde, Σ SFA'da C18:0'dan kaynaklı %6.4 seviyesinde bir azalmabulundu. Σ MUFA'da C18:1'den kaynaklı %38.34'lük bir artış gözlemlendi. Σ PUFA'da ise C18:2n-6 ve C20:4n-6'dan kaynaklı %5.99'lük azalış görüldü. n-3 PUFA'da C20:5n-3'ten kaynaklı %83.29'lük artma kaydedilirken, n-6 PUFA'da C18:2n-6 ve C20:4n-6'dan kaynaklı %36.90 seviyesinde azalış tespit edilmiştir. n-3/n-6 oranı incelendiğinde %190,48 değerinde artış tespit edilmiştir (Şekil 4).



Şekil 3. Kontrol ve Lambda-cyhalothrine maruz kalan grubun solungaç dokularından ekstrakte edilen fosfolipid alt sınıflarındaki (PI) yağ asitlerinin yüzdeleri

Figure 3. Percentages of fatty acids in phospholipid subclasses (PI) extracted from the gill tissues of control and Lambda-cyhalothrin-exposed group

4. Tartışma ve Sonuç

Solungaçlar, dış çevre ile geniş yüzey alanı ile temas halinde olmaları buna ilaveten iç ve dış çevre arasındaki mesafenin azlığı nedeniyle kirletici maddeler için ana hedef olarak kabul edilir. Solungaçlar, toksik maddelerin alımı, biyokonsantrasyonu ve atılımı için önemli bir organdır (Ben Ameer et al., 2012).

Hücrel membranlarda lipid peroksidasyonuna maruz kalan başlıca yağ asitleri çoklu doymamış yağ asitleridir. Lipid peroksidasyonu yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan hidrojen atomlarının çıkarılmasıyla başlar ve bunun sonucunda yağ asidi zinciri lipid radikali niteliği kazanır.

Lipid peroksidasyonu, membran lipitlerinin oksidatif hasarının bir sonucu olarak hücrel membran yapısının bozulmasıdır. Hücre zarlarının birliği ve akışkanlığı hücrel devamlılık için önemlidir (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Hücrel membran yapısında, membran lipitlerinin

oksidatif hasarı nedeni ile meydana gelen bozulma lipid peroksidasyonu olarak adlandırılır. Hücre bütünlüğü ve zarın akışkan olma özelliği hücre devamlılık açısından önemlidir (Halliwell & Gutteridge, 2015).

Çoğu pestisitler yüksek lipofilikliğe sahiptir. Bu nedenle pestisitler esas olarak hücresel membranların lipid kısmında birikir. Pestisit moleküllerinin hücre zarlarının lipitleriyle daha çok pestisit moleküllerinin lipit çift katmanının hidrokarbon bölgesine dahil edilmesi ile etkileşime girer (Golubev, 1993).

Mevcut araştırmanın sonucunda, *O. niloticus*'un solungaç dokusundaki fosfolipit alt sınıflarının yağ asidi bileşimlerinin, lambda cyhalothrinin toksisitesinden etkilendiği görülmektedir. Lambda cyhalothrinin PC üzerindeki etkisi total SFAs, total MUFAs ve total PUFAs da bulunmuştur. Cengiz et al. (2016) tarafından yapılan bir çalışmada deltametrinin PC üzerindeki etkisi total SFAs ve total PUFAs üzerinde bulunmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise total SFAs, total MUFAs ve total PUFAs da anlamlı bir değişime gözlenmemiştir (Cengiz et al., 2017).

Lambda cyhalothrinin PE üzerindeki etkisi total MUFAs ve total PUFAs da bulunmuştur. Cengiz et al. (2016) tarafından yapılan çalışmalarda da aynı sonuçlar gözlenmiştir. Başka bir çalışmada ise deltametrinin PE üzerinde total SFAs, total MUFAs ve total PUFAs da anlamlı değişiklikler tespit edilmiştir (Cengiz et al., 2017).

Lambda cyhalothrinin PI üzerindeki etkisi total SFAs, total MUFAs ve total PUFAs da bulunmuştur. Cengiz et al. (2016) tarafından yapılan çalışmalarda da aynı sonuçlar gözlenmiştir. Başka bir çalışmada ise deltametrinin PI üzerinde total SFAs, total MUFAs ve total PUFAs da anlamlı değişiklikler tespit edilmemiştir (Cengiz et al., 2017).

Lambda cyhalothrinin PS üzerindeki etkisi önemli bulunmamıştır. Ancak Cengiz et al. (2016, 2017) tarafından yapılan çalışmalarda total SFAs, total MUFAs ve total PUFAs da önemli değişiklikler bulunmuştur.

Kotkat (1999), deltametrine maruz bırakılan sazan balıklarının eritrosit zarlari üzerindeki fosfolipitlerin yağ asidi düzenlerinde belirgin bir farklılığın meydana geldiğini bildirmişlerdir. Çalışmalarında, yüksek deltametrin konsantrasyonlarının başta 16:0 ve 18:0 olmak üzere SFA düzeylerinde artışa yol açtığını, 20:5n-3 ve 22:6n-3 düzeylerinin ise önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Çalışmamızda lambda cyhalothrinin PC, PE, PI ve PS'de 20:4n-6 düzeylerinde; PE ve PI'da 22:6n-3 düzeylerinde de azalma gözlenmiştir. 20:4n-6, 22:6n-3 düzeylerinden üretim için gerekli bir yağ asididir (Bell et al., 1986). Prostaglandinler osmoregülasyonda görev almaktadırlar (Ruggeri & Thoroughgood, 1985). Uygulanan lambda cyhalothrin bu yağ asitlerinde azalma meydana getirerek osmoregülasyonda bozulmaya sebep olmuş olabilir.

Sonuç olarak lambda cyhalothrin membranların yapısını ve fonksiyonlarını etkiler ve membran sistemlerine zarar verebilir.

Mevcut çalışmanın sonuçları *O. niloticus*'un solungaç dokusundaki fosfolipit alt sınıflarının yağ asidi bileşimlerinin, lambda cyhalothrinin toksisitesinden

etkilendiğini göstermektedir.

Etik kurul onayı: Bu çalışma, hayvan deneylerinin etik standartlarına uygun olarak yapılmıştır. Çalışma için yasal araştırma etik kurul onay izinleri Dicle Üniversitesi Deneysel Hayvanları Etik Kurulu'ndan alınmıştır (No: 2015/62).

Çıkar çatışması: Yazarlar, çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Yazar Katkısı: Fikir/Kavram - M.Y., E.İ.S.; Tasarım - M.Y., E.İ.S.; Denetleme/Danışmanlık - M.Y., E.İ.S.; Kaynaklar/Fon Sağlama - M.Y., M.B.; Materyaller - M.Y., V.K.; Veri Toplama veya İşleme - M.Y., V.K.; Analiz Yorumlama - M.Y., E.İ.S.; Kaynak Taraması - M.Y., M.B.; Makalenin Yazımı - M.Y.; Eleştirel İnceleme - E.İ.S., M.B.; Diğer - M.B., V.K.

Kaynaklar

- Alonso, M.B., Feo, M.L., Corcellas, C., Vidal, L.G., Bertozzi, C.P., Marigo, J., ...& Barceló, D. (2012). Pyrethroids: A new threat to marine mammals? *Environment International*, 47, 99-106. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.06.010>
- Andrade, F.H., Figueiroa, F.C., Bersano, P.R., Bissacot, D.Z., & Rocha, N.S. (2010). Malignant mammary tumor in female dogs: environmental contaminants. *Diagnostic Pathology*, 5(1), 45. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-5-45>
- Baldisserotto, B., Mancera, J.M., & Kapoor, B.G. (Eds.). (2019). *Fish Osmoregulation*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429063909>
- Bedi, J.S., Gill, J.P.S., Aulakh, R.S., & Kaur, P. (2015). Pesticide Residues in Bovine Milk in Punjab, India: Spatial Variation and Risk Assessment to Human Health. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 69(2), 230-240. <https://doi.org/10.1007/s00244-015-0163-6>
- Bell, M.V., Henderson, R.J., & Sargent, J.R. (1986). The role of polyunsaturated fatty acids in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 83(4), 711-719. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(86\)90135-5](https://doi.org/10.1016/0305-0491(86)90135-5)
- Ben Ameer, W., de Lapuente, J., El Megdiche, Y., Barhoumi, B., Trabelsi, S., Camps, L., ...& Borràs, M. (2012). Oxidative stress, genotoxicity and histopathology biomarker responses in mullet (*Mugil cephalus*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) liver from Bizerte Lagoon (Tunisia). *Marine Pollution Bulletin*, 64(2), 241-251. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2011.11.026>
- Brown, M.F. (1994). Modulation of rhodopsin function by properties of the membrane bilayer. *Chemistry and Physics of Lipids*, 73(1-2), 159-180. [https://doi.org/10.1016/0009-3084\(94\)90180-5](https://doi.org/10.1016/0009-3084(94)90180-5)
- Cengiz, E.I., Bayar, A.S., & Kizmaz, V. (2016). The protective effect of vitamin E against changes in fatty acid composition of phospholipid subclasses in gill tissue of *Oreochromis niloticus* exposed to deltamethrin. *Chemosphere*, 147, 138-143. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.12.110>
- Cengiz, E.I., Bayar, A.S., Kizmaz, V., Başhan, M., & Satar, A. (2017). Acute Toxicity of Deltamethrin on the Fatty Acid Composition of Phospholipid Classes in Liver and Gill Tissues of Nile tilapia. *International Journal of Environmental Research*, 11(3), 377-385. <https://doi.org/10.1007/s41742-017-0034-2>
- Corcellas, C., Eljarrat, E., & Barceló, D. (2015). First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: A case study in Iberian river basins (Spain). *Environment International*, 75, 110-116. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.007>
- Corcellas, C., Feo, M.L., Torres, J.P., Malm, O., Ocampo-Duque, W., Eljarrat, E., & Barceló, D. (2012). Pyrethroids in human breast milk: Occurrence and nursing daily intake estimation. *Environment International*, 47, 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2012.05.007>
- Ellott, M., Farnham, A.W., Janes, N.F., Needham, P.H., Pulman, D.A., & Stevenson, J.H. (1973). A Photostable Pyrethroid. *Nature*, 246(5429), 169-170. <https://doi.org/10.1038/246169a0>
- FAO. (2020). *The State of World Fisheries and Aquaculture 2020*. FAO. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>
- Fokina, N.N., Ruokolainen, T.R., & Nemova, N.N. (2017). Lipid Composition Modifications in the Blue Mussels (*Mytilus edulis* L.) from the White Sea. In *Organismal and Molecular Malacology*. InTech. <https://doi.org/10.5772/67811>
- Golubev, V.N. (1993). Mechanisms of interaction of pesticides with the lipid bilayer in cell membranes. *Russian Chemical Reviews*, 62(7), 683-691. <https://doi.org/10.1070/RC1993v06n07ABEH000040>

- Halliwell, B., & Gutteridge, J.M.C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001>
- Hodge, L., Salome, C.M., Peat, J.K., Haby, M.M., Xuan, W., & Woolcock, A.J. (1996). Consumption of oily fish and childhood asthma risk. *Medical Journal of Australia*, 164(3), 137-140. <https://doi.org/10.5694/j.1326-5377.1996.tb122010.x>
- Huynh, M.D., & Kitts, D.D. (2009). Evaluating nutritional quality of pacific fish species from fatty acid signatures. *Food Chemistry*, 114(3), 912-918. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.10.038>
- Innes, J.K., & Calder, P.C. (2020). Marine Omega-3 (N-3) Fatty Acids for Cardiovascular Health: An Update for 2020. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), 1362. <https://doi.org/10.3390/ijms21041362>
- Innis, S.M. (2003). Perinatal biochemistry and physiology of long-chain polyunsaturated fatty acids. *The Journal of Pediatrics*, 143(4), 1-8. [https://doi.org/10.1067/S0022-3476\(03\)00396-2](https://doi.org/10.1067/S0022-3476(03)00396-2)
- Jin, S., Chen, H., Li, Y., Zhong, H., Sun, W., Wang, J., ...& Wang, J. (2018). Maresin 1 improves the Treg/Th17 imbalance in rheumatoid arthritis through miR-21. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 77(11), 1644-1652. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2018-213511>
- Katsuda, Y. (1999). Development of and future prospects for pyrethroid chemistry. *Pesticide Science*, 55(8), 775-782. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-9063\(199908\)55:8<775::AID-PS27>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9063(199908)55:8<775::AID-PS27>3.0.CO;2-N)
- Kaushik, S.J., Corraze, G., Radunz-Neto, J., Larroquet, L., & Dumas, J. (2006). Fatty acid profiles of wild brown trout and Atlantic salmon juveniles in the Nivelle basin. *Journal of Fish Biology*, 68(5), 1376-1387. <https://doi.org/10.1111/j.0022-1112.2006.01005.x>
- Kotkat, H.M. (1999). Influence of Pesticide Pyrethroid Deltamethrin Pollution on the Phospholipid Composition of Carp Erythrocyte Plasma Membrane. *Asian Fisheries Science*, 12(2). <https://doi.org/10.33997/j.afs.1999.12.2.007>
- Meyer, B.N., Lam, C., Moore, S., & Jones, R.L. (2013). Laboratory Degradation Rates of 11 Pyrethroids under Aerobic and Anaerobic Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(20), 4702-4708. <https://doi.org/10.1021/jf400382u>
- Murzina, S.A., Pekkoeva, S.N., Kondakova, E.A., Nefedova, Z.A., Filippova, K.A., Nemova, N.N., ...& Falk-Petersen, S. (2020). Tiny but Fatty: Lipids and Fatty Acids in the Daubed Shanny (*Leptoclinius maculatus*), a Small Fish in Svalbard Waters. *Biomolecules*, 10(3), 368. <https://doi.org/10.3390/biom10030368>
- Piner, P., & Üner, N. (2012). Oxidative and apoptotic effects of lambda-cyhalothrin modulated by piperonyl butoxide in the liver of *Oreochromis niloticus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(3), 414-420. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2012.01.001>
- Rabeh, I., Telahigue, K., Hajji, T., Kheriji, S., Besbes, A., Besbes, R., & El Cafi, M. (2022). Fatty acid composition of phospholipids and triacylglycerols in the flesh of the thick-lipped grey mullet (*Chelon labrosus*) living in Tunisian geothermal water and seawater: A comparative study. *Grasas y Aceites*, 73(1), e448. <https://doi.org/10.3989/gya.1127202>
- Ruggeri, B., & Thoroughgood, C.A. (1985). Prostaglandins in aquatic fauna: a comprehensive review. *Marine Ecology Progress Series*, 23, 301-306.
- Shirai, N., Terayama, M., & Takeda, H. (2002). Effect of season on the fatty acid composition and free amino acid content of the sardine *Sardinops melanostictus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 131(3), 387-393. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00507-3](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00507-3)
- Smith, R.L., Soeters, M.R., Wüst, R.C.I., & Houtkooper, R.H. (2018). Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. *Endocrine Reviews*, 39(4), 489-517. <https://doi.org/10.1210/er.2017-00211>
- Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., ...& Weiner, M. L. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171(1), 3-59. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00569-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00569-8)
- Vaden, D. L., Gohil, V. M., Gu, Z., & Greenberg, M. L. (2005). Separation of yeast phospholipids using one-dimensional thin-layer chromatography. *Analytical Biochemistry*, 338(1), 162-164. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.11.020>
- Zhang, W. (2018). Global pesticide use: Profile, trend, cost / benefit and more. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 8(1), 1-27.