


## ***Oreochromis niloticus*'un Karaciğerinde Fungisit Propiconazole'un Oksidatif Stres Parametreleri ve Antioksidan Sistem Enzimleri Üzerine Etkileri**

Özge TEMİZ\*

<sup>1</sup>Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Adana, Türkiye. : <https://orcid.org/0000-0003-0668-5744>

Received date: 25.02.2019

Accepted date: 23.03.2019

Atf yapmak için: Temiz, Ö. (2019). *Oreochromis niloticus*'un karaciğerinde fungisit propiconazole'un oksidatif stres parametreleri ve antioksidan sistem enzimleri üzerine etkileri. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(1), 43-47. Doi: <https://doi.org/10.35229/jaes.532079>

How to cite: Temiz, O. (2019). Effects of fungicide propiconazole on oxidative stress parameters and antioxidant system enzymes in liver of *Oreochromis niloticus*. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(1), 43-47. Doi: <https://doi.org/10.35229/jaes.532079>

**Öz:** Bu Araştırmada, fungisit propiconazole'un 0.5 ppb ve 2.5 ppb derişim etkilerinde 7 gün ve 28 gün sürelerde *Oreochromis niloticus*'un karaciğer dokusunda, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon S transferaz (GST) antioksidan sistem enzim aktiviteleri ve oksidatif stres parametreleri glutatyon (GSH) ve tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) miktarlarındaki değişimler spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

Çalışmamızda karaciğer dokusunda GSH miktarı ve GSH-bağımlı GPx ve GST aktivitesi 7. günde artarken; 28. günde GSH miktarında azalma ve GST aktivitelerinde artış belirlenmiştir. SOD ve CAT aktiviteleri 7. günde artarken 28. günde azalmıştır. TBARS düzeylerinde propiconazole etkisinde süreye ve derişime bağlı olarak artış göstermektedir.

Çalışma sonuçlarına göre propiconazole etkisinde *O. niloticus*'da antioksidan sistem enzim aktivitelerinde ve oksidatif stres parametrelerindeki değişimler propiconazole'un hepatotoksik etkiye neden olduğu belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Fungisit, propiconazole, *Oreochromis niloticus*, karaciğer, antioksidan sistem, glutatyon.

## **Effects of Fungicide Propiconazole on Oxidative Stress Parameters and Antioxidant System Enzymes in Liver of *Oreochromis niloticus***

**Abstract:** In this research, 0.5 ppb and 2.5 ppb effect of fungicide propiconazole in 7 days and 28 days periods in liver tissue of *Oreochromis niloticus*, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione S transferase (GST) antioxidant system enzyme activities and oxidative stress parameters glutathione (GSH) and thiobarbituric acid reagents (TBARS) were determined by spectrophotometric methods.

In our study, GSH levels and GSH-dependent GPx and GST activity increased in 7 days. In 28 days, decrease in GSH and increase in GST activities were determined. SOD and CAT activities increased in 7 days and decreased in 28 days. In TBARS levels, the time and concentrations -related increase in the effect of propiconazole

According to the results of the study; The effect of propiconazole on antioxidant enzyme activity and oxidative stress parameters in *O. niloticus* was determined to cause hepatotoxic effect.

**Keywords:** Fungicide, propiconazole, *Oreochromis niloticus*, liver, antioxidant system, glutathione.

## GİRİŞ

Fungisitler, klinik ilaç olarak ve tarımsal alanında pestisid olarak meyve, mısır ve diğer bitkiler için tedavi ve koruyucu olarak kullanılmaktadır (Chen vd., 2008; Li & Randak, 2009). Tarım alanlarında çeşitli zararlılara karşı kullanılan fungisitler uygulama sırasında yüzeysel ve yeraltı sularına karışarak hedef zararlılar dışında diğer organizmalara ve çevreye de zarar verebilmektedir (Konwick vd., 2006). Propiconazole (PPC;±-(1-[[2-(2,4-dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl]methyl]-1H-1,2,4-triazole, TILT) triazol sistemik fungusit alt grubu ve conazole fungisitler grubu üyesidir.

Azol içeren fungisitler lipofilik özellikte olup, canlıda sitokrom P450 (CYP450) inhibitörü olarak toksik özellik göstermektedir (De Jong vd., 2011). Yarılanma ömrünün uzun olması ve tarımda çok fazla kullanılması sonucu yer altı ve yüzey sularla akuatik ekosisteme taşınmakta özellikle balıklar ve besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşabilmesi nedeniyle önemli bir tehdit haline gelmektedir (Van de Steene & Lambert, 2008; Bordagaray vd., 2011). Yeraltı sularında 0.17-0.24 µg/L (Van de Steene & Lambert, 2008), yüzey sularında 0.012-12 µg/L (Li vd., 2010a) ve yiyecek kalıntılarında 0.08-0.20 mg/kg (Torres vd., 1997; Battaglin vd., 2011) PPC konsantrasyonları belirlenmiştir.

Su kirliliğinin canlılar üzerindeki etkilerini belirlemek için balıklar biyoindeksör olarak kullanılmaktadır ve akuatik ortamda oluşan kirliliğin belirlenmesinde önemli bir rol almaktadır (Van der Oost vd., 2003). Birçok çevresel stresör canlılarda reaktif oksijen sistemini (ROS) sitümüle edebilmekte ve sonucunda oksidatif strese neden olmaktadır (Li vd., 2010b, 2011c; Toni vd., 2011). ROS'un aşırı oluşumu sonucunda oksidatif stres oluşumunu nötralize edilmesi için canlıda antioksidan sistem mekanizması gelişmiştir. Antioksidan sistem enzimleri; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST) olup bunlar ayrıca detoksifikasyonda da görev alan enzimlerdir. Enzimatik olmayan antioksidanlardan glutatyon (GSH; L-γ-glutamyl-L-sisteinil-glisin ) hücre içerisinde GSH bağımlı enzimlere bağlanarak toksisite oluşumunu önlemeye çalışan bir tripeptiddir. Lipofilik özellik gösteren PPC toksisitesine karşı oksidatif stres parametresi olan lipid peroksidasyon ürünü malondialdehid (MDA) miktarı, tiyobarbitürik asit tepkimesi ile oluşan sekonder ürünü tiyobarbitürik asit reaktif maddelerinin (TBARS) miktarının ölçülmesiyle elde edilmektedir (Sturve vd., 2008; Zhang vd., 2008; Li vd., 2010a).

Bu çalışmanın amacı fungusit PPC etkisine akut (7 gün) ve subakut (28 gün) sürelerle bırakılan *Oreochromis niloticus*'un karaciğer dokusunda antioksidan sistem enzimleri (SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri) ve oksidatif stres parametlerine (TBARS ve GSH düzeyleri) etkilerinin belirlenmesidir.

## MATERYAL ve METOT

Deney hayvanı olan *O. niloticus* balıkları Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınmıştır. Laboratuvara getirilen deney hayvanları dinlendirilmiş musluk suyu içeren ve merkezi sistemle havalandırılan cam akvaryumlarda (40x120x40cm) içerisinde laboratuvar koşullarına 2 hafta uyumları sağlanmıştır. Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun bir şekilde araştırma yapılmıştır. Suyun özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Deney ve stok akvaryumlarda kullanılan suyun özellikleri.

Suyun özellikleri	
Sıcaklık	19.89±0.64°C
Çözünmüş oksijen	6.34±0.45 mg/L
Alkalinite	239±2.75 mg/L CaCO <sub>3</sub>
Toplam sertlik	262±13.78 mg/L CaCO <sub>3</sub>
pH	7.76±0.7

Laboratuvar sıcaklığı 23±1 °C'de tutulmuş ve 12 saat aydınlatma periyodu uygulanmıştır. *O. niloticus*'lar bu sürenin sonunda 12.64 ± 0.32 cm boy ve 34.27 ± 1.08 gr ağırlıkta ortalama değerlere ulaşmışlardır. Balıklar, günde iki kez olmak üzere balık ağırlığının % 1'i kadar hazır balık yemi (Pınar Balık Yemi, Türkiye) ile beslenmişlerdir. Toksik kimyasal olan PPC etken maddesi ticari adı Bumper (25 EC) Adama marka şirketten elde edilmiştir. Toksikite denemeleri ile PPC'nin 0.5 ve 2.5 ppb derişimleri belirlenmiştir.

Deneylerde 40x40x40 cm boyutlarında 3 cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumların her birine 50L su ve 12 adet balık konmuştur. 3 akvaryumdan birincisi kontrol, ikincisi PPC'nin 0.5 ppb ve üçüncü akvaryum ise PPC'nin 2.5 ppb derişimlerinin etkisine 7 ve 128 günlük sürelerle bırakılmıştır. Uygulanan toksik kimyasal miktarında değişimi önlemek için her gün su değişimi ve toksik madde eklemesi yapılmıştır. Deney süreleri olan 7 ve 28. günlerin sonunda her gruptan 6 balık çıkarılarak dekapitasyon yöntemiyle öldürülen balıklardan karaciğer dokuları disekte edilmiştir. Karaciğer dokusu % 0.59 NaCl oranında fizyolojik tuz çözeltisi ile yıkandıktan sonra biyokimyasal analizler yapılana kadar -80 °C'ye kaldırılmıştır.

Karaciğer dokusu %1.17 KCl içeren pH 7.4, 0.1M sodyum-fosfat tamponunda, 1/10 (w/v) oranında seyreltilerek 4 dk homojenize edilmiştir. Homojenatların +4 °C'de 16000 rpm'de 20 dakika santrifüjünden sonra elde edilen süpernatant ile CAT (Beutler, 1975), SOD (McCord & Fridovich, 1969), GPx (Beutler, 1984), GST (Habig vd., 1974) enzim aktiviteleri ve TBARS (Ohkawa vd., 1979), GSH (Beutler, 1975), protein (Bradford, 1976) miktarları spektrofotometrik yöntemlerle belirlenmiştir.

**İstatistiksel Analiz:** Deneylerden elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 22.0 programında "One-way ANOVA Duncan test ve Student t test kullanılarak" p<0.05 önem derecesinde belirlenmiştir (Kinnear & Gray, 1995).

## BULGULAR

Bu araştırmada *O. niloticus*, PPC'nin subakut dozlarında 7 ve 28 günlük sürelerle karaciğer dokusunda SOD, CAT, GPx ve GST enzim aktiviteleri ile GSH ve TBARS miktarlarında oluşan değişimler belirlenmiştir.

PPC etkisinde SOD aktivitesi 7 günlük sürede 0.5 ppb ve 2.5 ppb etkisinde kontrole göre sırayla %14 ve %26 artış, 28 günlük sürede ise %39 ve %62 azalış göstermiştir. Süreye bağlı olarak her iki derişimde de %48 ve %71 düzeylerindeki azalma istatistiksel olarak önemlidir (Tablo 2;  $p<0.05$ ). CAT aktivitesi, tüm derişimlerde ve sürelerde önemli bir azalma göstermiştir. Süreye bağlı istatistiksel olarak önemli bir fark belirlenmemiştir (Tablo 2;  $p>0.05$ ).

GPx aktivitesi, PPC etkisinde 7 günlük sürede 0.5 ppb ve 2.5 ppb PPC etkisinde kontrole göre sırasıyla %14 ve %43 düzeylerinde artarken, 28 günlük sürede ise %4 ve %3 düzeylerinde artış göstermiştir. Süreye bağlı olarak 0.5 ppb PPC etkisinde %3 artış belirlenirken, 2.5 ppb PPC etkisinde %19 azalma belirlenmiştir (Tablo 3;  $p<0.05$ ). GST aktivitesi, 7 günlük sürede 0.5 ppb ve 2.5 ppb PPC etkisinde kontrole göre sırayla %21 ve %28 artış gösterirken, 28 günlük sürede %45 ve %93 artış istatistiksel olarak önemlidir. Süreye bağlı olarak her iki derişimde de %17 ve %47 azalma istatistiksel olarak önemlidir (Tablo 3;  $p<0.05$ ).

**Tablo 2.** *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda PPC'nin SOD (U/mg protein) ve CAT (U/mg protein) enzim aktivitelerine etkileri.

	SOD		CAT	
	7. Gün	28. Gün	7. Gün	28. Gün
Kontrol	5.55±0.11ax	5.42±0.16ax	144.17±0.62ax	143.02±0.66ax
0.5 ppb PPC	6.32±0.08bx	3.31±0.09by	113.13±0.42by	108.65±2.85by
2.5 ppb PPC	7.01±0.05cx	2.06±0.12cy	93.35±0.37cx	91.84±0.82cx

a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayrımı, x ve y harfleri ise bir grubun farklı süreler arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $p<0.05$  düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ( $N=6$ ).  $X \pm S_x$  :Aritmetik ortalama±Standart hata.

**Tablo 3.** *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda PPC'nin GPx (U/mg protein) ve GST ( $\mu\text{mol/dk/mg}$  protein) enzim aktivitelerine etkileri.

	GPx		GST	
	7. Gün	28. Gün	7. Gün	28. Gün
Kontrol	0.047±0.0007ax	0.054±0.0005ax	5.36±0.18ax	5.25±0.18ax
0.5 ppb PPC	0.054±0.0005bx	0.056±0.0004by	6.48±0.11bx	7.59±0.13by
2.5 ppb PPC	0.068±0.0003cx	0.055±0.0006aby	6.89±0.04cx	10.14±0.22cy

a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayrımı, x ve y harfleri ise bir grubun farklı süreler arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $p<0.05$  düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ( $N=6$ ).  $X \pm S_x$  :Aritmetik ortalama±Standart hata.

GSH miktarı, PPC etkisinde 7 günlük sürede 0.5 ppb ve 2.5 ppb etkisinde kontrole göre sırasıyla %59 ve %47 artış gösterirken, 28 günlük sürede %4 ve %21 azalış göstermiştir. Süreye bağlı olarak 0.5 ppb ve 2.5 ppb etkisinde sırasıyla %39 ve %46 azalma istatistiksel olarak önemlidir (Tablo 4;  $p<0.05$ ).

TBARS miktarı, PPC etkisinde 0.5 ppb ve 2.5 ppb etkisinde 7 ve 28 günlük sürelerde kontrole göre sırayla %69, %103 ve %84, %156 artış göstermiştir. Süreye bağlı olarak 0.5 ppb ve 2.5 ppb etkisinde sırasıyla %7 ve %24 artış istatistiksel olarak önemli olarak bulunmuştur (Tablo 4;  $p<0.05$ ).

**Tablo 4.** *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda PPC'nin GSH ( $\mu\text{mol/mg/protein}$ ) ve TBARS ( $\text{nmol/mg protein}$ ) miktarlarına etkileri.

	GSH		TBARS	
	7. Gün	28. Gün	7. Gün	28. Gün
Kontrol	0.052±0.0130ax	0.053±0.0010ax	2.07±0.056ax	2.02±0.055ax
0.5 ppb PPC	0.083±0.0005bx	0.051±0.0019ay	3.50±0.028bx	3.73±0.074by
2.5 ppb PPC	0.077±0.0008cx	0.042±0.0002by	4.19±0.040cx	5.20±0.025cy

a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayrımı, x ve y harfleri ise bir grubun farklı süreler arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında  $p<0.05$  düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ( $N=6$ ).  $X \pm S_x$  :Aritmetik ortalama±Standart hata.

## SONUÇ ve ÖNERİLER

Antioksidan sistem enzimleri, dokularda çeşitli çevresel faktörler ve kimyasalların oluşturduğu ROS oluşumuna karşı koruyucu görev üstlenmektedir. Aynı zamanda strese karşı hassastırlar ve çevresel ve kimyasal stresörlere karşı farklı tepkiler göstermektedirler (Hermes-Lima, 2004; Lushchak, 2011). ROS'un potansiyel toksik etkilerini minimize edebilmek için canlılarda enzimatik antioksidan sistem enzimleri gelişmiştir. SOD, CAT, GPx ve GST gibi antioksidan sistem enzimleri oksijen radikalleri ve türevlerini inhibe etmektedirler (Li vd., 2010a). SOD, superoksit anyon ( $\text{O}_2^{\cdot-}$ ) radikalini  $\text{H}_2\text{O}$  ve hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) radikallerine dönüştürmektedir (Nordberg & Arner, 2001). CAT ve GPx birlikte hareket ederek  $\text{H}_2\text{O}_2$  (CAT ve GPx) ve diğer hidroperoksitlerin (GPx) detoksifikasyonunda görev almaktadır (Gate vd., 1999). Çalışmamızda, PPC etkisinde karaciğer dokusunda 7. günde SOD ve GPx aktivitesinde artış, CAT aktivitesinde ise azalış belirlenmiştir. Farklı bir fungusit mancozeb sublethal dozlarının etkisinde *Carassius auratus*'da karaciğer dokusunda SOD ve CAT enzim aktivitesi artış gösterirken, GPx enzim aktivitesi sadece yüksek konsantrasyonda artış göstermiştir (Atamaniuk vd., 2013). *Oncorhynchus mykiss* kas dokusunda propiconazole etkisinde 96 saatte SOD, CAT, GPx enzim aktivitelerinde kontrol grubuna göre artış, beyin dokusunda ise kas dokusunun aksine azalma belirlenmiştir (Li vd., 2011). Araştırmacılar, propiconazole'un ROS oluşumu üzerine etkilerinin antioksidan sistem enzimleri tarafından dokularda farklı mekanizmalarla detoksifike edildiğini bildirmişlerdir (Li vd., 2010c). PPC'ninde dahil olduğu triazole grubuyla yapılan çalışmalarda etkide kalan balıklarda ROS'un aşırı üretiminden kaynaklı oksidatif strese nedeniyle CAT aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir (Bagnyukova vd., 2005) Çalışmamızda, karaciğer dokusunda 28. günde SOD, CAT ve GPx enzim aktivitelerindeki azalış uzun süre oluşan toksik etkiye karşı antioksidan sistem elemanlarının karşı koyamadığı ve yetersiz kaldığı bu nedenle propiconazole'un oksidatif stres oluşturduğunu desteklemektedir.

Karaciğer, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve metabolik üretim süresinde katabolik süreci gerçekleştiren ana organdır, bunun sonucu olarak antioksidan sistem elemanlarında diğer organlara göre en fazla karaciğerde bulunmaktadır (Lushchak vd., 2005). Balıklarda hepatik GSH birçok çalışmada oluşan toksisite sonucunda indüklendiği bildirilmiştir (Pena-Llopis vd., 2003). ROS detoksifikasyonunda hidroperoksit ve lipid peroksit

radikallerinin GPx enzimi ile GSH oksidasyonu sonucunda detoksifike edilir. GSH-bağımlı diğer bir enzim olan GST, çeşitli elektrofilik substratları GSH'ın tiyol grubuyla konjugasyonunu katalizlemektedir. Böylece daha az toksik hale gelen elektrofilik bileşiklerin hücre dışına atılması hızlandırılır (Hayes vd., 2005; Zhang vd., 2004). Çalışmamızda GSH, TBARS miktarları ve GST enzim aktivitesi PPC etkisinde artış göstermiştir. GSH miktarında 28. günde azalış karaciğer antioksidan sisteminin yetersiz kalması sonucunda olduğu, ayrıca lipid peroksidasyonunun artışı nedeniyle GST'nin katalizlediği GSH konjugasyon miktarının artışı sonucu GSH düzeyinde azalma olduğu düşünülmektedir. Balıklarda yapılan çalışmalarda, lipid peroksidasyonunun artışı nedeniyle oluşan oksidatif stres koşullarında hücrede yapısal bütünlüğün kaybolması, TBARS miktarında oluşan değişimler ile gösterilmiştir (Calabrese vd., 2000; Oakes & Van der Kraak, 2003; Verma vd., 2007).

*Channa punctata*'da propiconazole 0.5 ppm ve 5 ppm etkisinde 96 saat sürede karaciğer, solungaç, böbrek dokularında lipid peroksidasyonu miktarında artış, GSH miktarında önemli bir azalma olduğu belirlenmiştir (Tabassum vd., 2016). *O. mykiss*'de propiconazole'un 0.2 ppb, 50 ppb ve 500 ppb konsantrasyonlarında 7, 20 ve 30 günlük sürelerde karaciğer, solungaç, kas dokularında lipid peroksidasyonunun önemli derece artış gösterdiği, GSH miktarının tüm sürelerde azaldığı fakat 30 günden sonra kontrole göre 500 ppb etkisinde karaciğer dokusunda adaptif yanıt oluşturduğu bildirilmiştir. GST enzim aktivitesi artış göstererek PPC etkisinde uzun süreli etkide oksidatif strese cevap oluşturduğu bildirilmiştir. (Li vd., 2010d). Fungisit mancozeb etkisinde *C. auratus*'da solungaç dokusunda subletal dozlarda GST enzim aktivitesi tüm derişimlerde kontrole göre artış göstermiştir (Kubrak vd., 2012) Yapılan araştırmalarda GST enzim aktivitesinin GSH miktarının düşüşüne bağlı olarak değişim gösterebileceği, GSH ve GST arasındaki korelasyonun sınırlayıcısının GSH miktarı olduğu bildirilmiştir (Zhang vd., 2004).

Subletal propiconazole derişimlerinin etkisinde *O. niloticus*'da karaciğer dokusunda antioksidan sistem enzimleri SOD, CAT, GPx ve GST aktivitesinde süreye ve konsantrasyona bağlı oksidatif stres yönünde değişimler meydana gelmiştir. Oksidatif stres parametreleri olan TBARS ve GSH miktarında meydana gelen değişimler propiconazole toksisitenin antioksidan enzimler tarafından giderilemediğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

Atamaniuk, T.M., Kubrak, O.I., Husak, V.V., Storey, K.B. & Lushchak V.I. (2013). The Mancozeb-Containing Carbamate Fungicide Tattoo Induces Mild Oxidative Stress in Goldfish Brain, Liver, and Kidney. *Environmental Toxicology*, **29**, 1227-1235.

Bagnyukova, T.V., Vasyukiv, O.Y., Storey, K.B. & Lushchak, V.I. (2005). Catalase inhibition by amino triazole induces oxidative stress in goldfish brain. *Brain Research*, **1052**, 180-186.

Battaglin, W.A., Sandstrom, M.W., Kuivila, K.M., Kolpin, D.W. & Meyer, M.T. (2011). Occurrence of azoxystrobin, propiconazole, and selected other fungicides in US streams, 2005–2006. *Water, Air & Soil Pollution*, **218**, 307-322.

Beutler, E. (1975). *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods*. Grune and Stratton, New York, London, 67-69.

Beutler, E. (1984). *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods*, 2nd edition. Grune and Starton, New York, 160s.

Bordagaray, A., Garcia-Arrona, R. & Millán, E. (2011). Optimization of solid-phase micro extraction procedure coupled to GC-ECD for triazole fungicides determination in juice samples. *Food Analytical Methods*, **4**, 293-299.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254.

Calabrese, V., Bates, T.E. & Stella, A.M.G. (2000). NO synthase and NO dependent signal pathways in brain aging and neurodegenerative disorders; the role of oxidant/antioxidant balance. *Neurochemical Research*, **25**, 1315–1341.

Chen, P.J., Moore, T. & Nesnow, S. (2008). Cytotoxic effects of propiconazole and its metabolites in mouse and human hepatoma cells and primary mouse hepatocytes. *Toxicology in Vitro*, **22**, 1476-1483.

Gate L., Paul J., Ba G.N., Tew K.D. & Tapiero H. (1999). Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **53**, 169-180.

Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. (1974). Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, **249**, 7130-7139.

Hayes, J.D., Flanagan, J.U. & Jowsey, I.R. (2005). Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, **45**, 51-88.

Hermes-Lima, M. (2004). *Oxidative stress and medical sciences*. In: Storey KB, editor. *Functional Metabolism: Regulation and Adaptation*. New York: Wiley. Pp 269-282.

Kinnear, P.R. & Gray, C.D. (1995). *SPSS for Windows Made Simple*. Lawrence Erlbaum Associates, East Sussex, UK, 275s.

Konwick, B.J., Garrison, A.W., Avant, J.K. & Fisk, A.T. (2006). Bioaccumulation and biotransformation of chiral triazole fungicides in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, **80**, 372-381.

Kubrak, O.I., Atamaniuk, T.M., Husak, V.V., Drohomlyetska, I.Z., Storey, J.M., Storey, K.B. & Lushchak, V.I. (2012). Oxidative stress responses in blood and gills of *Carassius auratus* exposed to the

- mancozeb-containing carbamate fungicide Tattoo. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **85**, 37-43.
- Li, Z.H. & Randak, T. (2009).** Residual pharmaceutically active compounds (PhACs) in aquatic environment— Status, toxicity and kinetics: A review. *Vet Med*, **52**, 295-314.
- Li, Z.H., Velisek J., Zlabek V., Grabic R., Machova J., Kolarova J. & Randak T. (2010a).** Hepatic antioxidant status and hematological parameters in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after chronic exposure to carbamazepine. *Chemico-Biological Interactions*, **183**, 98-104.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J. & Randak, T. (2010b).** Enzymatic alterations and RNA/DNA ratio in intestine of rainbow trout. *Oncorhynchus mykiss*, induced by chronic exposure to carbamazepine. *Ecotoxicology*, **19**, 872-878.
- Li, Z.H., Zlabek V., Velisek J., Grabic R., Machova J. & Randak T. (2010c).** Physiological condition status and muscle-based biomarkers in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), after long-term exposure to carbamazepine. *Journal of Applied Toxicology*, **30**, 197-203.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Grabic, R., Li, P. & Randak, T. (2010d).** Modulation of glutathione related antioxidant defense system of fish chronically treated by the fungicide propiconazole. *Comp Biochem Phys C*, **152**, 392-398.
- Li, Z.H., Zlabek, V., Velisek, J., Grabic, R., Machova, J., Kolarova, J., Li, P. & Randak, T. (2011).** Antioxidant responses and plasma biochemical characteristics in the freshwater rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, after acute exposure to the fungicide propiconazole. *J Anim Sci*, **56**, 61-69.
- Lushchak, V.I. (2011).** Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat Toxicol*, **101**, 13-30.
- Lushchak, V.I., Bagnyukova, T.V., Husak, V.V., Luzhna, L.I., Lushchak, O.V. & Storey, K.B. (2005).** Hyperoxia results in transient oxidative stress and an adaptive response by antioxidant enzymes in goldfish tissues. *Int J Biochem Cell Biol*, **37**, 1670-1680.
- McCord, J.M. & Fridovich, I. (1969).** Superoxide Dismutase; an Enzymatic Function for Erythrocyte (Hemocytin). *The Journal of Biochemistry*, **244**, 6049-6053.
- Nordberg J. & Arner E.S.J. (2001).** Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Research Biology and Medicine*, **31**, 1287-1312.
- Oakes, K.D. & Van der Kraak, G.J. (2003).** Utility of the TBARS assay in detecting oxidative stress in white sucker (*Catostomus commersoni*) populations exposed to pulp mill effluent. *Aquatic Toxicology*, **63**, 447-463.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. & Tagi, K. (1979).** Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Analytical Chemistry*, **95**, 351-358.
- Pena-Llopis, S., Ferrando, M.D. & Pena, J.B. (2003).** Fish tolerance to organophosphate induced oxidative stress is, dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquat Toxicol*, **65**, 337-360.
- Sturve J., Almroth B.C. & Forlin L. (2008).** Oxidative stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exposed to sewage treatment plant effluent. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **70**, 446-452.
- Tabassum, H., Dawood, A.Q., Sharma, P., Khan, J., Raisuddin, S. & Parvez, S. (2016).** Multi-organ toxicological impact of fungicide propiconazole on biochemical and histological profile of freshwater fish *Channa punctata* Bloch. *Ecological Indicators*, **63**, 359-365.
- Torres, C.M., Pico, Y. & Manes, J. (1997).** Comparison of octadecylsilica and graphitized carbon black as materials for solid-phase extraction of fungicide and insecticide residues from fruit and vegetables. *J Chromatography A*, **778**, 127-137.
- Van de Steene, J.C. & Lambert, W.E. (2008).** Validation of a solid-phase extraction and liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometric method for the determination of nine basic pharmaceuticals in wastewater and surface water samples. *J Chromatogr A*, **1182**, 153-160.
- Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environ Toxicol Pharmacol*, **13**, 57-149.
- Verma, R.S., Mhta, A. & Srivastava, N. (2007).** In vivo chlorpyrifos induced oxidative stress: attenuation by antioxidant vitamins. *Pest Biochem Physiol*, **88**, 191-196.
- Zhang, J.F., Shen, H., Wang, X.R., Wu, J.C. & Xue, Y.Q. (2004).** Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, **55**, 167-174.
- Zhang, X., Yang, F., Zhang, X., Xu, Y., Liao, T., Song, S. & Wang, H. (2008).** Induction of hepatic enzymes and oxidative stress in Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to waterborne hexabromocyclododecane (HBCDD). *Aquatic Toxicology*, **86**, 4-11.

## \*Corresponding author's:

Dr. Özge TEMİZ

Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sarıçam, Adana, Türkiye.

E-mail: temizozge@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0668-5744>