



**AKUT SİPERMETRİN TOKSİKASYONUNA MARUZ  
KALMIŞ SU PİRELERİNDE (*Daphnia magna* Straus 1820)  
DETOKSİFİKASYON VE REPRODÜKTİF SİSTEMLE  
İLİŞKİLİ BAZI GENLERİN EKSPRESYON  
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Ümit MORKOÇ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Dr. Öğr. Üyesi Harun ARSLAN**

**Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR**

**2019**

**Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKUT SİPERMETRİN TOKSİKASYONUNA MARUZ KALMIŞ SU  
PİRELERİNDE (*Daphnia magna* Straus 1820) DETOKSİFİKASYON  
VE REPRODÜKTİF SİSTEMLE İLİŞKİLİ BAZI GENLERİN  
EKSPRESYON PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Ümit MORKOÇ

SU ÜRÜNLERİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM  
2019

Her hakkı saklıdır



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**AKUT SİPERMETRİN TOKSİKASYONUNA MARUZ KALMIŞ SU  
PİRELERİNDE (*Daphnia magna* Straus 1820) DETOKSİFİKASYON VE  
REPRODÜKTİF SİSTEMLE İLİŞKİLİ BAZI GENLERİN EKSPRESYON  
PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

Dr. Öğr. Üyesi Harun ARSLAN danışmanlığında, Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR'in ortak danışmanlığında, Ümit MORKOÇ tarafından hazırlanan bu çalışma 01/03/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans olarak ~~oybirliği/oy çokluğu~~ (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Telat YANIK

Üye : Doç. Dr. Ahmet TOPAL

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Tayfun KARATAŞ

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Harun ARSLAN

İmza :

İmza :

İmza :

İmza :

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 07.03.2019 tarih ve 11.11.53 nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Mehmet KARAKAN**  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.  
Proje No: FYL-2018-6799

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### AKUT SİPERMETRİN TOKSİKASYONUNA MARUZ KALMIŞ SU PİRELERİNDE (*Daphnia magna* Straus 1820) DETOKSİFİKASYON VE REPRODÜKTİF SİSTEMLE İLİŞKİLİ BAZI GENLERİN EKSPRESYON PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Ümit MORKOÇ

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Harun ARSLAN  
Ortak Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR

Bu çalışmada; sipermetrin pestisitinin sub-lethal dozuna maruz bırakılan su pirelerinde (*Daphnia magna*) detoksifikasyon (*CYP314*, *CYP360A8*, *GST*, *P-gp*, *HR 96*) ve üreme (*DMRT*, *VTG* ve *CUT*) sistemi ile ilgili genlerin ekspresyon seviyelerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada, 10 adet 50 mL’lik beherin her birine 20 adet su piresi konulmuştur. Çalışma, sipermetrin pestisitinin sub-lethal dozunun (0,06 µM/L) su pirelerine 0,24,48,72 ve 96 saat uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Genlere ait ekspresyon profilleri Real Time PCR kullanılarak belirlenmiştir.

Deneme süresi sonunda pestisit uygulanan su pirelerinde; *CYP314*, *CYP360A8*, *GST*, *P-gp*, *HR 96*, *DMRT* genlerinde ekspresyon seviyeleri zamanla doğru oranlı olarak kontrol gurubuna göre artış gösterirken ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ), *VTG* ve *CUT* genlerinin ekspresyon seviyeleri kontrol gurubuna göre azaldığı belirlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ).

Bulgularımıza göre sipermetrinin su pirelerinde detoksifikasyon ve reproduktif sistemle ilişkili genlerin ekspresyon seviyelerinde önemli değişikliklere neden olduğu görülmüştür. Dolayısıyla akut sipermetrin toksikasyonunun detoksifikasyon mekanizmasını aktif hale getirdiği ve üremeyi olumsuz yönde etkilediği söylenebilir. Aynı zamanda detoksifikasyonla ilişkili *CYP314*, *CYP360A8*, *HR 96* ve *P-gp* genlerinin su pirelerinin bulunduğu ortamlarda pestisit kirliliğini tespit etmeye yönelik biyobelirteç olma potansiyelinden bahsedilebilir.

2019, 41 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Pestisitler; Sipermetrin; Su Piresi, Gen Ekspresyonu

## ABSTRACT

Master Thesis

### DETERMINATION OF EXPRESSION PROFILES OF SOME GENES RELATED TO THE DETOXIFICATION AND REPRODUCTIVE SYSTEM IN WATER FLEAS (*Daphnia magna* Straus 1820) THAT ARE EXPOSED TO ACUTE CYPERMETHRIN TOXICITY

Ümit MORKOÇ

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Aquaculture

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Harun ARSLAN  
Co-Supervisor: Assist. Prof. Dr. Selçuk ÖZDEMİR

The aim of this study was to investigate the expression levels of some genes (*CYP314*, *CYP360A8*, *GST*, *P-gp*, *HR 96*, *DMRT*, *VTG* and *CUT*) related to the reproductive and detoxification system in water fleas (*Daphnia magna*) exposed to sub-lethal dose of cypermethrin pesticide. In the study, *Daphnia magna* (n=20) were placed in 50 ml beakers (n=10). The study was carried out with sub-lethal dose of cypermethrin pesticide (0,06 µM/L) applied to *Daphnia magna* 0,24,48,72 and 96 hours. Gene expression profiles were determined using Real Time PCR.

At the end of the experimental period pesticide application in *Daphnia magna*; While the expression levels of *CYP314*, *CYP360A8*, *GST*, *P-gp*, *HR 96* and *DMRT* (p<0,05 and p<0,01) genes increased with respect to the control group over time, the expression levels of the *VTG* and *CUT* genes decreased compared to the control group (p<0,05 and p<0,01).

According to our findings, it was observed that cypermethrin caused significant changes in the expression levels of detoxification and reproductive system related genes in *Daphnia magna*. Therefore, it can be suggested that acute cypermethrin toxicity activates the detoxification mechanism and negatively affects reproduction of *Daphnia magna*. At the same time, *CYP314*, *CYP360A8*, *HR 96* and *P-gp* genes associated with detoxification could be mentioned as the potential biomarker for detecting pesticide pollution in aquatic environments that found *Daphnia magna*.

**2019, 41 pages**

**Keyword:** Pesticides; cypermethrine; Water Flea; Gene Expression

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışmanın araştırma konusunun belirlenmesi, planlanıp yürütülmesi ve tez haline getirilmesinde bana yol gösteren danışmanım, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Harun ARSLAN'a ve ortak danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Selçuk ÖZDEMİR'e,

Çalışmalarım esnasında gerekli yardımı ve yakın ilgiyi esirgemeyen Su Ürünleri Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Murat ARSLAN başta olmak üzere tüm hocalarım ve arkadaşlarıma, Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezine (DAYTAM),

Eğitim hayatımın her döneminde yanımda olan, yardımlarını ve desteklerini her zaman hissettiren başta çok kıymetli ve değerli eşim Tuba MORKOÇ'a olmak üzere ailemin tüm fertlerine en derin duygularıyla teşekkür ederim.

**Ümit MORKOÇ**

**Mart, 2019**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                        |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ÖZET.....                                                                              | i         |
| ABSTRACT .....                                                                         | ii        |
| TEŞEKKÜR.....                                                                          | iii       |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                   | vi        |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                | viii      |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>                                                                   | <b>1</b>  |
| 1.1. Pestisitler .....                                                                 | 2         |
| 1.1.1. İnsektisitler .....                                                             | 6         |
| 1.1.2. Piretroitler.....                                                               | 7         |
| 1.1.2.a. Sipermetrin .....                                                             | 7         |
| 1.2. Su Piresi ( <i>Daphnia magna</i> ) 'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri..... | 8         |
| <b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>                                                        | <b>11</b> |
| <b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>                                                      | <b>17</b> |
| 3.1. Materyal.....                                                                     | 17        |
| 3.1.1. Araştırma yeri.....                                                             | 17        |
| 3.1.2. Canlı Materyali.....                                                            | 17        |
| 3.1.3. Kullanılan Kimyasal ve Dozu .....                                               | 17        |
| 3.2. Yöntem .....                                                                      | 18        |
| 3.2.1. Deney Dizaynı.....                                                              | 18        |
| 3.2.2. Transkripsiyonel Analiz .....                                                   | 18        |
| 3.2.2.a. Total RNA İzolasyonu.....                                                     | 18        |
| 3.2.2.b. cDNA Sentezi.....                                                             | 20        |
| 3.2.2.c. Real Time Reaksiyonu.....                                                     | 21        |
| <b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI .....</b>                                                    | <b>26</b> |
| <b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....</b>                                                       | <b>32</b> |
| KAYNAKLAR .....                                                                        | 36        |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                         | 42        |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|                  |                                                    |
|------------------|----------------------------------------------------|
| %                | Yüzde Oran                                         |
| °C               | Santigrat derece                                   |
| μM               | Mikromolar                                         |
| cm               | Santimetre                                         |
| dk               | Dakika                                             |
| g                | Gram                                               |
| L                | Litre                                              |
| l/L              | Litre                                              |
| LC <sub>50</sub> | Deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon |
| LD <sub>50</sub> | Deney hayvanlarının yarısını öldüren doz           |
| m                | Metre                                              |
| mg/l             | Litrede 1 miligram                                 |
| ml               | Mililitre                                          |
| Sn               | Saniye                                             |
| μg               | Mikrogram                                          |
| μl               | Mikrolitre                                         |



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.1. Pestisitlerin biyolojik birikimi .....                                                                                                       | 3  |
| Şekil 1.2. Pestisitlerin doğadaki hareketleri.....                                                                                                      | 4  |
| Şekil 1.3. Sipermetrin moleküler yapısı.....                                                                                                            | 8  |
| Şekil 1.4. Su piresinin morfolojisi ve Yaşam Döngüsü .....                                                                                              | 9  |
| Şekil 3.1. <i>Daphnia magna</i> .....                                                                                                                   | 17 |
| Şekil 3.2. <i>Daphnia magna</i> örnekleri .....                                                                                                         | 18 |
| Şekil 3.3. Trizol kimyasalına maruziyet .....                                                                                                           | 19 |
| Şekil 3.4. Doku parçalama cihazı .....                                                                                                                  | 19 |
| Şekil 3.5. Satrifüj cihazı.....                                                                                                                         | 19 |
| Şekil 3.6. Fazlara ayrılmış hali .....                                                                                                                  | 19 |
| Şekil 3.7. Nanodrop (Mikroplate Spektrofotometre) cihazı .....                                                                                          | 20 |
| Şekil 3.8. PCR cihazı .....                                                                                                                             | 21 |
| Şekil 3.9. Real Time PCR cihazı .....                                                                                                                   | 21 |
| Şekil 4.1. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde CYP314<br>(Sitokrom p450 gen ailesi) genine ait ekspresyon seviyesi.....         | 27 |
| Şekil 4.2. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde CYP360A<br>(Sitokrom p450 gen ailesi) genine ait ekspresyon seviyesi.....        | 27 |
| Şekil 4.3. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde GST<br>(Glutatyon S Transferaz) genine ait ekspresyon seviyesi. ....             | 27 |
| Şekil 4.4. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde P-gp (P-<br>glikoprotein) genine ait ekspresyon seviyesi. ....                   | 28 |
| Şekil 4.5. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde HR96<br>(Nükleer Hormon Reseptör 96) genine ait ekspresyon seviyesi .....        | 28 |
| Şekil 4.6. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde CUT (Cuticle<br>12) genine ait ekspresyon seviyesi .....                         | 28 |
| Şekil 4.7. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde VTG<br>(Vitellogenin) genine ait ekspresyon seviyesi .....                       | 29 |
| Şekil 4.8. Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde DMRT<br>(Doublesex-and mab 3 related transcription faktor) genine ait ekspresyon |    |

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| seviyesi .....                                                              | 29 |
| <b>Şekil 4.9.</b> CYP314, GST ve HR96 genlerine ait RT-PCR verileri .....   | 30 |
| <b>Şekil 4.10.</b> P-gp ve CUT genlerine ait RT-PCR verileri .....          | 30 |
| <b>Şekil 4.11.</b> CYP360A8, VTG ve DMRT genlerine ait RT-PCR verileri..... | 31 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                    |    |
|----------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1. <i>Daphnia magna</i> sistematik ..... | 17 |
| Çizelge 3.2. Primer dizilimleri.....               | 22 |



## 1. GİRİŞ

Canlılar için büyük bir öneme sahip olan su; biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesine temel ortam sağlaması, canlı habitatını oluşturması ve en önemlisi insanlar tarafından tüketiliyor olması büyük önem taşımaktadır. Evsel, endüstriyel veya tarımsal faaliyetler sonucu ortaya çıkan atık sular dünya üzerindeki suların %71'ini kirletmektedir. Bu kirlenen suların büyük bir bölümünü biyoçeşitliliği içerisinde barındıran deniz ve okyanuslar oluşturmaktadır. Hem dünya oksijen düzeyinin ayarlanması, hem de yaşamın temelini oluşturması suyun nedenli önemli olduğunu ortaya koymaktadır (Küçükyılmaz vd 2016). İçerisinde kirlilik muhteva eden sucul ortamlarda yetiştirilen ürünlerin miktarı ve kalitesi etkilendiği gibi, bu alanlarda oluşan kirlilik doğrudan veya dolaylı olarak birçok probleme zemin hazırlamaktadır. Kirlilikten etkilenen sucul ortamlarda oluşması muhtemel zararlıların kontrolünde biyositlerin kullanımı önemli bir yöntem olarak öne çıkmaktadır (Pala 2013). Su kirliliği fizikokimyasal parametrelerin yanında toksisite testleri de uygulanarak bütünlük bir yaklaşımla değerlendirilmektedir (Feiler 2006). Tatlı sulardaki kirliliğin belirlenmesi için biyoindikatör canlı olarak kullanılan su piresi (*Daphnia magna*), akut ve kronik toksisite testlerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır (Serpa 2014).

Çevresel kirliliğe neden olan birçok kimyasal, detoksifikasyon ve üreme ile ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerini değiştirebilir (Huggett *et al.* 1992). Buna *P450*, glutathione S-transferase (*GST*), P-glycoprotein (*P-gp*) gibi genler örnek gösterilebilir. Aynı zamanda bu kimyasallar organizmalarda fizyolojik değişikliklere de neden olabilir. *HR96* geni omurgasızlarda bulunan *NR1J* nükleer reseptör grubundaki toksikasyon reseptörüdür. Ayrıca bu gen memelilerde bulunan ve faz I, II, III detoksifikasyon genlerinin ekspresyonlarını düzenleyen *NR1I* (*VDR/CAR/PXR*) nükleer reseptörlerin homologudur (Bertrand *et al.* 2004; Swales and Negishi 2004; Qatanani and Moore 2005; Hernandez *et al.* 2009). Karimullina ve arkadaşları tarafından 2012 yılında su pireleri ile yapılan bir çalışmada triclosan, rostanol ve fluoxetine gibi kimyasalların *HR96* geninin ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir (Karimullina *et al.* 2012).

MFO (P450-dependent mixed-function oxidase) ve antioksidan enzim sistemi ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda etkin şekilde rol oynar. *CYP3A*, P450 protein ailesinin bir üyesidir ve *in vivo* ilaçların oksidatif metabolizmasına katılır (Yamano *et al.* 1990). Bu sebeple *CYP3A*'da meydana gelecek transkripsiyonel değişimler ksenobiyotik toksikasyonu için biyomarkır olarak kullanılabilir. *CYP360A8*, omurgasızlarda *CYP3A*'nın homologudur. Bu genin bazı ksenobiyotik toksikasyonlarına cevap olarak eksprese edildiği rapor edilmiştir (Liu *et al.* 2017). *CYP314*, kabuklu canlılarla ilişkili önemli bir hormon olan “ecdysone” nun biyosentezinde görev almaktadır. EcR ile kombine edilmiş ecdysone, omurgasızların üreme ve gelişmesinde rol oynayan birçok hedef genin ekspresyonunu düzenleyebilir (Rewitz *et al.* 2007; Rewitz and Gilbert 2008). P-glycoprotein (*Pgp*), genel olarak hücre membranından geçecek olan eksojen ve endojen maddelerin transportunda görev almaktadır. Ayrıca bu gen, eksojen maddelerin detoksifikasyonunda önemli şekilde rol oynar (Borgeraas and Hessen 2000; Vega and Pizarro 2000; Borgeraas and Hessen 2002). Vitellogenin (*Vtg*), yumurta sarısının prekürsör maddesidir ve yumurtlayarak çoğalan hayvanlarda önemli bir lipoprotein olarak bilinmektedir. Vitellogenin üretimi bazı östrojenik hormonlar tarafından kontrol edildiği için bu gen östrojenik bileşiklerin maruziyetinde sıklıkla biyomarkır olarak kullanılmaktadır (Jones *et al.* 2000; Matozzo *et al.* 2008).

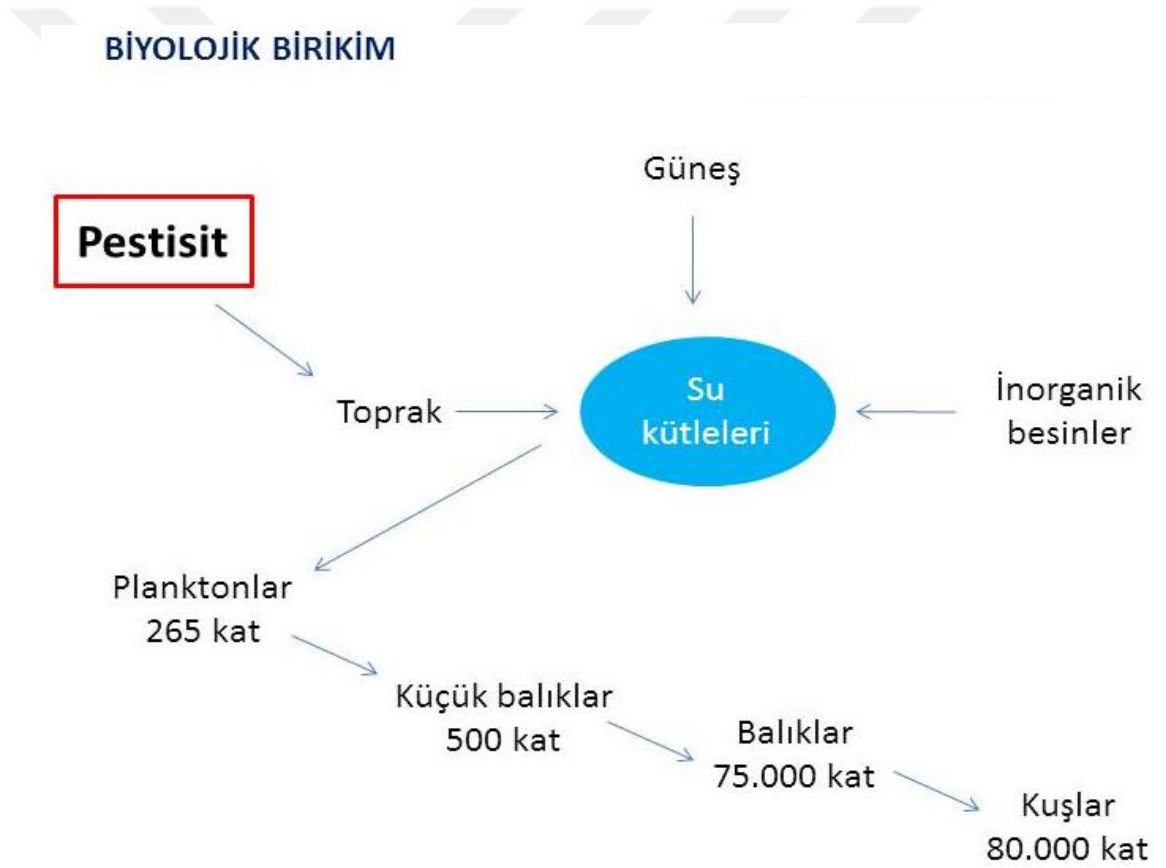
Genel olarak bakıldığında bir organizmanın fizyolojik cevapları (hayatta kalma, büyüme oranı, üreme ve gelişme) moleküler seviyedeki gen ekspresyon değişimleriyle yakından ilişkili olabilir. Dolayısı ile şu çıkarımı yapmak mümkün olabilir; detoksifikasyon ve üreme ile ilişkili genlerdeki ekspresyonel değişimler fizyolojik seviyede meydana gelebilecek geri dönüşümlü zararlardan önce erken uyarı olabilir.

### 1.1. Pestisitler

Pestisit; böcekler, kemirgenler, sucul yabancı otlar ve bitkilerde hastalıklara yol açan pest adı verilen zararlı canlıları kontrol etmek, zararlıları öldürmek, toksik etkiye sahip organizmaları yok etmek, engellemek ya da zararlarını azaltmak için kullanılan madde ya da maddelerden oluşan kimyasal karışımlardır. Canlı ve cansız cisimlerin üzerinde

bulunabilen, besini hasara uğratarak değerini azaltan zararlıları öldürmek için kullanılan kimyasal maddelerdir (Yücel 2014).

1940'lı yıllardan beri üretimi arttıran en önemli bileşen olan pestisit, tarımsal ürünü veya sucul canlıları hastalıklardan koruyabilmek, kaliteli üretimi güvence altına alabilmek için kullanılan mücadele şeklidir. Kısa sürede etkili ve kolay kullanımı pestisit kullanımının tercih sebebidir. Ekonomik, etki oranı yüksek ve toksin salgılayan organizmalardan ürünü koruma özelliği vardır (Yücel 2014).



**Şekil 1.1.** Pestisitlerin biyolojik birikimi (Megep)

## Kimyasal Maddelerin Sucul Canlılar ve Su Piresi Üzerine Etkisi

Aşırı kullanımları ve bilinçsiz uygulamaları sonucu doğaya salınan kimyasalların kalıntıları balıklar ve diğer sucul canlılarda yaygın ölümlere neden olabilmektedirler. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. En çok tercih edilen püskürtme yöntemi ile püskürtülen ilaç, hedef olmayan diğer organizmalara bulaşır ve kalıntı bırakarak toksik etki oluşturur. Örneğin suda bulunan pestisit önce su bitkileri tarafından tutulur sonra böcekler ve ardından balıklar tarafından alınabilir (Yücel 2014). Çevreye bırakılan bütün kimyasal maddeler doğrudan ve dolaylı yollarla ekosistemlere ve insanlara ulaşmaktadır (Tuna 2018). Sucul ekosistemlerde pestisitler, sucul canlılar için tehlike arz etmekte ve ekolojik dengeyi bozan kirleticiler olarak önem taşımaktadırlar (Hu *et al.* 2013).

### PESTİSİTLERİN DOĞADAKİ HAREKETLERİ



Şekil 1.2. Pestisitlerin doğadaki hareketleri (Megep)

### **Kimyasal maddeler iki şekilde toksik etki oluşturmaktadır;**

**1. Akut toksisite:** Tek dozda alındığında kısa süre içerisinde ortaya çıkan belirtileri ile tanımlanabilen etkidir. Akut toksisitenin belirlenmesi öncelikle mediyan letal doz (LC50 veya LD50) tayini ile yapılmaktadır.

**2. Kronik toksisite:** Uzun bir süre içerisinde öldürücü doz ile tekrarlı olarak ortaya çıkan toksisitedir (Vural 2005).

Pestisitler, kimyasal özellikleri ve hedefledikleri türler bakımından sınıflandırılır (Chau and Afghan 1982).

Hedef türlere göre;

- |                                      |                                        |
|--------------------------------------|----------------------------------------|
| a) İnsektisit (böcek öldüren)        | b) Akarisit (akarıları öldüren)        |
| c) Nemasit (nematodları öldüren)     | d) Mollussitit (yumuşakçaları öldüren) |
| e) Rodentisit (kemirgenleri öldüren) | f) Avisit (kuşları öldüren)            |
| g) Afisit (yaprak bitlerini öldüren) | h) Fungusit (fungusları öldüren)       |
| i) Bakterisit (bakterileri öldüren)  | j) Herbisit (otları öldüren)           |
| k) Algisit (algleri öldüren)         |                                        |

Kimyasal yapılarına göre;

- |                                                     |                                      |
|-----------------------------------------------------|--------------------------------------|
| 1. Piretiroidler: Deltametrin, Sipermetrin          | 5. Herbisit asitler: 2,4-D, 2,4,5-T  |
| 2. Organofosforlu pestisitler: paration, klorprifoz | 6. Üre herbisitler: dinuron, linuron |
| 3. Karbamatlı pestisitler: metomil, Karbaril        | 7. S-triazinler: atrazin, simazin    |
| 4. Organoklorürlü pestisitler: DDT, BHC             | 8. Organo-civa ve kalay bileşikleri. |



### 1.1.1. İnsektisitler

Böcek ve haşerelere karşı kullanılan insektisitler önceleri arsenikli bileşikler olarak daha sonra tütün suyu ve dumanı olarak bazı böceklerle karşı kullanılmaya başlanmıştır. 19. Yüzyılda pire otu, 20. Yüzyılda ise metil bromit, kalsiyum arsenat, etilen diklorit gibi kimyasal maddeler kullanılmıştır. Bu kimyasalları takiben ilerleyen yıllarda Dikloro Difenil Trikloroetan (DDT) ve benzen heksakloritli ilaçlar kullanılmış sonraki yıllarda diğer klorlandırılmış hidrokarbonlar, organik fosforlu insektisitler ve karbamatlı insektisitler gibi organik sentetik insektisitler bulunmuştur (Yücel 2014). Kimyasal insektisitlerin tümü nörotoksikan olup, hedef organizmaların sinir sistemlerine etki etmektedir (Vural 2005). İnsektisitler, inorganik ve doğal insektisitler, bitkisel insektisitler ve sentetik organik insektisitler olmak üzere 3'e ayrılmaktadır.

#### A- İnorganik ve doğal insektisitlerin sınıflandırılması

- |                        |                     |           |
|------------------------|---------------------|-----------|
| a. Arsenik bileşikleri | b. Flor bileşikleri | c. Kükürt |
| d. Civa bileşikleri    | e. Fumigantlar      | f. Yağlar |

#### B- Bitkisel insektisitlerin sınıflandırılması

- |             |              |                           |           |
|-------------|--------------|---------------------------|-----------|
| a. Nikotin  | b. Pyrethrum | c. Rotenon ve Rotenoidler | d. Quasia |
| e. Anabasin | f. Sabadilla | g. Hellebore              | h. Ryania |

#### C. Sentetik organik insektisitler

- |                                         |                               |
|-----------------------------------------|-------------------------------|
| a. Organik klor bileşikleri             | b. Organik fosfor bileşikleri |
| ai. DDT (dikloro difenol trikloroethan) | bi. Karbamatlar               |
| aii. BHC (benzen heksaklorür)           | bi. Sentetik piretroidler     |
| aiii. Siklodienler                      |                               |

### 1.1.2. Piretroitler

Piretroidler; Böcek öldürücü bir karışım olan bazı piretrum ekstratı *Chrysanthemum* (Kasımpatı) çiçeklerinden elde edilir (Anonymous 2005). Piretroidlerin en önemli avantajları böceklerle karşı oldukça toksik olması ve toprakta birikmemesidir (Kakko 2004).

Piretroidler kimyasal yapılarına göre;

#### 1. Alpha-cyano grubu taşıyanlar

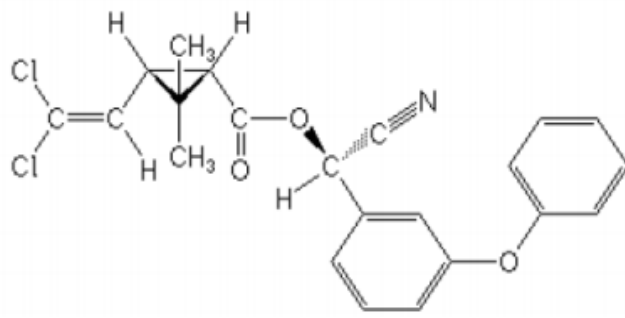
- alpha-sipermetrin - sipermetrin - deltamethrin - fenvalerate

#### 2. Alpha-cyano grubu taşımayanlar

- permethrin - allethrin - tetramethrin

#### 1.1.2.a. Sipermetrin

Siyanobenzil esteri olan sipermetrin, Tip-II piretroitler grubuna girmekte ve permetrinin  $\alpha$ -siyano analogudur. Moleküler formülü  $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$  olan sipermetrin; aseton, etilalkol, kloroform ve hekzanda belirli miktarlarda çözünen fakat suda kolay çözünmeyen dayanıklı bir maddedir (Yücel 2014). Başta insektler olmak üzere diğer haşerelerin kontrolündede kullanılan sipermetrin hayvan sağlığında ektoparaziter olarak kullanılır. Ülkemizde yaygın olarak elma, zeytin, tahıl, pamuk, mısır, domates ve fındık gibi ürünlerdeki zararlı böcekleri yok etmek amacıyla kullanılmaktadır (Kocaman 2007).



**Şekil 1.3.** Sipermetrin moleküler yapısı (Arslan vd 2017)

### 1.2. Su Piresi (*Daphnia magna*)'nin Morfolojik ve Fizyolojik Özellikleri

*Daphnia magna* (Water Flea) tatlısu zooplanktonik kabukluları olup, halk arasında su piresi olarak bilinirler. Protein ve esansiyel yağ asitleri bakımından zengin olan Su pireleri balıkların en önemli besin kaynağını oluşturmakta ve balık yetiştiricileri tarafından canlı besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Özellikle *Cyprinidae*, *Esoxidae*, *Percidae* familyaları aktif yavru dönemlerinde canlı yeme gereksinim duymaktadırlar (Demirel 2011).

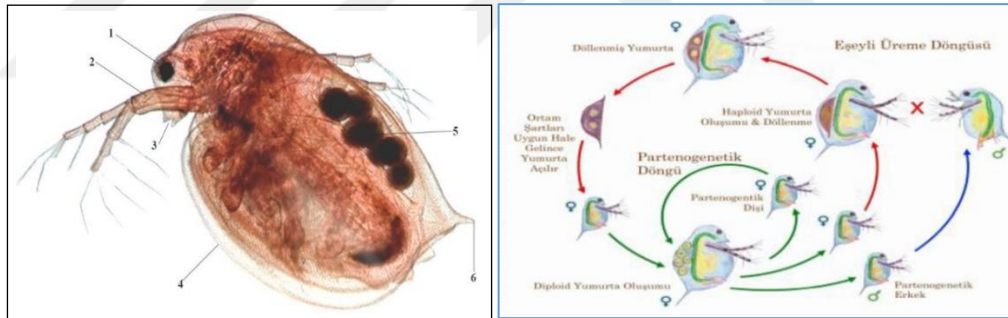
Protein ve temel yağ asitlerini yüksek oranda içeren, vitamin A ve B bakımından da seçkin bir yoğunluğa sahip tatlısu kabuklusu olan su pirelerinde besin değeri yaşa ve türe göre değişmekte olup ergin bireylerin içerdiği yağ asidi miktarı daha yüksektir. Su pirelerinin kuru ağırlığının hemen hemen yarısını protein oluşturur. Bu değerlerinden dolayı özellikle balıklar için kaliteli ve besleyici bir yem oluşturmaktadırlar (Demirel 2011).

Kaplıcalar gibi aşırı habitatlar dışında, çoğu duran tatlı suda yaşarlar. Tüm yaş sınıfları iyi yüzücülerdir ve çoğunlukla pelajiktir, yani açık suda bulunur. Filtre besleyicileri olarak yaşarlar, ancak bazı türler su bitkileri gibi alt tabakalara yapışarak veya sığ havuzların alttaki tortuları üzerinde görülebilir (Ebert 2005).

Küçük yapısı, kısa ömrü ve yüksek yumurtlama kapasitesi, kirliliğe karşı duyarlı yapısı ile kolayca ve ekonomik şekilde kültürünün yapılması, su pirelerinin akuatik toksisite

testlerinde sıkça kullanılmasına olanak sağlamıştır. Su piresi kültürünün yapıldığı havuzların derinliğinin 40-50 cm, pH'nın 7,1-8,0, %0,005'lik tuzlulukta da yaşadıkları ve üredikleri çalışmalarda ortaya konulmuştur. Ortamın çok iyi havalandırmasıyla su piresi kültüründe dişiler üzerindeki yumurta sayısı, alg üretimi ve dişi sayısının artması sağlanmıştır (Demirel 2011).

Su pireleri; mikroalg, bakteri ve maya hücrelerinin yeterli olduğu ortamlarda büyük bir hızla büyümekte ve besin olarak bunları kullanmaktadır (Demirel 2011). Su pireleri suda küçük asılı parçacıklarla beslenir. Bunlar süspansiyon besleyicileridir (filtre besleyicileri). Yiyecekler, su akımı üreten yassı yaprak benzeri bacaklar olan phylopodlardan oluşan bir filtreleme aleti yardımıyla toplanır. Yemek genellikle planktonik alglerden oluşur. Yeşil algler en iyi besin unsurları arasındadır. Su pireleri genellikle 1 µm'den 50 µm'ye kadar partikülleri tüketirler (Ebert 2005).



**Şekil 1.4.** Su piresinin morfolojisi ve Yaşam Döngüsü

(1.Bileşik göz, 2. ve 3. Antenler, 4. Karapaks, 5. Ovaryum, 6. Kaudal çıkıntı) (Baykan 2007, Bat 2011)

Su pireleri'nin büyüme mevsimi boyunca yaşam döngüsü aseksüel üreme modu ile karakterize edilir. Genellikle partenogenetik yolla üreyen su pirelerinde ovaryum orta bağırsağın iki yanında bulunur. Yumurtalar ovaryum içerisinde dörtlü gruplar oluşturarak dorsal ile karapaks arasındaki boşlukta gelişirler. Sadece bir tanesi verimli olan bu dört gruptan geriye kalanlar besin ortamı oluştururlar. Döllenenmeden gelişen, küçük ve ince kabuklu olan bu yumurtalara yaz yumurtası denir (Alpbaz vd 1992). Her 2,5 - 3 günde bir yeni yumurtlama dönemine giren su pireleri yaşamları boyunca 25 yeni yumurtlama dönemine girebilmektedir (Ivleva 1969). Yumurtalarının gelişme

sıcaklıkları 18-24°C olan su pireleri sıcaklık değişimlerine karşı oldukça toleranslıdırlar (Bircan 1992). Yetişkin bir dişi ölümüne kadar 3-4 günde bir yumurta çıkarabilir. Laboratuvarıda dişiler 2 aydan daha uzun süre yaşayabilir (Ebert 2005).

Araştırma; sipmetrinin, su pirelerinde detoksifikasyon (*CYP314*, *CYP360A8*, *GST*, *P-gp* ve *HR 96*) ve reproduktif (*DMRT*, *VTG* ve *CUT*) sistemle ilişkili genlere olumsuz etkilerini belirlemek için yapılmıştır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Sikloxaprid (CYC) ve guadipir (GUA), *Daphnia magna* üzerindeki etkileri henüz bilinmeyen iki yeni ve umut vadeden neonicotinoid böcek öldürücülerdir. Bu çalışmada, hareketsizleştirme ve embriyo-kuluçka engelleme de dahil olmak üzere CYC ve GUA'nın *Daphnia magna*'ya akut toksisiteleri ve antioksidan enzimler üzerindeki etkileri ve ilgili gen ekspresyonu, 48 saatlik bir maruziyet sonrasında belirlenmiştir. Imidacloprid (IMI), ise farklı bir referans maddesi olarak aynı zamanda değerlendirilmeye alınmıştır. Çalışma sonunda Asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi, IMI tarafından önemli ölçüde artırılmışken, GUA ve CYC tarafından inhibe edilen enzim süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazın (CAT) IMI tarafından engellendiği IMI'nin *Daphnia magna*'ya benzer toksikliği göz önüne alındığında, CYC ve GUA gelecekteki bütünleşmiş zararlı yönetim sistemlerinde kullanım için uygun olabileceği rapor edilmiştir (Qi *et al.* 2018).

Ultraviyole (UV) emici kimyasallar (UV filtreleri), insan cildi ve saçlarının UV ışınlarıyla hasar görmesini önlemek için kişisel bakım ürünlerinde kullanılır. Bu maddeler üretim ve tüketim süreçlerinde çevreye salınmasına rağmen, bunların ekotoksikoloji etkileri hakkında çok az şey bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada *Daphnia magna* üzerinde UV filtreleri benzofenon-3 (BP-3) ve benzofenon-4 (BP-4)'ün akut toksisitesi ve potansiyel ekolojik riski analiz edilmiştir. *Daphnia magna* üzerindeki BP-3 ve BP-4'ün 48 saatlik LC50'si sırasıyla 1.09 ve 47.47 mg /L idi. Su pirelerine ait BP-3 ve BP-4'ün bir toksisitesi antagonistik etkiler göstermiştir. Değerlendirme faktörü yöntemiyle BP-3 ve BP-4'ün indüklediği tahmin edilen etki öncesi konsantrasyonları, değerlendirme faktörü (AF) yöntemiyle, sırasıyla,  $1.80 \times 10^{-3}$  ve 0.47 mg/L olarak belirlemişlerdir; bunlar, hem tespit edilen konsantrasyonlardan daha düşük BP-3 ve BP-4'ün sudaki ekosisteme düşük riskli kimyasallar kaldıklarını bildirmişlerdir (Du *et al.* 2017).

Mikro plastik parçacıklar yalnızca denizde değil, aynı zamanda tatlı su ekosistemlerinde de bulunur. Bununla birlikte, çok çeşitli sentetik polimerlerden oluşan mikro plastiklerin

tatlı su organizmaları üzerindeki etkileri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. İki polimer karışımının, su yolu ile *Daphnia magna*'nın morfolojisi, yaşam hikayesi ve moleküler seviyesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. ~ 40 µm olan mikroplastik parçacıklar düşük bir konsantrasyonda (gıda parçacıklarının %1'inde) sağlanmış, sindirim sisteminde ortalama 30 mikron parçacık oluşturulmuştur. Yetişkin su pirelerinde artan ölüm oranı veya morfolojik değişiklikler (vücut uzunluğu, genişlik ve kuyruk omurga uzunluğu) üzerindeki veya üreme parametreleri gözlenmemiştir. Juvenil su pirelerinin analizlerinde ise oldukça ince tepkiler verdiğini ortaya koymuştur. Yetişkin *Daphnia* için, stres tepkileri ile ilgili genlerin (HSP60, HSP70 ve GST) yanı sıra vücut fonksiyonu ve vücut kompozisyonu ile ilgili diğer genlerin ekspresyonundaki değişiklikler, maruz kaldıktan 48 saat sonra gözlenmiştir. Mikro plastiğin yan etkilerinin büyüklük, şekil, tür ve hatta yaşlanma gibi birçok ek faktörden etkilenebileceğini ve bir laboratuvarında tespit edilen zayıf etkilerin doğal çoklu ortamda zayıflamaya neden olabileceğini rapor etmişlerdir (Imhof *et al.* 2017).

Grafen materyalinin sudaki organizmalara olası riskine dikkat çekilmesine rağmen; bu materyaller, toksik metaller gibi diğer kontaminantlarla birlikte, daha ciddi etkilere neden olabilecek kombine etkileri yeterince araştırılmamıştır. Bu çalışmada, *Daphnia magna*'ya bakır (Cu) toksisitesi üzerine grafen (GN) ve grafen oksit (GO'nun önemli bir oksitlenmiş türevi olan GO) etkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak, GN'nin, *Daphnia magna*'daki Cu birikimini belirgin bir şekilde arttırdığını ve Cu tarafından oluşturulan oksidatif stres hasarını arttırdığını, buna karşılık *Daphnia magna* akut ölüm oranını, test edilen Cu konsantrasyonlarında (0-200 µg L<sup>-1</sup>) önemli ölçüde değiştirmedeğini göstermiştir. Tam tersine, GO, *Daphnia magna*'daki Cu birikimi önemli ölçüde düşürdüğü ve Cu'nun neden olduğu oksidatif stres zararı hafiflettiği rapor edilmiştir. Ayrıca bu çalışma, doğal metallerdeki grafen malzemelerinden etkilenen ağır metallerin biyo yararlanımı ve toksisitesi hakkında önemli bilgiler sağlamaktadır (Liu *et al.* 2017).

Manyetik parçacıklar (MP) son zamanlarda göl restorasyonu için umut verici fosfor (P) adsorbentleri olarak önerilmiştir. Yaptıkları çalışmada, *Daphnia magna* üzerine

manyetik parçacıkların etkisi araştırılmış ve büyüme ve üremeye olumlu etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Del Arco *et al.* 2018).

Gemfibrozil, arıtılmış atıksu yoluyla su ortamlarına girer ve bu atığın rezervlerden tamamen çıkarılması sağlanamaz. *Daphnia magna*, farklı konsantrasyonlarda gemfibrozile maruz bırakıldığında lipid rezervlerinde artış olduğu bu artışın türlere faydalı olma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Steinke *et al.* 2018).

Kladoseran'ın *Daphnia magna*'nın üç suşuyla deltametrin maruziyetinden sonra bir biyolojik belirteç olarak asetilkolinesterazı (AChE) kullanma olasılığı araştırılmıştır. Deltametrin konsantrasyonları (20.1, 40.3, 80.6 ve 161.3 ng/L<sup>-1</sup>), kontrol asetilkolinesteraz aktivitesi ile karşılaştırılmıştır. Bulgularda, 48 saatlik deltametrin maruziyetinden sonra, tüm muameleler, kabul edilen üç suş ne olursa olsun, AChE aktivitelerinde belirgin bir düşüşe neden olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, en düşük gözlemlenen etki konsantrasyonları açısından çeşitli tepkiler kaydedilmiştir. Sonuç olarak deltametrin maruziyetinden sonra AChE aktivite tepkilerinin, duyarlılığın bir biyolojik belirteç olarak kullanılabileceğini önermektedirler (Toumi *et al.* 2015).

*Daphnia magna* üzerine 0, 50 ve 200 mikrogram L<sup>-1</sup> deltametrin uygulanmış ve 24, 48 saat sonra hareketli, hareketsiz ve ölen hayvanlar sıralanmıştır. Deltamethrin konsantrasyonları ve zamanı, bireylerin immobilizasyon ve mortalitesi üzerinde belirgin bir etki gösterdiği bildirilmiş, maruz kalan organizmalar içindeki xenobiyotik bileşiklerin markır unsurlarını tespit etmek, nispi maruz kalma konsantrasyonlarını karşılaştırmak ve bu bileşiklerin orijinal dokudaki düzeylerinin belirlenmesi için NanoSIMS'in kullanılabileceği vurgulanmıştır (Eybe *et al.* 2009).

Azol fungusitlerin piretroidlerin etkisini sinerjikleştireceği gösterildiğinden, bunların karışımının etkisi endişe verici olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada *Daphnia magna*'da farklı konsantrasyonlarda epoksikonazol/ $\alpha$ -sipermetrin ve bunların karışımının büyüme, üreme ve in vivo sitokrom P450 aktivitesi üzerine etkisini araştırılmıştır. Araştırılan



değerlerdeki negatif etkinin doz ve süreye bağlı olarak arttığı bildirilmiştir (Gottardi *et al.* 2017).

*Daphnia magna*'larda beslenmenin büyüme ve üremeye etkilerinin araştırıldığı çalışmada; annelerin gıda varyasyonuna olumlu yanıt verdiği, adaptasyon kabiliyetinin ve yumurta veriminin arttığı rapor edilmiştir (Coakley *et al.* 2018).

Nanoplastik, su ortamlarında organizmaları etkilemekte ve giderek büyümekte olan bir çevre sorununa dönüşmektedir. Parçacıkların yutulması en çok zarara neden olurken, diğer alım yolları ve hücrel birikimi konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma, planktonik beslenen *Daphnia magna*'da polistiren nanopartiküllerin (PSNP'ler) alım yollarını ve hedef dokularını izlemek için yapılmıştır. Yetişkin hayvanlarda birikimin yanı sıra kuluçka kesesinde embriyoların izlenmesi için PSNP'lerin düşük dozlu konsantrasyonu kullanılmıştır. Embriyonik gelişimin erken evrelerinde lipofilik hücreler içinde veya üzerinde PSNP birikimi olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık, PSNP parçacıkları ne bağırsak epitelinde ne de yetişkinlerdeki lipid damlacıklarında saptanmamıştır. Bu araştırma nano parçacıkların ve lipofilik kirleticilerin biyolojik olarak birikiminde yeni bilgiler ortaya koymaktadır. Bu alım yolu, çeşitli su organizmalarında oluşabileceğinden, bu çalışma, nano partikül kirliliğinin tehlikelerini ve risklerini bildirmiştir (Brun *et al.* 2017).

Kadmiyum (Cd) ile kontamine su ve toprağın iyileştirilmesi için nano malzemeler gibi kimyasal emici maddelerin kullanımını içeren kimyasal giderim teknolojileri önerilmiştir. Diğer kirletici maddelerle birlikte bulunan nano malzemelerin suda yaşayan organizmalar üzerine etkisi rapor edilmiştir, ancak nano malzeme adsorbe edilen kadmiyumun (Nano-Cd) suda yaşayan organizmalar üzerindeki toksik etkileri hakkında çalışmalar sınırlıdır. Yaptıkları çalışmada, *Daphnia magna* üzerine kadmiyum klorid, nano-manganez dioksit-kadmiyum, nano-hidroksiapatit-kadmiyum ve nano-hidroksiapatit-kadmiyum uygulanmış, Nano-Cd konsantrasyonlarında; süperoksit dismutaz, katalaz ve anti-süperoksit anyon aktivitelerini arttırdığı bildirilmiştir. Ayrıca Nano-Cd, özellikle yüksek konsantrasyonlarda, *Daphnia magna*'da oksidatif hasara

neden olabileceği rapor edilmiştir.  $Cd^{+2}$  ve Nano-Cd konsantrasyonlarındaki artış malondialdehit içeriğini kademeli olarak arttırmış ve aşırı oksijen üretilmesinden kaynaklanan hücre zarı hasarını tetiklediği bildirilmiştir. Bu nedenle, kadmiyumun adsorbe edilmesinden sonra nanomalzemelerin kullanımı, suda yaşayan organizmalar için potansiyel bir risk olduğu belirtilmiştir (Gao *et al.* 2017).

Yapılan bir çalışmada, kimyasal atık taşıyan suların mevsimsel değişimlerinin *Daphnia magna* üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışma sonunda çok soğuk ve çok sıcak dönemlerde büyüme ve yumurta veriminde olumsuzluklar olduğu rapor edilmiştir (Lari *et al.* 2017).

Farmasötik bileşikler tarafından çevre kirliliği riski ve bu bileşiklere maruz kalmış ekosistemler üzerindeki etkileri göz önünde bulundurulduğunda, ekolojik olarak ilgili ve gerçekçi değerlendirmeler gereklidir. Bununla birlikte, çoğu çalışma, tek doz konsantrasyonlara maruz bırakılmış tek bir nesilde bireysel tepkiler üzerinde yoğunlaşmıştır. Yapılan bir çalışmada, *Daphnia magna*'nın antibiyotikli tetrasikline, nesiller boyunca ve etki konsantrasyonları boyunca transkripsiyonel tepkileri araştırılmıştır. Sonuç olarak; tetrasiklinin, doz ve jenerasyona bağımlı olan su pirelerinin farklı transkripsiyonel yanıtlarını başlattığını göstermiştir. Vitellogenin gibi çoğalma ile ilişkili ifade edilen sekans etiketleri (EST), doza bağımlı tetrasikline maruz kalma ile belirgin bir şekilde ilişkilirken, nesiller boyu maruziyet, kütikül proteini gibi molting ile ilişkili EST'lerin önemli değişikliğini tetiklediği, maruziyet konsantrasyonunun ve zamanının, çevresel risk değerlendirmesinde ihmal edilemeyeceği vurgulanmıştır (Kim *et al.* 2017).

Çeşitli gözlem çalışmaları, benzoyleggonin'in (BE) genel olarak dünya çapında suda ölçülen temel yasadışı ilaç kalıntısı olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bu çalışma, farklı seviyelerde BE'nin *Daphnia magna* üzerine, (0.5  $\mu\text{g/L}$  ve 1.0  $\mu\text{g/L}$ ) iki BE konsantrasyonuna 48 saat maruziyetin sonuçlarını araştırmayı amaçlamışlardır. BE maruziyetinin su piresi örneklerinin oksidatif durumunu değiştirebildiğini değerlendirmek için antioksidan enzimler (SOD, CAT, GPx ve GST), lipid

peroksidasyonu (TBARS) ayrıca, asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi araştırılmış, BE konsantrasyonlarının, oksidatif stres yarattığını ve *Daphnia magna* bireylerinin çoğalmasını etkileyen AChE aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Parolini *et al.* 2018).

Yapılan çalışmada ağır metal nikeli (Ni) bulunan iki tip mikroplastığın değişken ve sabit kombinasyonlarının toksisiteleri araştırılmış, *Daphnia magna* ve toksik birim modeli kullanılarak karışık toksisite hesaplanmıştır. İki mikroplastın herhangi biriyle birlikte Ni'nin toksisitesinin Ni'ninkinden farklı olduğunu tespit edilmiştir. Ayrıca, genel olarak, mikro plastik ile kombine edilen Ni'ye maruz bırakılan *Daphnia magna*'nın immobilizasyonunun yüksek olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte mikro plastiklerin ve kirleticiler kombinasyonlarının toksisitesi üzerine daha ileri araştırmalarla anlaşılabilceği bildirilmiştir (Kim *et al.* 2017).

Gümüş nano partiküller (AgNP'ler) insanlarda ve suda yaşayan organizmalar için yüksek bir maruz kalma riski taşıdığı değerlendirilmiştir. Yapılan çalışma, *Daphnia magna* üzerinde farklı partikül boyutlarında (40 ve 110 nm) ve farklı yüzey kaplamaları (sodyum sitrat ve polivinilpirolidon, PVP) olan AgNP'lerin toksik etkilerini ve bunların etki mekanizmalarını araştırmayı amaçlamıştır. Sonuç olarak, sitrat kaplı AgNP'lerin PVP kaplı AgNP'lere göre daha toksik olduğunu ve 40 nm AgNP'lerin 110 nm AgNP'lerden daha toksik olduğunu ortaya konulmuştur. Transkriptom analizi ayrıca, AgNP'lerin *Daphnia magna* üzerindeki toksik etkilerinin "RNA polimeraz" yolağı ve "protein sindirim ve absorpsiyon" yolu gibi iyon bağlama mekanizmaları ve çeşitli metabolik yollarla ilişkili olduğunu belirtilmiş, ana bileşen analizi (PAC), yüzey kaplamanın parçacık boyutuna kıyasla toksisiteleri belirleyen en önemli faktör olduğunu rapor etmişlerdir (Hou *et al.* 2017).

Su pirelerinde ısı şoku uygulanarak kabuk değişim ve yaşam döngüsü arasındaki genlerin ilişkisinin araştırıldığı çalışmada *Daphnia magna*'larda çevresel tepkilerin moleküler mekanizmalarını etkiledikleri bildirilmiştir (Spanier *et al.* 2017).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Araştırma yeri

Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akvaryum Balıkları Uygulama ve Araştırma Merkezi ve Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezinde (DAYTAM) yapılmıştır.

##### 3.1.2. Canlı Materyali

Bu çalışmada su piresi (*Daphnia magna*) kullanılmıştır.

**Çizelge 3.1.** *Daphnia magna* sistematik



|                 |                                    |
|-----------------|------------------------------------|
| <b>Şube</b>     | Arthropoda                         |
| <b>Alt şube</b> | Crustacea                          |
| <b>Sınıf</b>    | Branchiopoda                       |
| <b>Takım</b>    | Cladocera                          |
| <b>Aile</b>     | Daphniidae                         |
| <b>Cins</b>     | Daphnia                            |
| <b>Tür</b>      | <i>Daphnia magna</i> (Straus 1820) |

**Şekil 3.1.** *Daphnia magna* (Orijinal Foto)

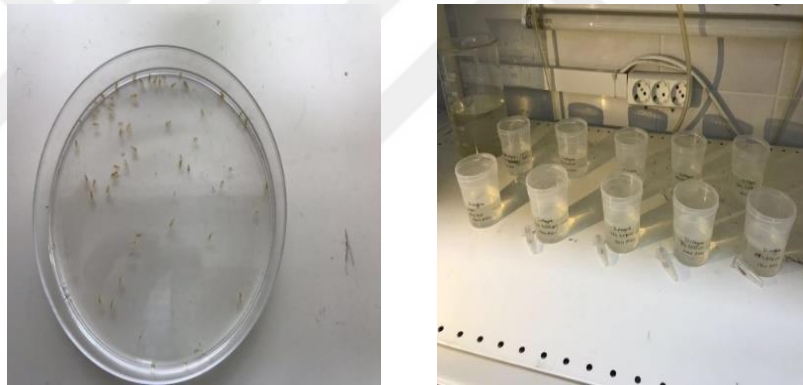
##### 3.1.3. Kullanılan Kimyasal ve Dozu

Sipermetrin (Sigma CAS: 52315-07-8) ticari olarak satın alınmıştır. Sub-lethal doz 0,06  $\mu\text{M/L}$ 'dir (Çelikel 2011).

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Deney Dizaynı

Çalışmada 50 mL'lik 10 beherin her birine 20 adet su piresi konulmuş, kimyasal ve su ortamları 24 saatte bir değiştirilmiştir. Sipermetrin pestisitinin 0.06  $\mu\text{M/L}$ 'lik sub-letal dozuna (Çelikel 2011) maruz kalan su pireleri 0, 24, 48, 72 ve 96. saatlerin sonunda süzülerek tüplere konulmuş ve doğrudan  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de muhafazaya alınmıştır. Çalışma sırasında su pirelerinde ölüm gerçekleşmemiştir. Kaplardaki su sıcaklıkları  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de sabit tutulmuştur. Deneme sonrası örnekler homojenize edilmiş ve Real Time PCR işlemine tabi tutulmuştur (Özdemir vd 2018).



**Şekil 3.2.** *Daphnia magna* örnekleri

#### 3.2.2. Transkripsiyonel Analiz

##### 3.2.2.a. Total RNA İzolasyonu

$-80^{\circ}\text{C}$ 'den çıkartılan örnekler total RNA izolasyonuna hazırlamak için bağ doku, epitel doku, lipit doku gibi dokuların tamamen parçalanmasını sağlayan trizol kimyasalına maruz bırakılmıştır (Şekil 3.3). Her bir tüpe 1ml olacak şekilde trizol eklenmiştir. Yine tüpler içerisine homojenizasyon işleminin daha iyi olmasını sağlamak amacıyla 2 şer

metal bilye eklenmiş ve öğütme cihazında 3 er kez 30 sn süreyle 25 rpm hızında öğütme işlemi yapılmıştır (Özdemir vd. 2018) (Şekil 3.4).



**Şekil 3.3.** Trizol kimyasalına maruziyet



**Şekil 3.4.** Doku parçalama cihazı

Homojenizasyon işleminin ardından örneklerimiz ayrı tüplere konularak her bir tüp içerisine proteinlerin tamamen ayrılması için 200µl kloroform eklenip fazlara ayrılmak üzere santrifüj cihazına yerleştirilmiştir (Şekil 3.5). Santrifüj cihazı +4°C'de 15000G 15dk'ya ayarlanarak fazlara ayırma işlemi yapılmıştır (Özdemir vd. 2018) (Şekil 3.6).



**Şekil 3.5.** Santrifüj cihazı



**Şekil 3.6.** Fazlara ayrılmış hali

Santrifüj yardımıyla en altta dokular, ortada protein, en üstte nükleik asitler olarak 3 faza ayrılan örneklerimizin nükleik asit fazlarını ayrı tüplere naklederek yine her bir tüpe 500µL isominalkol eklenerek bu kez DNA ve RNA ayrımı yapılmak üzere tekrar santrifüj cihazına yerleştirilmiştir. +4°C'de 15000G ve 10dk süreyle çalıştırdığımız

santrifüj cihazından çıkarılan tüplerden RNA'lar elde kalacak şekilde tüm sıvıları boşaltılmıştır. Sıvıları boşaltılan tüpler %70 ethanol ile her bir tüpe 500µL olacak şekilde yıkama işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra tekrar santrifüje yerleştirilen örnekler +4°C'de 12000G ve 10dk süreyle santrifüjde tutulmuştur. Santrifüjden çıkarılan örnek tüplerinin sıvıları tekrar boşaltılarak kurumaya bırakılmıştır. Tüpler içerisinde kuruyan RNA pelletlerimizi 50µL DEPC su ile çözülmüştür. Çözülen RNA'lar son olarak miktar ölçümü için mikropate spektrofotometre cihazına yerleştirilmiş ve ölçümler gerçekleştirilmiştir (Özdemir vd 2018) (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7.** Nanodrop (Mikropate Spektrofotometre) cihazı

### 3.2.2.b. cDNA Sentezi

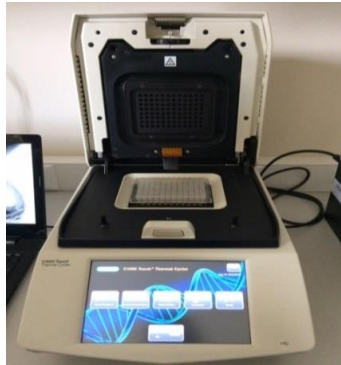
Bu aşamada 10 tüp halinde bulunan örnek RNA'lar farklı 10 tüpe 4µL olacak şekilde aktarılmıştır. Ardından sırasıyla tüplere 4µL su, 6µL G2 solüsyonu (mevcut olabilecek DNA kontaminasyonunu engellemek amaçlı kullanılır) ekledikten sonra inkübasyon süreci için PCR cihazına yerleştirilmiştir (Şekil 3.8). PCR cihazı 37°C'de 5dk inkübasyon sürecinden sonra cihazdan çıkarılan örnekler 1dk buza maruz bırakılmıştır. Ardından örneklerin üzerine 6µL BC5 solüsyonu (RNA'yı DNA'ya çeviren enzim) eklenerek tüpler tekrar PCR cihazına yerleştirilmiştir. 42°C'de 15dk inkübasyona maruz kalan örnekler soğutma işlemi için bu kez 95°C'de 5dk inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra örnekler spektrofotometre cihazında cDNA miktar ölçümü yapılarak real time PCR deneyine kadar -20°C'de beklemeye alınmıştır. Bu iş paketi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezinde (DAYTAM) yapılmıştır.



**Şekil 3.8.** PCR cihazı

### 3.2.2.c. Real Time Reaksiyonu

Bu çalışmada seçilen genlerin ekspresyon seviyelerinin ölçümü amaçlandı. Real time PCR deneylerinde oluşturulan master mix içeriği şöyledir; Syber Green 2X Rox Dye Master mix (Qiagen), forward ve reverse primerler, template olarak cDNA'lar ve nükleaz free su. Master mixler hazırlandıktan sonra örnekler Real Time cihazına yerleştirilmiş (Şekil 3.9) ve sonuçlar  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  metoduna göre değerlendirilmiştir ve böylelikle genlerin ekspresyon değerleri hesaplanmıştır. İlgili genlere ait primer dizilimleri Çizelge 3.2'de verilmiştir (Livak ve Schmittgen 2011). Bu iş paketi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Araştırma Merkezinde (DAYTAM) yapılmıştır.



**Şekil 3.9.** Real Time PCR cihazı



Çizelge 3.2. Primer dizilimleri

| Primer name        | Forward primer (5'-3')  | Reverse primer (5'-3') | References               |
|--------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| DM-DMRT            | TAATCCCAATAACAGCAACGTG  | CTGCCGATGTTAGTCTTGAACA | Kim <i>et al.</i> 2011   |
| DM-VTG             | AGCGAATCCTACACCG        | CGACGAAGCTCAGCAA       | Kim <i>et al.</i> 2011   |
| DM-CUT             | AGCCAGTGGAACCTACG       | TCCAGCATCATCAGCG       | Kim <i>et al.</i> 2011   |
| DM-CYP314          | ACTATGTATGGACTTCCCTGGTG | TTATCGCGGGTGTC AACG    | Liu <i>et al.</i> 2017   |
| DM-CYP360A8        | TCGGCGAGATTTACAGT       | GCACATTGCGTTATCAAGAC   | Wang <i>et al.</i> 2016  |
| DM-GST             | GGGAGTCTTTTACCACCGTTTC  | TCGCCAGCAGCATACTTGTT   | Wang <i>et al.</i> 2016  |
| DM-P-gp            | CCACTTGCGTTCAACTTCTTC   | TTCGCCGATTGATGTTCC     | Liu <i>et al.</i> 2017   |
| DM-HR96            | GTCTGGGAAAGTTTGTGGAGTCT | GAACCTGCGTGAACAGCATCTA | Liu <i>et al.</i> 2017   |
| DM- $\beta$ -Actin | GCCCTCTCCAGCCCTCATTCT   | TGGGGCAAGGGCGGTGATTT   | Houde <i>et al.</i> 2013 |

### 1.Aşama : Primerlerin Hazırlanması

#### 1.Primer

DMRT-F : 715,2  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

DMRT-R : 815,5  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

5  $\mu$ L 100  $\mu$ Mlık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu$ L TE BUFFER eklenmiştir.

Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu$ M indirgenmiştir.

#### 2.Primer

VTG-F : 749  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

VTG-R : 816  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

5  $\mu$ L 100  $\mu$ Mlık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu$ L TE BUFFER eklenmiştir.

Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu$ M indirgenmiştir.

#### 3.Primer

CUT-F : 751  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

CUT-R : 750  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

5  $\mu$ L 100  $\mu$ Mlık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu$ L TE BUFFER eklenmiştir.

Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu$ M indirgenmiştir.

**4.Primer**

CYP-F 314 : 765  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

CYP-R 314 : 707  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

5  $\mu\text{L}$  100  $\mu\text{M}$ lık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu\text{L}$  TE BUFFER eklenmiştir.  
Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu\text{M}$  indirgenmiştir.

**5.Primer**

CYP 360 A8-F : 750  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

CYP 360 A8-R : 855  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

5  $\mu\text{L}$  100  $\mu\text{M}$ lık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu\text{L}$  TE BUFFER eklenmiştir.  
Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu\text{M}$  indirgenmiştir.

**6.Primer**

GST-F : 675  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

GST-R : 775  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

5  $\mu\text{L}$  100  $\mu\text{M}$ lık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu\text{L}$  TE BUFFER eklenmiştir.  
Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu\text{M}$  indirgenmiştir.

**7.Primer**

PGP-F : 839  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

PGP-R : 679  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

5  $\mu\text{L}$  100  $\mu\text{M}$ lık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu\text{L}$  TE BUFFER eklenmiştir.  
Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu\text{M}$  indirgenmiştir.

**8.Primer**

HR96-F : 774  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

HR96-R : 767  $\mu\text{L}$  TE BUFFER 100  $\mu\text{M}$  stok solüsyonu

5  $\mu\text{L}$  100  $\mu\text{M}$ lık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu\text{L}$  TE BUFFER eklenmiştir.  
Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu\text{M}$  indirgenmiştir.

### **9.Primer**

$\beta$  ACTİN-F : 786  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

$\beta$  ACTİN-R : 738  $\mu$ L TE BUFFER 100  $\mu$ M stok solüsyonu

5  $\mu$ L 100  $\mu$ Mlık stok solüsyondan alınmış ve üzerine 95  $\mu$ L TE BUFFER eklenmiştir.

Böylece kullanacağımız solüsyon 5  $\mu$ M indirgenmiştir.

### **2.Aşama : Reaksiyon İçin Solüsyon Hazırlama**

#### **Tüm genler için;**

12,5  $\mu$ L SYBER \* 21 =262,5  $\mu$ L

1,5  $\mu$ L F \* 21 = 31,5  $\mu$ L

1,5  $\mu$ L R \* 21 = 31,5  $\mu$ L

9,5  $\mu$ L SU \* 21 =199,5  $\mu$ L

Sonra hazırlanan tüplere 2  $\mu$ L cDNA ve üzerine 23  $\mu$ L hazırlanan karışımdan eklenerek reaksiyon hacmimiz 25  $\mu$ L olarak hazırlanmıştır.

#### **Tüm genler için reaksiyon koşulları (RT-PCR)**

50°C'de 2 dk - 1X

95°C'de 15 dk- 1X

94°C'de 15 sn  
55°C'de 30 sn  
72°C'de 30 sn

40 X

76,5°C'de 5 sn  
95°C'de 5 sn

Melting Curve

**İstatistiksel Analiz**

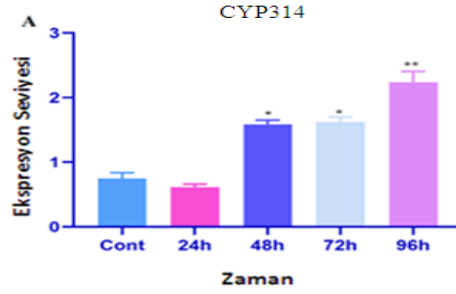
Real time PCR çalışmalarında en az üçer tekrar olacak şekilde örnekler analiz edilmiş ve yine buradan çıkan veriler için istatistik analiz yapılmıştır. Çalışmada IBM 20.0 SPSS paket programı kullanılmıştır. Spesifik metot olarak elde edilen değerler Tek Yönlü Varyans ile analiz edilmiştir.



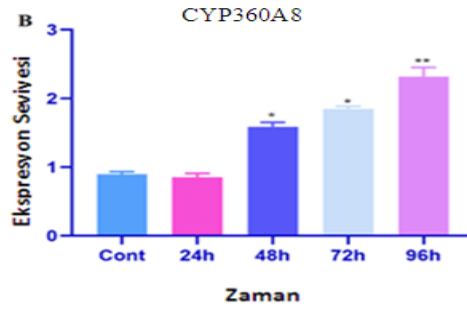
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalan su pirelerinde detoksifikasyon (*CYP314*, *CYP360A8*, *GST*, *P-gp*, *HR 96*) ve reproduktif sistem ile ilişkili genlerin (*DMRT*, *VTG* ve *CUT*) mRNA transkript seviyesi Real Time PCR ile belirlenmiştir. *CYP314* ve *CYP360A8* genlerine ait ekspresyon seviyeleri 24. saatte kontrol grubuna göre düşerken 48, 72 ve 96. saatlerde arttığı gözlemlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ )(Şekil 4.1 ve Şekil 4.2). Glutathione S-transferase (*GST*) genine ait ekspresyon seviyesi zamanla doğru orantılı olarak kontrol grubuna göre arttığı ancak 24 ve 48. saatlerde aynı ekspresyon seviyesinde kaldığı belirlenmiştir gözlemlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) (Şekil 4.3). P-glycoprotein (*P-gp*) genine ait ekspresyon seviyesi 24. saatte kontrol grubuna göre düştüğü, ancak 48, 72 ve 96. saatlerde arttığı gözlemlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ). Bunun 48 ve 72. saatlerde ekspresyon seviyesinin aynı düzeyde olduğu belirlenmiştir gözlemlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) (Şekil 4.4). Nüklear hormon reseptör 96 (*HR96*) genine ait ekspresyon seviyesinin 24. saatte kontrol grubuna göre düştüğü, ancak 48, 72 ve 96. saatlerde artış gösterdiği belirlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) (Şekil 4.5). Doublesex- And Mab-3-Related Transcription Factor (*DMRT*) genine ait ekspresyon seviyesinin zamanla doğru orantılı olarak kontrol grubuna göre arttığı belirlenmiştir gözlemlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) (Şekil 4.6). Vitellogenin (*VTG*) ve cuticle 12 (*CUT*) genlerine ait ekspresyon seviyelerinin zamanla doğru orantılı olarak kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği belirlenmiştir( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ). *VTG* geninin ekspresyon seviyesinin 24. saatte kontrol grubu ile hemen hemen aynı düzeyde olduğu gözlemlenmiştir ( $p<0,05$  ve  $p<0,01$ ) (Şekil 4.7 ve 4.8). Araştırmaya ait RT-PCR ham grafikleri şekillerden sonra verilmiştir.

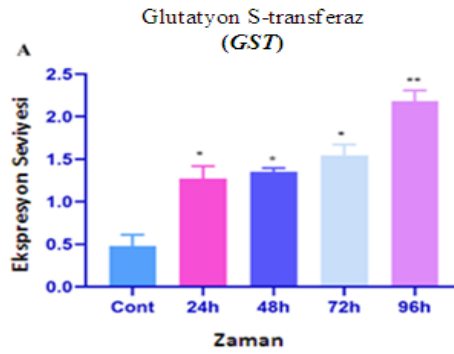
### Detoksifikasyon Sistemi İle İlişkili Genler;



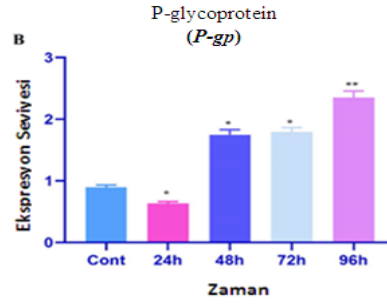
**Şekil 4.1.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde CYP314 (Sitokrom p450 gen ailesi) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\*  $p<0,01$ ).



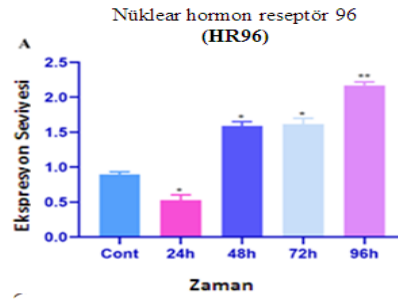
**Şekil 4.2.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde CYP360A (Sitokrom p450 gen ailesi) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\*  $p<0,01$ ).



**Şekil 4.3.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde GST (Glutathion S Transferaz) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\*  $p<0,01$ ).

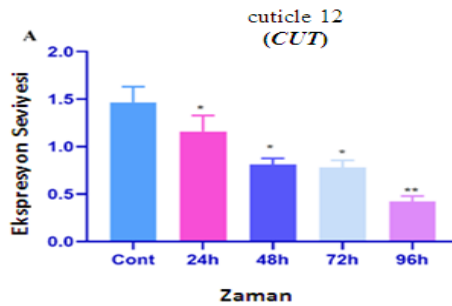


**Şekil 4.4.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde P-gp (P-glikoprotein) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\* $p<0,01$ ).

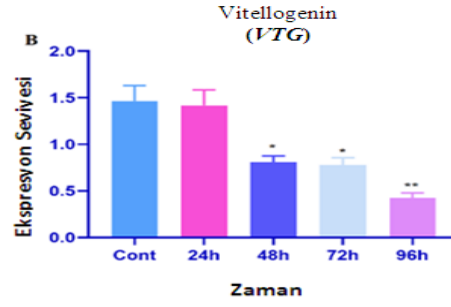


**Şekil 4.5.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde HR96 (Nükleer Hormon Reseptör 96) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\* $p<0,01$ ).

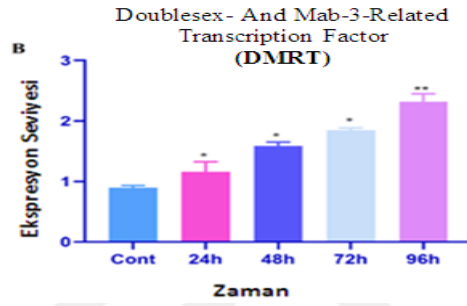
#### Reproduktif sistem ile ilişkili genler;



**Şekil 4.6.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde CUT (Cuticle 12) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\* $p<0,01$ ).



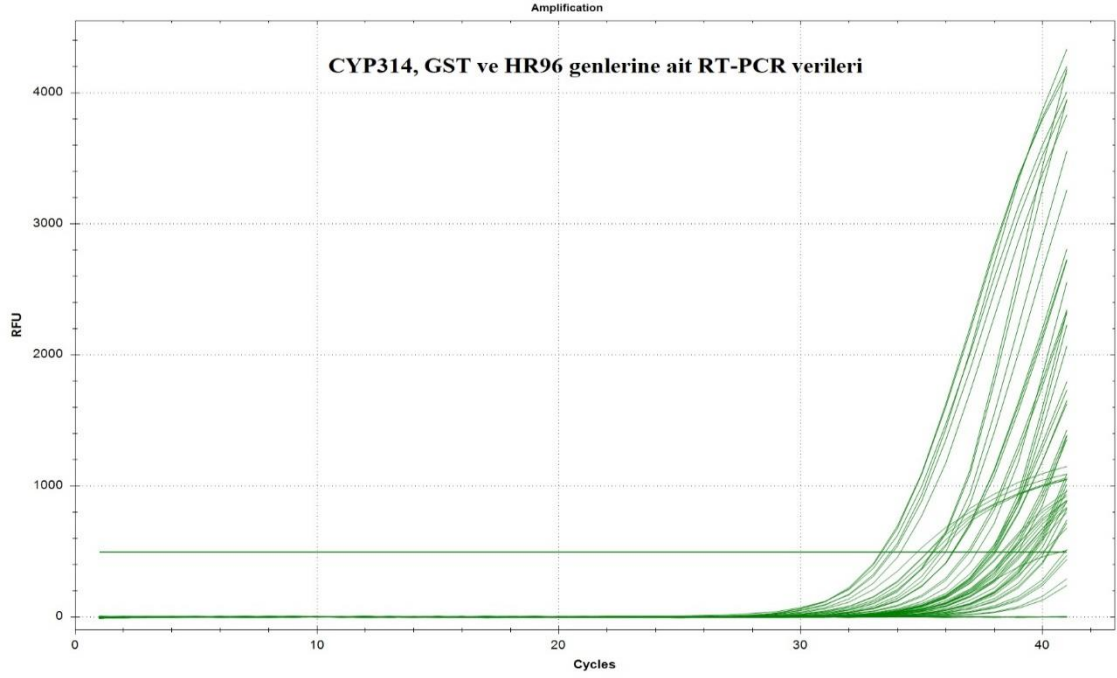
**Şekil 4.7.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde VTG (Vitellogenin) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\*  $p<0,01$ ).



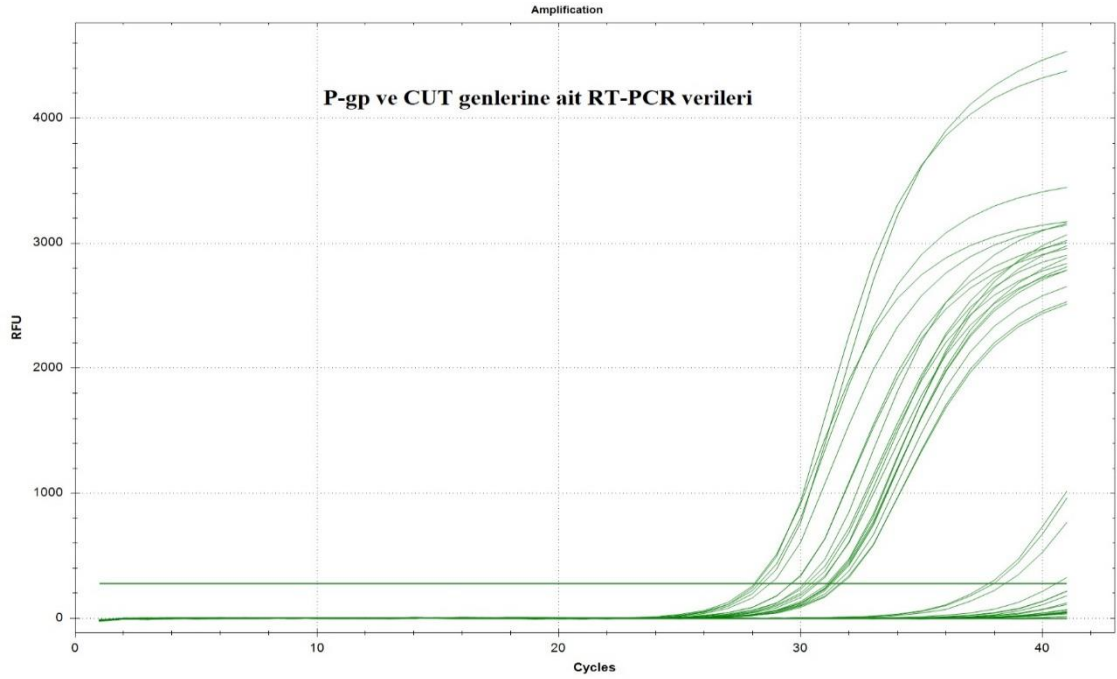
**Şekil 4.8.** Akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış su pirelerinde DMRT (Doublesex-and mab 3 related transcription faktor) genine ait ekspresyon seviyesi (\* $p<0,05$  \*\*  $p<0,01$ ).



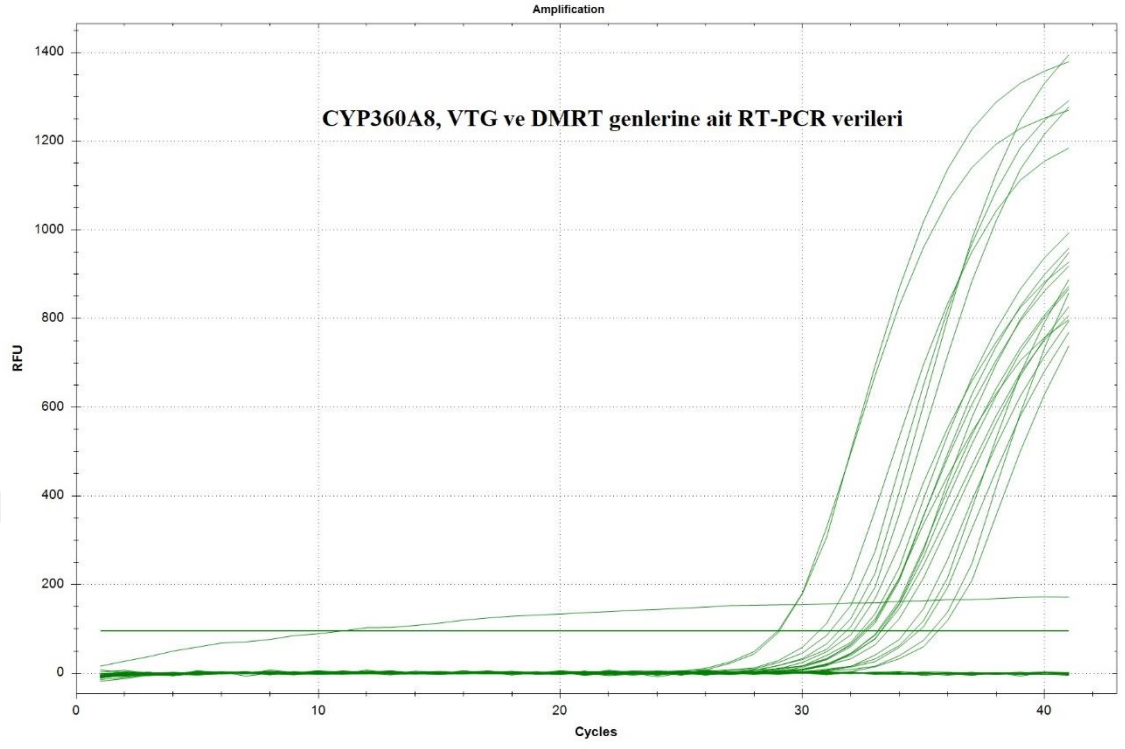
### Araştırmaya ait RT-PCR Ham Verileri;



Şekil 4.9. CYP314, GST ve HR96 genlerine ait RT-PCR verileri



Şekil 4.10. P-gp ve CUT genlerine ait RT-PCR verileri



**Şekil 4.11.** CYP360A8, VTG ve DMRT genlerine ait RT-PCR verileri

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Organizmalar toksik kimyasallara maruz kaldığında oluşan stresi aşmak için özellikle toksik kimyasallara yanıt vermesi beklenen detoksifikasyonla ilgili savunma sistemini kullanırlar (Ankley and Villeneuve 2006). Bu çalışmada, sipermetrinin toksik etkilerini araştırmak ve *Daphnia magna*'nın büyümesi ve çoğalması üzerine bu kimyasalın moleküler mekanizmaları üzerine yeni bakış açıları sağlamak için detoksifikasyon sistemi ve üreme ile ilgili seçilmiş sekiz gen (*HR96*, *P-gp*, *CYP360A8*, *CYP314*, *GST*, *CUT*, *DMRT* ve *Vtg*) çalışılmıştır.

*HR96*, omurgasızlardaki nükleer reseptörler grubundaki toksik reseptör olan *HR96* omurgalılarıdaki nükleer reseptör grubundaki (*PXR* / *CAR* / *VDR*) (NR'ler) NR1'in homolog genidir (Bertrand *et al.* 2004). *PXR* ve *CAR*, safra asitleri, steroidler ve birçok ksenobiyotik gibi endojen madde (Kretschmer and Baldwin 2005) dahil olmak üzere çeşitli ligandlar tarafından aktive edilen nükleer reseptörlerdir ve sırayla omurgalılarıda faz I, II ve III detoksifikasyon enzimlerinin ekspresyonunu düzenlerler (Swales and Negishi 2004; Qatanani and Moore 2005; Hernandez *et al.* 2009). Bu çalışmada, *HR96* ifadesi 24 saatlik maruz kalmadan sonra önemli ölçüde inhibe edildi ve ardından artan maruz kalma süresi ile yavaş yavaş arttı ve zaman-cevap ilişkisi ortaya çıktı. Benzer bir gözlem, triklosanın *HR96* aktivasyonunu baskılayabildiği önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Karimullina *et al.* 2012). Literatür araştırması yapıldığında, *HR96*'nin çok yönlü bir reseptör olduğu ve birçok yapısal ve işlevsel olarak çeşitli kimyasalların özellikle ksenobiyotik maruziyetine tepki verdiği bilinmektedir (Liu *et al.* 2017).

Memelilerde *PXR*, P450'lerin transkripsiyonunu düzenleyebilir ve P450 süper ailesinde önemli bir üye olarak *CYP3A*, in vivo olarak çeşitli ilaçların oksidatif metabolizmasında rol oynar (Yamano *et al.* 1990). Omurgalılarıda *CYP3A*'ya ait bir homolog gen olan *CYP 360A8*'in, *HR96* ekspresyonuna benzer şekilde 48 saatlik maruz kalmadan sonra önemli bir indüksiyona sahip olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde *CYP314* ekspresyonu 24 saat boyunca *HR96* ekspresyonuna benzer şekilde eğilim göstermiştir. Bu sonuçlar, *HR96*'nın *CYP314* ve *CYP360A8*'in transkripsiyon düzenlemesinde rol oynadığını ve

*CYP360A8* ve *HR96* geninin, sipermetrin detoksifikasyonunu katalize etmede önemli bir rol oynayabileceğini göstermiştir.

*P-gp*, plazma zarı boyunca ekstra substrat taşımak için ATP enerjisine bağlı olarak MXR / MDR ile ilgili ABC ailesinin önemli bir üyesidir. Suda yaşayan organizmalarda *P-gp* yumurtalarda, embriyolarda, larvalarda ve solungaçlarda lokalizedir ve bir çevre-doku bariyerini temsil eder (Smital *et al.* 2004; Faria *et al.* 2011; Shipp and Hamdoun 2012; Campos *et al.* 2014). Çalışmalar, sipermetrinin mitokondriyal zar hasarına ve oksidatif strese neden olduğunu ve omurgalı karaciğer hücrelerinde zar geçirgenliğini değiştirdiğini göstermiştir (Boelsterli 2003). Omurgalıya benzer şekilde, *P-gp* gen ifadesinin, *Daphnia magna*'da sipermetrine maruz kalmaya yanıt vermesi beklenebilir. Sonuçlar, *P-gp* gen ekspresyonunun inhibe edildiğini veya 24 saatlik maruz kalma sonrasında artış olduğunu gösterdi. Bununla birlikte, maruz kalma süresinin uzatılmasıyla, genellikle 48 saatten sonra önemli ölçüde bu genin ekspresyon düzeyinin arttığı belirlendi. Bu sonuç, *p-gp* gen ekspresyonunun artması akut sipermetrin maruziyene bir cevap niteliğinde olabileceğini göstermiştir.

Glutatyon S-transferaz (*GST*), (Serbest oksijen radikalleri) ROS'a karşı önemli koruyucu mekanizmalar sağlayan bir faz II enzimler sınıfıdır (Liu *et al.* 2017). Bu çalışmada, sipermetrine maruz kalan *GST* ifadesinin zamana bağlı ilişkisi gözlenmiştir. *GST* kısa süre (24 saat) sipermetrin maruziyetinde bile indüklendi, ancak 48 saat ve 96 saatte önemli ölçüde ekspresyon seviyesinin arttığı gözlemlendi. Bu durum kısa süreli sipermetrin maruziyetinin *Daphnia magna*'larda oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir. Daha önceki çalışmalarda *GST* ve *CYP* gen ifadeleri arasında bir ilişkinin olduğu ortaya konmuştur (Yu *et al.* 2015). Bu çalışmada da bu ilişkiyi görmek mümkündür. Daha önceki çalışmalarda *GST* dahil bazı genlerin ekspresyonunun transkripsiyon faktörleriyle transkripsiyonel veya post transkripsiyonel bir şekilde düzenlendiği bildirildi (Kim and Lee 2007). Bu sonuçlar *Daphnia magna*'larda akut sipermetrin maruziyeti oksidatif stres ve detoksifikasyon genlerini birlikte aktif ettiğini göstermektedir.

Moleküler genetik biyobelirteçlerin yüksek duyarlılığa ve toksisite mekanizmalarını anlama potansiyeline sahip değerler olduğu ileri sürülmüştür. Bu biyobelirteçlerin daha yüksek seviye etkiler için bazı tahmin değerleri sağlamaları beklenmektedir (Snape *et al.* 2004; Iguchi *et al.* 2006, 2007; Ha and Choi 2009). Toksik maddelere maruz kalma partenogenetik *Daphnia*'da erkek yavruların üretimi de dahil olmak üzere büyüme baskılamasına ve üreme azalmasına neden olabilir (Hosmer *et al.* 1998). Bu nedenle, kimyasal maddeler üreme sisteminde ciddi bir rahatsızlığa neden olabilir ve bu nedenle su ortamında *Daphnia* türlerinin popülasyon büyüklüğünde küçülmeye neden olabilir (Tatarazako *et al.* 2003).

*DMRT*, *CUT* ve *VTG*, sırasıyla böceklerde cinsiyet tayini, molting ve embriyo gelişimini düzenler. Bu genlere ait mRNA'ların hormonal bozulma ile üreme ve üreme başarısızlığı ile ilgili olduğu bildirilmektedir. Su pireleri çevresel koşullara bağlı olarak cinsel ve aseksüel üreme arasında geçiş yapar (Tatarazako *et al.* 2003). *DMRT* geni, üreme stratejisindeki değişim sürecine ve *Caenorhabditis elegans* da dahil olmak üzere birkaç türdeki erkeklerin üretimine katılır (Shen and Hodgkin 1988). Cinsiyet belirleme kademesinde etkili bir gen olan *DMRT*, cinsel dimorfik özellikleri kontrol eden bir gen ailesidir. *CUT*, *Daphnia magna*'daki molting işlemine dahil olduğu bilinmektedir (Soetaert *et al.* 2007). Kabuklular, eski dış iskeletin döküldüğü ve yerine yeni kütiküllerin döküldüğü küflenme yoluyla büyüdüğü için *CUT*, *Daphnia magna*'nın büyümesinde ve erken gelişiminde önemli rol oynar. *VTG* iyi bilinen üreme ile ilgili bir gendir ve endokrin bozulmasından etkilenir (Henry *et al.* 2009). Bu gen, balıklar, amfibiler, sürüngenler, kuşlar, omurgasızlar ve ornitorenk içeren çoğu yumurtalık türünün dişilerinde ifade edilir ve bu nedenle birçok organizmada eksojen östrojenler için faydalı bir biyobelirteç olarak kullanılmaktadır (Van Bohemen *et al.* 1982). Vitellogenin (*Vtg*), yumurtalık hayvanlarda embriyo gelişimi için bir enerji kaynağı sağlayan, ortak yumurta sarısı proteini olan vitellinin öncüsüdür. Vitellogenin üretimi östrojen hormonları tarafından kontrol edilir, bu yüzden östrojenik bileşiğe maruz kalmada bir biyobelirteç olarak kullanılır (Jones *et al.* 2000; Matozzo *et al.* 2008). Vitellogenin mRNA ekspresyonunun kullanımı, su piresi ile toksik değerlendirmelerde hızlı bir biyobelirteç belirteci olarak önerilmiştir (Soetaert *et al.* 2006).

Bu çalışmada, *DMRT*, *CUT* ve *VTG*'nin mRNA ekspresyon profilleri akut sipermetrin toksikasyonuna maruz kalmış *Daphnia magna*'da değerlendirilmiş ve üreme ile ilgili etkiler için moleküler biyobelirteçler olarak kullanımları belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında *DMRT* genine ait ekspresyon seviyesinin zamanla doğru orantılı olarak kontrol grubuna göre arttığı ancak *VTG* ve *CUT* genlerine ait ekspresyon seviyelerinin zamanla doğru orantılı olarak kontrol grubuna göre düşüş gösterdiği belirlenmiştir. Bu durum akut sipermetrin toksikasyonunun *Daphnia magna*'larda reproduktif sistemi olumsuz yönde etkileğini göstermektedir. Ayrıca bu sonuçlar bu genlerin ekspresyon profillerinin akut sipermetrin toksikasyonu için biyobelirteç olabileceğini de göstermiştir.

Su pireleri yüksek adaptasyon kabiliyetleri ve suyun hareketi ile de ortam değiştirdikleri için yaşam alanları oldukça geniştir. Dolayısı ile sucul ortama ulaşan pestisitlerle muhatap olma olasılığı oldukça yüksektir. Deneysel çalışmalar model oluştursa da benzer çalışmaların tabii ortamda yapılabilirliğinin araştırılması da düşünülmelidir. Aynı zamanda detoksifikasyonla ilişkili *CYP314*, *CYP360A8*, *HR 96* ve *P-gp* genlerinin su pirelerinin bulunduğu ortamlarda pestisit kirliliğini tespit etmeye yönelik biyobelirteç olma potansiyelinden bahsedilebilir.

Tarımla uğraşanların, pestisit kullanımı yerine kültürel ve biyolojik yöntemlerden de faydalanması sağlanmalıdır. Özellikle tarımda bu tür kimyasalları kullananlar bilinçlendirilmeli, su kaynakları yakınında yapılan ilaçlamalarda rüzgâr, taban/sulama suyu, yağmur vb. gibi etkenler dikkate alınarak ilaçlama yapılmalı, ilaçlama ekipmanları su kaynaklarında yıkanmamalı ve boş ilaç ambalajları su kaynaklarına atılmamalıdır. Bu bağlamda Tarım Bakanlığınca ve medya aracılığı ile kamu spotlarının oluşturulması da önem arz etmektedir. Ayrıca yapılan çalışmaların kullanılabilirliğinin ve değerinin artırılması için tarımla uğraşan kişilere ulaştırılması da önemlidir.

## KAYNAKLAR

- Alpbaz, A.G. 1992. Deniz balıkları Yetiştiriciliğinde Rotifera, Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Yüksek Okulu Yayınları, No: 30, İzmir, 22 s.
- Ankley, G.T., Villeneuve, D.L., 2006. The fathead minnow in aquatic toxicology: past, present and future. *Aquat. Toxicol.* 78, 91–102.
- Anonymous. 2005. World Health Organization (WHO). Safety of Pyrethroids for Public Health Use. World Health Organization (WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.10) (WHO/PCS/RA/2005.1).
- Arslan, H., Özdemir, S., Altun, S., 2017b. Cypermethrin toxication leads to histopathological lesions and induces inflammation and apoptosis in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Chemosphere* 180, 491e499.
- Bat, L., Satılmış, H.H., Şahin, F., Üstün F., Özdemir Z.B. ve Ersanlı, E. 2011. Plankton Bilgisi ve Kültürü, Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti Nobel Yayın Dağıtım.
- Baykan, Ö. 2007 Kurşun Nitrat (Pb (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) Metal Tuzunun *Daphnia magna* (Straus 1820) (Cladocera, crustacea) Üzerindeki Akut Toksik Etkisinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Bertrand, S., Brunet, F.G., Escriva, H., Parmentier, G., Laudet, V., Robinson-Rechavi, M., 2004. Evolutionary genomics of nuclear receptors: from twenty-five ancestral genes to derived endocrine systems. *Mol. Biol. Evol.* 21, 1923–1937.
- Bircan, R. ve Aras, M.S. 1992. Su Piresi (*Daphnia*) Yetiştiriciliği. A.Ü. Ziraat Fak. Yay. No: 140, Erzurum.
- Boelsterli, U.A., 2003. Diclofenac-induced liver injury: a paradigm of idiosyncratic drug toxicity. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 192, 307–322
- Borgeraas, J., Hessen, D.O., 2000. UV-B induced mortality and antioxidant enzyme activities in *Daphnia magna* at different oxygen concentrations and temperatures. *J. Plankton Res.* 22, 1167–1183.
- Borgeraas, J., Hessen, D.O., 2002a. Diurnal patterns of antioxidant activity in alpine and arctic *Daphnia* under in situ UV-radiation. *Arch. Hydrobiol.* 156, 83–95
- Brun, N.R., Beenakker, M.M.T., Hunting, E.R., Ebert, D., Vijver, M.G., 2017. Brood pouch-mediated polystyrene nanoparticle uptake during *Daphnia magna* embryogenesis. *Nanotoxicology*, 11(8):1059-1069.
- Campos, B., Altenburger, R., Gómez, C., Lacorte, S., Pina, ~ B., Barata, C., Luckenbach, T., 2014. First evidence for toxic defense based on the multixenobiotic resistance (MXR) mechanism in *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 148, 139–151
- Chau, A.S.Y., Afghan, B.K, 1982, Analysis of Pesticides in water, Vol I,II,III, CRC Pres Inc., Boca Raton, Florida.
- Coakley, C.M., Nestoros, E., Little, T.J., 2018. Testing hypotheses for maternal effects in *Daphnia magna*. *J Evol Biol*, 31(2):211-216
- Çelikel, Yeşim. 2011. Alpha-cypermethrin'in *Daphnia magna* (straus 1820) (cladocera, Crustacea) üzerine akut toksik etkisinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- Del Arco, A., Parra, G., de Vicente, I., 2018. Going deeper into phosphorus adsorbents for lake restoration: Combined effects of magnetic particles, intraspecific

- competition and habitat heterogeneity pressure on *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 148:513-519. *Derg.*, 6: 111-126.
- Demirel, T., 2011. Çinkonun *Daphnia magna* (straus, 1820) (crustacea: cladocera) üzerine akut toksik etkisinin araştırılması. Ankara üniversitesi fen bilimleri enstitüsü. Biyoloji anabilim dalı yüksek lisans tezi.
- Du, Y., Wang, W.Q., Pei, Z.T., Ahmad, F., Xu, R.R., Zhang, Y.M., Sun, L.W., 2017. Acute Toxicity and Ecological Risk Assessment of Benzophenone-3 (BP-3) and Benzophenone-4 (BP-4) in Ultraviolet (UV)-Filters. *Int J Environ Res Public Health*, 19;14(11)
- Ebert, D., 2005, Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia*, National Center for Biotechnology Information (US)
- Ebert, D., 2005, Epidemiology and Evolution of Parasitism in *Daphnia*, Universitat Basel, Zoologisches Institut, Evolutionsbiologie, Switzerland, 5-7 pp.
- Eybe, T., Bohn, T., Audinot, J.N., Udelhoven, T., Cauchie, H.M., Migeon, H.N., Hoffmann, L., 2009. Uptake visualization of deltamethrin by NanoSIMS and acute toxicity to the water flea *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 76:134-140.
- Faria, M., Navarro, A., Luckenbach, T., Pina, B., Barata, C., 2011. Characterization of the multixenobiotic resistance (MXR) mechanism in embryos and larvae of the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) and studies on its role in tolerance to single and mixture combinations of toxicants. *Aquat. Toxicol.* 101, 78–87
- Feiler, U., Krebs, F. and Heininger, P., 2006, Aquatic plant assay used in the assessment of water quality in German Rivers, *Hydrobiologia*, 570:67-71 pp.
- Gao, M., Zhang, Z., Lv, M., Song, W., Lv, Y., 2017. Toxic effects of nanomaterial-adsorbed cadmium on *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 148:261-268.
- Gottardi, M., Birch, MR., Dalhoff, K., Cedergreen, N., 2017. The effects of epoxiconazole and  $\alpha$ -sipermetrin on *Daphnia magna* growth, reproduction, and offspring size. *Environmental Toxicology*,
- Ha, M. H., Choi, J., 2009. Effects of environmental contaminants on hemoglobin gene expression in *Daphnia magna*: a potential biomarker for freshwater quality monitoring. *Arch Environ Contam Toxicol* 57:330–337
- Soetaert, TB, McPherson, JT, Rogers, ED, Heah, TP, Hawkins, SA, Layton, AC., Sayler, GS. 2009. Changes in the relative expression pattern of multiple vitellogenin genes in adult male and larval zebrafish exposed to exogenous estrogens. *Comp Biochem Physiol A* 154:119–126.
- Hernandez, J., Mota, L., Baldwin, W., 2009. Activation of CAR and PXR by dietary, environmental and occupational chemicals alters drug metabolism, intermediary metabolism, and cell proliferation. *Curr. Pharmacogenomics Person. Med.* 7, 81–105.
- Hosmer, AJ, Warren, LW, Ward, TJ., 1998. Chronic toxicity of pulsedosed fenoxycarb to *Daphnia magna* exposed to environmentally realistic concentrations. *Environ Toxicol Chem* 17:1860–1866.
- Hou, J., Zhou, Y., Wang, C., Li, S., Wang, X., 2017. Toxic Effects and Molecular Mechanism of Different Types of Silver Nanoparticles to the Aquatic Crustacean *Daphnia magna*. *Environ Sci Technol*, 51 (21), 12868–12878.
- Houde, M., Carter, B., Douville, M., 2013. Sublethal effects of the flame retardant intermediate hexachlorocyclopentadiene (HCCPD) on the gene transcription and protein activity of *Daphnia magna*. *Aquat. Toxicol.* 140–141, 213–219.



- Hu, Y., Liu, X., Bai, J., Shih, K., Zeng, E. Y., and Cheng, H. 2013. Assessing heavy metal pollution in the surface soils of a region that had undergone three decades of intense industrialization and urbanization. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(9), 6150-6159.
- Huggett, R.J., Kimerle, R.A., Mehrle, P.M., 1992. *Biomarkers: Biochemical, Physiological and Histological Makers of Anthropogenic Stress*. Lew, Chelsea.
- Iguchi, T., Watanabe, H., Katsu, Y., 2006. Application of ecotoxicogenomics for studying endocrine disruption in vertebrates and invertebrates. *Environ Health Perspect* 114:101–105
- Imhof, H.K., Rusek, J., Thiel, M., Wolinska, J., Laforsch, C., 2017. Do microplastic particles affect *Daphnia magna* at the morphological, life history and molecular level? *Plos One*, 16;12(11)
- Ivleva, I.V. 1969. Mass cultivation of invertebrates. E. Stansbury (Ed.), *White worm research*.
- Jones, P.D., De Coen, W.M., Tremblay, L., Giesy, J.P., 2000. Vitellogenin as a biomarker for environmental estrogens. *Water Sci. Technol.* 42, 1–14.
- Jungkun Kim • Younghee Kim • Sangwoo Lee • Kyunghee Kwak • Wook-Jin Chung • Kyungho Choi. Determination of mRNA expression of DMRT93B, vitellogenin, and cuticle 12 in *Daphnia magna* and their biomarker potential for endocrine disruption. *Ecotoxicology* (2011) 20:1741–1748.
- Kakko, I. 2004. Toxic mechanisms of pyrethroids studied in vitro. *Academic*
- Karimullina, E., Li, Y., Ginpall, G.K., Baldwin, W.S., 2012. *Daphnia* HR96 is a promiscuous xenobiotic and endobiotic nuclear receptor. *Aquat. Toxicol.* 116–117, 69–78
- Kılıç, E., 2018. [www.megep.meb.gov.tr. Pestisitler.pdf](http://www.megep.meb.gov.tr/Pestisitler.pdf)
- Kim, D., Chae, Y., An, Y.J., 2017. Mixture Toxicity of Nickel and Microplastics with Different Functional Groups on *Daphnia magna*. *Environ Sci Technol*, 51 (21), pp 12852–12858.
- Kim, H.Y., Asselman, J., Jeong, T.Y., Yu, S., De Schamphelaere, K.A.C., Kim, S.D., 2017. Multigenerational Effects of the Antibiotic Tetracycline on Transcriptional Responses of *Daphnia magna* and Its Relationship to Higher Levels of Biological Organizations. *Environ Sci Technol*, 51(21):12898-12907.
- Kim, S.G., Lee, S.J., 2007. PI3K RSK, and mTOR signal networks for the GST gene regulation. *Toxicol. Sci.* 96, 206–213
- Kocaman, A., 2007. Acetamiprid ve Alpha-Sipermetrin Pestisidlerinin Tek Bağına Ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman İnsan Periferik Lenfositlerindeki İn Vitro Genotoksik Etkileri. Çukurova Üniversitesi. Biyoloji Anabilim Dalı. Fen Bilimleri Enstitüsü. Doktora Tezi.
- Kretschmer, X.C., Baldwin, W.S., 2005. CAR and PXR: Xenosensors of endocrine disrupters? *Chem. Biol. Interact.* 155, 111–128.
- Küçükylmaz, M., Karakaya, G., Alpaslan, K., Özbey N. ve Akgün, H. 2016, Balıklıgöl'ün bazı fiziko- kimyasal Su Kalite Parametrelerinin Mevsimsel olarak incelenmesi, Yunus Araştırma Bülteni, 2016 (2): s.91-99. Trabzon. Laboratories, The Dow Chemical, Study Number K-002372-0063MF REV.
- Lari, E., Steinkey, D., Pyle, G.G., 2017. Effects of Seasonal Changes on the Toxic Impacts of Oil Sands Process-Affected Water on *Daphnia magna*. *Arch Environ Contam Toxicol*, 74(3):408-413.

- Liu, Y., Fan, W., Xu, Z., Peng, W., Luo, S., 2017. Comparative effects of graphene and graphene oxide on copper toxicity to *Daphnia magna*: Role of surface oxygenic functional groups. *Environ Pollut*, 236;962-970.
- Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2<sup>-</sup>(Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 25, 402–408.
- Matozzo, V., Gagné, F., Marin, M.G., Ricciardi, F., Blaise, C., 2008. Vitellogenin as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic invertebrates: a review. *Environ. Int.* 34, 531–545.
- Megep. [http://megep.meb.gov.tr/mte\\_program\\_modul/moduller\\_pdf/Pestisitler.pdf](http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Pestisitler.pdf) (28.02.2019)
- Özdemir, S., Altun, S., Özkaraca, M., Ghosi, A., Toraman, E., Arslan, H. 2018. Cypermethrin, chlorpyrifos, deltamethrin, and imidacloprid exposure up-regulates the mRNA and protein levels of bdnf and c-fos in the brain of adult zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*. Jul;203:318-326.
- Pala, A., 2013. Trichlorfon uygulanan pullu sazan (*Cyprinus carpio*)’da asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi ve bazı kan parametrelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Parolini, M., De Felice, B., Ferrario, C., Salgueiro-González, N., Castiglioni, S., Finizio, A., Tremolada, P., 2018. Benzoylcegonine exposure induced oxidative stress and altered swimming behavior and reproduction in *Daphnia magna*. *Environ Pollut*, 232:236-244.
- Qatanani, M., Moore, D.D., 2005. CAR, the continuously advancing receptor, in drug metabolism and disease. *Curr. Drug Metab.* 6, 329–339.
- Qi, S., Wang, D., Zhu, L., Teng, M., Wang, C., Xue, X., Wu, L., 2018. Neonicotinoid insecticides imidacloprid, guadipyr, and cycloxyaprid induce acute oxidative stress in *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 148:352-358.s.659, Ankara.
- Rewitz, K.F., Gilbert, L.I., 2008. *Daphnia* Halloween genes that encode cytochrome P450s mediating the synthesis of the arthropod molting hormone: evolutionary implications. *BMC Evol. Biol.* 8, 60
- Rewitz, K.F., O’Connor, M.B., Gilbert, L.I., 2007. Molecular evolution of the insect Halloween family of cytochrome P450s: phylogeny, gene organization and functional conservation. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 37, 741–753.
- Serpa, D., Keizer, J. J., Cassidy, J., Cuco, A., Silva, V., Gonçalves, F., Cerqueira M. and Abrantes, N., 2014, Assesment of river water quality using an integrated physicochemical, biological and ecotoxicological approach, *Enviromental Sciences*, 16:1434-1444 pp.
- Shen MM, Hodgkin J (1988) mab-3, a gene required for sex-specific yolk protein expression and a male-specific lineage in *C. elegans*. *Cell* 54:1019–1031
- Shipp, L.E., Hamdoun, A., 2012. ATP-binding cassette (ABC) transporter expression and localization in sea urchin development. *Dev. Dyn.* 241, 1111–1124
- Smital, T., Luckenbach, T., Sauerborn, R., Hamdoun, A.M., Vega, R.L., Epel, D., 2004. Emerging contaminants—pesticides, PPCPs, microbial degradation products and natural substances as inhibitors of multixenobiotic defense in aquatic organisms. *Mutat. Res.* 552, 101–117

- Snape JR, Maund SJ, Pickford DB, Hutchinson TH (2004) Ecotoxicogenomics: the challenge of integrating genomics into aquatic and terrestrial ecotoxicology. *Aquat Toxicol* 67:143–154
- Soetaert A, van der Ven K, Moens LN, Vandenbrouck T, van Remortel P, De Coen WM (2007) *Daphnia magna* and ecotoxicogenomics: gene expression profiles of the anti-ecdysteroidal fungicide fenarimol using energy-, molting- and life stage-related cDNA libraries. *Chemosphere* 67:60–71
- Soetaert, A., Moens, L.N., Van der Ven, K., Van Leemput, K., Naudts, B., Blust, R., De Coen, W.M., 2006. Molecular impact of propiconazole on *Daphnia magna* using a reproduction-related cDNA array. *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 142, 66–76
- Spanier, K.I., Jansen, M., Decaestecker, E., Hulselmans, G., Becker, D., Colbourne, J.K., Orsini, L., De Meester, L., Aerts, S., 2017. Conserved Transcription Factors Steer Growth-Related Genomic Programs in *Daphnia*. *Genome Biol Evol*, 1;9(6):1821-1842
- Steinkey, D., Lari, E., Woodman, S.G., Luong, K.H., Wong, C.S., Pyle, G.G., 2018. Effects of gemfibrozil on the growth, reproduction, and energy stores of *Daphnia magna* in the presence of varying food concentrations. *Chemosphere*, 192:75-80.
- Swales, K., Negishi, M., 2004. CAR, driving into the future. *Mol. Endocrinol.* 18, 1589–1598.
- Tatarazako, N., Oda, S., Watanabe, H., Morita, M., Iguchi, T., 2003. Juvenile hormone agonists affect the occurrence of male *Daphnia*. *Chemosphere* 53:827–833.
- Toumi, H., Boumaiza, M., Millet, M., Radetski, C.M., Felten, V., Férard, J.F., 2015. Is acetylcholinesterase a biomarker of susceptibility in *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera) after deltamethrin exposure? *Chemosphere*, 120:351-356.
- Tuna, M., 2018. Farklı dozlarda uygulanan 2,4-d diklorofenoksi asetik asit'in sazanlarda (*Cyprinus carpio*) kritik yüzme hızı ve hematoloji parametreleri üzerine etkilerinin araştırılması. Atatürk üniversitesi fen bilimleri enstitüsü. Su ürünleri mühendisliği anabilim dalı yüksek lisans tezi.
- Van Bohemen, C.G., Lambert, J.G.D., Goos, H.J.T., Van Oordt, P.G.W.J., 1982. Estrone and estradiol participation during exogenous vitellogenesis in the female rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Gen Comp Endocrinol* 46:81–92.
- Vega, M.P., Pizarro, R.A., 2000. Oxidative stress and defence mechanisms of the freshwater cladoceran *Daphnia longispina* exposed to UV radiation. *J. Photochem. Photobiol. B* 54, 121–125.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını, No: 73.
- Wang, L., Peng, Y., Nie, X., Pan, B., Ku, P., Bao, S., 2016. Gene response of CYP360A, CYP314, and GST and whole-organism changes in *Daphnia magna* exposed to ibuprofen. *Comp. Bioc. Phys. C: Toxicol. Pharmacol.* 179, 49–56.
- Yamano, S., Tatsuno, J., Gonzalez, F.J., 1990. The CYP2A3 gene product catalyzes coumarin 7-hydroxylation in human liver microsomes. *Biochemistry* 29, 1322–1329.
- Yang Liu a, Lan Wang a, Benben Pan a, Chao Wang a, Shuang Bao a, Xiangping Nie. Toxic effects of diclofenac on life history parameters and the expression of detoxification-related genes in *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology* 183 (2017) 104–113.

- Yılmaz, M.. 2018. *Paracentrotus lividus* (Lamarck, 1816) embriyoları üzerine alpha-cypermethrinin toksik etkileri. Çanakkale onsekiz mart üniversitesi fen bilimleri enstitüsü. Biyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans tezi.
- Yu, T.H., Dafre, A.L., Umbuzeiro, G.D.A., Franciscon, E., 2015. CYP-dependent induction of glutathione S-transferase in *Daphnia similis* exposed to a disperse azo dye. *Ecotoxicology* 24, 232–237.
- Yücel, G., 2014. Sipermetrin ve cyphenothrin'in sazan balıklarına toksik etkisinin patomorfolojik yönden değerlendirilmesi. Ankara üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü. Patoloji anabilim dalı doktora tezi.



## ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Erzurum’da doğdum. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimimi Erzurum’da tamamladım. Lisans eğitimimi 2005 yılında K.T.Ü. Su Ürünleri Fakültesinde tamamladım. 2006 yılında Deniz Kuvvetleri Komutanlığında serdümen Er olarak kısa dönem askerliğimi tamamladım. 2007 yılından beri çeşitli özel sektör kurumlarında çalışmaktayım. 2012 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım. Evli ve 3 çocuk babasıyım.

