



Dimethoate ve Malathion Pestisitlerinin *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) Üzerindeki Kombine Etkisinin Sitokrom P450 ve Asetilkolinesteraz Kullanılarak Belirlenmesi

Nuran Cıkcıkoğlu Yildirim¹ Osman SERDAR^{2*} Numan Yildirim³

¹Munzur Üniversitesi, Pertek Sakine Genç Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü, Laborant ve Veteriner Sağlık Programı, Tunceli, Türkiye

²Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Tunceli, Türkiye

³Munzur Üniversitesi, Tunceli Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Organik Tarım Programı, Tunceli, Türkiye

Geliş Tarihi: 29.08.2022

Kabul Tarihi: 03.11.2022

Basım Tarihi: 31.12.2022

Atıf yapmak için: Yildirim, N.C., Serdar, O. & Yildirim N. (2022). Dimethoate ve Malathion Pestisitlerinin *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) Üzerindeki Kombine Etkisinin Sitokrom P450 ve Asetilkolinesteraz Kullanılarak Belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 7(4), 417-424.

How to cite: Yildirim, N.C., Serdar, O. & Yildirim N. (2022). Determination of the Combined Effect of Dimethoate and Malathion Pesticides on *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) Using Cytochrome P450 and Acetylcholinesterase. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 7(4), 417-424.

*ID: <https://orcid.org/0000-0003-1744-8883>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-3975-6705>
ID: <https://orcid.org/0000-0003-1109-8106>

*Sorumlu yazarın:

Osman SERDAR
Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi,
Temel Bilimler İç Sular Biyolojisi Anabilim
Dalı, Aktuluk Yerleşkesi 62100 Tunceli,
Türkiye
✉: osmserdar@gmail.com

Öz: Bu çalışmada, *Dreissena polymorpha*'da organofosforlu dimethoate ve malathion etken maddeli insektisit karışımlarının toksisitesini ortaya çıkarmak için sitokrom P450 (CYP1A1) ve Asetilkolinesteraz (AChE) aktiviteleri ölçülmüştür. Dimethoate ve malathion'un öldürücü konsantrasyonu (LC₅₀) 96 saat maruziyet sonunda 40,82±2,54 mg/L olarak hesaplanmıştır. *D. polymorpha* dimethoate ve malathionun üç subletal konsantrasyonuna (LC₅₀ değerine 1/16, 1/8 ve 1/4 oranla) 24 saat ve 96 saat boyunca maruz bırakılmıştır. CYP1A1 ve AChE seviyeleri, ticari kit kullanılarak mikropilaka okuyucuda ölçülmüştür. AChE aktivitelerinin kontrol grubuna göre 96 saat sonra tüm maruziyet gruplarında düştüğü gözlenmiştir. Maruziyet süreleri karşılaştırıldığında 96. saat sonunda enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Tüm gruplarda 24 saatin sonunda CYP1A1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamıştır, ancak kontrol grubuna kıyasla 96 saat sonra azalma görülmüştür (p<0,05). Dimethoate ve malathion kombinasyonunun toksik yanıtı konsantrasyonlarına bağlı olarak değişebildiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, dimethoate ve malathion karışımlarının, *D. polymorpha*'da AChE ve CYP1A1 aktivitelerini inhibe ettiği ve bu enzimlerin etkili bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur.

Anahtar kelimeler: AChE, CYP1A1, dimethoate, *D. polymorpha*, malathion.

Determination of the Combined Effect of Dimethoate and Malathion Pesticides on *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) Using Cytochrome P450 and Acetylcholinesterase

Abstract: In this study, cytochrome P450 (CYP1A1) and Acetylcholinesterase (AChE) activities were measured to reveal the toxicity of organophosphorus dimethoate and malathion active ingredient insecticide mixtures in *Dreissena polymorpha*. The lethal concentration (LC₅₀) of dimethoate and malathion was calculated as 40.82±2.54 mg/L after 96 hours of exposure. *D. polymorpha* was exposed to three sublethal concentrations of dimethoate and malathion (ratio of 1/16, 1/8 and 1/4 to LC₅₀ value) for 24 hours and 96 hours. CYP1A1 and AChE levels were measured in a microplate reader using the commercial kit. AChE activities were observed to decrease in all exposure groups after 96 hours compared to the control group. When the exposure times were compared, it was determined that there was no statistically significant change in enzyme activities at the end of the 96th hour. There was no statistically significant change in CYP1A1 levels at the end of 24 hours in all groups, but a decrease was observed after 96 hours compared to the control group (p<0.05). It has been determined that the toxic response of the combination of dimethoate and malathion can vary depending on their concentration. In conclusion, it was revealed that dimethoate and malathion mixtures inhibit AChE and CYP1A1 activities in *D. polymorpha* and these enzymes can be used as an effective biomarker.

*Corresponding author's:

Osman SERDAR
Munzur University, Faculty of Fisheries,
Tunceli, Turkey
✉: osmserdar@gmail.com

Keywords: AChE, CYP1A1, dimethoate, *D. polymorpha*, malathion.

GİRİŞ

Antropojenik kirleticiler arasında, pestisitler tatlı su ve nehir ağzı ekosistemlerinde yaygın olarak tespit edilir. Bu moleküller karasal ortamlara yayılıp tarımsal ve kentsel akıntılardan sucul alanlara karışırlar. Pestisitlerin önemli ekolojik sonuçları olabilir (Ozretic & Krajnovic-Ozretic, 1992). Organofosforlu bileşikler, hem evsel hem de endüstriyel uygulamalarda kullanılan çeşitli kimyasallar grubudur. Organofosfatların örnekleri arasında böcek öldürücüler (malathion, parathion), sinir gazları (sarin), oftalmik ajanlar, antihelmintikler, herbisitler ve diğer endüstriyel kimyasallar bulunur (Pandit vd., 2011). Organofosfatlar (OP'ler) modern sentetik böcek öldürücülerdir ve güçlü nörotoksik moleküllerdir (Ashauer vd., 2006). Asetilkolinesteraz enzimi (AChE: E.C.3.1.1.7) omurgalı ve omurgasız organizmalarda asetilkolinin parçalanmasını bloke etmektedir (Fulton & Key, 2001). Yaban hayatı popülasyonlarında AChE aktivitesinin izlenmesi, özellikle bu kimyasalların birçoğunun su ortamında nispeten kısa yarılanma ömrüne sahip olması ve suda çözünür olmaması nedeniyle, organofosforlulardan kaynaklanan çevresel kontaminasyonu saptamak için genel bir yöntem olarak önerilmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (Paris), AChE'nin biyolojik izlemesininin, hedef dışı türlerde organofosforlulara aşırı maruziyete karşı önleyici bir belirteç olarak kabul etmektedir (Romani vd., 2005).

Dimethoate sistemik bir insektisit olarak büyük tarımsal öneme sahiptir (Geering, 1959). Ülkemizde hali hazırda ruhsatlı olarak çiftçiler tarafından zeytin, antepfıstığı, erik, elma, şeftali gibi ürünlerde insektisit ve akarlar zararlıları ile mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Dimethoate, çok sayıda mahsulde çeşitli zararlılara karşı yaygın olarak kullanılan organofosfatlı insektisitlerden biridir ve dimethoatenin su ve karasal organizmalara toksisitesi üzerine birçok araştırma yapılmıştır (Eken vd., 2017).

Malathion, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve tüm dünyada en yaygın kullanılan OP'lerden biridir. Malathion pestisiti de ülkemizde ruhsatlı olarak çiftçiler tarafından domates, kayısı, kiraz, fasulye, soya, mısır, zeytin, antepfıstığı, erik, elma, şeftali gibi birçok meyve, sebze, süs bitkileri ürünlerinde insektisit zararlıları ile mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Popülaritesine temel nedeni malathion'un memelilerde nispeten düşük akut toksisiteye sahip olmasıdır. Ancak insan ve çevre sağlığına onarılamaz zarar verdiği tespit edilen diğer pestisitler gibi, malathion da sanılandan daha büyük bir risk oluşturabilmektedir (Brenner, 1992). Malathion, ekto-parazitleri, ev böceklerini yok etmek, depolanmış tahılı korumak ve hastalığa neden olan eklembacaklıları ortadan kaldırmak için kullanılan bir organofosforlu bir pestisitir (Assiniet vd., 2005).

Organofosfatlı pestisitlerin (OPP'ler) birincil etki mekanizması, asetilkolinesterazın (AChE) inhibisyonudur. AChE, nörotransmitter asetilkolini kolin ve asetik aside hidrolize eden bir enzimdir. AChE, merkezi ve periferik sinir sisteminde, nöromusküler kavşaklarda ve kırmızı kan hücrelerinde bulunur. AChE, merkezi ve periferik sinir sistemlerinde çok sayıda kolinerjik yolaka nörotransmitter asetilkolinin hızlı hidrolizi ile uyarı iletiminin sonlandırılmasında rol oynar. Organofosforlu pestisitlerin neden olduğu enzim inaktivasyonu, asetilkolin birikimine, nikotinik ve muskarinik reseptörlerin hiperstimülasyonuna ve bozulmuş sinir iletimine yol açar (Colovic vd., 2013). Organofosfor bileşikleri, enzimin aktif bölgesinde bulunan serin hidroksil grubunu fosforile ederek AChE ile kovalent bir bağ kurarak AChE'yi etkisiz hale getirir (Colovic vd., 2013; Chowdhary vd., 2014; Petroianu, 2009). Bir kez inaktive edildiğinde, asetilkolin sinir sistemi boyunca birikir ve muskarinik ve nikotinik reseptörlerin aşırı uyarılmasına neden olur. AChE, organofosfor veya karbamat bileşik kontaminasyonuna duyarlıdır. Balıklar (Sturm vd., 1999), kuşlar (Hill & Fleming, 1982) ve midyeler (Doran vd., 2001) dahil olmak üzere çeşitli hayvan taksonlarında bir biyobelirteç olarak kullanılmıştır.

Biyokimyasal değişikliklerin değerlendirilmesi, çevresel kontaminasyonun erken tespiti için kullanılabilir. Sitokrom P450 enzimlerini (CYP) ve glutatyon S-transferazı (GST) içeren biyotransformasyon enzimleri, çok çeşitli ksenobiyotiklerin kaderini belirleyebildikleri için toksisitenin değerlendirilmesi için önemli parametrelerdir (Nebbia, 2001). Sitokrom P450'ler, indirgeme ve oksidasyon reaksiyonlarında, özellikle ilaç metabolizasyonunda ve endojen maddelerin metabolizmasında yer alan en önemli hemoprotein gruplarından biridir (Dutour & Poirier, 2017).

Sitokrom P450 (CYP) 1A1, östrojenler de dahil olmak üzere çok sayıda kanserojen ve steroid hormonun metabolizmasından sorumlu önemli bir faz I ksenobiyotik metabolize edici enzimdir (Gonzalez, 1990). DNA'yı bağlayan ve bu maddelerin elektrofilik bileşiklere metabolizmasının ilk adımını katalize eden toksik ara maddelerin oluşturulmasından sorumlu olduğu için kimyasalların toksisitesine büyük ölçüde katkıda bulunur (Shimada vd., 1996). Pestisitler CYP450 enzimleri tarafından daha az toksik bileşikler oluşturmak için metabolize edilebilirler, ancak metabolize olmadıkları için olumsuz etki yaratma kapasitesi ile aktif madde miktarını artırarak CYP450 aktivitesini de inhibe edebilirler (Abass & Pelkonen, 2013; Werck-Reichhart & Didierjean, 2000).

Zebra midyesi *D. polymorpha* (Pallas, 1771), Hazar Denizi'nden Avrupa ve Kuzey Amerika nehirlerine ve göllerine kadar çoğalan istilacı bir tür olarak kabul edilir. Su bitkileri de dahil olmak üzere her türlü sert alt tabakaya yapışarak ciddi ekonomik sorunlara neden

olabilirler (Enserink,1999). Antropojenik kirleticilere karşı orta düzeyde duyarlılığı, habitatlar ve serbest yaşayan veliger larvaları gibi sert substratlar ile birleştiğinden dolayı, *D. polymorpha* kentsel suyollarında da popülasyonlar oluşturabilirler. *D. polymorpha*, çok çeşitli sestonik partikülleri filtreleyen bir süspansiyon besleyicidir (Horgan & Mills 1997). Su ortamında veya laboratuvarında biyobirikim çalışmaları yapmak için de uygun organizmalardır (Bouskill vd., 2006). İstilacı tür olmaları, yüksek toleransa sahip olmaları, kolay toplanmaları ve hızlı adapte olmalarından dolayı ekotoksik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar (Serdar, 2021).

Bu çalışma ile oldukça yaygın olarak kullanılan ve ekosisteme doğrudan ve dolaylı olarak etki ettiği akademik çalışmalarla belirlenen dimethoate ve malathion pestisitlerinin karışım olarak birlikte toksisitesini değerlendirmek için hedef dışı sucul bir organizma olan *D. polymorpha*'da CYP1A1 ve AChE biyobelirteçleri kullanılarak sucul ekosisteme olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Test organizması: Çalışmada kullanılan *D. polymorpha* örnekleri Yukarı Fırat Nehri'nden (38.803204 K, 38.728121 D) temin edilmiştir. *D. polymorpha* elle toplanarak hava takviyeli plastik kaplarda Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Su Toksikolojisi Araştırma Laboratuvarı'na canlı olarak getirilmiştir.

Test organizmasının laboratuvar koşullarına adaptasyonu: Laboratuvara canlı olarak getirilen *D. polymorpha* örnekleri hazırlanan akvaryumlara yerleştirilmiştir. Fotoperiyot, laboratuvar aydınlatmasında 14 saat aydınlık ve 10 saat karanlıkta uygulanmıştır. Termostatlı klima sayesinde hem adaptasyon hem de test aşamalarında ortam sıcaklığı 18°C'a ayarlanarak sabit tutulmuştur. *D. polymorpha*'yı beslemek için kültürlenmiş fitoplanktonlar kullanılmıştır.

LC₅₀ değerinin belirlenmesi ve deneysel tasarım: Dimethoate ve malathionun öldürücü konsantrasyon (LC₅₀) değeri 96 saatlik maruziyetten sonra belirlenmiştir. Bu amaçla önce aralık belirleme testleri uygulanarak uygulama konsantrasyonları belirlenmiş, ardından statik test uygulanmıştır (APHA, 1998).

Bu çalışmada kullanılan dimethoate ve malathion ticari firmadan (Sigma-Aldrich) satın alınmıştır. Malathion ve dimethoatenin birlikte 1:1 oranında uygulamasında LC₅₀ değeri 40,82±2,54 mg/L olarak belirlenmiştir. Dimethoate ve malathionun üç subletal konsantrasyonu (LC₅₀ değerinin 1/16 1/8 ve 1/4 oranında), 24 saat ve 96 saat boyunca *D. polymorpha*'ya uygulanmıştır. *D. polymorpha* (her grup için n: 10), 24 saat ve 96 saat

boyunca dimethoate ve malathion içeren sentetik solüsyonlara maruz bırakılmıştır. Buna göre, aşağıdaki dört deney grubu tasarlanmıştır: Kontrol grubu, Grup A (2,55 mg/L dimethoate + 2,55 mg/L malathion içeren), Grup B (5,1 mg/L dimethoate + 5,1 mg/L malathion içeren) ve Grup C (10,2 mg/L dimethoate + 10,2 mg/L malathion içeren).

Diseksiyon prosedürleri ve süpernatantların hazırlanması: Test organizması bireyleri bir neşter ile açılmış ve diseksiyon işlemi yapılmıştır. Organizmadan 0,5 g tartılmış ve buzlu homojenizatör kullanılarak 1/5 w/v oranında PBS tamponu (fosfat tamponlu tuz solüsyonu) ilave edilerek homojenize edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar ölçüm işlemi yapılncaya kadar -80 °C derin dondurucuda saklanmıştır.

Biyokimyasal yanıtın belirlenmesi: Bu çalışmada, *D. polymorpha*'da biyokimyasal cevabı ortaya çıkarmak için CYP1A1 ve AChE aktiviteleri belirlenmiştir. CYP1A1 ve AChE aktiviteleri, Cusabio Company'den satın alınan ticari ELISA kitleri kullanılarak bir mikropilaya okuyucuda ölçülmüştür (katalog numarası CYP1A1: CSB-EL006395FI, AChE: CSB-E17001Fh).

İstatistiksel analiz: Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS 24.0 istatistik programı kullanılarak yapılmıştır. Dimethoate ve malathion'un LC₅₀ değeri SPSS paket programı Probit analizi kullanılarak hesaplanmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarının biyokimyasal parametrelerindeki değişiklikler Duncan Çoklu Aralık Testi ile test edilmiştir. Uygulama süreleri, iki yönlü varyans analizi (ONEWAY – ANOVA) kullanılarak karşılaştırılmıştır.

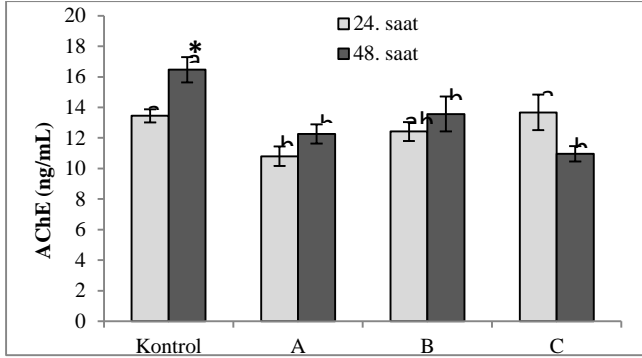
BULGULAR

Akut toksisite (LC₅₀) değeri: *D. polymorpha*'nın üç tekrarlı olarak malathion ve dimethoatenin birlikte uygulanmasından elde edilen LC₅₀ değeri 40,82±2,54 mg/L olarak tespit edilmiştir.

AChE seviyeleri: AChE düzeylerinin A ve B gruplarında 24 saat sonra kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür (p<0,05). Kontrol grubuna kıyasla 96 saat sonra tüm maruziyet gruplarında bir azalma tespit edilmiştir (p<0,05). Maruziyet süreleri karşılaştırıldığında 96. saat sonunda enzim düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir (p>0,05)(Şekil 1).

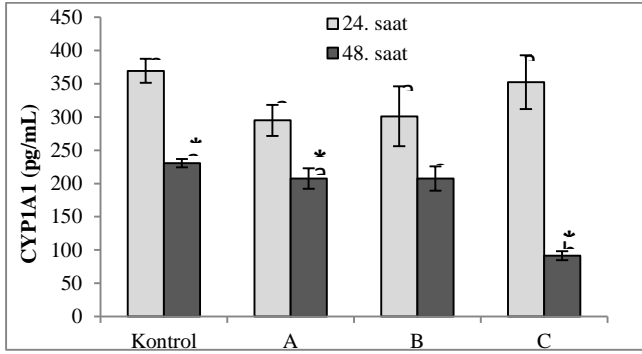
CYP1A1 seviyeleri: Kontrol Grubuna kıyasla tüm maruziyet gruplarında 24 saatin sonunda CYP1A1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmamıştır (p>0,05). Kontrol Grubuna kıyasla 96 saat sonra C grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş bulunmuştur (p< 0.05). Maruziyet süreleri karşılaştırıldığında 96. saat sonunda kontrol, A ve C

gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$) (Şekil 2).



Şekil 1 24 ve 96 saat boyunca kombine malathion ve dimethoate maruziyetinden sonra *D. polymorpha*'da Acetylcholinesterase seviyeleri. *aynı gruplarda farklı maruz kalma süreleri (24, 96 saat) arasındaki istatistiksel farkı gösterir ($*p < 0,05$). Farklı harfler (a,b) Aynı maruz kalma süresinde farklı uygulama grupları arasındaki istatistiksel farkı gösterir ($^{abc}p < 0,05$). Değerler ortalama \pm SE, n=10.

Figure 1 Acetylcholinesterase levels in *D. polymorpha* after combined exposure to malathion and dimethoate for 24 and 96 hours. *indicates statistical difference between different exposure times (24, 96 hours) in the same groups ($*p < 0,05$). Different letters (a,b) indicate statistical difference between different application groups at the same exposure time ($^{abc}p < 0,05$). Values are mean \pm SE, n=10.



Şekil 2 24 ve 96 saat boyunca kombine malathion ve dimethoate maruziyetinden sonra *D. polymorpha*'da CYP1A1 seviyeleri. *aynı gruplarda farklı maruz kalma süreleri (24, 96 saat) arasındaki istatistiksel farkı gösterir ($*p < 0,05$). Farklı harfler (a,b) Aynı maruz kalma süresinde farklı uygulama grupları arasındaki istatistiksel farkı gösterir ($^{abc}p < 0,05$). Değerler ortalama \pm SE, n=10.

Figure 2 CYP1A1 levels in *D. polymorpha* after combined exposure to malathion and dimethoate for 24 and 96 hours. *indicates statistical difference between different exposure times (24, 96 hours) in the same groups ($*p < 0,05$). Different letters (a,b) indicate statistical difference between different application groups at the same exposure time ($^{abc}p < 0,05$). Values are means \pm SE, n=10.

TARTIŞMA VE SONUÇ

Pestisitlere karışım halinde maruz kalma tek olarak maruz kalmaktan beklenenden daha düşük veya daha yüksek toksik etkilere yol açabilir (Larsen vd., 2003). Bu nedenle, pestisit karışımlarının etkilerinin belirli sistemler üzerinde değerlendirilmesi önemlidir. Kimyasallar, beklenenden daha büyük bir etki (sinerjizm) veya daha küçük bir etki (antagonizma) üretmek için alım ve metabolizma sırasında birbirleriyle etkileşime girebilir (Firpo, 2011).

AChE, organofosfor veya karbamat bileşik kontaminasyonuna duyarlıdır, balıklar (Sturm vd., 1999), kuşlar (Hill & Fleming, 1982) ve midyeler (Doran vd., 2001) dahil olmak üzere birçok hayvan taksonunda bir biyolojik belirteç olarak kullanılmıştır. AChE'nin inhibisyonunun, organofosfatlı pestisitlere ve karbamatlara oldukça spesifik olduğu da bilinmektedir (Canty vd., 2007).

Yapılan çeşitli çalışmalarda pestisitlerin kombine toksik etkileri değerlendirilmiştir. Uçkun ve Özmen, (2021) *Xenopus laevis*'in erken gelişim evrelerinde insektisit thiacloprid ve fungusit trifloxystrobin'in akut toksisitesini çeşitli biyokimyasal belirteçler (glutasyon s-transferaz, glutasyon redüktaz, asetilkolinesteraz, karboksilesteraz, glutasyon peroksidaz, katalaz, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrojenaz, Na^+ - K^+ adenozin trifosfataz-ATPaz) kullanarak değerlendirmiştir. Pestisitler, karışım olarak uygulandığında sinerjik bir etki göstererek tek tek uygulandığından daha fazla oranda biyobelirteçlerde değişikliğe neden olmuştur. Sevim vd., (2021) HUVEC hücre hattında klorpirifos-metil, klormekuat, deltametrin, glifosat, pirimifos-metil, tebukonazol ve bunların karışımlarının oksidatif stres ve toksite üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Pestisit karışımları sırasıyla HUVEC'lerde toplam antioksidan durumu (TAS) ve GSH seviyelerinin herbirini azaltmış ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu arttırmıştır. Ayrıca, pestisit karışımına maruz kalma sırasında sitotoksite üzerinde oksidatif stresin önemli bir katkısı olduğunu göstermişlerdir. Filimonova vd., (2018) metal bakır ve herbisit Primextra® Gold TZ'nin tekli ve karışımlarının deniz diatom *Thalassiosira weissflogii* ve nehir ağızı kalanoid kopepodu *Acartia tonsa* üzerindeki ekotoksikolojik ve biyokimyasal etkilerini sırasıyla büyüme oranını ve hayatta kalma oranını belirleyerek ve her iki türde de yağ asidi (FA) profillerindeki değişiklikleri tespit ederek araştırmışlardır. Karışım etkilerinin daha tehlikeli olduğu sonucuna varmışlardır. Chlorpyrifos + cypermethrinin *Danio rerio*'daki AChE aktivitesi üzerindeki etkisi Rajini ve Revathy, (2015) tarafından yapılan çalışmada gözlemlenmiştir. Yapılan bir başka çalışmada balıklar 8 $\mu\text{g/L}$, 10 $\mu\text{g/L}$ ve 14 $\mu\text{g/L}$ pestisit konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Asetilkolin esteraz enzim aktivitesinin analizi için beyin dokuları toplanmıştır. Asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibisyonu, pestisit konsantrasyonu ve maruz kalma süresi ile arttığını göstermişlerdir. Taleh vd. (2021) yaptıkları çalışmada, emamektin benzoatın tek başına ve bazı geleneksel insektisitlerle karıştırılmasının esteraz enzimleri üzerindeki etkileri ve *T. absoluta* ikinci dönem larvalarında da araştırmıştır. Emamektin benzoatın azadiraktin, indoksakarb veya imidakloprid ile kombinasyonunun *T. absoluta* larvalarına karşı daha fazla

olumsuz etkiyle sonuçlandığını öne sürmüşlerdir. Trevis vd., (2010) tarafından yapılan çalışmada *Danio rerio* ve *Hyphessobrycon bifasciatus*'ta organofosforlu pestisit diklorvosun ve piretroid deltametrin ile karışımın akut toksisitesini değerlendirilmiştir. Sonuçlar, tek başına uygulandığında öldürücü etki oluşturmayan pestisit konsantrasyonlarında birlikte uygulandığında %100 öldürücülük meydana geldiğini göstermiştir, bunu da pestisit karışımının sinerjik bir etki gösterdiğinin bir kanıtı olarak kabul etmiştir. Bonansea vd., (2017), *Jenynsia multidentata* balıklarının tek ve kombine olarak pestisitlere maruz kalması durumunda sipermetrin ve klorpirifos birikimini değerlendirmişlerdir. Sipermetrin ve klorpirifosa maruz bırakılan balıklarda, teknik karışımla karşılaştırıldığında biyotransformasyon biyobelirteçlerinde farklı bir tepki gösterdiği ve karaciğerde gözlemlenen sitokrom P4501A1 ekspresyon inhibisyonunun daha düşük biyotransformasyon verimliliği yoluyla klorpirifos birikmesinden kaynaklı olabileceğini öne sürmüşlerdir. Lebrun vd., (2020) çevresel olarak gerçekçi seviyelerde maruz kalan hedef olmayan amfipod *Gammarus fossarum*'da insektisitlerin biyobelirteçler üzerindeki tek ve birleşik etkilerini araştırmışlardır. Mikro kozmoslarda, gammaridler 72 saat boyunca tek tek veya her kimyasaldan 0,01, 0,1 ve 1 µg/L'de karışım halinde test edilen insektisitlere maruz bırakılmıştır. Sonuçlar, 0,01 µg/L'lik en düşük konsantrasyondan insektisit kaynaklı davranışsal ve biyokimyasal tepkiler gösterdiğini bulmuşlardır. Genel olarak, tek maruziyetlerin davranışsal özellikleri uyardığı ve enzimatik aktiviteleri engellediği, farklı organizasyon seviyelerindeki etkileri vurgulamışlardır. Juhel vd., (2017) tarafından yapılan bir başka çalışmada Yeşil midyeler (*Perna viridis*) 7 günlük bir süre boyunca farklı konsantrasyonlarda karbamazepin (CBZ), plastikleştirici bisfenol A (BPA) ve herbisit atrazin (ATZ)'ya tek tek ve karışımlar halinde maruz bırakılmıştır. Nörotoksite (AChE) inhibisyonu ve detoksifikasyon enzimlerinin (sitokrom P4501A CYP1A) biyobelirteçleri belirlenmiştir. Demirci vd., (2018) herbisit atrazin ile insektisit, endosulfan, indoxacarb ve thiamethoxam'ın birlikte kullanımının *Gammarus kischineffensis* üzerindeki toksik etkilerini araştırmışlardır. Oksidatif stres, detoksifikasyon ve nörotoksite biyobelirteçlerinin aktivitelerini belirlemişlerdir. Tek başına atrazin ile karşılaştırıldığında, atrazin endosulfan veya indoksakarb ile kombine edildiğinde daha yüksek glutatyon-S-transferaz, katalaz ve süperoksit dismutaz aktiviteleri (oksidatif stres biyobelirteçleri) saptamışlardır. Atrazin ve diğer pestisitlerin karışımları sinerjik etkilere neden olabileceği ve artan toksite ve oksidatif stresin kanıtı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Pestisitlerin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde AChE ve CYP450 etkin birer biyobelirteç olarak kullanıldığı çok sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Serdar vd. (2021), ticari insektisit olan Beta-Cyfluthrin (β -CF)'nin *D. polymorpha* üzerindeki bazı biyokimyasal yanıtları araştırılmıştır. β -CF'e maruz bırakılan *D. polymorpha* bireylerinde AChE enzim aktivitelerinin inhibe olduğu bildirilmiştir. Ricciardi vd., (2006) asetilkolinesteraz (AChE) ve CYP450 biyobelirteçlerini Maggiore Gölü'nün (Kuzey İtalya) çevre kirliliğini değerlendirmek için kullanmışlardır. Gölün bazı örnekleme alanlarında toplanan midye örneklerinde güçlü bir AChE inhibisyonu olduğu bulunmuş ve bunun nedeninin nörotoksik ağır metal kirliliğinden kaynaklandığı öne sürülmüştür. Ayrıca, muhtemelen düzensel bileşiklerin aktive edici etkisinden ve eser metallerin inhibe edici etkisinden dolayı, CYP450 aktivitesi üzerinde iki kat bir etki bulunmuştur. Ergüven vd. (2020), yaptıkları çalışmada *Methylobacterium radiotolerans* ve *Microbacterium arthrosphaerae* bakterileri ile klorpirifos-etil pestisitinin giderimini ve doğrudan maruziyeti ile *G. pulex*'te biyobelirteç etkisini araştırmışlardır. Biyoremidasyon işlem öncesi ve sonrası sitokrom P450 1A1 enzim aktivitesinde istatistiksel fark bulunmadığını ($p > 0.05$) bildirmişlerdir. Pala vd., (2020), malathion'un *Gammarus pulex*'te (tatlı su amphipoda) asetilkolinesteraz aktivitesi üzerindeki akut etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak, *G. pulex*'de 24 ve 48 saat süreyle malathion'a akut maruziyet sonrası AChE aktivitesinin yüksek oranda inhibisyon olduğu görülmüştür. Chandra vd., (2008) malathionun tatlı su yayın balığı *Heteropneustes fossilis*'in karaciğer, beyin ve solungaçlarının AChE aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Bireyler 4.80 mg/l pestisite 72 saat maruz kaldıktan sonra sırasıyla beyin ve solungaçlarda %77,12 ve %72,83'lük maksimum inhibisyonun kaydedildiğini bulmuşlardır. Nadji vd., (2010), malathion maruziyetinden sonra Mellah lagününden (Cezayir'in Kuzey Doğusu) avlanan bir çift kabuklu yumuşakçanın (*Ruditapes decussatus*) çeşitli dokularındaki AChE ve katalaz aktivitelerini araştırmıştır. Asetilkolinesterazın enzimatik aktivitesinin malathion tarafından konsantrasyona bağımlı kuvvetli bir şekilde inhibe edildiğini, buna karşın katalazın aktivitesinin her iki konsantrasyonda da önemli ölçüde arttığını öne sürdüler. Perret vd., (1996) tarafından yapılan bir çalışmada Zebra midyesinin uygun bir biyoindikatör olarak kullanıldığı görülmüştür. Organofosfat ve karbamat pestisit kontaminasyonunun bir biyolojik belirteç olarak zebra midyesinin esteraz aktiviteleri kullanımıdır. Sonuçlar, zebra midyesinin ölçülebilir ancak düşük AChE aktivitesi seviyesine ve daha yüksek seviyede karboksil esteraz (CbE) aktivitesine sahip olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, bu son aktivitenin, bu toksik bileşikler

tarafından inhibisyona karşı çok hassas olmadığı ileri sürülmüştür.

Sunulan bu çalışmada AChE düzeylerinin A ve B gruplarında 24 saat sonra Kontrol grubuna göre azaldığı gözlenmiştir ($p<0,05$). 96. saatin sonunda kontrol grubuna kıyasla tüm maruziyet gruplarında bir azalma tespit edilmiştir ($p<0,05$). Kontrol grubuna kıyasla tüm maruziyet gruplarında 24 saatin sonunda CYP1A1 seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Kontrol grubuna kıyasla 96. saatin sonunda C grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Pestisitlere karışımlar halinde maruz kalındığında toksisiteyi deşışebilir ve artan toksisitenin kanıtı karşım halinde maruziyet olabilir. Organofosforlulara maruz kalma sonrası AChE aktivitesinin inhibisyona uğradığı diğer bazı pestisitler, ağır metaller ve deterjanlar gibi çevresel kirleticilere maruz kalan organizmalarda da rapor edilmiştir (Lionetto vd., 2004). Organofosforlu pestisitler, CYP1A1 aktivitelerinin inhibisyonuna neden olan ROS oluşumunu artırabilir. CYP1A1 aktivitesinin Organofosforlu pestisitlerin maruziyeti ile inhibisyonu, bu enzimin, *D. polymorpha*'daki malathion ve dimethoate pestisitlerin metabolizmasında rol oynayacağını göstermektedirler (Tatar vd., 2019).

Sonuç olarak *D. polymorpha*'da değerlendirilen biyobelirteçlerin dimethoate ve malathion karışımına maruziyet sonrası önemli ölçüde deşıştiğini gözlemlenmiştir. Sonuçlar, dimethoate ve malathion kombinasyonunun toksisitesinin konsantrasyonlarına bağlı olduğunu göstermiştir. Ekotoksikolojik çalışmalarda hedef dışı sucul organizmalarda AChE ve CYP1A1 biyobelirteçlerinin yararlı olabilirliği yapılan bu çalışma ile ortaya konulmuştur. İlgili çalışmaların artan tüketimle artacak olan pestisit kullanım miktarı, iklim deşışikliğine bağlı olarak deşışen sıcaklık ve pH gibi parametrelerle ilişkilendirilip çeşitlendirilmesi gerekmektedir. Son yıllarda artan pestisit kullanımının hedef dışı organizmalar beraberinde ekosisteme olabilecek etkilerinin değerlendirildiği benzer çalışmalar, moleküler ve histopatolojik parametrelerinin değerlendirildiği çalışmalarda desteklenmesi önerilir.

KAYNAKLAR

- Abass, K. & Pelkonen, O. (2013).** The inhibition of major human hepatic cytochrome P450 enzymes by 18 pesticides: comparison of the N-in-one and single substrate approaches. *Toxicology in Vitro*, **27**, 1584-1588. DOI: [10.1016/j.tiv.2012.05.003](https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.05.003)
- Ashauer, R., Boxall, A. & Brown, C. (2006).** Uptake and elimination of chlorpyrifos and pentachlorophenol into the freshwater amphipod *Gammarus pulex*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **51**, 542-548. DOI: [10.1007/s00244-005-0317-z](https://doi.org/10.1007/s00244-005-0317-z)
- Assini, F.L., Zanette, K.D., Brocardo, P.S., Pandolfo, P. & Rodrigues, A.L.S. (2005).** Behavioral effects and ChE measures after acute and repeated administration of malathion in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **20**, 443-449. DOI: [10.1016/j.etap.2005.05.007](https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.05.007)
- Bonanse, R.I., Marino, D.J., Bertrand, L., Wunderlin, D.A. & Amé, M.V. (2017).** Tissue-specific bio-concentration and biotransformation of cypermethrin and chlorpyrifos in a native fish (*Jenynsia multidentata*) exposed to these insecticides singly and in mixtures. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **36**(7), 1764-1774. DOI: [10.1002/etc.3613](https://doi.org/10.1002/etc.3613)
- Bouskill, N.J., Handy, R.D., Ford, T.E. & Galloway, T.S. (2006).** Differentiating copper and arsenic toxicity using biochemical biomarkers in *Asellus aquaticus* and *Dreissena polymorpha*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **65**, 342-349. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2005.07.027](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.07.027)
- Brenner, L. (1992).** Malathion. *Journal of Pesticide Reform*, **12**, 29.
- Canty, M.N., Hagger, J.A., Moore, R.T., Cooper, L. & Galloway, T.S. (2007).** Sublethal impact of short term exposure to the organophosphate pesticide azamethiphos in the marine mollusc *Mytilus edulis*. *Marine Pollution Bulletin*, **54**, 396-402. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2006.11.013](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.11.013)
- Chandra, S. (2008).** Toxic effect of malathion on acetylcholinesterase activity of liver, brain and gills of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*. *Environment Conservation Journal*, **9**(3), 47-52.
- Chowdhary, S. Bhattacharyya, R. & Banerjee, D. (2014).** Acute organophosphorus poisoning. *Clinica Chimica Acta*, **431**, 66-76. DOI: [10.1016/j.cca.2014.01.024](https://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.024)
- Demirci, Ö., Güven, K., Asma, D., Ögüt, S. & Uđurlu, P. (2018).** Effects of endosulfan, thiamethoxam, and indoxacarb in combination with atrazine on multi-biomarkers in *Gammarus kischineffensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **147**, 749-758. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2017.09.038](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.09.038)
- Doran, W.J., Cope, W.G., Rada, R.G. & Sandheinrich, M.B. (2001).** Acetylcholinesterase inhibition in the threeridge mussel (*Amblyma plicata*) by chlorpyrifos: implications for biomonitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **49**, 91-98.
- Dutour, R. & Poirier, D. (2017).** Inhibitors of cytochrome P450 (CYP)1B1. *European Journal of Medicinal*

- Chemistry*, **135**, 296-306. DOI: [10.1016/j.ejmech.2017.04.042](https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.04.042)
- Eken, A., Endirlik, B.Ü., Bakır, E., Yay, A.H. & Baldemir, A. (2017)**. Histopathological effect of dimethoate on lung of rat and the protective role of *Laurocerasus officinalis* roem. (cherry laurel) fruit. *Journal of Health Sciences*, **26**, 211-215. DOI: [10.9775/kvfd.2017.17748](https://doi.org/10.9775/kvfd.2017.17748)
- Enserink, M. (1999)**. Biological invaders sweep in. *Science*, **285**, 1834-1836. DOI: [10.1126/science.285.5435.1834](https://doi.org/10.1126/science.285.5435.1834)
- Erguven, G.O, Tatar, Ş., Serdar, O. & Yildirim, N.C. (2021)**. Evaluation of the efficiency of chlorpyrifos-ethyl remediation by *Methylobacterium radiotolerans* and *Microbacterium arthrosphaerae* using response of some biochemical biomarkers. *Environmental Science and Pollution Research*, **28**(3), 2871-2879.
- Filimonova, V., Nys, C., De Schamphelaere, K.A.C., Gonçalves, F., Marques, J.C., Gonçalves, A.M.M. & De Troch, M. (2018)**. Ecotoxicological and biochemical mixture effects of an herbicide and a metal at the marine primary producer diatom *Thalassiosira weissflogii* and the primary consumer copepod *Acartia tonsa*. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**, 22180-22195. DOI: [10.1007/s11356-018-2302-x](https://doi.org/10.1007/s11356-018-2302-x)
- Fulton, M.H. & Key, P.B. (2001)**. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **20**, 37-45. DOI: [10.1002/etc.5620200104](https://doi.org/10.1002/etc.5620200104)
- Geering, Q.A. (1959)**. Systemic insecticides, a recent development. *World Crops*, **11**, 141.
- Gonzalez, F.J. (1990)**. Molecular genetics of the P-450 superfamily. *Pharmacology & Therapeutics*, **45**, 1-38. DOI: [10.1016/0163-7258\(90\)90006-N](https://doi.org/10.1016/0163-7258(90)90006-N)
- Hill, E.F. & Fleming, W.J. (1982)**. Anticholinesterase poisoning of birds: field monitoring and diagnosis of acute poisoning. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **1**, 27-38. DOI: [10.1002/etc.5620010105](https://doi.org/10.1002/etc.5620010105)
- Horgan, M.J. & Mills, E.L. (1997)**. Clearance rates and filtering activity of zebra mussel (*Dreissena polymorpha*): implications for freshwater lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, **54**(2), 249-255. DOI: [10.1139/f96-276](https://doi.org/10.1139/f96-276)
- Juhel, G., Bayen, S., GOH, C. Lee, W.K. & Kelly, B.C. (2017)**. Use of a suite of biomarkers to assess the effects of carbamazepine, bisphenol A, atrazine, and their mixtures on green mussels, *Perna viridis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **36**(2), 429-441. DOI: [10.1002/etc.3556](https://doi.org/10.1002/etc.3556)
- Lebrun, J.D., De Jesus, K., Rouillac, L., Ravelli, M., Guenne, A. & Tournebize J. (2020)**. Single and combined effects of insecticides on multi-level biomarkers in the non-target amphipod *Gammarus fossarum* exposed to environmentally realistic levels. *Aquatic Toxicology*, **218**, 105357. DOI: [10.1016/j.aquatox.2019.105357](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105357)
- Lionetto, M.G, Caricato, R., Giordano M.E. & Schettino, T. (2004)**. Biomarker application for the study of chemical contamination risk on marine organisms in the Taranto marine coastal area. *Chemistry and Ecology*, **20**(1), 333-343. DOI: [10.1080/02757540310001629215](https://doi.org/10.1080/02757540310001629215)
- Nadji, S., Amrani, A., Mebarki, R. & Khebbeb, M.E. (2010)**. Acetylcholinesterase and catalase activities in several tissues of a bivalve mollusc (*Ruditapes decussatus*) fished from Mellah lagoon (North East of Algeria) after malathion exposure. *Annals of Biological Research*, **1**(4), 138-144.
- Nebbia, C. (2001)**. Biotransformation enzymes as determinants of xenobiotic toxicity in domestic animals. *The Veterinary Journal*, **161**(3), 238-252. DOI: [10.1053/tvj.2000.0561](https://doi.org/10.1053/tvj.2000.0561)
- Ozretic, B. & Krajnovic-Ozretic, M. (1992)**. Esterase heterogeneity in mussel *Mytilus galloprovincialis*: effects of organophosphate and carbamate pesticides in vitro. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology*, **103**(1), 221-225. DOI: [10.1016/0742-8413\(92\)90255-6](https://doi.org/10.1016/0742-8413(92)90255-6)
- Pala, A., Serdar, O. & Aydın, R. (2020)**. The acute effect of malathion on acetylcholinesterase activity in *Gammarus pulex* (Freshwater Amphipoda). *Acta Aquatica Turcica*, **16**(2), 202-208. DOI: [10.22392/actaquat.628330](https://doi.org/10.22392/actaquat.628330)
- Pandit, V., Seshadri, S., Rao, S.N., Samarasinghe, C., Kumar, A. & Valsalan, R. (2011)**. A case of organophosphate poisoning presenting with seizure and unavailable history of parenteral suicide attempt. *J. Emerg. Trauma Shock* **4**, 132-134. DOI: [10.4103/0974-2700.76825](https://doi.org/10.4103/0974-2700.76825)
- Perret, M.C., Gerdeau, D. & Riviere, J.L. (1996)**. Use of esterase activities of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha* Pallas) as a biomarker of organophosphate and carbamate pesticides contamination. *Environmental Toxicology and Water Quality*, **11**(4), 307-312.
- Petroianu, G.A. (2009)**. The Synthesis of Phosphor Ethers: Who Was Franz Anton Voegeli?

- Pharmazie*, **64**, 269-275. DOI: [10.1691/ph.2009.8244](https://doi.org/10.1691/ph.2009.8244)
- Rajini, A. & Revathy, K. (2015)**. Effect of combination pesticide on acetylcholine esterase activity in freshwater fish *Danio rerio*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, **6**(1), 1305-1310.
- Ricciardi, F., Binelli, A. & Provini, A. (2006)**. Use of two biomarkers (CYP450 and acetylcholinesterase) in zebra mussel for the biomonitoring of Lake Maggiore (northern Italy). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **63**(3), 406-412. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2005.02.007](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.02.007)
- Romani, R., Isani, G., De Santis, A., Giovannini, E. & Rosi, G. (2005)**. Effects of chlorpyrifos on the catalytic efficiency and expression level of acetylcholinesterases in the bivalve mollusk *Scapharca inaequivalvis*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **24**, 2879-2886. DOI: [10.1897/04-555r3.1](https://doi.org/10.1897/04-555r3.1)
- Serdar, O. (2021)**. Determination of the effect of cyfluthrin pesticide on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) by Some Antioxidant Enzyme Activities. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **6**(1), 77-83. DOI: [10.35229/jaes.804479](https://doi.org/10.35229/jaes.804479)
- Serdar, O., Aydın, R. & Söylemez, H., (2021)**. Effect of Beta-Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*). *International Journal of Pure and Applied Sciences*, **7**(3), 462-471.
- Sevim, C., Taghizadehghalehjoughi, A. & Kara, M. (2021)**. Effects of chlorpyrifos-methyl, chlormequat, deltamethrin, glyphosate, pirimiphos-methyl, tebuconazole and their mixture on oxidative stress and toxicity in HUVEC cell line. *Istanbul Journal of Pharmacy*, **51**(2), 183-190. DOI: [10.26650/IstanbulJPharm.2021.881724](https://doi.org/10.26650/IstanbulJPharm.2021.881724)
- Shimada, T., Hayes, C.L., Yamazaki, H., Amin, S., Hecht, S.S., Guengerich, F.P., Sturm, A., da Silva de Assis, H.C. & Hansen, P.D. (1999)**. Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterisation and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination. *Marine Environmental Research*, **47**, 389-398.
- Taleh, M., Dastjerdi, H.R., Naseri, B., Ebadollahi, A., Garjan, A.S. & Jahromi, K.T. (2021)**. Toxicity and biochemical effects of emamectin benzoate against *Tuta absoluta* (Meyrick) alone and in combination with some conventional insecticides. *Physiological Entomology*, **46**, 210-217. DOI: [10.1111/phen.12360](https://doi.org/10.1111/phen.12360)
- Tatar, S., Serdar, O. & Yildirim, N.C. (2019)**. Changes in Antioxidant and Detoxification Systems of the Freshwater Amphipod *Gammarus pulex* Exposed to Congo Red. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, **4**(2), 76-81. DOI: [10.35229/jaes.542705](https://doi.org/10.35229/jaes.542705)
- Trevis, D., Habr, S.F., Varoli, F.M. & Bernardia, M.M. (2010)**. Acute toxicity of the organophosphorus pesticide diclorvos and the mix with the piretroid deltamethrin in *Danio rerio* and *Hyphessobrycon bifasciatus*. *Boletim Do Instituto De Pesca*, **36**(1), 53-59.
- Uçkun, M. & Özmen M. (2021)**. Evaluating Multiple Biochemical Markers in *Xenopus laevis* Tadpoles Exposed to the Pesticides Thiacloprid and Trifloxystrobin in Single and Mixed Forms. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **40**, 2846-2860. DOI: [10.1002/etc.5158](https://doi.org/10.1002/etc.5158)
- Werck-Reichhart, D. & Didierjean, A.H.L. (2000)**. Cytochromes P450 for engineering herbicide tolerance. *Trends in Plant Science*, **5**(3), 116-123. DOI: [10.1016/s1360-1385\(00\)01567-3](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(00)01567-3)