




Kongo Kırmızısına Maruz Bırakılan Tatlı Su Amphipodu *Gammarus pulex*'in Antioksidan ve Detoksifikasyon Sistemindeki Değişiklikler

Şule TATAR^{1*} Osman SERDAR² Nuran CIKCIKOĞLU YILDIRIM¹

^{1*}Munzur University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, Tunceli.  <https://orcid.org/0000-0001-8962-0107>

¹Munzur University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, Tunceli.  <https://orcid.org/0000-0003-3975-6705>

²Munzur University, Faculty of Fisheries, Tunceli.  <https://orcid.org/0000-0003-1744-8883>

Received date: 21.03.2019

Accepted date: 25.04.2019

Atf yapmak için: Tatar, Ş., Serdar, O. & Cıkcıkoğlu Yıldırım, N. (2019). Kongo kırmızısına maruz bırakılan tatlı su amphipodu *Gammarus pulex*'in antioksidan ve detoksifikasyon sistemindeki değişiklikler. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(2), 76-81.

How to cite: Tatar, Ş., Serdar, O. & Cıkcıkoğlu Yıldırım, N. (2019). Changes in Antioxidant and Detoxification Systems of the Freshwater Amphipod *Gammarus pulex* Exposed to Congo Red. *Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(2), 76-81.

Öz:

Bu çalışmada, kongo kırmızısına maruz bırakılan *Gammarus pulex*'de glutatyon S-transferaz ve sitokrom 1A1 enzimleri ile malondialdehit seviyelerindeki değişimin araştırılması amaçlanmaktadır. *G. pulex*, 96 saat boyunca 20, 10, 5 ppm kongo kırmızısı içeren sentetik çözeltilere maruz bırakılmıştır. Glutatyon S-transferaz ve sitokrom 1A1 enzim aktiviteleri ELISA kiti kullanılarak, malondialdehit seviyeleri ise spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Glutatyon S-transferaz aktiviteleri tüm uygulama gruplarında 24 ve 96 saat boyunca kontrole kıyasla artmıştır ($P<0.05$). Kongo kırmızısına maruz bırakıldıktan sonra tüm uygulama gruplarında sitokrom 1A1 aktivitesi 24 ve 96 saat boyunca kontrole kıyasla azalmıştır ($P<0.05$). Malondialdehit seviyeleri kongo kırmızısına maruziyetinden sonra tüm gruplarda 24 saat boyunca kontrole kıyasla artmış ($P<0.05$), 96 saat sonunda A grubunda artmış, B ve C gruplarında düşmüştür ($P<0.05$). Bulgularımız, kongo kırmızısının reaktif oksijen türleri üreterek oksidatif strese neden olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, antioksidan enzimler ve malondialdehit seviyelerindeki değişiklikler, kongo kırmızısının çevresel toksisitesinin değerlendirilmesinde potansiyel hassas biyobelirteçler olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: *G. pulex*, glutatyon S-transferaz, sitokrom 1A1, malondialdehit, kongo kırmızısı.

Changes in Antioxidant and Detoxification Systems of the Freshwater Amphipod *Gammarus pulex* Exposed to Congo Red

Abstract: In this study, it is aimed to investigate the changes in glutathione S-transferase and cytochrome 1A1 enzymes with malondialdehyde levels in *Gammarus pulex* exposed to congo red. *G. pulex* was exposed to synthetic solutions containing 20, 10, 5 mg/L of congo red during 96 hours. Glutathione S-transferase and cytochrome 1A1 enzyme activities were determined by using ELISA kit, malondialdehyde levels were determined spectrophotometrically. Glutathione S-transferase activities groups increased in all application groups during 24 and 96 hours compared to control ($P<0.05$). After exposure to congo red, cytochrome 1A1 activity was decreased during 24 and 96 hours in all application groups compared to control groups ($P<0.05$). Malondialdehyde levels increased in all groups after congo red exposure compared to control during 24 hours ($P<0.05$), after 96 hours increased in group A, decreased in groups B and C ($P<0.05$). Our results show that congo red may cause oxidative stress by producing reactive oxygen species. In conclusion, changes in antioxidant enzymes and malondialdehyde levels suggest that congo red can be used as potential sensitive biomarkers in the assessment of environmental toxicity.

Keywords: *G. pulex*, glutathione S-transferase, cytochrome 1A1, malondialdehyde, congo red.

GİRİŞ

Tekstil boyama, baskı ve diğer endüstriyel uygulamalardan kaynaklanan sentetik boya içeren atık su deşarjı, su kütlelerini olumsuz yönde etkiler. Azo boyalar, karasal organizmaların yanı sıra sucul organizmalar için de bir tehdit oluşturmaktadır. Endüstride yaklaşık 10.000 farklı boya kullanılmakta ve her yıl dünya çapında 7×10^5 tondan fazla sentetik boya üretilmektedir. Dünya üzerinde renklendirici üretiminin toplamda yaklaşık 280.000 ton/yıl olduğu tahmin edilmektedir (Kumar vd., 2009).

Tekstil endüstrilerinden kaynaklı atık sular, yüksek alkaline, biyolojik ve kimyasal oksijen ihtiyacı ve kuru ağırlıkları genel olarak 1 g/dm^3 'ün altındaki toplam çözünmüş katı madde ile karakterize edilirler (Kaushik & Malik, 2009). Kimyasal yapıları nedeniyle biyolojik olarak çözümleri stabil ve zordur (Fewson, 1998; Seshadri vd., 1994).

Sucul ekosistemlerdeki kirleticilere maruz kalma, oksidatif stresi ve çeşitli biyolojik sistemlere zarar verebilecek hücre içi reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşmasını artırabilir (Hinton vd., 1990; Biagiante-Risbourg, 1997).

Oksidatif stres, ROS üretimi ve eliminasyonu arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak ortaya çıkar. ROS, enzimatik olmayan sistemler tarafından, indirgenmiş glutatyonun (GSH) süpürme etkisiyle detoksifiye edilebilir (Giulio vd., 1989).

Biyobelirteçler, ksenobiyotiklere maruz kalan bir organizmanın ölçülebilir tepkileridir. Antioksidan enzimler, ksenobiyotik kaynaklı strese önemli bir adaptasyon olarak oksidatif stres koşulları altında uyarılabilirler (Madhuri vd., 2014). Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerine sahip membran fosfolipitlerinin parçalanmalarını sağlayan oksidanların bir zincir reaksiyonudur (Hermes-Lima, 2004; Serdar vd., 2018).

Malondialdehit (MDA), lipit peroksidasyonunun sitotoksik bir ürünü ve serbest radikal üretiminin bir göstergesidir (Ohkawa, 1979).

Lipofilik kimyasalların daha fazla suda çözünür bileşiğe biyotransformasyonu veya metabolizması, detoksifikasyon ve atılım için bir zorunluluktur. İlâveten, biyotransformasyon yolundaki bazı adımlar, yabancı kimyasalların reaktif ara maddelere aktivasyonundan sorumludur, bu da sonuçta toksisite, kanserojenlik ve diğer olumsuz etkiler ile sonuçlanır (Nebert & Gonzalez, 1987; Varanasi, 1989).

Glutatyon-S-transferazlar (GST), atılımı kolaylaştırmak için glutatyonu ksenobiyotiklerin aktif ara maddeleriyle birleştiren çok işlevli enzimler ailesidir (Soderlund & Bloomquist, 1990). GST izoenzimleri ile detoksifiye edilen çevresel toksik maddeler, poliaromatik hidrokarbonları, pestisitleri ve faz I biyotransformasyonunu

ve diğer biyokimyasal reaksiyonlar tarafından üretilen reaktif ara maddeleri içerir ve bu nedenle GST ekspresyonu, çevresel kimyasal toksisiteye duyarlılığı dikkate alındığında önemlidir (Trute vd., 2007; Richardson vd., 2009).

GST EC 2.5.1.18 gibi enzim aktivitelerindeki değişiklikler, çevresel stres için hızlı ve prognostik endeks olarak kabul edilir ve kirleticilerin hayvanlar, ekosistemler ve insanlar üzerindeki etkilerini tahmin etmek için kullanılırlar. Bu enzim, ROS tarafından indüklenebilir ve oksidatif stresin yararlı göstergeleri olabilir (Kaur vd., 2016).

Sitokrom P450 1A (CYP1A), bazı organik kimyasal sınıfları metabolize ve detoksifiye eden sitokrom P450 ailesinin önemli bir üyesidir (Oinonen vd., 1994; Shimada vd., 2003). Bu kimyasallar, arilhidrokarbon reseptörüne bağlanarak ligand yoluyla CYP1A ekspresyonunu indükleyebilir. CYP1A ekspresyonu, zararlı ekzojen maddelere maruz kaldıktan sonraki saatler içinde dokularda indüklenir (Stegeman vd., 1997). CYP1A gibi CYP ailesi, detoksifikasyon mekanizmasında önemli bir rol oynar. Her ne kadar CYP1A ekspresyonu yapısal olarak düşük olsa da, hayvan dokularındaki çevresel kirleticiler tarafından yüksek düzeyde uyarılabilir (Coimbra vd., 2007; Fu vd., 2013). Tatlı su türleri arasında *Gammarus* sp. Avrupa'daki çoğu nehirde buldukları gibi çevresel kirleticilerin büyük ölçekli ekotoksikolojik değerlendirmesi için uygun bir organizmadır (Ja_zd_zewski, 1980).

Sucul organizmalarda ölçülen moleküler ve hücresele biyobelirteçler, çevresel kirletici maddelerin neden olduğu strese hızla yanıt verirler. Bu çalışmada, tatlı su gammaridi (*Gammarus pulex*) kullanılmıştır, çünkü bu tür yaygın olarak bulunmaktadır; belli oranda stresi tolere edebilir ve birçok ekotoksikoloji çalışmasında kullanılmıştır. Aynı zamanda kurbağa, balık ve kuş gibi organizmalar için bir besin kaynağıdır (Duman, 2015).

Bu çalışmanın amacı, farklı kongo kırmızısı (CR) dozlarına maruz kaldıktan sonra *Gammarus pulex* türündeki toksisite ve enzim aktivitesini değerlendirmektir.

MATERYAL ve METOT

G. pulex bireyleri el ağılları kullanılarak Munzur Nehri'nden (39.156820 N, 39.499640 E) toplanmıştır. Organizmalar plastik şişelere konularak hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiş ve $18 \text{ }^\circ\text{C}$ oda sıcaklığında, 20 L'lik havalandırılmalı akvaryumda, 12:12 saat ışık: karanlık döngüsünde tutulmuş ve deneylerden önceki 15 gün boyunca söğüt yaprakları ile beslenmiştir. Çalışma için, benzer gelişim evresindeki yaklaşık 10 mm uzunluğunda organizmalar seçilmiştir (De Lange, 2006). 1 L su ve 10 bireyden oluşan 3 akvaryum oluşturulmuştur. Deneyler sırasında organizmalar beslenmemiştir. Organizmalar 24 saatte bir kontrol edilmiş

ve ölü bireyler sayılarak akvaryumdan çıkarılmıştır. Hareketsizlik ölüm kriteri olarak kabul edilmiştir.

LC₅₀ değerini belirlemek için sabit bir test kullanılmıştır (APHA, 1998). CR'nın LC₅₀ değeri, 60,56 ± 0,77 mg/L olarak belirlenmiştir ve daha sonra *G. pulex* bireyleri üç sublethal CR dozu (LC₅₀ değerinin 1/3; 1/6 ve 1/12'si)'na 24 ve 96 saat boyunca maruz bırakılmıştır. CR içeren çözeltiler sentetik olarak hazırlanmıştır. Dört deney grubu şu şekilde tasarlanmıştır: A (20 mg/L CR içeren grup); B (10 mg/L CR içeren grup); C (5 mg/L CR içeren grup) ve kontrol grubu. Kontrol grubu, referans suya (RW) maruz kalan gruptur. Standart ekipmanlar kullanılarak Munzur Nehri'nin ortasından 10 cm su derinliğinde 10 litre referans yüzey suyu toplanmıştır (APHA, 2005). *G. pulex* bireyleri 48 ve 96 saat sonrasında test edilmiştir.

Dokulardaki lipit peroksidasyon seviyeleri (MDA olarak), tiyobarbitürik asit reaksiyonu ile ölçülmüştür (Placer vd., 1966). Tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin kantitatifliği, 1,1,3,3 tetraetoksipropanın asit katalizeli hidrolizi ile üretilen malondialdehit eşdeğerlerinin standart eğrisi ile kıyaslanmasıyla belirlendi. MDA değerleri nmol/g olarak ifade edilmiştir. CYP1A1 (katalog no: MBS102556) ve GST (katalog no: 703302) aktiviteleri My Biosource and Cayman Company'den satın alınan ELISA kiti kullanılarak belirlenmiştir.

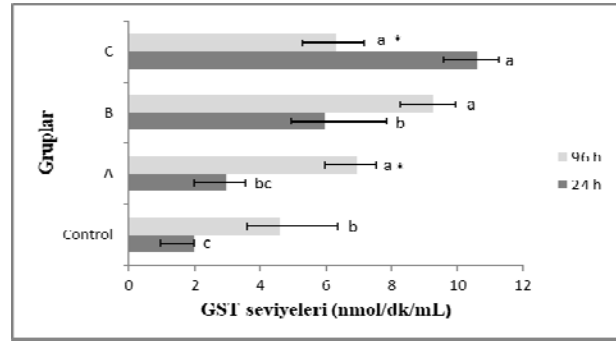
İstatistiksel Analiz: PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) programı kullanılarak veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Tüm gruplarda (A, B, C ve kontrol) istatistiksel farkları aynı maruz kalma süresinde ($abcP<0.05$) değerlendirmek için ANOVA ve Duncan'ın çoklu aralık testleri kullanılmıştır. İki kuyruklu bağımsız T testi aynı gruptaki maruz kalma süreleri (24 ve 96 saat) arasındaki farkları karşılaştırmak için kullanılmıştır ($*P<0.05$).

BULGULAR

GST Aktivitesi: GST aktiviteleri tüm uygulama gruplarında (A, B, C) 24 ve 96 saat boyunca kontrole kıyasla artmıştır ($P<0.05$). GST aktiviteleri kontrol ($P>0.05$), A ($P<0.05$) ve B gruplarında ($P>0.05$) 24. saate göre 96. saatlerde artmış, C grubunda ise azalmıştır ($P<0.05$) (Şekil.1).

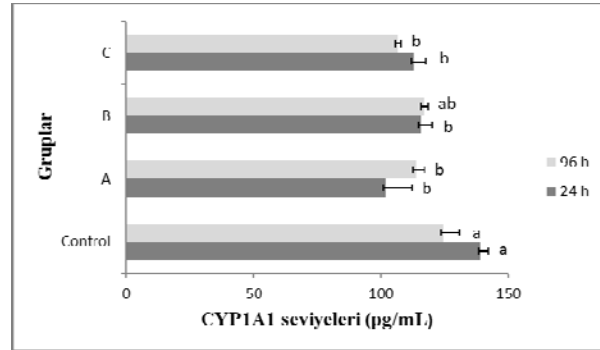
CYP1A1 Aktivitesi: CYP1A1 aktivitesi tüm gruplarda (A, B, C) 24 ve 96 saat boyunca kontrole kıyasla azalmıştır ($P<0.05$). Maruz kalma süresi ile karşılaştırıldığında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür (Şekil.2).

MDA Seviyeleri: MDA seviyeleri tüm gruplarda (A, B, C) 24 saat boyunca kontrole kıyasla artmıştır ($P<0.05$). MDA düzeyleri 96. saat sonunda A grubunda artmış, B ve C gruplarında düşmüştür ($P<0.05$). Maruz kalma süresi karşılaştırıldığında, A, B ve C gruplarında 24 ile 96 saat arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P>0.05$) (Şekil.3).



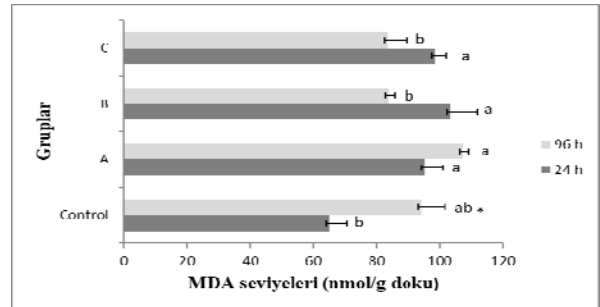
Şekil.1 CR'ye maruz kalan *G. pulex*'in GST aktiviteleri.

*Aynı gruplarda farklı maruz kalma süresi (24, 96 saat) arasındaki iki kuyruklu bağımsız T testine göre istatistiksel farkları gösterir $*P<0.05$; ve (a, b, c) çubuğundaki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testinin tüm uygulama grupları arasında aynı maruz kalma süresindeki istatistiksel farklarını gösterir, $abcP<0.05$. Değerler ortalama ± SE'yi temsil eder, n = 10



Şekil.2 CR'ye maruz kalan *G. pulex*'in CYP1A1 aktiviteleri.

*Aynı gruplarda farklı maruz kalma süresi (24, 96 saat) arasındaki iki kuyruklu bağımsız T testine göre istatistiksel farkları gösterir $*P<0.05$; ve (a, b, c) çubuğundaki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testinin tüm uygulama grupları arasında aynı maruz kalma süresindeki istatistiksel farklarını gösterir, $abcP<0.05$. Değerler ortalama ± SE'yi temsil eder, n = 10



Şekil.3 CR'ye maruz kalan *G. pulex*'de MDA seviyeleri.

*Aynı gruplarda farklı maruz kalma süresi (24, 96 saat) arasındaki iki kuyruklu bağımsız T testine göre istatistiksel farkları gösterir $*P<0.05$; ve (a, b, c) çubuğundaki farklı harfler, Duncan'ın çoklu aralık testinin tüm uygulama grupları arasında aynı maruz kalma süresindeki istatistiksel farklarını gösterir, $abcP<0.05$. Değerler ortalama ± SE'yi temsil eder, n = 10

TARTIŞMA

Tekstil endüstrilerinden kaynaklanan atık sular, çeşitli bileşenleri içerdiği için dünya üzerinde ciddi bir sorunu oluşturmaktadır. Atıksularda bulunan boyalar ve surfaktanlar, canlı organizmalar için çok tehlikelidir (Chandagade vd., 2012). Tekstil boyaları akifere sızabilir veya su kütesine uygun bir şekilde işlem görmeden boşaltıldığı takdirde yeraltı suyunu kirletebilir (Chandagade

vd., 2012). Renk, su kirliliğinin en belirgin göstergelerinden biridir ve suda yaşayan organizmalar için toksisiteye neden olmaktadır (Gottlieb vd., 2003).

Faz I (sitokrom P-450 monooksijenaz enzimleri) ve faz II (konjuge enzimler) yolu boyunca metabolizma veya biyotransformasyon, lipofilik kimyasalların detoksifikasyonu ve atılması için bir zorunluluktur. Biyotransformasyon işlemindeki ilk adım, genellikle terminolojideki "faz I" metabolizması olarak adlandırılan sitokrom P-450 (CYP) monooksijenaz sistemi tarafından katalize edilen oksidatif bir adımdır (Göksoy & Forlin, 1992). Faz II'de daha büyük endojen gruplar, farklı transferaz enzim ailelerinin yardımı ile oksijenli ksenobiyotiğe konjuge edilir, böylece lipofilik bir ksenobiyotigi polar ve suda çözünür bir son ürüne dönüştürür. GST aktivitesi, hem antioksidanların korunmasında hem de kirleticilerin GSH ile konjugasyon yoluyla suda çözünürlüğünü artırarak kirleticilerle uzaklaştırılmasında merkezi bir rol oynar (Goldberg vd., 2000). Bu çalışmada GST aktiviteleri tüm uygulama gruplarında (A, B, C) 24 ve 96 saat boyunca kontrole kıyasla artmıştır ($P<0.05$). Organizmalar genellikle, *G. pulex*'teki enzim aktivitesindeki artışın nedeni olabilecek GST'lerle kirleticileri uzaklaştırmaya çalışırlar. Bulgularımız daha önceki bulgulara uygundur. Ek olarak, bulgularımıza benzer şekilde, *G. pulex*'te GST aktivitesinin, metil oranja 24 ila 96 saat maruz kaldıktan sonra arttığını bulunmuştur (Yıldırım & Yaman, 2019). Tilapia'nın solungaçlarındaki GST aktivitelerinin artmasının, uzun süre boyunca 0.05 ve 0.1 mg/L konsantrasyonlarında Red 195 boyasına maruz kalmanın sonucu olduğunu bildirilmiştir (Ayadi vd., 2015). Farklı Remazol brilliant blue R boya konsantrasyonunun 24 saat sonra gökkuşağı alabalıklarında GST aktivitesine neden olduğu bulunmuştur (Yıldırım & Doğan, 2018). GST aktivitesindeki doza bağlı artışın, olasılıkla boyanın neden olduğu oksidatif hasara karşı bir savunmadan kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Ayrıca GST aktivitesinin CR'ye 24 veya 48 saat maruz kaldıktan sonra açıkça arttığı söylenmiştir (Aksu vd., 2017). Farklı arıtılmamış tekstil atık sularına maruz kalan kerevitlerin hepatopankreas dokusunda GST aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (Aksu vd., 2014).

CYP1A1 miktarı, ksenobiyotiklerin biyotransformasyonundaki rolünden dolayı maruz kalmanın en yararlı biyobelirteçlerinden biridir (Göksoy & Forlin, 1995). Kurşun asetat maruziyetinin EROD (7- etoksiresorufin - O - deilaz) aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur (EROD olarak ölçülen CYP1A'nın indüksiyonu) (Kutlu & Susuz, 2004). CYP1A1 aktivitesi, işlenmemiş tekstil atık suyuna maruz kalan kerevitlerin hepatopankreas dokusunda azalmıştır (Aksu vd., 2015). Kongo Kırmızısı ve Remazol Brilliant Blue R maruziyetine bağlı olarak *A. leptodactylus* hepatopankreas dokusunda CYP1A1 aktivitesi düşmüştür (Aksu vd., 2017). Tekstil boyası metil oranjın ekolojik risk değerlendirmesi belirlenerek, farklı dozlarda metil oranja

maruz kalan tüm gruplarda *Gammarus pulex*'teki CYP1A1 aktivitelerinin azaldığı bulunmuştur (Yıldırım vd., 2019). Bu çalışmada, tüm gruplarda (A, B, C) 24 ve 96 saat boyunca kontrole kıyasla, aynı şekilde CYP1A1 aktivitesi azalmıştır ($P<0.05$). Maruz kalma süresi ile karşılaştırıldığında gruplar arasında fark yoktur. ROS'un, *in vivo* ve *in vitro* olarak CYP450 aktivitesinin azalmasında rol oynadığı bildirilmiştir (Galal & Patrick, 1999). Kongo Kırmızısı, CYP1A1 aktivitelerinin inhibisyonuna neden olan ROS oluşumunu artırabilir. CYP1A1 aktivitesinin CR maruziyeti ile inhibisyonu, bu enzimin, *G. pulex*'teki CR metabolizmasında rol oynayamayacağını göstermektedir.

Lipit peroksidasyonu, kirleticilerin sucul ortamlardaki etkilerinin değerlendirilmesinde oksidatif stres biyobelirteçleri olarak başarıyla kullanılmıştır (Valavanidis vd., 2006; Serdar vd., 2018). MDA, lipit peroksidasyonunun son ürünlerindedir, bu son ürün, oksidatif stres ve hücre hasarının biyolojik belirteçleri olarak kabul edilir. Metil oranj boyasının (Yıldırım vd., 2019) ve reaktif kırmızı 35'in (Soni vd., 2015) *G. pulex*'teki toksikolojik değerlendirmesi üzerinde çalışılmıştır ve elde edilen sonuçlar bulgularımızı desteklemektedir. Aynı şekilde Carmosine (E122) 'nin erkek sıçanlar üzerindeki etkisini araştırmış ve boya maruziyetine bağlı olarak artan MDA seviyeleri belirlenmiştir (Fijer vd., 2016). *G. pulex* malahit yeşiline maruz bırakılmış ve serbest radikallerin malahit yeşil tarafından aşırı üretilmesinin MDA seviyesini artırdığı öne sürülmüştür (Yıldırım vd., 2018). MDA seviyelerinin bu şekilde değişmesi, CR boyasının *G. pulex* için daha önce benzeri görülmeyen toksik bir yük yaratabileceğini göstermiştir. Yüksek MDA seviyeleri, organizmanın savunma sisteminin sona ermiş olduğunu göstermektedir.

SONUÇLAR

Sonuç olarak, bu çalışmadan elde edilen bulgular, CR'nin *G. pulex*'teki CYP1A1 aktivitelerini inhibe ettiğini göstermiştir. Aynı zamanda CR'nin *G. pulex*'te lipit peroksidasyon (MDA) seviyesini artırabilen ROS'u artırdığını göstermiştir. Ayrıca, GST aktivitesindeki doza bağlı artışın olasılıkla boyanın neden olduğu oksidatif hasara karşı bir savunma nedeniyle olabileceğini söylemek mümkündür. Bu sonuç, *G. pulex*'te CR toksisitesinin artmasına yeni bir bakış açısı sağlayabilir.

KAYNAKLAR

Aksu, O., Yıldırım, N.C., Yıldırım, N., Danabas, D. & Danabas, S. (2015). Biochemical response in crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823) exposed to textile wastewater treated by indigenous white rot fungus *Coriolus versicolor*. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(4), 2987-2993.

- Aksu, O., Yildirim, N.C., Danabas, D. & Yildirim, N. (2017).** Biochemical impacts of the textile dyes remazol brilliant blue r and congo red on the crayfish *Astacus leptodactylus* (Decapoda, Astacidae). *Crustaceana*, **90**(13), 1563-1574.
- APHA. (1998).** Standard methods for the examination of water and waste water. *American Public Health Association*, 874 pp.
- APHA-AWWA-WEF. (2005).** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21th ed. *American Public Health Association*, Washington.
- Ayadi, I., Mariza Monteiro, S., Regaya, I., Coimbra, A. Fernandes, F., Oliveira, M.M., Peixoto, F. & Mnif, W. (2015).** Biochemical and histological changes in the liver and gills of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to red 195 dye. *RSC Advances*, **5**, 87168–87178.
- Biagianti-Risbourg, S. (1997).** Les perturbations (ultra) structurales du foie des poissons utilisées comme biomarqueurs de la qualité sanitaire des milieux aquatiques, *Utilisation de Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects Fondamentaux*, ed.L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard and F. Ramade, MassonPub., Paris, pp. 55-391.
- Chandagade, C.A., Patil, V.N., Jadhav, V.V. & Raut, P.D. (2012).** Effect of textile effluent on some enzyme activities in different tissues of freshwater crab *Paratelphusa jacquemontii*. *Proceeding of International Conference, SWRDM*, 281-284.
- Coimbra, A.M., Figueiredo-Fernandes, A. & Reis-Henriques, M.A. (2007).** Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), liver morphology, CYP1A activity and thyroid hormones after endosulfan dietary exposure. *Pesticide Biochemistry Physiology*, **89**, 230-236.
- De Lange, H.J., Noordoven, W., Murk, A.J., Lürling, M. & Peeters, E.T. (2006).** Behavioural responses of *Gammarus pulex* (Crustacea, Amphipoda) to low concentrations of pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology*, **78**, 209-216.
- Di Giulio, R.T., Washburn, P.C., Wenning, R.J., Winston, G.W. & Jewell, C.S. (1989).** Biochemical responses in aquatic animals: a review of oxidative stress. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **8**, 1103-1123.
- Duman, F. & Kar, M. (2015).** Evaluation of effects of exposure conditions on the biological responses of *Gammarus pulex* exposed to cadmium. *International Journal of Environmental Science and Technology*, **12**, 437-444.
- Fewson, C.A. (1998).** Biodegradation of xenobiotic and other persistent compounds: the causes of recalcitrance. *Trends in Biotechnology*, **6**, 148-153.
- Fu, Y., Li, M., Liu, C., Qu, J.P., Zhu, W.J., Xing, H.J., Xu, S.W. & Li, S. (2013).** Effect of atrazine and chlorpyrifos exposure on cytochrome P450 contents and enzyme activities in common carp gills. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **94**, 28-36.
- Galal, A. & Patrick, D.S. (1999).** 21-Aminosteroids prevent the down-regulation of hepatic cytochrome P450 induced by hypoxia and inflammation in conscious rabbits. *British Journal of Pharmacology*, **128**, 374-379.
- Goksayr, A. & Forlin, L. (1992).** The cytochrome P50 in fish and aquatic toxicology and environmental monitoring. *Aquatic Toxicology*, **22**, 287-312.
- Goldberg, E.D. & Bertine, K.K. (2000).** Beyond the mussel watchnew directions for monitoring marine pollution. *Science of the Total Environment*, **247**, 165-174.
- Gottlieb, A., Shaw, C., Smith, A. & Wheatley, A. (2003).** The toxicity of textile reactive azo dyes after hydrolysis and decolourisation. *Journal of Biotechnology*, **1**, 49-56.
- Hermes-Lima, M. (2004).** Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. In: Storey KB (ed) *functional metabolism: regulation and adaptation*, John Wiley & Sons, Inc., pp. 319-368.
- Hinton, D.E. & Laur'en, D.J. (1990).** Liver structural alterations accompanying chronic toxicity in fishes: potential biomarkers of exposure. *Biomarkers of Environmental Contamination*. J. F. McCarthy and L. R. Shugart, Lewis, pp. 17-59.
- Ja_zd_zewski, K. (1980).** Range extensions of some gammaridean species in european inland waters caused by human activity. *Crustaceana*, **6**, 84-107.
- Kaur, S., Kaur, K. & Kaur, A. (2016).** Effect of sublethal doses of an azo dye, acid blue-113 (ab-113) on biochemical responses of *Labeo rohita* and *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Environmental Research and Development*, **11**(2), 302-307.
- Kaushik, P. & Malik, A. (2009).** Fungal dye decolourization: Recent advances and future potential. *Environment International*, **35**, 127-141.
- Kumar, K., Dastidar, M.G. & Sreekrishnan, T.R. (2009).** Effect of process parameters on aerobic decolourization of reactive Azo dye using mixed culture. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agri-cultural, Food and Biotechnological Engineering*, **3**(10), 525-528.
- Kutlu, M. & Susuz, F. (2004).** Effects of lead as an environmental pollutant on EROD enzyme in *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: amphipoda). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **72**, 750-755.
- Madhuri, S., Aditi, B., Aparna, P. & Girish, P. (2014).** Detoxification of reactive red 195 by *Micrococcus glutamicus* NCIM 2168. *Journal of Environmental Research and Development*, **9**(1), 120-128.

- Nebert, D.W. & Gonzalez, F.J. (1987).** P-450 genes: structure, evolution and regulation. *Annual Review of Biochemistry*, **56**, 945-993.
- Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979).** Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, **95**, 351-358.
- Oinonen, T., Saarikoski, S., Husgafvel-Pursiainen, K., Hirvonen, A. & Lindros, K.O. (1994).** Pretranslational induction of cytochrome P4501A enzymes by β -naphthoflavone and 3-methylcholanthrene occurs in different liver zones. *Biochemical Pharmacology*, **48**, 2189-2197.
- Placer, Z.A., Cusman, L.L. & Johnson, B.C. (1966).** Estimation of product of lipid peroxidation (malondialdehyde) in biochemical systems. *Analytical Biochemistry*, **16**, 359-364.
- Richardson, K.L., Gold-Bouchot, G. & Schlenk, D. (2009).** The characterization of cytosolic glutathione transferase from four species of sea turtles: Loggerhead (*Caretta caretta*), green (*Chelonia mydas*), olive ridley (*Lepidochelys olivacea*), and hawksbill (*Eretmochelys imbricata*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology*, **150**, 279-284.
- Sedlak, J. & Lindsay, R.H.C. (1968).** Estimation of total protein bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellmann's reagent. *Analytical Biochemistry*, **25**, 192-205.
- Serdar, O., Yildirim, N.C., Tatar, Ş., Yildirim, N. & Ogedey, A. (2018).** Antioxidant biomarkers in *Gammarus pulex* to evaluate the efficiency of electrocoagulation process in landfill leachate treatment. *Environmental Science and Pollution Research*, **25**, 12538-12544.
- Seshadri, S., Bishop, P.L. & Agha, A.M. (1994).** Anaerobic/aerobic treatment of selected azo dyes in wastewater. *Waste Management*, **15**: 127-137.
- Shimada, T., Sugie, A., Shindo, M., Nakajima, T., Azuma, E., Hashimoto, M. & Inoue, K. (2003).** Tissue-specific induction of cytochromes P450 1A1 and 1B1 by polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in engineered C57BL/6J mice of arylhydrocarbon receptor gene. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **187**, 1-10.
- Soderlund, D.M. & Bloomquist, J.R. (1990).** *Molecular resistance in arthropods*. In: Roush R.T. & Tabashnik B.E. ed. Chapman Hall Press, New York, 58-96.
- Soni, R.K., Acharya, P.B. & Modi, H.A. (2015).** Toxicological assessment of reactive red 35 and its biodegraded products using cytogenotoxicity, oxidative stress and phytotoxicity studies. *Environmental Science an Indian Journal*, **11**(7), 254-260.
- Stegeman, J.J., Woodin, B.R., Singh, H., Oleksiak, M.F. & Celander, M. (1997).** Cytochromes P450 (CYP) in tropical fishes: catalytic activities, expression of multiple CYP proteins and high levels of microsomal P450 in liver of fishes from Bermuda. *Comparative Biochemistry and Physiology Part-C: Toxicology, Pharmacology and Endocrinology*, **116**, 61-75
- Trute, M., Gallis, B., Doneanu, C., Shaffer, S., Goodlett, D. & Gallagher, E. (2007).** Characterization of hepatic glutathione S-transferases in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Aquatic Toxicology*, **81**, 126-136.
- Yildirim, N.C. & Dogan, L. (2018).** Investigation of biochemical response in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) exposed to remazol brilliant blue r textile dye. *Journal of Environmental Protection and Ecology*, **19**(1), 48-54.
- Yildirim, N.C., Tanyol, M., Serdar, O. & Tatar, S. (2018).** Biochemical responses of *Gammarus pulex* to malachite green solutions decolorized by *Coriolus versicolor* as a biosorbent under batch adsorption conditions optimized with Response Surface Methodology. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **156**, 41-47.
- Varanasi, U. (1989).** *Metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons in the aquatic environment*. CRC Press, Taylor & Francis Group, Florida, 325p.

***Corresponding author's:**

Şule TATAR

Munzur University, Faculty of Engineering, Department of Environmental Engineering, Tunceli.

✉E-mail: sytatar@munzur.edu.tr

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8962-0107>