

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**SACCHAROMYCES BOULARDII’NİN DELTAMETRİN VE
SİPERMETRİN TOKSİSİTELERİNE KARŞI *IN VITRO* METABOLİK
TEPKİSİ VE BU PESTİSİTLERE MARUZ KALAN AYNALI SAZAN
(*CYPRINUS CARPIO* L.) ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

Doktora Tezi

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ 2025

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

***SACCHAROMYCES BOULARDII*'NİN DELTAMETRİN VE
SİPERMETRİN TOKSİSİTELERİNE KARŞI *İN VİTRO* METABOLİK
TEPKİSİ VE BU PESTİSİTLERE MARUZ KALAN AYNALI SAZAN
(*CYPRINUS CARPIO* L.) ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Tez Yazarı

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

Danışman

Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ

TEMMUZ 2025

ELAZIĞ

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Başlığı: *Saccharomyces boulardii*'nin Deltametrin ve Sipermetrin Toksisitelerine Karşı *in vitro* Metabolik Tepkisi ve Bu Pestisitlere Maruz Kalan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Üzerindeki Etkileri

Yazarı: Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

İlk Teslim Tarihi: 19.06.2025

Savunma Tarihi: 18.07.2025

TEZ ONAYI

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına göre hazırlanan bu tez aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından değerlendirilmiş ve akademik dinleyicilere açık yapılan savunma sonucunda OYBİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

	<i>İmza</i>	
Danışman:	Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Başkan:	Prof. Dr. Mustafa KARATEPE Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Üye:	Prof. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ Bitlis Eren Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Üye:	Doç. Dr. Mehmet TUZCU Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi	Onayladım
Üye:	Doç. Dr. Fatma CAF Bingöl Üniversitesi, Gıda, Tarım ve Hayvancılık MYO	Onayladım

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun/...../20..... tarihli toplantısında tescillenmiştir.

İmza

Prof. Dr. Burhan ERGEN
Enstitü Müdürü

BEYAN

Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım “*Saccharomyces boulardii*’nin Deltametrin ve Sipermetrin Toksisitelerine Karşı *in vitro* Metabolik Tepkisi ve Bu Pestisitlere Maruz Kalan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Üzerindeki Etkileri” Başlıklı Doktora Tezimin içindeki bütün bilgilerin doğru olduğunu, bilgilerin üretilmesi ve sunulmasında bilimsel etik kurallarına uygun davrandığımı, kullandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi, maddi ve manevi desteği olan tüm kurum/kuruluş ve kişileri belirttiğimi, burada sunduğum veri ve bilgileri unvan almak amacıyla daha önce hiçbir şekilde kullanmadığımı beyan ederim.

18.07.2025

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN



İTHAF

Bilginin de bir direniş biçimi olduğuna inanarak; bu tez, Gazze’de yaşam hakkı uğruna can veren tüm şehitlere, onların direnişine, onuruna ve geride bıraktığı sessiz çılgınlara ithaf olunur.

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

ELAZIĞ, 2025



ÖNSÖZ

Yaygın olarak kullanılan deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin hedef olmayan organizmalar özellikle de su ürünleri üzerinde toksik etkileri vardır. Oksidatif stres bu toksik etkilerden biridir. Bir maya türü olan *Saccharomyces boulardii* ise pestisitler gibi toksik maddeleri detoksifiye etme yeteneği, antioksidan özelliği ve canlı vücudundaki yararlı etkilerinden dolayı biyokontrol amacıyla probiyotik olarak kullanılabilir. Böylece bu tezde, ilk olarak *S. boulardii*'nin deltametrin ve sipermetrine direkt maruziyetinde (*in vitro*) biyokimyasal metabolik yanıtları ve bu pestisitlere maruz kalan ve probiyotik ile beslenen sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarının, karaciğer ve kas dokularında meydana gelen biyokimyasal değişimler araştırılmıştır.

Doktora tez sürecimde bilgi ve tecrübeleriyle yoluma ışık tutan, desteklerini esirgemeyen, akademik gelişimim için katkı sağlayan ve rehberlik eden saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Ökkeş YILMAZ'a içtenlik ve minnetle teşekkür ediyorum.

Tez İzleme Komite Üyeleri değerli Prof. Dr. Ayşe Dilek ÖZŞAHİN KİREÇCİ ve Doç. Dr. Mehmet TUZCU hocalarıma önerileri ve katkılarından dolayı teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamda kullanılan sazan balık materyallerini temin ettiğimiz Elâzığ İl Tarım ve Orman Müdürlüğü bünyesinde Keban Su Ürünleri Üretim Tesisi çalışanlarına ve özel olarak ilgilenen Su Ürünleri Yüksek Mühendisi Tansu Büke KAYA'ya teşekkür ediyorum.

Tezimin balık deneyi sürecinde yardım eden ve balıkları en az benim kadar gözetken Fen Fakültesi destek personeli Muharrem KARAKIŞ'a, Biyoloji Bölümü öğrencileri Yusuf Taha ALTAN ve Muhammet Furkan BÜYÜK'e teşekkür ediyorum.

Tezimin laboratuvar sürecinde beni yalnız bırakmayıp yardım eden, birlikte uyum içinde analiz yaptığımız ve bana en iyi arkadaşlığı sunan Biyolog Ayşe SARITOP'a teşekkür ediyorum.

Sadece tez sürecinde değil, hayatımın her anında yanımda olduklarını bildiğim, dualarını her daim üzerimde hissettiğim canım annem Leyla KIRMIZIKAYA ve canım babam Hasan KIRMIZIKAYA'ya en kalbi duygularıyla teşekkür ediyorum.

Tez sürecimde hayatıma dahil olan ve ilk günden itibaren varlığı ile hayatıma değer katan, tezimi kendi teziymiş gibi sahiplenip yardım eden, her konuda yalnız bırakmayıp destekleyen sevgili eşim Av. Furkan ÖZMEN'e gönülden teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışması, Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından **FF.23.02** protokol numaralı proje ile ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir. Çalışmalar Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 16/03/2022 tarih ve 2022/05 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir.

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

ELAZIĞ, 2025

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
TABLolar LİSTESİ	x
SİMGELER	xi
KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Pestisit Kullanımı ve Pestisit Sınıfları	1
1.2. Piretroid Sınıfının Su Canlıları Üzerindeki Toksik Etkileri.....	2
1.3. Deltametrin ve Sipermetrin: Özellikleri ve Toksisiteleri.....	5
1.4. <i>Cyprinus carpio</i> L.'de Pestisit Maruziyeti.....	7
1.5. Oksidatif Stres Belirteci: MDA	8
1.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	8
1.7. Biyobelirteçlerin Önemi ve Toksisite Değerlendirmelerinde Kullanımı	9
1.8. Balıklarda Probiyotik Destekli Koruma	10
1.9. <i>Saccharomyces boulardii</i> 'nin Biyolojik Koruyucu Rolü	13
1.10. Tezin Amacı	16
2. MATERYAL VE METOT.....	17
2.1. Materyaller	17
2.2. <i>Sacharomyces boulardii</i> maya kültür koşulları ve deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin eklenmesi ile oluşturulan <i>in vitro</i> deneysel tasarım	18
2.3. Maya hücre peletleri ve süpernatantların elde edilmesi	19
2.4. Aynalı sazanların (<i>Cyprinus carpio</i> L.) akvaryum ortamına adaptasyonlarının sağlanması, probiyotik uygulanması ve pestisitlerinin eklenmesi ile oluşturulan <i>in vivo</i> deneysel tasarım	19
2.5. Aynalı sazanlardan (<i>Cyprinus carpio</i> L.) karaciğer ve kas dokularının ve dokulardan süpernatantların elde edilmesi.....	22
2.6. Sazan balıklarının ağırlık kazanç ölçümü	23
2.7. Total protein tayini	23
2.8. 8.HPLC ile manoldialdehit (MDA) tayini	24
2.9. HPLC ile redükte ve okside glutatyon (GSH ve GSSG) tayini	25
2.10. Superoksit dismutaz (SOD) (EC 1.15.1.1) aktivitesi	25
2.11. Katalaz (CAT) (EC 1.11.1.6) aktivitesi	25
2.12. Glutatyon peroksidaz (GPx) (EC 1.11.1.9) aktivitesi	26
2.13. Glutatyon redüktaz (GR) (EC 1.6.4.2) aktivitesi	27
2.14. Glutatyon-S-transferaz (GST) (EC 2.5.1.18) aktivitesi	27
2.15. HPLC ile lipofilik molekül içeriğinin belirlenmesi	28
2.16. GC ile yağ asit kompozisyonunun belirlenmesi	29
2.17. HPLC ile pestisit kalıtı tayini	29
2.18. İstatistiksel analiz	30
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	31

3.1. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait Hücre Kültür Sıvılarının 600 nm’deki Absorbans Değerleri ve Hücre Peletlerin Yaş Ağırlıkları	31
3.2. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait Total Protein Miktarı	31
3.3. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait MDA Miktarı.....	32
3.4. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait GSH ve GSSG Miktarları	33
3.5. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait Antioksidan Enzimlerin (SOD, CAT, GPx, GR, GST) Aktiviteleri ...	34
3.6. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait Lipofilik Molekül İçeriği	36
3.7. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait Yağ Asitleri Kompozisyonu	37
3.8. <i>S. boulandii</i> Gruplarına Ait Pestisit Kalıntısı Miktarı	40
3.9. Sazan Balıklarının Deney Sürecindeki Ağırlık Değişim Oranları	41
3.10. Balık Yemlerinin Total Protein, Yağ Asitleri ve Lipofilik Molekül İçeriği	43
3.11. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının Total Protein Miktarları	45
3.12. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının MDA Miktarları	47
3.13. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının GSH ve GSSG Miktarları	50
3.14. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularındaki antioksidan Enzimlerin (SOD, CAT, GPx, GR, GST) Aktiviteleri	52
3.15. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının Lipofilik Molekül İçeriği	57
3.16. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının Yağ Asit Kompozisyonu	61
4. SONUÇLAR.....	68
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Saccharomyces boulardii'nin Deltametrin ve Sipermetrin Toksisitelerine Karşı *in vitro* Metabolik Tepkisi ve Bu Pestisitlere Maruz Kalan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Üzerindeki Etkileri

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

Doktora Tezi

FIRAT ÜNİVERSİTESİ

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Temmuz 2025, Sayfa: xii + 93

Deltametrin ve sipermetrin maruziyeti balıklarda oksidatif strese neden olmaktadır. *Saccharomyces boulardii* ise antioksidatif ve pestisitleri detoksifiye edebilme özelliklerine sahip probiyotik maya türüdür. Bu doğrultuda, probiyotik maya türü olan *S. boulardii*'nin hücre kültür ortamına (*in vitro*) eklenen deltametrin ve sipermetrinin toksitelerine karşı biyokimyasal metabolik yanıtlarının ve probiyotik *S. boulardii* takviyesiyle beslenen aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarının, deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz kalması sonucu karaciğer ve kas dokularında meydana gelen biyokimyasal değişimlerinin araştırılması amaçlanmıştır. İlk aşamada, her iki pestisit üç farklı dozu (50, 100 ve 200 µg/L) eksojen olarak maya hücre ortamına eklenip 72 saat inkübe edilmiş ve hücre peletleri elde edilmiştir. İkinci aşamada ise sazan balıkları 30 gün boyunca pestisitlere maruz bırakılmış ve probiyotik ile beslenmiştir. Deney sonunda hücre peletlerinde, balıkların karaciğer ve kas dokularında total protein, malondialdehit (MDA), indirgenmiş ve redükte glutatyon (GSH-GSSG) miktarları, antioksidan sistem enzimlerinin (SOD, CAT, GPx, GR ve GST) aktiviteleri ile lipofilik molekül ve yağ asit içeriği belirlenmiştir. Sonuçlara göre, her iki pestisit hem *in vitro* hem de balık dokularında MDA'yı artırarak oksidatif strese neden olmuştur ($P<0.05$). *In vitro* koşullarda ve balık dokularında *S. boulardii* MDA'yı azaltmıştır. Antioksidan savunma sistemi üzerinde pestisitler zararlı etkiler göstermişken *S. boulardii* antioksidan savunma sistemini desteklemiştir. Ek olarak, *S. boulardii* hücre ortamına eklenen her iki pestisiti de detoksifiye edebilmiştir ($P<0.05$). Sonuç olarak, elde edilen veriler *C. carpio*'yu deltametrin ve sipermetrinin olumsuz etkilerinden korumak için *S. boulardii*'nin güvenli ve düşük maliyetli bir biyokontrol aracı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: *Saccharomyces boulardii*, *Cyprinus carpio*, Deltametrin, Sipermetrin, Oksidatif stres, Probiyotik

ABSTRACT

In vitro Metabolic Response of *Saccharomyces boulardii* to Deltamethrin and Cypermethrin Toxicities in Mirror Carp (*Cyprinus carpio* L.) Exposed to These Pesticides

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

Ph.D. Thesis

FIRAT UNIVERSITY
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

July 2025, Pages: xii + 93

Exposure to deltamethrin and cypermethrin induces oxidative stress in fish. *Saccharomyces boulardii* is a probiotic yeast species with antioxidative and pesticide detoxifying properties. In this context, it was aimed to investigate the biochemical metabolic responses of *S.boulardii* to the toxicities of deltamethrin and cypermethrin added to the cell culture medium (*in vitro*) and the biochemical changes in the liver and muscle tissues of carp (*Cyprinus carpio* L.) fed with probiotic *S.boulardii* supplementation as a result of exposure to pesticides. In the first stage, three different doses of both pesticides (50, 100, and 200 µg/L) were added exogenously to the yeast cell medium and incubated for 72 hours, after which cell pellets were collected. In the second stage, carp fish were exposed to pesticides for 30 days and fed with probiotics. At the end of the experiment, total protein, malondialdehyde (MDA), reduced and reduced glutathione (GSH-GSSG) amounts, antioxidant system enzymes (SOD, CAT, GPx, GR, GST) activities and lipophilic molecule and fatty acid content were determined in cell pellets, liver and muscle tissues of fish. According to the results, both pesticides induced oxidative stress by increasing MDA both *in vitro* and in fish tissues ($P<0.05$). *S.boulardii* decreased MDA. While pesticides had detrimental effects on antioxidant defense system, *S.boulardii* supported antioxidant defense system. In addition, *S.boulardii* was able to detoxify both pesticides added to cell medium ($P<0.05$). In conclusion, the obtained data indicate that *S.boulardii* can be used as safe and low-cost biocontrol agent to protect *C.carpio* from the adverse effects of pesticides.

Keywords: *Saccharomyces boulardii*, *Cyprinus carpio*, Deltamethrin, Cypermethrin, Oxidative stress, Probiotic

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1.	Piretoid pestisitler yoluyla toprak ve yeraltı suyu kirlenmesinin yollarının gösterimi.....	4
Şekil 1.2.	Sentetik piretoidlerin biyotransformasyon yollarının gösterimi	5
Şekil 1.3.	Deltametrinin moleküler yapısı.....	6
Şekil 1.4.	Sipermetrinin moleküler yapısı.....	7
Şekil 1.5.	Pestisit toksisitesinin azaltılmasında probiyotiklerin olası etki mekanizmaları	12
Şekil 2.1.	<i>Saccharomyces boulardii</i> CNCM I-745 (Reflor® saşe)	17
Şekil 2.2.	Deltametrin ve sipermetrin pestisitleri ve hazırlanan stok çözeltileri	17
Şekil 2.3.	Sazan balığı (<i>Cyprinus carpio</i> L.).....	18
Şekil 2.4.	Sazan balıklarının adaptasyon ve deney süreci boyunca yaşadıkları akvaryum ortamı	20
Şekil 2.5.	Sazan balıklarının tartımı.....	21
Şekil 2.6.	Sazan balıklarının boy ölçümleri	21
Şekil 2.7.	Su kalite parametreleri ölçüm cihazı.....	21
Şekil 2.8.	Sazan balıklarının karanfil yağı ile anestezi koşullar altına alınması.....	22
Şekil 2.9.	Sazan balıklarının dekapitasyon işlemi sonrası karaciğer ve kas dokularının gruplara göre paketlenmesi	23
Şekil 2.10.	Total protein ölçümü için kullanılan bovin serum kalibrasyon grafiği	24
Şekil 2.11.	MDA miktarının belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı	24
Şekil 2.12.	GSH-GSSG miktarlarının belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı.....	25
Şekil 2.13.	CAT enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan H ₂ O ₂ kalibrasyon grafiği.....	26
Şekil 2.14.	GPx enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan GSH kalibrasyon grafiği	26
Şekil 2.15.	GPx enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan GR kalibrasyon grafiği.....	27
Şekil 2.16.	GST enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan GSH kalibrasyon grafiği.....	28
Şekil 2.17.	Lipofilik moleküllerin belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı	28
Şekil 2.18.	Yağ asitlerin belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı	29

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1.	<i>Sacharomyces boulardii</i> 'nin kültür ortamına deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin eklenmesi ile oluşturulan gruplar.....	18
Tablo 2.2.	Aynalı sazan (<i>Cyprinus carpio</i> L.) balıklarına uygulanan probiyotik <i>S. boulardii</i> ve pestisitler ile oluşturulan gruplar.....	20
Tablo 3.1.	<i>S. boulardii</i> gruplarına ait hücre kültür sıvılarının 600 nm'deki absorbans değerleri ve peletlerin yaş ağırlıkları	31
Tablo 3.2.	<i>S. boulardii</i> peletlerinden elde edilen total protein, MDA, GSH ve GSSG miktarları	32
Tablo 3.3.	<i>S. boulardii</i> peletlerinden elde edilen SOD, GPx, GR, CAT ve GST enzim aktiviteleri	35
Tablo 3.4.	<i>S. boulardii</i> peletlerinden elde edilen lipofilik vitamin ve sterol içeriği (µg/g pelet)	36
Tablo 3.5.	<i>S. boulardii</i> peletlerinden elde edilen yağ asidi içeriği (%)	38
Tablo 3.6.	Pestisit uygulanmış <i>S. boulardii</i> gruplarında pestisit kalıntısı miktarı (µg/L)	41
Tablo 3.7.	Balıkların deney sürecindeki ağırlık değişim oranları	42
Tablo 3.8.	Balık yemlerinin total protein, yağ asitleri ve lipofilik molekül içeriği	44
Tablo 3.9.	Karaciğer dokusu gruplara ait total protein, MDA, GSH ve GSSG miktarları	45
Tablo 3.10.	Kas dokusu gruplara ait total protein, MDA, GSH ve GSSG miktarları	45
Tablo 3.11.	Karaciğer dokusu gruplara ait SOD, CAT, GPx, GR ve GST enzim aktiviteleri	52
Tablo 3.12.	Kas dokusu gruplara ait SOD, CAT, GPx, GR ve GST enzim aktiviteleri	53
Tablo 3.13.	Karaciğer dokusu gruplara ait lipofilik molekül içeriği (µg/g)	59
Tablo 3.14.	Kas dokusu gruplara ait lipofilik molekül içeriği (µg/g)	60
Tablo 3.15.	Karaciğer dokusu gruplara ait yağ asidi içeriği (%).....	63
Tablo 3.16.	Kas dokusu gruplara ait yağ asidi içeriği (%).....	65

SİMGELER

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
C	: Karbon
Cd	: Kadmiyum
Cr	: Krom
Cu	: Bakır
dk	: Dakika
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
K	: Potasyum
L	: Litre
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µmol	: Mikromol
M	: Molar
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
Mn	: Mangan
Na	: Sodyum
Ni	: Nikel
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
O	: Okijen
P	: Fosfat
Pb	: Kurşun
ppm	: Milyonda bir
rpm	: Revolutions per minute
U	: Unit
Zn	: Çinko

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin trifosfat
BHT	: Butil hidroksi toluen
CAT	: Katalaz
DM	: Deltametrin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil
DTNB	: 5,5'-Dithiobis(2-nitrobenzoik asit)
EDTA	: Etilen diamin tetra asetik asit
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
GABA	: Gama-aminobütirik asit
GC	: Gaz kromatografisi
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Redükte (indirgenmiş) glutasyon
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon S transferaz
HIP	: Heksan-İzopropil alkol
HPLC	: Yüksek Performanslı sıvı kromatografisi
LAB	: Laktik asit bakterileri
LC	: Öldürücü konsantrasyon
LD	: Öldürücü doz
LPO	: Lipit peroksidasyonu
LPS	: Lipopolisakkarit
MDA	: Malondialdehit
MPA	: Metafosforik asit
MUFA	: Tekli doymamış yağ asitleri
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
OP	: Organofosfatlar
PUFA	: Çoklu doymamış yağ asitleri
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SCFA	: Kısa zincirli yağ asitleri
SFA	: Doymuş yağ asitleri
SM	: Sipermetrin
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBARS	: Tiobarbütirik asit
TG	: Trigliseritler
USFA	: Doymamış yağ asitleri
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

1.1. Pestisit Kullanımı ve Pestisit Sınıfları

Çevre Koruma Ajansı (EPA), pestisitleri zararlı popülasyonunu yönetmek ve caydırmak için kullanılan bir kimyasal bileşik sınıfı olarak tanımlar. Pestisitler, mahsulü böceklerle, yabancı otlara ve zararlılara karşı korumak, mahsulü beslemek ve verimi artırmak için çok çeşitli mahsullere uygulanan kimyasallar olarak özetlenebilir [1, 2]. Avantajlarına rağmen pestisitler hala çevre ve insanlar için toksiktir. Pestisitlerin içeriğinde bulunan çok sayıda bileşik, zehirli, biyolojik birikimli ve ekolojik olarak stabil özelliktedir. Bazı pestisitler uzun ömürlü oldukları için çevrede yıllarca kalabilirler [3, 4].

Pestisitler, kimyasal yapılarına ve aktif kimyasallarının türüne göre kategorize edilir. Bu tür bir sınıflandırma, çeşitli pestisitlerin etkinliği, fiziksel özellikleri ve kimyasal bileşimi hakkında bilgi sağlar. Uygulama şekline, uygulama sırasında alınacak önlemlere ve uygulama oranlarına karar verirken pestisitlerin kimyasal ve fiziksel özelliklerinin bilinmesi oldukça faydalıdır. Pestisitler sentetik ve doğal olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. Sentetik pestisitler ayrıca organik (yapı bazlı) ve inorganik olarak sınıflandırılır. Organoklorinler, organofosfatlar ve piretroidler organik sentetik pestisitlere örnektir. Doğal pestisitler ise piretrin, neem, spinosad ve rotenondur [5]. Pestisitlerin kimyasal yapıları ayrıca bunları organoklorinler (diklorodifeniltriokloroetan ve aldrin), organofosfatlar (klorpirifos ve diazinon), benzoik asitler (dikamba), karbamatlar (aldikarb ve karbaril), fenoksi asetik asit türevleri (2,4-diklorofenoksiasetik asit) [6], piretroidler ve piretrinler (siflutrin ve sipermetrin), triazinler (atrazin ve simazin) ve dipiridil türevleri (maneb ve ziram) [7] olarak sınıflandırmak için de kullanılabilmektedir [3].

Toprağa püskürtülmesine rağmen; pestisitler yağış ve buharlaşma nedeniyle büyük mesafeler kat edebilir. Dahası, pestisitler toprağa sızar, yeraltı suyuna geçer ve yüzey akışı yoluyla su kütlelerine girer. Bu nedenle, dünya genelindeki yüzey sularında yüksek konsantrasyonlarda çeşitli kimyasallar bulunmuştur ve hedef olmayan organizmalar üzerinde olumsuz etkilere sahip olabileceği rapor edilmiştir [3]. Bununla birlikte, su ürünleri yetiştiriciliğinde, su organizmalarındaki hastalıkları önlemek için de çeşitli pestisitler uygulanabilmektedir [8]. Örneğin, somon balığı çiftliklerinde yetiştirilen deniz balıklarında, deniz biti enfeksiyonunu önlemek için pestisitler uygulanmaktadır [9, 10]. Su ürünleri yetiştiriciliğinde pestisit kullanımının artması, çevresel toksisite riskleri konusunda endişeleri artırmaktadır [11, 12].

Pestisitlerin neden olduğu etkilerden başlıcaları kromozomal değişiklikler, oksidatif stres, bağışıklık sistemi ve nörolojik sistem sorunları ve endokrin anormallikleridir. Bir pestisit toksisitesi, yaralanmaya veya hastalığa neden olma kapasitesi veya yeteneği ile ölçülmektedir. Belirli bir pestisit toksisitesi, deney hayvanlarını aktif bileşenin ve formüle edilmiş ürünlerinin

her birinin değişen dozajlarına tabi tutarak belirlenir. Aktif bileşen, pestisit ürünündeki zararlıyı kontrol eden kimyasal bileşendir. Akut ve kronik olmak üzere iki tür toksisite vardır. Toksisite, LD 50 (öldürücü doz) veya LC 50 (öldürücü konsantrasyon) ile ölçülür ve deney hayvanının vücut ağırlığının mg/kg'ı veya milyonda bir birim (ppm) olarak kaydedilir. LD 50 değerleri ne kadar düşükse insanlar ve hayvanlar için o maddenin toksisitesi o kadar yüksektir. DNA tek ve çift zincirli kırılmalar, oksidatif stres ve çapraz bağlar, karmaşık pestisit karışımlarına sürekli ve öldürücü olmayan maruziyetten kaynaklanabilmektedir [13]. Pestisitlere maruz kalmanın oksidatif strese, epigenetik modifikasyonlara ve değişmiş bağırsak mikrobiyotasına neden olduğu bilinmesine rağmen, biyolojik etkilerinin öncelikle genetik polimorfizmlerin varlığından etkilendiği bildirilmiştir. Özellikle genetik polimorfizmlerin etkisi, bazı insanları pestisitlerin neden olduğu oksidatif strese karşı daha savunmasız hale getirebilir [3].

1.2. Piretroid Sınıfının Su Canlıları Üzerindeki Toksik Etkileri

Piretroid pestisitler, krizantem çiçeklerinden toplanan doğal piretrumda bulunan böcek öldürücü kimyasallar olan piretrinlerden türetilir [14, 15]. Kimyasal olarak, piretroid pestisitler krizantemik asidin (etil 2,2-dimetil-3-(1-izobütenil) siklopropan-1-karboksilat) esterleridir [16]. Piretroid pestisitler, organofosfat ve karbamat grupları pestisitlerle karşılaştırıldığında yüksek etkinlikleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle 1980'lerden beri dünya çapında kullanılan bir tür sentetik organik insektisittir [17, 18]. Günümüzde, piretrin pestisitleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ön yeterlilik almış tüm insektisit ile işlenmiş ağlarda (ITN) mevcuttur. Piretroid pestisitleri tüm ITN tipleri için önerilen tedavidir [19]. Kimyasal bileşimlerine göre, piretrin pestisitler iki gruba ayrılabilir, tip I piretrin pestisitleri alfa pozisyonunda bir alfa-siyano kısmına sahip değildir. Allethrin, Bifenthrin, Bioresmethrin, Resmethrin, Tefluthrin, Tetramethrin, d - phenothrin ve Permethrin tip I piretrinlere örnektir. Tip II piretrin pestisitleri ise fenil benzil alkol pozisyonunda bir alfa-siyano kısmına sahiptir. Cyfluthrin, Cyhalotrin, Cypermethrin, Deltamethrin, Fenvalerate, Fenpropathrin, Flumethrin, Fluvalinate ve Tralomethrin ise tip II piretrinlerdir [20, 21].

Piretroid pestisitler hem böcekler hem de memeliler için nörotoksiktir ve yakın zamanda yapılan bir çalışma, piretroid pestisitlerinin bal arıları (*Apis mellifera ligustica Spin* ve *Apis cerana Fabricius*) üzerindeki toksik etkilerini ortaya koymuştur [22]. Piretroid pestisitlerinin lipitte çözündüğü düşünöldüğünde, deri, sindirim sistemi veya solunum sistemiyle temas ettiklerinde vücuda girmeleri kolaylaşır [20, 23, 24]. Sentetik piretrinlerin (SP'ler) vücuda girdikten sonra etki mekanizması aşağıdaki şekilde özetlenmiştir:

(1) SP'lere maruz kalma, lipitler, proteinler ve DNA üzerinde zararlı etkilere yol ačan ařırı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine neden olur,

(2) SP'ler ligand kapılı kanalı kesintiye uğratar ve daha yüksek konsantrasyonda sodyum akışına izin verir, bu da çoklu sinir uyarılarına ve nihayetinde asetilkolinesterazın inhibisyonuna ve diğer sinirleri uyaran asetilkolin birikimine yol açar,

(3) SP'ler voltaj kapılı kalsiyum kanalını etkiler ve dolayısıyla sitozoldeki kalsiyum konsantrasyonunu artırır ve dolayısıyla sitotoksositeye yol açar,

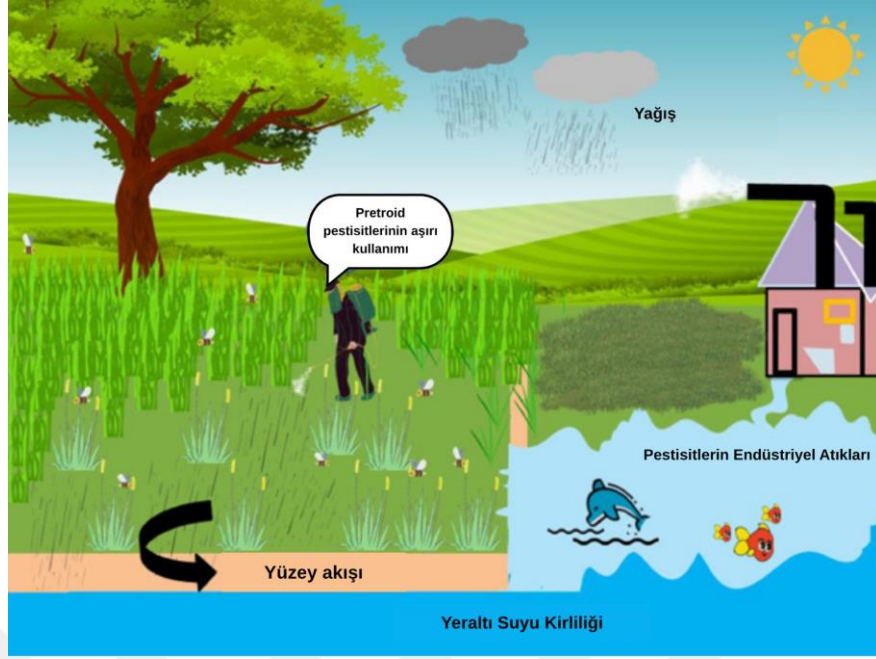
(4) SP'ler γ -aminobütirik asit (GABA) reseptörünü inhibe eder ve nihayetinde uyarılabilirliğe ve konvülsiyona yol açar,

(5) SP'ler ATP oluşumunu/sentezini doğrudan bozar ve kortizol düzenlemesine yanıt olarak glikoz düzenlemesi bozulur,

(6) SP'lere maruz kalma, sinaptik boşlukta asetilkolinin tutulmasına yol açar (sinaptik boşluğun kapanması nedeniyle sinaptik yarı) asetilkolin seviyesini artırır,

(7) SP'ler oksidatif stres indüksiyonu veya sitozolde daha yüksek konsantrasyonda kalsiyum birikmesi nedeniyle genotoksositeye yol açar [25].

Pestisit kirliliği, tarım çiftliklerinden sızma, yoğun yağışlar sırasında tarım arazilerinden gelen akış, pestisitlerden ve endüstriyel atıklardan gelen deşarjlar ve çevre kirleticilerinin su kütlelerine salınması dahil olmak üzere farklı kanallardan sulak yaşam alanlarına girer [26, 27]. Göletler, tarım alanlarından sürüklenme veya yüzey akışı yoluyla pestisit kirliliğine karşı en savunmasız sulak ortamlar arasındadır [28]. Piretroid pestisitleri yoluyla toprak ve yeraltı suyu kirlenmesinin yollarının şematik bir gösterimi Şekil 1.1'de sunulmuştur. Piretroid pestisitler balıklar için memelilere ve kuşlara göre 1000 kat daha zehirlidir [12, 29]. Solungaçlar gibi balıklara özgü organlar ve bu tür pestisitlere karşı geç metabolik tepkileri, balıkları piretroid pestisit zehirlenmesine karşı son derece savunmasız hale getirir. Çeşitli çalışmalar, piretroid pestisitlerinin üreme ve erken gelişim evrelerinde balıklar için tehlikeli olduğunu göstermiştir [30]. Piretroid pestisitlerin lipofilisiteyi nedeniyle balıkların solungaçları tarafından emildikleri ve bunun toksositeye yol açtığı gözlemlenmiştir [20, 31].

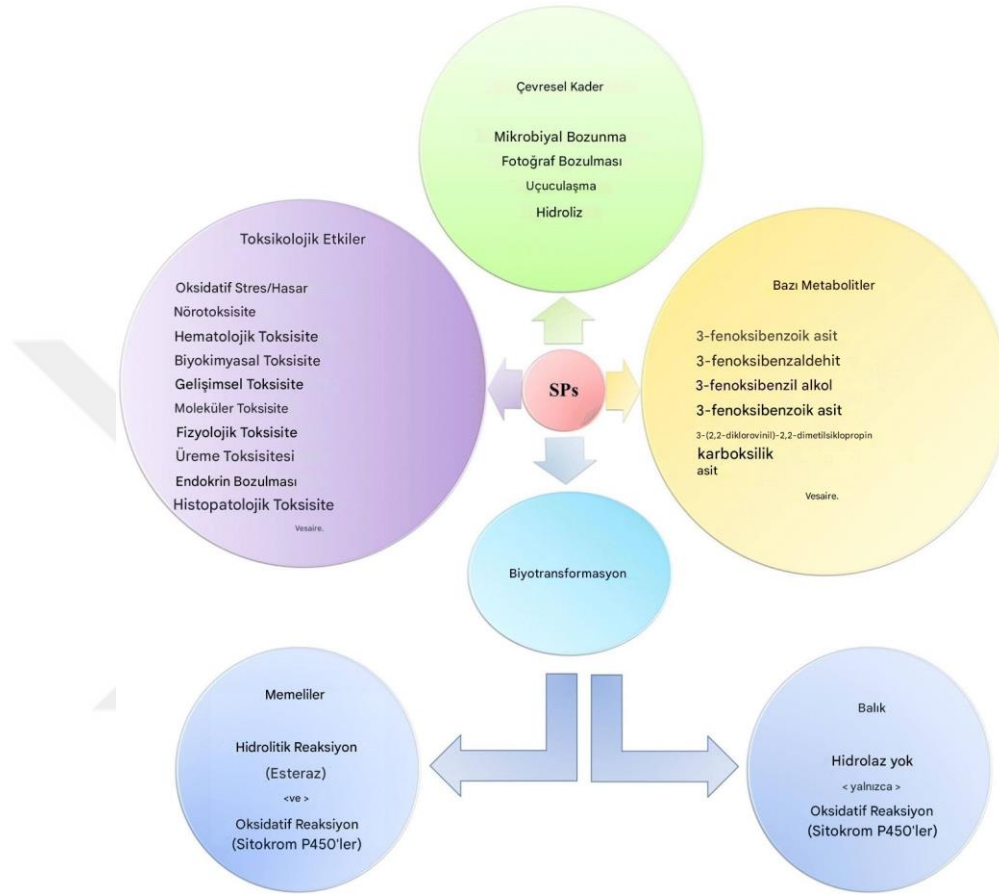


Şekil 1.1. Piretroid pestisitler yoluyla toprak ve yeraltı suyu kirlenmesinin yollarının gösterimi [20].

Bifenthrin ve permethrin gibi piretrin pestisitlerin, genç balıklarda yumurta proteinlerinin (vitellogenin ve koriogenin) sentezinde gecikmeye neden olabileceği rapor edilmiştir [32]. Deltametrin, sipermetrin ve lambda-sihalotrin, balık solungaçları, karaciğer ve kaslar gibi dokularda histopatolojik anormalliklere neden olan piretrin pestisitlere örnektir [12]. Nehirler, göller ve yüzey suları gibi sucul ortamlarda düşük miktarlarda bulunmalarına rağmen balıklarda DNA hasarına ve apoptoza neden olurlar. Piretroid pestisitler, metabolik enerji üretim yaklaşımında bir değişime neden olarak ROS oluşumuna ve hücre içi lipidlerin birikmesine neden olur [33]. Çok sayıda çalışma, piretrin pestisitlerinin neden olduğu oksidatif stresin hücre içi ve hücre dışı DNA (Deoksiribonükleik asit), RNA (Ribonükleik asit), proteinler, lipidler ve karbonhidratların değişimine olan etkisini göstermiştir [20, 34, 35].

Çevresel ortamda sentetik piretrinlerin eliminasyon yolları arasında mikrobiyal bozunma, fotodegradasyon, uçucu hale gelme ve hidroliz yer alır [36]. Bununla birlikte, biyolojik sistemlerde piretrinler iki yolla detoksifiye edilir: esterase bağımlı hidrolitik reaksiyon ve sitokrom P450'lerin aracılık ettiği oksidatif reaksiyon. Sentetik piretroidlerin biyotransformasyon yolları Şekil 1.2'de özetlenmiştir. Hedef dışı organizmaların sentetik piretrinlere karşı duyarlılığı için tanınan ana faktörler toksikokinetik faktörlerdir. Sentetik piretrinler, esterase bazlı hidroliz ve ardından sitokrom P450 bazlı oksidasyon yoluyla kolayca bozunur; bu nedenle memeliler için nispeten daha az toksiktirler [37]. Bununla birlikte, piretrinler balıklar için oldukça toksiktir çünkü hidrolazdan yoksundurlar ve bu nedenle memeliler gibi sentetik piretrinleri hidrolitik olarak hızla detoksifiye edemezler [38]. Balıklarda sentetik piretrinlerin tek metabolik yolu, sitokrom P450'ler tarafından katalize edilen oksidatif reaksiyondur [39]. Piretroidler balıklarda safra, karaciğer, böbrek ve

kırmızı kan hücrelerine dağıldıktan sonra hidroliz, hidrosilasyon ve glukuronidlere ve sülfatlara konjugasyon yoluyla metabolize edilirler. Piretroidlerin kronik etkileri arasında büyüme geriliği, davranışsal, kan profili ve histopatolojik değişikliklerin yanı sıra bağışıklık sisteminin zayıflaması ve endokrin bozulması yer alır [31, 40].

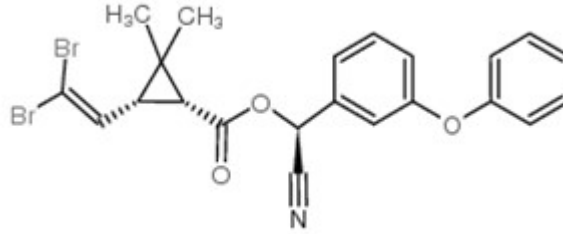


Şekil 1.2. Sentetik piretroidlerin biyotransformasyon yollarının gösterimi [39].

1.3. Deltametrin ve Sipermetrin: Özellikleri ve Toksisiteleri

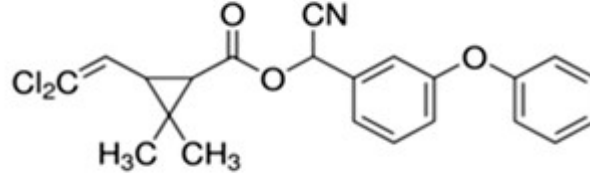
Deltametrin (DM), ilk olarak sırasıyla 1974 ve 1978'de tanımlanan ve ticarileştirilen II. tip geniş spektrumlu bir piretrindir [41]. Deltametrinin moleküler yapısı Şekil 1.3'te verilmiştir. DM'in kullanımı tarım ve ev formülasyonlarından, çimler, süs bahçeleri, golf sahaları gibi açık alanlarda ve leke, çatlak ve yarık tedavisi olarak iç mekanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır [42, 43]. DM, en yaygın kullanılan ve bilinen bitki koruma maddelerinden biridir [31]. DM'e terapötik dozların ötesinde maruz kalmanın ekosistemler ve balık ve kabuklular gibi hedef olmayan organizmalar üzerinde birçok olumsuz etkisi vardır [44-46]. Önceki çalışmalar, DM'in metabolik, bağışıklık ve kardiyovasküler organlarda oksidatif stres ve kan biyokimyasının bozulmasına neden olabileceğini ileri sürmüştür [47, 48]. Hayati solunum organları olan solungaçlar da DM toksisitesinin hedef dokusu olarak tanımlanmıştır çünkü solungaç dokusu

doğrudan kirleticilere maruz kalmaktadır [49-51]. Balıklar kimyasal bileşiklere maruz kaldığında, oksidasyon-redüksiyon dengesi kaçınılmaz olarak bozulur ve antioksidan savunmayı aşan reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi nedeniyle oksidatif stres oluşur [52-55].



Şekil 1.3. Deltametrinin moleküler yapısı

Sipermetrin (SM), pamuk zararlılarını sınırlamak için yaygın bir şekilde kullanılan ve ayrıca çiftlik hayvanlarının ektoparazitlerini (keneler ve akarlar gibi) kontrol etmek için tedavi amacıyla da önerilebilen dördüncü nesil bir piretrin böcek ilacı olarak tanımlanmaktadır [56]. Tip II piretrin olarak sınıflandırılır ve organik çözücülerde (aseton ve alkol) çözünür, ancak suda çözünmez [57]. Sipermetrinin moleküler yapısı Şekil 1.4'te verilmiştir. SM'in, dünyanın çeşitli yerlerinde son yirmi yılda en yaygın kullanılan böcek ilacı olduğu belirtilmiştir [58]. Bununla birlikte, SM, hayvan vücudunun sinir sistemine kolayca girer ve serbest radikallerin üretimini indükleyerek ve vücudun antioksidan etkilerini azaltarak hücresel oksidatif hasara neden olur [59]. Ayrıca, daha yüksek lipofilisite özelliği nedeniyle daha yüksek bir emilim oranına sahiptir [60]. Bu, balıkları SM'e karşı en ince nüfuz eden ve hassas organizma haline getirir [61]. Çalışmalar, SM'e maruz kalan zebra balığında (*Danio rerio*) [62, 63] genotoksisite ve oksidatif stres, erken gelişim aşamalarında Rohu'da (*Labeo rohita*) malformasyonlar [64], sazan balığında (*Cyprinus carpio*) [65] immünotoksik etkiler, *C. carpio*'da [66] DNA hasarı, apoptoz ve histopatolojik değişiklikler, Catla'da (*Catla catla*) [67] hepatotoksisite ve *C. catla*'nın beyinde nörotoksisite ve apoptotik değişiklikler [68] oluşturduğunu göstermiştir [30]. Sipermetrin balıklarda yüzme davranışını değiştirir veya karaciğer, solungaçlar ve gonadlarda histopatolojik değişikliklere neden olur [69, 70]. Bu fenotipik değişikliklere DNA hasarı ve biyokimyasal ve hematolojik parametrelerde değişiklik eşlik eder [71-73]. SM'in balıklardaki olumsuz etkilerinin esas olarak oksidatif strese aracılık ettiği bildirilmiştir. Sipermetrin balıkların solungaçlarında oksidatif stresle ilişkili DNA hasarına neden olur [12, 73].



Şekil 1.4. Sipermetrinin moleküler yapısı

1.4. *Cyprinus carpio* L.'de Pestisit Maruziyeti

Cyprinidae familyasından sazan balığı, *Cyprinus carpio* Avrupa ve Asya'ya özgü bir tatlı su balığı türüdür. Davranışları açısından sazan balıklarının oldukça uyumlu ve dayanıklı oldukları bilinmektedir. Çok çeşitli su koşullarına dayanabilirler ve genellikle yavaş akan nehirlerde, göletlerde ve göllerde yaşarlar. Düşük gereksinimler, yüksek uyumluluk ve yüksek dağılım nedeniyle sazan balığı, ticari ve ekolojik öneminin yanı sıra çevresel kirleticilerin etkilerini değerlendirmede deneysel bir tür olarak yaygın olarak kullanılan bir balıktır [74, 75]. Ayrıca laboratuvar koşullarına kolay adapte olması nedeniyle ekotoksikolojik araştırmalar için mükemmel bir modeldir [76]. Pestisit kirliliği bağlamında, *C. carpio* örneklerinin bu kirleticilere maruz kalması esas olarak bu balığın tarım alanlarının yakınında bulunan toprak havuzlarda yaygın olarak yetiştirilmesine bağlanmaktadır [77-79].

Pestisitler ağırlıklı olarak balık solungaçları, deri veya sindirim sistemi yoluyla emilebilir ve daha sonra dolaşım sistemi aracılığıyla çeşitli dokulara ulaşabilir [79-82]. Karaciğer, metabolizma, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ve zararlı maddelerin atılımı için birincil organdır. Karaciğer, toksik bileşikler parçalama yeteneğine sahiptir, ancak düzenleyici mekanizmaları bu bileşiklerin yüksek konsantrasyonları tarafından alt üst edilebilir ve daha sonra yapısal hasara yol açabilir [83, 84]. Çalışmalar, piretrinlerin karaciğer>solungaç>kaslarda ve hatta balığın diğer dokularında ve plazmasında birikebileceğini kanıtlamıştır, piretrinlerin suda yaşayan canlılar için orta ve yüksek risk taşıdığını ortaya koymaktadır [85-87]. Lipofiliklik nedeniyle piretrinler solungaç zarından kolayca emilir, yağ hücrelerinde birikir ve elektrokimyasal gradyan ve solungaç geçirgenliğinin oluşumunu etkiler, bu da balıklarda ciddi etkilere yol açar. Önemlisi, balık detoksifikasyon mekanizması piretrinleri metabolize etmede yetersizdir [88, 89]. Sazan balığında, atrazin yağ dokusu (özellikle yağ dokusu ve karaciğer), kas dokusu (balığın yenilebilir kısımları dahil) ve solungaç dokusu (muhtemelen çevredeki suyla doğrudan temas nedeniyle) dahil olmak üzere çeşitli dokularda biyolojik olarak biriktiği gösterilmiştir [75, 90, 91].

1.5. Oksidatif Stres Belirteci: MDA

Su organizmalarında, oksidatif stres, askıda madde ve tortulardaki çeşitli faktörlerin çoklu etkileriyle indüklenir. Oksidatif stres, serbest radikallerin üretimi ve antioksidan aktivitedeki bozukluklardan kaynaklanır. Oksidatif stres, pestisitlerin hedef dışı etkilerinin başlıca mekanizması olarak kabul edilir ve olduğu organlara bağlı olarak nörotoksisite, kardiyovasküler toksisite ve üreme toksisitesine neden olur [92-94]. Hücrelerde ROS'un aşırı üretimi, DNA, proteinler ve lipitler de dahil olmak üzere biyolojik moleküllere zarar verebilir, hücre bütünlüğünün azalmasına ve reseptörler ile enzimlerde işlevsel değişikliklere yol açabilir [95]. Oksidatif stres tarafından üretilen ara ürünler, zarın çift katmanını değiştirebilir ve lipit peroksidasyonunu indükleyebilir [96]. Lipit peroksidasyonu sırasında üretilen malonaldehit (MDA) gibi ürünler oldukça reaktiftir [97]. Lipit peroksidasyonu hücre zarının özelliklerini değiştirir ve sonunda hücre içi oksidatif stresin bir göstergesi olan hasara neden olur [98]. Balıklarda, diğer hayvanlarda olduğu gibi, hücrelerde aşırı ROS üretimi, genotoksisiteyi indükleyerek DNA hasarına neden olur [12, 99].

1.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Balıklar, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koruma sağlayan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon transferaz (GST) ve glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimlere sahiptir [100]. SOD, süperoksit anyonunun hidrojen peroksit (H_2O_2) ve oksijene dismutasyonunu katalizler [101]. SOD tipleri arasında Cu/Zn SOD esas olarak ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında işlev görür ve siyanür ve hidrojen peroksit duyarlıdır, buna karşın Mn SOD esas olarak mitokondriyal matrisle ilişkilidir [102]. CAT, balık dokusunda yaygın olarak bulunan ve hidrojen peroksidin ayrışmasında rol oynayan bir antioksidan enzimdir [103]. CAT ve GPx aktivitesinin azalması hidrojen peroksit birikimine yol açar ve lipid peroksidasyonunu artırır [104]. GR, glutatyon disülfürün (GSSG) glutatyon (GSH) indirgenmesi için gerekli bir enzimdir ve balıklarda hücreleri oksidatif stresten korumak için gereklidir [105]. GST, GSH'nin konjugasyonunu katalize eder ve GST aktivitesindeki artış balıklarda kirletici toksisitesine karşı artan bir direnci gösterir [106, 107]. Glutatyon ile ilişkili metabolizma, hücrelerdeki oksidatif strese karşı ana koruyucu mekanizmadır. Bu nedenle, GSH/GSSG oranı balıklarda pestisit birikiminin iyi bir göstergesidir [12]. Slaninova vd. [108] tarafından belirtildiği gibi, doku GSH seviyeleri genellikle kısa süreli oksidan maruziyetlerinden sonra tükenir, ancak uzun süreli maruziyetlerden sonra yükselir. Dahası, Zhang vd. [109], orta düzeyde oksidatif stres sırasında GSH seviyelerinin artan sentez yoluyla adaptif bir mekanizma olarak artabileceğini bildirmiştir [110].

Birçok piretrin pestisit arasında deltametrinin, balık karbonik anhidraz enzimlerinin güçlü bir inhibitörü ve oksidatif hasara neden olduğu rapor edilmiştir. Benzer şekilde sipermetrinin de balıkların antioksidan mekanizmalarını bozduğu ve DNA hasarına neden olduğu belirtilmiştir [12].

1.7. Biyobelirteçlerin Önemi ve Toksikite Değerlendirmelerinde Kullanımı

Biyobelirteçler, herhangi bir toksik maddeye, kimyasala, kirleticiye veya herhangi bir yabancı parçacığa maruz kalma tepkisinin göstergeleridir. Biyobelirteçler, moleküler veya hücresel düzeyden topluluk veya ekosistem düzeyine kadar değerlendirilebilir. Bu biyobelirteçler, toksik maddenin maruz kalan organizma üzerindeki toksik etkilerini, örneğin nörolojilerindeki toksisitelerin davranış değişikliğine, histopatolojik, morfolojik, anatomik, fizyolojik, hematolojik ve biyokimyasal profillere yol açması gibi, önemli ölçüde ortaya çıkarabilir. Biyokimyasal parametreler, genellikle balıklar üzerindeki pestisitler, ağır metaller ve farmasötik ilaçlar da dahil olmak üzere farklı ekzojen bileşiklerin, toksik maddelerin ve kimyasalların toksik etkilerini değerlendirmek için kullanışlı biyobelirteçler olarak kullanılır. Farklı balık türlerine karşı farklı nesil sentetik piretrinler test edilmiştir ve neredeyse hepsi farklı düzeylerde biyokimyasal toksisiteye neden olmuştur; örneğin deltametrin, *Hypophthalmichthys molitrix*'te karaciğer, solungaçlar, kaslar, kan ve beyin dokularındaki toplam protein içeriğinde belirgin bir azalma, kan glikoz konsantrasyonunda belirgin bir artış ve serumdaki potasyum, sodyum, klorür, toplam bilirubin, albümin, üre, inorganik fosfat ve kolesterol konsantrasyonunda önemli değişiklikler dahil olmak üzere farklı biyokimyasal toksisitelere neden olmuştur [111]. Benzer şekilde aspartat aminotransferazlar, alanin aminotransferazlar, laktat dehidrogenazlar ve glutamat dehidrogenazlar gibi metabolik enzimlerin aktiviteleri ve tüm vücuttaki kortizol konsantrasyonu önemli ölçüde artmıştır [39].

Karaciğer, organizmanın homeostazının korunmasında önemli bir rol oynar. Trigliseritlerin (TG) de novo sentezi ve lipoprotein parçacıklarına dahil edilmesinin karaciğerde gerçekleştiği göz önüne alındığında, TG toksik hasarın ilerlemesini izlemek için yararlı olabilir [112]. Pestisitlere maruziyet sonrasında karaciğer hasarı riski oluşabilir çünkü bu bileşiklerin çoğu karaciğerde metabolize edilir (detoksifiye edilir veya biyoaktifleştirilir). Önceki deneysel çalışmalarda organofosfatlar, N-metilkarbamatlar ve piretroidler gibi pestisitlere maruziyetten sonra karaciğer biyokimya parametrelerinde değişiklikler bildirilmiştir [113-117]. Karaciğer enzimleri tamamen spesifik olmasa da serum düzeylerindeki artış aktif hepatoselüler hasarı yansıtabilir ve kronik pestisit maruziyetinin belirteçleri olarak değerli olabilir [118]. OP bileşikleri apoptozu indükleyebilmesine rağmen [119], hücre içi enzimlerin salınması için hücrelerin ölmesi gerekmez. Kısa süreli hipoksi veya toksik hasar, sitozolik enzimlerin çevredeki seruma sızmasına izin verecektir [120]. Lipid metabolizması da kombine toksik etkilerden etkilenir. Özellikle toplam kolesterol ve TG olmak üzere lipoproteinlerin artışı toksik hepatite özgü olarak tanımlanmıştır

[112, 121] ve bu nedenle her iki serum lipidi de karaciğer disfonksiyonu için yararlı belirteçler olabilir. Deneysel çalışmalar, belirli OP pestisitlerine maruz kaldıktan sonra daha yüksek lipid seviyeleri göstermiştir [115, 122-124]. Ayrıca pestisitlerin neden olduğu oksidatif stres karaciğer, beyin ve pankreas gibi organlara zarar vererek lipid, karbonhidrat ve protein metabolizmasında bozulmalara yol açabilir [116]. Mekanik olarak, lipid peroksidasyon ürünleri ve reaktif oksijen türlerinin artan seviyeleri mitokondriyal biyoenerjitiği bozabilir ve bunun sonucunda karaciğer fonksiyon bozukluğu ortaya çıkabilir [114, 125].

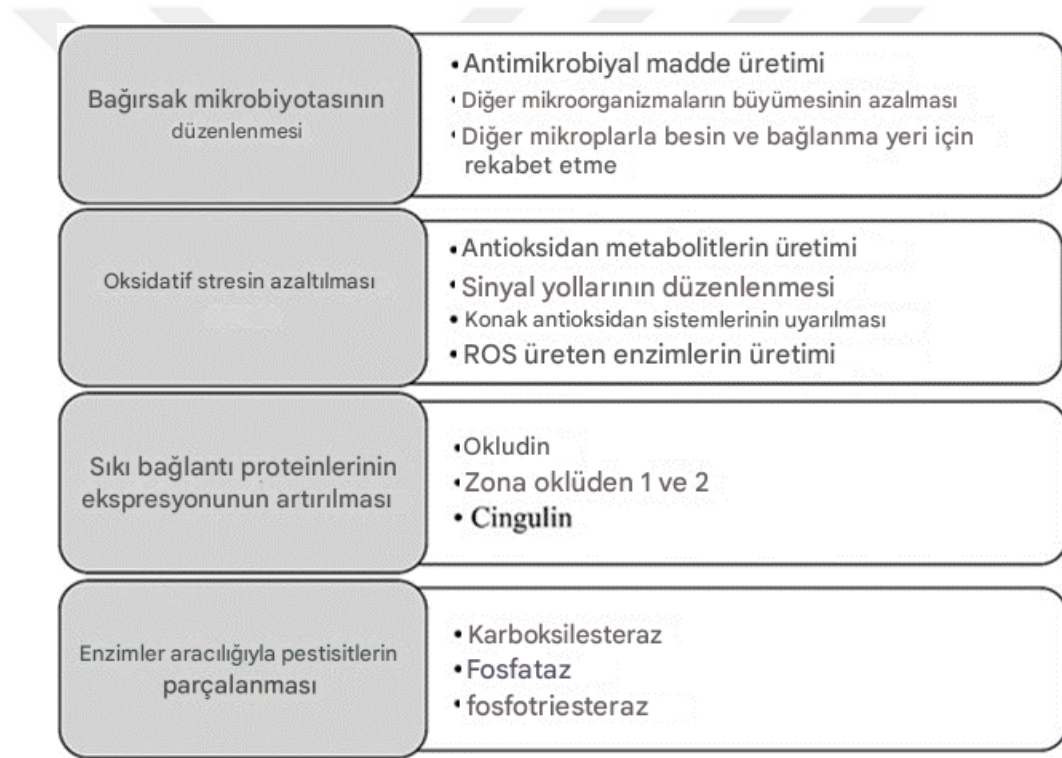
1.8. Balıklarda Probiyotik Destekli Koruma

FAO/WHO'ya göre probiyotikler, yeterli miktarda uygulandığında konakçıya sağlık açısından fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır [126-128]. *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Bacillus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Bacteroides*, *Akkermansia*, *Propionibacterium* ve *Saccharomyces* cinslerindeki çeşitli türler probiyotik olarak kabul edilmiştir [129]. Probiyotiklerin gastrointestinal bozukluklar, obezite, diyabet, laktoz intoleransı, hipertansiyon, farklı kanser türleri ve psikiyatrik bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli hastalık ve bozuklukların yönetiminde etkili olduğuna dair giderek artan kanıtlar bulunmaktadır [126, 130]. Bu etkililik, bağırsak mikroflorasını dengelemek, besin maddelerinin biyoyararlanımını artırmak ve bakteriyosinler, kısa zincirli yağ asitleri, ekzopolisakkaritler, enzimler ve vitaminler gibi çeşitli biyoaktif bileşiklerin üretimini artırmak yoluyla gerçekleşir [129, 131-133]. Son yıllarda probiyotikler, balık sağlığını iyileştirmek ve büyüme performansını teşvik etmek için su ürünleri yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır [134, 135]. Probiyotikler, yararlı bakterilerin büyümesini teşvik ederek, zararlı bakterileri azaltarak ve bağırsak mikroflorasını değiştirerek konakçıyı etkileyen canlı mikroorganizmalardır (canlı, ölü veya hücre bileşenleri). Böylece büyüme performansını iyileştirir ve bağışıklık tepkilerini artırır [136, 137]. Birçok çalışma, su türlerinin yetiştirilmesinde probiyotik kullanımının şu sonuçlara yol açabileceğini göstermiştir: i) su kalitesinde iyileşme; ii) büyüme performansında iyileşme [138]; iii) yemden yararlanmada iyileşme [139]; iv) bağışıklıkta iyileşme; v) hastalık direncinde artış [140]; vi) üretkenlikte artış [141]; vii) bağırsak mikrobiyotasında iyileşme [138, 142]; viii) ekonomik getiri karlarında artış [143, 144]; ix) besin metabolizmasında iyileşme [145]; x) bağışıklıkla ilişkili gen ifadesinde artış [146]. Su ürünleri yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan probiyotik türleri arasında *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp. ve *Saccharomyces* sp. yer almaktadır [147, 148]. Birçok çalışma, probiyotik bakterilerin balıkların büyüme performansını artırma, yem sindirimini iyileştirme, bağışıklık sistemini ve gen ifadesini geliştirme ve hastalıkları kontrol etmek için çevre dostu bir yol sağlama konusunda diyet takviyesi olarak olumlu bir rol oynadığını bildirmiştir [145, 147, 149-153]. Arghideh vd. [147] ve El-Kady vd. [149], probiyotik takviyelerinin protein sindirilebilirliğini iyileştirdiğini, bunun da balıklarda büyüme ve yem verimliliğinin artmasına yol

açtığını bulmuştur. Bu sonuçlar, protein sindirilebilirliğini artırarak besin maddelerinin emilimini iyileştiren, gerekli vitaminleri sağlayan ve amilaz ve proteaz aktiviteleri gibi sindirim enzimleri sağlayan ve balıkların gelişmiş büyümesini teşvik eden antibiyotik, vitamin ve büyüme destekleyicileri olarak kabul edilen probiyotiklerin yararlı etkilerine bağlanabilir [147, 154, 155]. Yapılan bir çalışmada, Hint sazanı *Labeo rohita*'nın diyetindeki probiyotiklerin (*Bacillus subtilis* + *Lactococcus lactis* ve *L. lactis* + *Saccharomyces cerevisiae*) bir kombinasyonunun fenvalerata maruz kalan balıklarda gecikmiş büyümeyi hafiflettiği bulunmuş, bu da probiyotiklerin gıda tüketimi üzerindeki uyarıcı etkileriyle ilişkilendirilmiştir [156, 157].

Ayrıca, probiyotiklerin ksenobiyotikleri detoksifiye edebildiği ve bu toksik maddelere bağlanarak ve enzimatik reaksiyonlar kullanarak toksisitesini engelleyebildiği vurgulanmıştır [132, 158, 159]. Probiyotiklerin mikotoksinlere, ağır metallere, polisiklik aromatik hidrokarbonlara, heterosiklik aromatik aminlere, nitrozaminlere ve pestisitlere karşı detoksifikasyon özellikleri son yıllarda yaygın olarak araştırılmıştır ve bu koruyucu aktivitenin suş tipi, ortam pH'ı, büyüme fazı, toksik madde yapısı ve konsantrasyonu gibi çeşitli faktörlere bağlı olduğu açıklanmıştır [160, 161]. Pestisit toksisitesinin azaltılmasında probiyotiklerin olası etki mekanizmaları Şekil 1.5'te sunulmuştur. Pestisitlerin parçalanması için en ekonomik yöntemlerden biri mikroorganizmaların kullanılmasıdır. Bakterilerin, biyoremediasyon olarak bilinen bir süreçte çevresel olarak kirlenmiş toprak ve sudaki pestisitleri parçalayabildiği ve bunları karbon, azot ve enerji kaynağı olarak kullanabildiği bildirilmiştir [162, 163]. Fermantasyon, pestisit seviyelerini azaltmada etkili bir yöntem olduğu bildirilen eski bir gıda hazırlama sürecidir. Đorđević vd. [164] tarafından yapılan bir çalışmada, buğday fermantasyonu sırasında *L. plantarum* tarafından pirimifos-metilin bozunumu değerlendirilmiş ve pestisit %81'inin *L. plantarum* tarafından bozulduğu ve pestisit bakteriyel büyümesini ve fermantasyon aktivitesini etkilemediği gösterilmiştir. Benzer şekilde, Đorđević vd. [165] yaptıkları başka bir çalışmada, öğütülmüş buğdayda *L. plantarum* tarafından fermantasyon sırasında bir piretrin insektisit olan bifentrinin bozulduğunu gözlemlemişlerdir. Bifentrinin karboksi ester bağının hidrolizi ile metabolize edildiği sonucuna varılmıştır. Organofosfat pestisitler, laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen fosfataz enzimi aracılığıyla parçalanır. Enzim, su varlığında organofosfat pestisitleri dialkil fosfata ve aril alkole dönüştürür. Karboksilesterazlar, fosfatazlar, fosfotriesterazlar ve organofosfat hidrolazlar dahil olmak üzere çeşitli enzimlerin, fosforik asit esterlerinin hidrolizi yoluyla organofosfat pestisitlerinin parçalanmasında rol oynadığı vurgulanmıştır. Hem asit hem de alkali fosfatazlar, çok çeşitli fosfat esterlerinin C-O-P bağımlı hidrolize ederek organofosfat pestisitlerini parçalayabilir [166-168]. Probiyotiklerin, organofosfor hidrolazlar, metil paration hidrolazlar ve organofosfor asit anhidrazlar gibi parçalayıcı aktivitelere sahip enzimlere kodlanan pestisit parçalayıcı genleri barındırdığı ve büyüme ortamında pestisit varlığında bu tür mikroorganizmalarda gen ifadesinin arttığı ortaya çıkarılmıştır [169]. Çalışmalar pestisitlerin

bağırsak mikrobiyotasıyla etkileşime girebileceğini, kısa zincirli yağ asitleri (SCFA), safra asitleri ve trimetilamin dahil olmak üzere bileşimini ve metabolitlerini değiştirebileceğini, farklı doku ve organların reseptör bölgelerini etkileyerek patolojik değişikliklere yol açan bağırsak mukozasını ve hücrelerini ortadan kaldıracabileceğini kanıtlamıştır [170]. Probiyotiklerin bağırsak disbiyozunun hafifletilmesinde ve çevresel kirlenmelerin iyileştirilmesindeki rolünü açıklayan çalışmalar bulunmaktadır [129, 171]. Probiyotiklerle takviye edilmiş diyetlerle beslenen sazan balığının (*Cyprinus rubrofasciatus* L.) seçilmiş organlarında pestisit klorpirifos ve detoksifikasyonunun tehlikeli etkisi araştırılmış ve yeniden beslemeden sonra hem kontrol hem de deney balıkları için bağırsak histopatolojisi incelenmiştir. Çalışma sonucunda hasarlı bağırsak dokularında iyileşme süreci ve probiyotik bakterilerin pestisit klorpirifosun neden olduğu toksifikasyonu kullanan probiyotik bakteri yoğunluğuna bağlı olarak hafifletebileceği bulunmuştur [172].



Şekil 1.5. Pestisit toksisitesinin azaltılmasında probiyotiklerin olası etki mekanizmaları [129].

Son çalışmalar probiyotiklerin antioksidan aktivitesi ve ilişkili mekanizmalar hakkında ışık tutmuştur. Probiyotiklerin süperoksit dismutazı kullanarak süperoksidi parçalayabildiği, glutatyon, bütirat ve folat gibi antioksidan metabolitler üretebildiği, konağın antioksidan sistemini uyarabildiği, sinyal yollarını (nükleer faktör kappa B (NF- κ B), mitogenle aktive olan protein kinazlar (MAPK) ve protein kinaz (PKC)) ve enzim üreten ROS'u (siklooksijenaz, NADPH oksidaz ve sitokrom P450) düzenleyebildiği ortaya çıkarılmıştır [129, 173, 174]. Wang vd. [174], probiyotik uygulamasının oksidatif stresin neden olduğu hasarı hafifletebileceğini bulmuşlardır.

Yaygın sazan balığı (*C. carpio*), genellikle tarım alanlarının yakınındaki toprak havuzlarda yetiştirilen en önemli çiftçilik türlerinden biridir [77, 78]. Bu nedenle, balıkların pestisitlere maruz kalması kaçınılmazdır. Pestisit kullanımını azaltmaya yönelik yasal kısıtlamalar, bu ksenobiyotiklerin çevresel etkisini etkili bir şekilde azaltabilse de balıkların biyolojik ve fizyolojik koşullarını iyileştirmek de pestisitlerin toksik etkilerini azaltmaya yardımcı olabilir [82, 175-178]. Detoksifikasyon ve antioksidan savunma sistemlerinin etkinliğini iyileştirmek ve oksidatif hasara karşı direnci artırmak için diyet takviyelerinin kullanımı dikkate alınması gereken stratejidir [179-182].

1.9. *Saccharomyces boulardii*'nin Biyolojik Koruyucu Rolü

Probiyotik mayalar, küçük boyutları, yüksek protein içerikleri ve düşük üretim maliyetleri nedeniyle su ürünleri yetiştiriciliğinde umut vaat eden bir yem takviyesidir [183-185]. *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, en çok çalışılan ve karakterize edilen mayalar arasında önemli bir yere sahiptir [186]. Taksonomik bir bakış açısından, *S. cerevisiae* türüne ait bir mayadır ve hem insanlarda hem de hayvanlarda çeşitli bağırsak iltihabı hastalıklarının önlenmesi ve tedavisi için dünya çapında kullanılmaktadır [174, 187-189], ancak suda yaşayan organizmalar üzerindeki etkileri hakkında çok az veri mevcuttur [190]. Son çalışmalar, bu probiyotiğin metabolik bozukluklar ve bağırsak enfeksiyonları veya karaciğer hasarından kaynaklanan inflamatuvar durumlar bağlamında yararlı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [191-193]. Üstelik probiyotikler, karaciğer hasarından sonra antioksidan savunmaları artırarak ve bağırsak mikrobiyotasını düzenleyerek redoks durumunu düzenler [174, 194-196]. Mocanu vd. [197], probiyotiklerin bir yetiştirme havuzundaki su organizmalarının hayatta kalma oranını nasıl artırabileceğini göstermişlerdir. Sibirya mersin balığı (*Acipenser baerii*) üzerinde sirkülasyonlu bir sistemde bir deney gerçekleştirilmiş ve *A. baerii*'nin diyeti *Saccharomyces boulardii* (FSB) ve *L. acidophilus* (Fla) ile ayrı ayrı ve birlikte desteklenmiştir. Fla+Fsb diyeti *A. baerii*'de kontrol diyetine göre daha yüksek büyüme performansı, daha yüksek yem dönüşüm oranı, güçlü bağışıklık ve daha yüksek hayatta kalma oranı ile sonuçlanmıştır [198]. Maricchiolo vd. [199], 300 mg/kg dozunda (21 günlük beslemeden sonra) uygulanan *S. cerevisiae* var. *boulardii*'nin, çipura balığının bağırsak mukozasını *V. anguillarum* enfeksiyonlarına karşı koruyabildiğini göstermiştir. Probiyotiklerle yapılan diyet takviyesinin ardından bağışıklık tepkisinin arttığı yaygın olarak belgelenmiştir [200, 201]. Probiyotiklerin balıkların tamamlayıcı sisteminin aktivitesinde artışa neden olduğu [202, 203] ve mayaların bu su organizmalarının bağışıklık tepkisini uyarabildiği bildirilmiştir. Probiyotiklerle yapılan diyet takviyesinin spesifik olmayan bağışıklık parametreleri üzerindeki etkileri genel olarak balık türü, gelişim aşaması, probiyotik suşu, dozaj, besleme süresi, yem bileşimi, takviye yöntemi ve/veya su sıcaklığı dalgalanmaları gibi belirli çevresel yetiştirme koşulları tarafından büyük ölçüde etkilenebilir [204, 205].

Maya hücreleri, çevre kirleticilerinin toksisitesini değerlendirmek için bir araç olarak önerilmiştir [206, 207]. Ayrıca araştırmacılar, *S. cerevisiae*'nin, Cu, Cr, Cd, Ni, Zn ve Pb gibi metallerin biyo-akümülatörü olabileceğini [208], farklı pestisitlere karşı afinite gösterdiği ve özellikle fungisitlerden kinoksifen [209] ve fenheksamidi [210] kısmen parçalayabileceği ve önemli ölçüde adsorbe edebileceğini bildirmişlerdir. Ek olarak, mayanın çeşitli piretrin pestisitlerini parçalayabileceği ve adsorbe edebileceği de rapor edilmiştir [211]. Vahşi tip mayaların, biyosensörler ve ksenobiyotik toksisitesinin ön değerlendirmeleri için geçerli bir araç olarak kullanılabilir oldukları da belirtilmiştir [212-214]. Probiyotiklerin pestisitler, ağır metaller ve aflatoxinler gibi çevresel toksinlerin emilimini önlediğini gösteren birkaç bilimsel çalışma bulunmaktadır [215, 216]. Çalışmalardan elde edilen sonuçlar, probiyotik kullanımının mikrobiyal enfeksiyonlara karşı ucuz ve güvenli bir koruma yöntemi olduğunu göstermektedir [217].

Probiyotiklerin mide asitlerine, safra tuzlarına ve çeşitli enzimlere karşı koruma sağlamak ve konak bağırsağına geçip kolonize olmak ve canlılığını sürdürmek için düzenli olarak tüketilmesi gerekir [218]. Birçok bilimsel çalışma, probiyotiklerin düzenli alımının vitaminlerin (örneğin K vitamini) biyosentezine, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonuna, konak bağışıklığını artırmaya (mukoza epitelindeki bağlanma yerleri için patojenik mikroplarla rekabet ederek) ve birçok alanda insan sağlığına katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur [219-222]. *Saccharomyces boulardii*, olağanüstü fizyolojik ve metabolik özelliklere sahip bir probiyotik mayadır. *S. boulardii* ile diyet takviyesinin, asetamiprid ve imidakloprid maruziyetinin neden olduğu hepatorenal hasar üzerinde karşıt bir etki gösterdiği; bunun da muhtemelen probiyotiklerin kontamine toksinlerin biyoyararlanımını azaltmasıyla bağlantılı olduğu öne sürülmüştür. *S. boulardii*'nin hepatorenal toksisiteyi hafifletme potansiyelini değerlendirmek için, böbrek ve karaciğer örneklerinde ölçülen asetamiprid ve imidakloprid kalıntı seviyesinde azalma olduğu ve asetamiprid maruziyet grubunda daha önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir [223]. Probiyotik içeren fermente ürünlerin kullanımı, vücuttaki toksinlerin detoksifikasyon sürecini hızlandırır. Detoksifikasyon mekanizmasını güçlendirmede probiyotiklerin rolü üzerine çok sayıda çalışma yapılmış olup, bu çalışmalar sonucunda probiyotiklerin olumlu etkileri ortaya konulmuştur. Detoksifikasyon amacıyla kullanılan birinci basamak probiyotikler LAB, *Bifidobacterium* sp. ve maya *Saccharomyces* (*S. cerevisiae* var. *boulardii*)'dir. Bu probiyotikler antioksidan sistemi güçlendirmedeki rollerinin yanı sıra zararlı maddelerin geçişini önleyerek de olumlu etkilerini göstermektedirler. Probiyotikler bağırsak hareketliliğini artırarak fiziksel bir bariyer oluşturmanın ve zararlı maddelerin atılımını hızlandırmanın yanı sıra salgıladıkları enzimler aracılığıyla vücuda alınan zararlı maddelerin metabolizmasını da hızlandırabilmektedir [224]. Yapılan bir çalışmada, asetamiprid ve imidaklopride maruz kalan gruplarda oksidatif stresle ilişkili DNA hasarı, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin (8-OHdG) seviyelerinde bir artışla meydana geldiği ve probiyotiklerle desteklenen

gruplarda bu hasarın nispeten düşmesi, probiyotiklerin oksidatif hasarı azaltabileceği konusunda kanıt oluşturmuştur [225].

Saccharomyces boulardii, Indo-Çin Yarımadası'nda yetiştirilen liçinin epidermisinden izole edilen bir mayadır. *Saccharomyces cerevisiae*'ye benzer ancak farklı bir çeşittir ve ayrıca sınıflandırması, metabolizması ve kalıtımı açısından da farklılık gösterir [226]. Çalışmalar, *S. boulardii*'nin vanilik asit, fenil etil alkol ve eritromisin antibakteriyel bileşikler üretebileceğini göstermiştir [227], bu da *S. boulardii*'nin antimikrobiyal metabolitleri hakkında yeni bir bakış açısı sunmaktadır. *S. boulardii*'nin kendi kendine agregasyon yeteneğinin ve hidrofobik özelliklerinin nispeten zayıf olmasını, ancak bu türün daha güçlü tolerans, antioksidan özellikler ve geniş antibakteriyel özellikler gösterdiği rapor edilmiştir. Hedefsiz metabolomikler, *S. boulardii*'nin organik asitler, amino asitler ve türevleri, fenolik asitler, alkaloidler, nükleozitler ve vitaminler dahil olmak üzere birçok birincil ve ikincil metabolit ve metabolik son ürün ürettiğini göstermiştir. Bu bileşiklerin çoğu gıda lezzetini artırır, antioksidan aktiviteyi iyileştirir, protein aktivitesini artırır, bakterileri inhibe eder ve antitümör etki gösterir. *S. boulardii* ve *S. cerevisiae*'nin metabolitleri karşılaştırılarak, aralarındaki farklılıklar belirlenmiş ve ortak metabolitlere ek olarak, *S. boulardii*'nin indol bileşikler, fenolik asitler, nükleozidler ve purin türevleri ürettiği, *S. cerevisiae*'nin ise organik asitler, amino asit türevleri, kolin ve benzenoid bileşikler ürettiği bulunmuştur [228].

Antioksidan aktivite en önemli ve ideal özelliklerden biridir çünkü önceki çalışmalar artrit, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı tümörlerin reaktif oksijen türlerinin üretiminden kaynaklandığını göstermiştir [34]. Birçok probiyotik güçlü antioksidan aktivite gösterir [229, 230] ve aynı durum *S. boulardii* için de geçerlidir. İlginç bir şekilde, *S. boulardii*'nin antioksidan kapasitesi yalnızca hücrenin kendisine değil, aynı zamanda fermantasyondan sonra antioksidan metabolitlere de yansımaktadır. *S. boulardii* kullanılarak fermente edilen pirinç kepeğinde, malign lenfomaların büyümesini engelleyebilen tokoferol, polifenoller, inositol hekzafosfat, nişasta olmayan polisakkaritler, orizanol ve fitosteroller içerdiği tespit edilmiştir [231]. Benzer şekilde, *S. boulardii* kullanılarak fermente edilen sebze suyunun fenolik bileşik içeriği ve antioksidan özellikleri de önemli ölçüde iyileştirilmiştir [232]. Bu çalışmalar, probiyotik işlevi nedeniyle oluşan *S. boulardii*'nin büyümesi sırasında potansiyel biyolojik aktiviteye sahip bileşikler üretmek için farklı substratların kullanılabileceğini göstermektedir [228]. *S. cerevisiae* ile *S. boulardii*'nin antioksidatif özelliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, *S. boulardii*'nin total fenolik içeriğinin *S. cerevisiae*'den 70 kat ve total flavonoid içeriğinin ise yaklaşık 20 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ek olarak, *S. boulardii*'nin daha fazla DPPH radikal süpürme aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, bu verileri *S. boulardii*'nin geniş antioksidatif özelliklere sahip olduğunu gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca içerdiği çeşitli polifenolik metabolitlerin [örneğin vanilik asit, sinnamik asit, fenil etil alkol, eritromisin ve piridoksin (B6 vitamini)]

antioksidatif özelliğine katkıda bulunduğunu varsaymışlardır [227]. Bir araştırma grubu, *Saccharomyces boulardii*'nin glikoz ve lipid homeostazını iyileştirdiğini [194], kardiyak inflamatuvar profili ve kardiyovasküler otonomik kontrolü [233] ve ayrıca hepatik RAS peptitlerini ve streptozotosin (STZ) diyabetli farelerin oksidatif stresini [195] düzenlediğini göstermiştir ve *Saccharomyces boulardii*'nin antioksidan potansiyelinin oksidatif stres faktörlerinin modülatörü olarak hareket edebileceğini belirtmişlerdir [234, 235]. Ayrıca, *S. boulardii*'nin lipopolisakkarit kaynaklı oksidatif strese karşı antioksidan enzimlerin aktivitelerini koruyabildiği tespit edilmiştir [236].

1.10. Tezin Amacı

Piretroid sınıfında olan deltametrin ve sipermetrin bir pestisit türü olup dünyada oldukça yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Bu piretroidlere maruziyet, organizmada oksidatif stres oluşturabilmektedir. Bununla birlikte, probiyotikler ise balıkların maruz kaldığı pestisitleri sahip oldukları ve balıklarda bulunmayan hidrolitik enzimlerle parçalarlar ve toksisitelerini inhibe edebilme potansiyeline sahiptirler. Ayrıca probiyotik maya türü olan *S. boulardii*'nin, antioksidan özellikteki polifenolik metabolitlere sahip olması, canlı sistemdeki antioksidan sisteme destek olması ve hem oksidatif stresin hem de toksik bileşiklerin inhibisyonu ile önemli özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalarda rapor edilmiştir. Böylece *S. boulardii*'nin, pretroidlerin toksik etkilerine karşı iyileştirici etkisinin olduğu varsayılmıştır. Yapılan literatür taraması ile elde edilen bilgiler ışığında, *S. boulardii*'nin sahip olduğu antioksidan ve probiyotik özellikleri ile deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin neden olduğu oksidatif strese ve toksik etkilere karşı, gerek direkt maruziyette ve gerekse balıkların bu pestisitlere maruziyetinde balıkların antioksidan savunma sistemlerinde ve biyokimyasal metabolizmalarında iyileştirici etkilerinin olabileceği umut ışığı olmuş ve tezin amacını oluşturmuştur. Ayrıca literatürde deltametrin ve sipermetrinin ayrı ayrı çalışmalarla sazan balıklarının oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemleri üzerine etkileri araştırılmış olmasına rağmen, bu pretroidlere karşı *in vitro* ortamda ve deltametrin ve sipermetrine maruz kalan sazan balıklarında probiyotik *S. boulardii*'nin etkilerinin araştırılmamış olması, literatüre katkı sağlaması tezin hedeflerinden biridir. Ek olarak, bu iki pretroidin etkilerinin bu tez kapsamında karşılaştırılacak olması açısından da oldukça önemlidir.

Bu doğrultuda tez çalışması, tek probiyotik maya türü olan *Saccharomyces boulardii*'nin hücre kültür ortamına (*in vitro* olarak) eklenen deltametrin ve sipermetrinin toksitelerine karşı biyokimyasal metabolik yanıtlarının ve probiyotik *S. boulardii* takviyesiyle beslenen aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarının, deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz kalması sonucu karaciğer ve kas dokularında meydana gelen biyokimyasal değişimlerinin araştırılması amacıyla planlanmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyaller

Saccharomyces boulardii CNCM I-745 maya hücreleri ticari olarak satılan liyofilize Reflor® (Biocodex 60000/Beauvais/Fransa) marka saşeler (Şekil 2.1) kullanılarak elde edilmiştir. Saşelerden %10'luk (w/v) stok hücre kültürü steril saf su ile hazırlanmış ve maya hücre ortamına ekim yapılmıştır [237].



Şekil 2.1. *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 (Reflor® saşe)

Deltametrin (Bayer, Kocaeli, Türkiye) ve sipermetrin (Hektaş Ticaret, Kocaeli, Türkiye) pestisitleri yerel bir tarım ilaçları satıcısından satın alınmıştır. Pestisitlerden stok çözeltiler steril şartlarda hazırlanmış (Şekil 2.2) ve deney sürecinde kullanılmıştır.



Şekil 2.2. Deltametrin ve sipermetrin pestisitleri ve hazırlanan stok çözeltileri

Aynalı sazan (*Cyrinus carpio* L.) balıkları Elâzığ İl Tarım ve Orman Müdürlüğü bünyesinde Keban Su Ürünleri Üretim Tesisinden temin edilmiştir (Şekil 2.3). Balıkların beslenmesinde ticari olarak satılan balık yemleri kullanılmıştır.



Şekil 2.3. Sazan balığı (*Cyrinus carpio* L.)

2.2. *Sacharomyces boulardii* maya kültür koşulları ve deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin eklenmesi ile oluşturulan *in vitro* deneysel tasarım

Maya kültür ortamları olarak maya ekstraktı, pepton ve dekstroza (YPD) (%2 glukoz, %2 pepton ve %1 maya ekstraktı) kullanılmıştır. Kültür ortamları ekim yapılmadan önce 121°C’de 20 dakika otoklavlanmıştır. Steril koşullarda *S. boulardii* CNCM I-745 maya hücrelerinin stok solüsyonundan (%10, w/v) [237] 1 mL tüm gruplara ve pestisitlerin stok çözeltilerinden ise 50, 100 ve 200 µg/L [238], 200 mL’lik kültür ortamlarına eklenmiştir. Böylece kontrol, deltametrin 50 µg/L, deltametrin 100 µg/L, deltametrin 200 µg/L, sipermetrin 50 µg/L, sipermetrin 100 µg/L ve sipermetrin 200 µg/L olmak üzere 7 grup (n=5) oluşturulmuştur (Tablo 2.1). Maya hücreleri 30 °C’de [237, 239] 72 saat inkübe edilmiştir.

Tablo 2.1. *Sacharomyces boulardii*’nin kültür ortamına deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin eklenmesi ile oluşturulan gruplar

Gruplar	Doz	Kısaltma	n
Kontrol	-	K	5
Deltametrin	50 µg/L	D50	5
Deltametrin	100 µg/L	D100	5
Deltametrin	200 µg/L	D200	5
Sipermetrin	50 µg/L	S50	5
Sipermetrin	100 µg/L	S100	5
Sipermetrin	200 µg/L	S200	5
Toplam (N)			35

2.3. Maya hücre peletleri ve süpernatantların elde edilmesi

İnkübasyon süresi sonunda hücre peletleri toplanmadan hemen önce ortamların absorbans değerleri 600 nm’de okunmuştur. Daha sonra her bir kültür ortamı 10.000 rpm’de (+4°C) 10 dakika süreyle santifüjlenerek hücre peletleri toplanmıştır. Elde edilen hücre peletlerinin yaş ağırlıkları hassas terazi ile ölçülmüştür. Hücrelerden arındırılan kültür sıvıları pestisit kalıntısı tayini için kullanılmıştır. *S. bouldarii* maya hücre peletleri 20 mM Tris-EDTA (pH=7,4) tamponu eklenerek homojenize edilmiş ve daha sonra 10.000 rpm’de (+4°C) 10 dakika süreyle santifüjlenerek süpernatant elde edilmiştir. TRIS-EDTA (pH=7,4) tamponu ile elde edilen homojenatlardan total protein, malondialdehit (MDA), indirgenmiş ve redükte glutatyon (GSH-GSSG) miktarları ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-s-transferaz (GST) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Yağ asitleri ve lipofilik molekül analizleri için, hücre peletleri 3/2 (v/v) oranında hekzan/izopropil alkol ile homojenize edilmiş ve 10.000 rpm’de (+4°C) 10 dakika süreyle santifüjlenerek HIP süpernatantı elde edilmiştir [240].

2.4. Aynalı sazanların (*Cyprinus carpio* L.) akvaryum ortamına adaptasyonlarının sağlanması, probiyotik uygulanması ve pestisitlerinin eklenmesi ile oluşturulan *in vivo* deneysel tasarım

Çalışma için F. Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan etik izin (Oturum Tarihi: 16.03.2022, Oturum Sayısı: 2022/05) alınmıştır.

Elâzığ İl Tarım ve Orman Müdürlüğü bünyesinde Keban Su Ürünleri Üretim Tesisinden temin edilen sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıkların boyları 9-13 cm, ağırlıkları ise 18-35 g olarak belirlenmiştir. Balıklar, deney başlamadan önce 15 gün boyunca [241] ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

Sazan balıkları rastgele kontrol, *S. bouldarii*, Deltametrin, Deltametrin+ *S. bouldarii*, Sipermetrin ve Sipermetrin+ *S. bouldarii* gruplarına ayrılmıştır. Her grupta iki tekrar akvaryum ve akvaryum başına 7 balık olacak şekilde kültüre alınmıştır (Tablo 2.2). Sazan balıklarının adaptasyon ve deney süreci boyunca yaşadıkları akvaryum ortamı Şekil 2.4’te sunulmuştur. Deney sürecine başlamadan önce balıkların ilk ağırlıkları ölçülmüştür. Balıkların ağırlık ölçümleri Şekil 2.5’te, boy ölçümleri ise Şekil 2.6’da gösterilmiştir. Balıklar, vücut ağırlıklarının %1’i oranında günde iki kere olmak üzere 30 gün boyunca yemlenmiştir. Deney süresi boyunca yapılan çalışmalar ile deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin LD50 değerlerinin 1/10’u olarak belirlenen dozlar kullanılmış ve DM ve DMSb gruplarındaki balıklar 20,21 mg/L deltametrine [49], SM ve SMSb gruplarındakiler ise 4,134 µg/L sipermetrine [66] maruz bırakılmıştır. Sb, DMSb ve SMSb gruplarındaki balık yemleri, yem miktarlarının %1’i kadar *S. bouldarii* CNCM I-745 probiyotiği ile takviye edilmiştir. Kontrol, DM ve SM grupları ise probiyotik takviyesiz yem ile beslenmiştir. Deney süresi boyunca su kalite parametreleri (Sulmille AZ-86031, Water Quality Meter) ölçülmüş

(Şekil 2.7) ve ortalama olarak su sıcaklığı 18-19°C, oksijen miktarı 6,2, pH 8,05 ve iletkenlik 0,40 olarak belirlenmiştir. Fotoperyot 12:12 saat olarak ayarlanmıştır. Balıkların deney süreci boyunca akvaryum ortamları iki günde bir temizlenmiş ve pestisit miktarları tazelenmiştir.

Tablo 2.2. Aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarına uygulanan probiyotik *S. boulardii* ve pestisitler ile oluşturulan gruplar

Gruplar	Kısaltma	n
Kontrol	K	14
<i>S. boulardii</i>	Sb	14
Deltametrin	DM	14
Deltametrin + <i>S.boulardii</i>	DMSb	14
Sipermetrin	SM	14
Sipermetrin + <i>S.boulardii</i>	SMSb	14
Toplam (N)		84



Şekil 2.4. Sazan balıklarının adaptasyon ve deney süreci boyunca yaşadıkları akvaryum ortamı



Şekil 2.5. Sazan balıklarının tartımı



Şekil 2.6. Sazan balıklarının boy ölçümleri



Şekil 2.7. Su kalite parametreleri ölçüm cihazı

2.5. Aynalı sazanlardan (*Cyprinus carpio* L.) karaciğer ve kas dokularının ve dokulardan süpernatantların elde edilmesi

30 günlük deneysel uygulama işlemleri tamamlandıktan sonra balıkların son ağırlıkları ölçülmüştür. Daha sonra 100 mg/L karanfil yağı [242] uygulaması ile balıklara anestezi işlemi gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.8). Anestezik koşullar altında balıklar etik kurallara uyularak dekapite edilmiş, karaciğerleri ile tüm vücut kasları alınmıştır. Balıkların karaciğer ve kas dokuları etiketleme ve paketlemeleri yapılarak biyokimyasal analizleri yapılana kadar -70°C’de dondurulmuştur (Şekil 2.9).

Sazan balıklarının karaciğer ve kas dokuları 20 mM Tris-EDTA (pH=7,4) tamponu eklenerek homojenize edilmiş ve daha sonra 10.000 rpm’de (+4°C) 10 dakika süreyle santifüjlenerek süpernatant elde edilmiştir. TRIS-EDTA (pH=7,4) tamponu ile elde edilen homojenatlardan total protein, malondialdehit (MDA), indirgenmiş ve redükte glutatyon (GSH-GSSG) miktarları ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon-s-transferaz (GST) enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Yağ asitleri ve lipofilik molekül analizleri için, karaciğer ve kas dokuları 3/2 (v/v) oranında hekzan/izopropil alkol ile homojenize edilmiş ve 10.000 rpm’de (+4°C) 10 dakika süreyle santifüjlenerek HIP süpernatantı elde edilmiştir [240].



Şekil 2.8. Sazan balıklarının karanfil yağı ile anestezik koşullar altına alınması



Şekil 2.9. Sazan balıklarının dekapitasyon işlemi sonrası karaciğer ve kas dokularının gruplara göre paketlenmesi

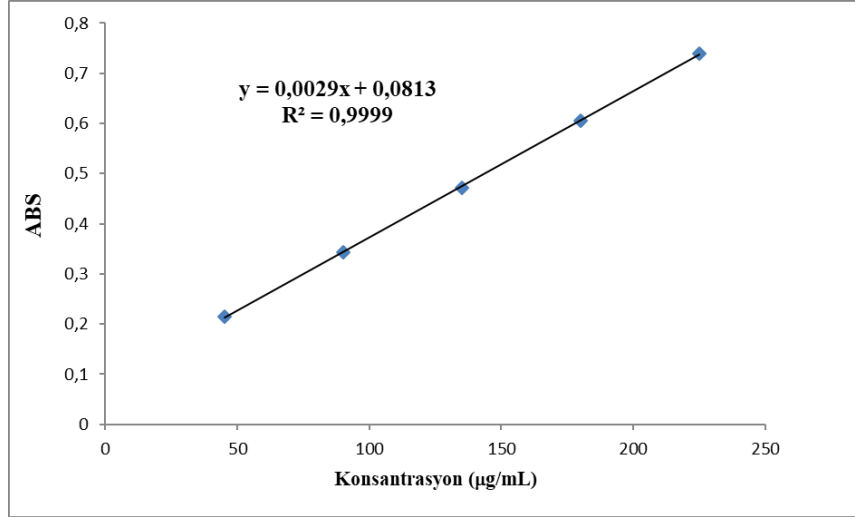
2.6. Sazan balıklarının ağırlık kazanç ölçümü

Deneye başlamadan hemen önce balıkların ilk ağırlıkları ve deney sonunda son ağırlıkları ölçülmüş ve ağırlık kazanımı (%) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\text{Ağırlık kazanımı (\%)} = \frac{(\text{son ağırlık} - \text{ilk ağırlık})}{\text{ilk ağırlık}} \times 100$$

2.7. Total protein tayini

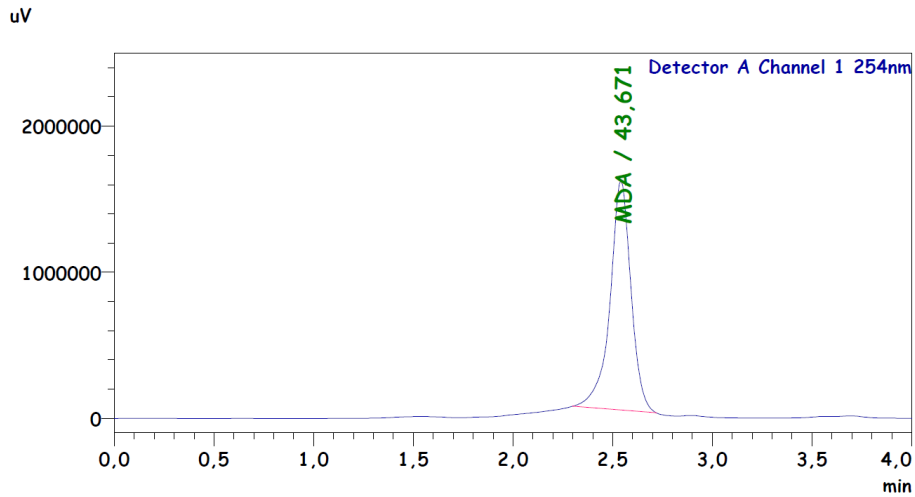
Total protein miktarı, Lowry vd. [243] tarafından bildirilen yönteme göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Lowry çözeltisi eklendikten ve 10 dakika beklendikten sonra, elde edilen örneğe 1:1 (v/v) oranında suyla seyreltilmiş bir Folin Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. 30 dakikalık bir sürenin ardından, örneklerin absorbansı, 660 nm dalga boyunda blank ile karşılaştırılarak okunmuştur. Sonuçlar, standart olarak serum albümini kullanılarak çizilen kalibrasyon eğrisi (Şekil 2.10) ile hesaplanmış ve mg/g olarak verilmiştir.



Şekil 2.10. Total protein ölçümü için kullanılan bovin serum kalibrasyon grafiği

2.8. 8.HPLC ile manoldialdehit (MDA) tayini

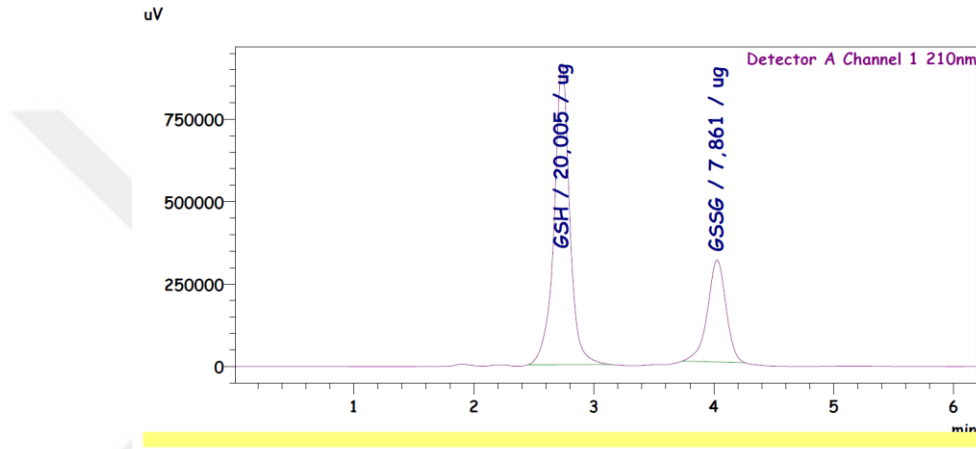
2 ml süpernatant üzerine 2 mL perklorik asit (1:1, v/v) eklenerek proteinlerin çökmesi sağlanmış ve +4 C'de 6000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Daha sonra, her numuneden 1 mL otosampler viallerine alınarak ve Prominence I LC-2030C3D plus HPLC cihazında analiz gerçekleştirilmiştir. Analiz için mobil faz olarak 30 mmol KH₂P0₄ ve metil alkol (%82,5-17,5, pH=4) karışımı ve bir ODS-3 (15x4,6; 5 µm) kolonu kullanılmıştır [244]. Mobil faz akış hızı 1 mL/dk ve PDA dedektörünün dalga boyu 254 nm olarak belirlenmiş ve hesaplamalar Lab Solutions LC/GC 5.97 işletim programı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile yapılmıştır (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. MDA miktarının belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı

2.9. HPLC ile redükte ve okside glutatyon (GSH ve GSSG) tayini

2 mL süpernatant çözeltisi üzerine 2 mL perklorik asit (1:1, v/v) eklenerek proteinlerin çökmesi sağlanmış ve +4 C’de 6000 rpm’de santrifüj yapılmıştır. Daha sonra, her numuneden 1 mL otosampler viallerine alınarak ve Prominence I LC-2030C3D plus HPLC cihazında analiz gerçekleştirilmiştir [245]. Analiz için mobil faz olarak 50 mM (%0,1 H₃PO₄) NaClO₄ tamponu ve ODS-3 (15x4,6; 5 µm) kolonu kullanılmıştır. PDA dedektörünün dalga boyu 215 nm olarak belirlenmiş, standart karışımlardan hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre Lab Solutions LC/GC 5.97 işletim programı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile hesaplama yapılmıştır (Şekil 2.12).



Şekil 2.12. GSH-GSSG miktarlarının belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı

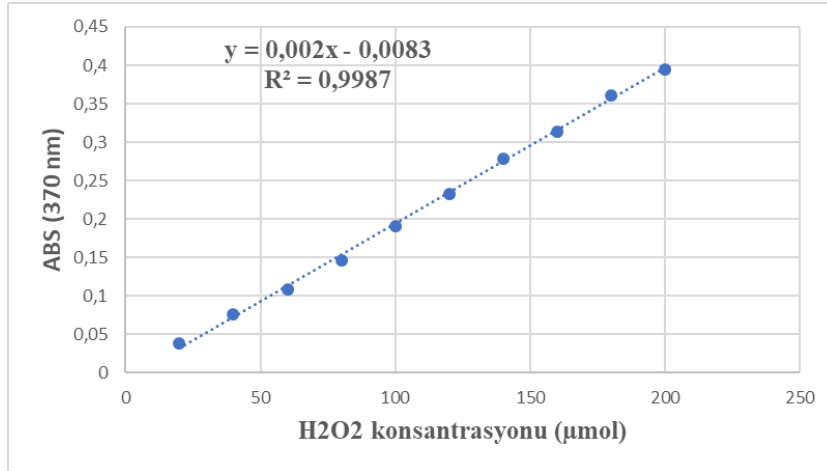
2.10. Süperoksit dismutaz (SOD) (EC 1.15.1.1) aktivitesi

Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi, Sun vd. [246] tarafından önerilen yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. 0,3 mM Xantin, 0,6 mM EDTA, 150 µg/L NBT, 400 mM Na₂CO₃ ve 1 g/L Bovine serum albumin bir araya getirilerek hazırlanan reaktife, 100 µL homojenat ve 50 µL 167 U/mL Xantin oksidaz (XO) enzimi eklenmiştir. 25°C’de 20 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 100 µL 10 mmol CuCl₂ ilave edilmiş, daha sonra %8’lik MPA ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Blanko karşı 560 nm ‘de absorbanslar okunmuştur. Enzim aktivitesinin U/g olarak hesaplanmıştır.

2.11. Katalaz (CAT) (EC 1.11.1.6) aktivitesi

Katalaz (CAT) enzim aktivitesi Korolyuk vd. [247] yöntemine göre test edilmiştir. 0,05 M/L Na-K fosfat tamponu (pH=7,4) içinde 20 mM H₂O₂ seyreltilmiş ve tüplere alınan 100 µL homojenatın üzerine ilave edilerek reaksiyon başlatılmıştır. 3 dakika 37°C’de inkübe edilmiştir. Daha sonra enzim aktivitesini durdurmak amacıyla 4 mL 32,4 mmol/L amonyum molibdat ilave

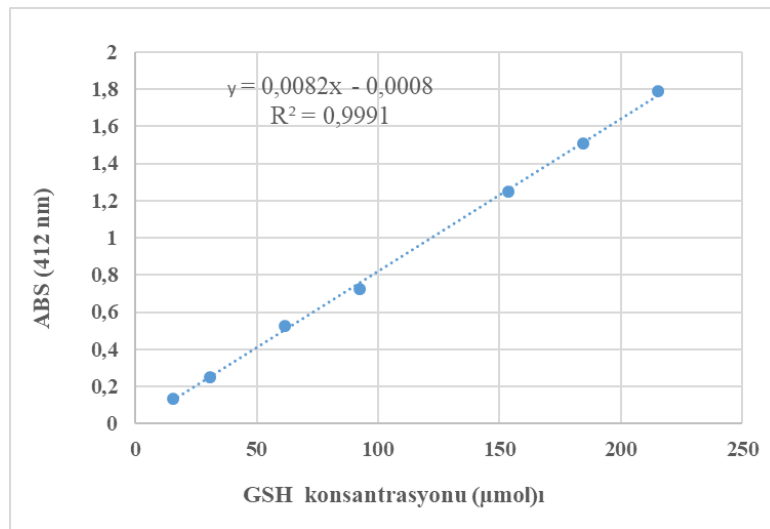
edilmiştir. Absorbanslar blanka karşı 374 nm'de okunmuştur. Sonuçlar H₂O₂ konsantrasyonlarıyla oluşturulan kalibrasyon eğrisi (Şekil 2.13) ile hesaplama yapılarak U/dk/g olarak bulunmuştur.



Şekil 2.13. CAT enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan H₂O₂ kalibrasyon grafiği

2.12. Glutatyon peroksidaz (GPx) (EC 1.11.1.9) aktivitesi

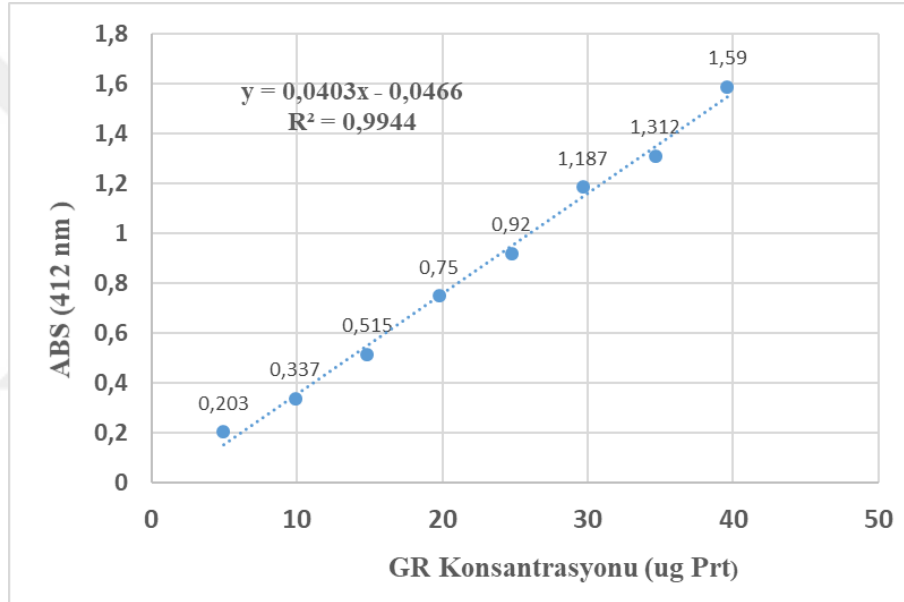
Glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesi, 2,9 mL 0,1 M Na-K tamponu (pH= 7,0), 100 μL hücre homojenatı, 200 μL 4 mM GSH ilave edildikten sonra 1 dakika bekletilmiştir. Karışım içine 200 μL 2 mM H₂O₂ ilave edilerek 37°C'de reaksiyon başlatılmıştır. 10 dakika sonra karışım içine %8'lik MPA ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. 100 μL DTNB ilave edilerek ortamdaki GSH ile DTNB (5,5'-ditiyobis-2- nitrobenzoik asit)'nin reaksiyonu sonucunda oluşan GSTNB ve TNB sarı renkli ürünler 412 nm'de spektrofotometrede ölçülmüştür. Sonuçlar GSH standardı kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi (Şekil 2.14) ile hesaplama yapılarak U/dk/g olarak bulunmuştur [248-250].



Şekil 2.14. GPx enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan GSH kalibrasyon grafiği

2.13. Glutasyon redüktaz (GR) (EC 1.6.4.2) aktivitesi

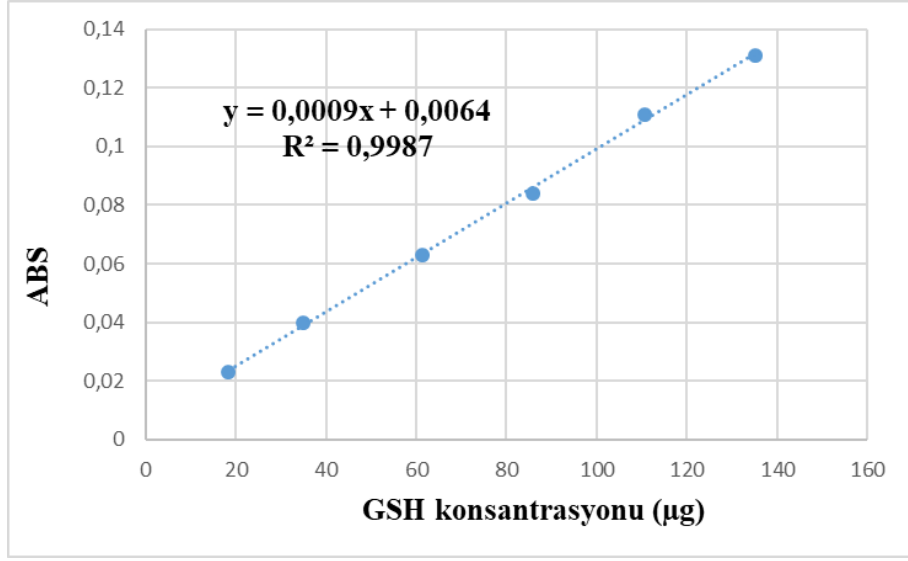
Glutasyon redüktaz (GR) enzim aktivitesi, Smith vd. [251] test edilmiştir. 2,9 mL 0,1 M Na-K tamponu (pH=7,2), 100 µL hücre homojenatı, 200 µL 4 mM GSSG ilave edildikten sonra 1 dakika bekletilmiştir. Karışım içine 200 µL 3 mM NADPH ilave edilerek 37°C’de reaksiyon başlatılmıştır. 10 dakika sonra karışım içine %8’lik MPA ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Son olarak 100 µL DTNB ilave edilerek ortamdaki GSH ile DTNB (5,5’-ditiyobis-2- nitrobenzoik asit)’nin reaksiyonu sonucunda oluşan GSTNB ve TNB sarı renli ürünler 412 nm’de spektrofotometrede ölçülmüştür. Sonuçlar GR enzim konsantrasyonuna göre oluşturulan kalibrasyon grafiği (Şekil 2.15) ile hesaplama yapılmış ve GR enzim miktarı µg protein/dk/pelet olarak bulunmuştur.



Şekil 2.15. GPx enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan GR kalibrasyon grafiği

2.14. Glutasyon-S-transferaz (GST) (EC 2.5.1.18) aktivitesi

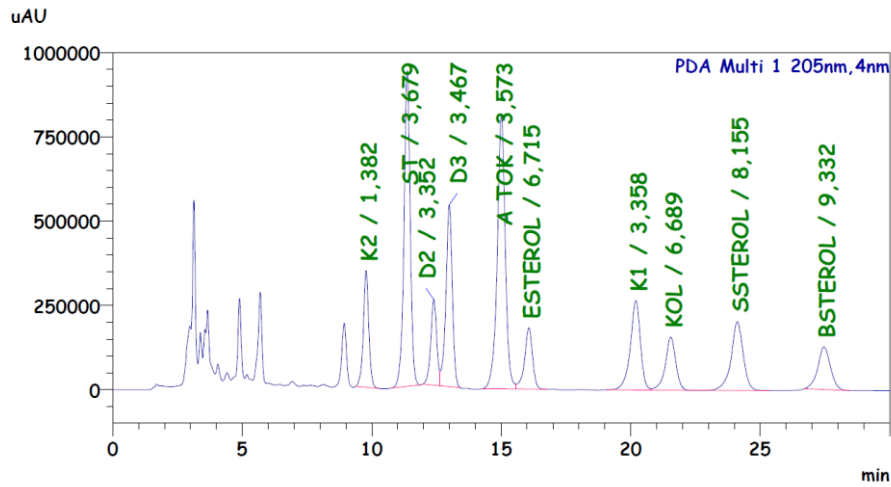
Glutasyon s-transferaz (GST) enzim aktivitesi, 2,9 mL 0,1 M Na-K tamponu (pH= 6,5), 100 µL hücre homojenatı, 200 µL 4 mM GSH ilave edildikten sonra 1 dakika bekletilmiştir. Karışım içine 50 µL 100 mM CDNB ilave edilerek 37°C’de reaksiyon başlatılmıştır. 10 dakika sonra karışım içine %8’lik MPA ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. CDNB konjugatı oluşturmayan GSH miktarı DTNB (5,5’-ditiyobis-2- nitrobenzoik asit)’nin reaksiyonu sonucunda oluşan GSTNB ve TNB sarı renli ürünler 412 nm’de spektrofotometrede ölçülmüştür. Sonuçlar GSH standardı kullanılarak oluşturulan kalibrasyon eğrisi (Şekil 2.16) ile hesaplama yapılarak U/dk/pelet olarak bulunmuştur [249, 250, 252].



Şekil 2.16. GST enzim aktivitesi ölçümü için kullanılan GSH kalibrasyon grafiği

2.15. HPLC ile lipofilik molekül içeriğinin belirlenmesi

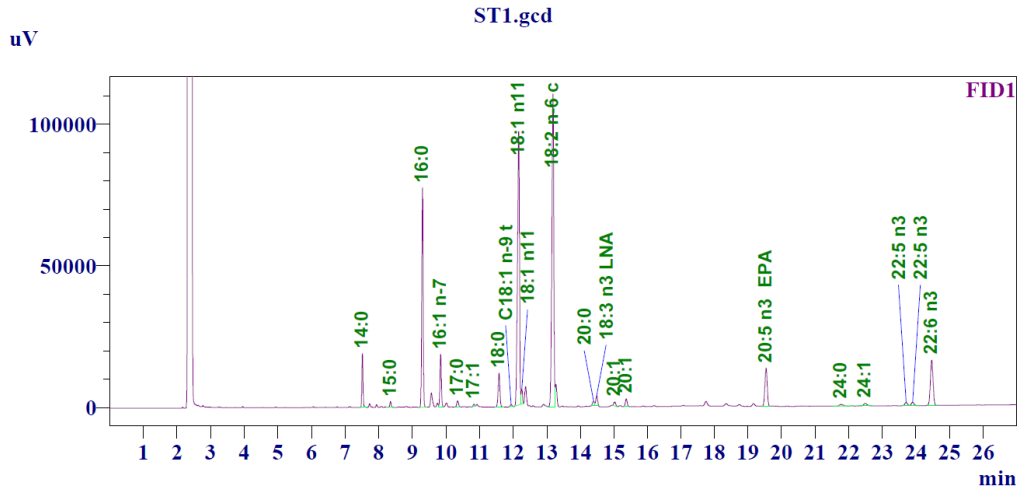
Hücre peletlerinin HIP süpernatantlarına %10 KOH (metanolik) eklenerek karıştırılmış, 85°C'de 15 dakika bekletildikten sonra distile su ilave edilerek karıştırılmıştır. Sabunlaştırılmamış lipofilik moleküller, n-heksan ile ekstrakte edilmiş ve hekzan fazı nitrojen gazı altında buharlaştırılmıştır. Kalıntı 1 mL mobil faz karışımı asetonitril/metanol (%75+%25, v/v) içinde çözündürülmüş ve otosamler viallerine alınmıştır. Analizde mobil faz akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlanmış, PDA dedektörü ve kolon olarak Nucleodur C18 (150 mm x 4,6 mm i.d., 5 µm MN, Germany) kullanılmıştır. Analizler 205 nm dalga ve 326 nm boyunda gerçekleştirilmiştir [253, 254]. Sonuçlar Lab Solutions LC/GC 5.97 işletim programı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile hesaplanmıştır (Şekil 2.17).



Şekil 2.17. Lipofilik moleküllerin belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı

2.16. GC ile yağ asit kompozisyonunun belirlenmesi

Hücre peletlerinin HIP süpernatantları ile Gaz kromatografisi cihazında yağ asitlerinin analizinin yapılabilmesi için metil esterleri hazırlanmıştır. Yağ asidi metil esterlerinin hazırlanması için elde edilen HIP süpernatantları üzerine %2 metanolik H₂SO₄ ilave edilmiş ve vortekslenmiştir. 12 saat 55°C'de metilasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda %5'lik NaCl ilave edilmiş ve oluşan yağ asiti metil esterleri, n-hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Hekzan fazı 45°C'de ve nitrojen gazı akımı altında buharlaştırılmış ve kalıntı 1 mL kloroform içinde çözündürülmüş [255] ve otosamler viallerine alınmıştır. Metil esterlerinin analizinde Shimadzu GC 2010 Plus gaz kromatografi cihazı kullanılmıştır. Analiz için Rxt-2330 GC kolonu (Supelco, Sigma, USA) kullanılmış ve analiz sırasında kolon sıcaklığı 133-215°C, enjeksiyon sıcaklığı 245°C ve dedektör sıcaklığı 285°C olarak programlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum gazı kullanılmıştır. Yağ asidi metil esterlerinin % miktarları Lab Solutions LC/GC 5.97 işletim programı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile hesaplanmıştır (Şekil 2.18).



Şekil 2.18. Yağ asitlerin belirlenmesi için kullanılan standart kromatogramı

2.17. HPLC ile pestisit kalıtı tayini

Filtre edilmiş kültür sıvıları, içindeki deltametrin ve sipermetrin kalıntılarını ölçmek için 5 ml konik yapılı santrifüj tüpüne alınmış ve üzerine 1,25 mL metanol ve 300 µL kloroform karışımı ilave edilerek tüp içinde su/metanol/kloroform fazının oluşması sağlanmıştır. Karışım 30 saniye süreyle vortekslenerek sulu fazdaki analitlerin organik solvent fazına geçmesi sağlanmıştır. Karışım 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve organik fazdaki partiküllerin ayrılması sağlanmıştır. Daha sonra kloroform fazı ayrılmış ve kloroform fazı oda sıcaklığında nitrojen gazı akışı altında uçurulmuştur. Kalıntılar 500 µL asetonitril içinde çözünerek otosamplere alınarak HPLC – PDA sistemine 20 µL enjeksiyon yapılmıştır. Pestisitlerin ayırma işlemi, oda

sıcaklığı şartlarında Waters Atlantis T3 (150 mm x 4,6 id., 5 µm) kolonu kullanılarak yapılmıştır. Kromatografik analizde, mobil faz olarak Asetonitril-Su (%72:28, v/v) izokratik karışımı kullanılmıştır. Mobil faz akış hızı 1 mL/dk ve PDA dedektör dalga boyu 225 nm olarak ayarlanmıştır. Hesaplamalar Lab Solution 5.97 SP1 işletim programı (Shimadzu, Kyoto, Japonya) ile yapılmıştır [256].

Sacharomyces boulardii CNCM I-745 maya hücrelerinin kültür ortamlarına eklenen pestisitleri detoksifiye etme oranları (%) aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

Detoksifikasyon (%) = 100- [(son pestisit miktarı * 100) / ilk pestisit miktarı]

2.18. İstatistiksel analiz

Verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistics 22 versiyon paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmaları yapmak için tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) testi post hoc Tukey (HSD) kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık P<0,05 olarak kabul edilmiştir. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. *S. bouldardii* Gruplarına Ait Hücre Kültür Sıvılarının 600 nm'deki Absorbans Değerleri ve Hücre Peletlerin Yaş Ağırlıkları

Hücre kültür ortamlarına *S. bouldardii* maya hücresi ekimi ve deltametrin ve sipermetrin pestisitleri eklenerek oluşturulan gruplar 30°C'de 72 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra hücre yoğunluğunun belirlenmesi amacıyla kültür ortamlarının 600 nm'de absorbans değerleri ölçülmüş ve grup ortalamaları Tablo 3.1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre en yüksek absorbans değeri S50 grubunda ($2,36 \pm 0,02$), en düşük absorbans değeri ise D100 grubunda ($2,24 \pm 0,01$) olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). Bununla birlikte, diğer grupların absorbans değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$).

Tablo 3.1. *S. bouldardii* gruplarına ait hücre kültür sıvılarının 600 nm'deki absorbans değerleri ve peletlerin yaş ağırlıkları

Gruplar	ABS (600 nm)	Pelet Yaş Ağırlık (g)
K	$2,30 \pm 0,01^{ab}$	$1,45 \pm 0,02^a$
D50	$2,27 \pm 0,01^{ab}$	$1,38 \pm 0,03^{ab}$
D100	$2,24 \pm 0,01^b$	$1,32 \pm 0,03^b$
D200	$2,29 \pm 0,05^{ab}$	$1,31 \pm 0,03^b$
S50	$2,36 \pm 0,02^a$	$1,35 \pm 0,03^{ab}$
S100	$2,33 \pm 0,01^{ab}$	$1,35 \pm 0,02^{ab}$
S200	$2,34 \pm 0,01^{ab}$	$1,42 \pm 0,03^{ab}$

^{a, b}: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P < 0,05$).

Kültür sıvılarından arındırılmış hücre peletlerinin yaş ağırlıkları ölçülmüş ve grup ortalamaları g pelet olarak Tablo 3.1'de verilmiştir. Sonuçlara göre kontrol grubu ($1,45 \pm 0,02$) en yüksek ve D100 ($1,32 \pm 0,03$) ve D200 ($1,31 \pm 0,03$) grupları ise en düşük değerlere sahip olmuştur ($P < 0,05$). Diğer grupların pelet yaş ağırlıkları arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$).

3.2. *S. bouldardii* Gruplarına Ait Total Protein Miktarı

S. bouldardii mayalarının yetiştirilme ortamına deltametrin (DM) ve sipermetrin (SM) pestisitleri üç farklı dozda (50, 100 ve 200 µg/L) eklenmiş ve hücre peletlerinin total protein miktarları ölçülmüştür. *S. bouldardii* mayalarının peletlerinden elde edilen total protein miktarı Tablo 3.2'de mg/g pelet olarak verilmiştir. Sonuçlara göre kontrol grubu ($1,88 \pm 0,05$) ile karşılaştırıldığında DM ve SM eklenmiş grupların total protein miktarlarında azalma gözlenmiştir ($P < 0,05$). SM gruplarında doza bağlı olarak ölçülen protein miktarları daha düşük ve en düşük miktarın ise S200 grubunda ($0,89 \pm 0,03$) olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte, D50 ($1,16 \pm 0,04$) ve

D200 (1,16±0,15) gruplarının total protein miktarlarının aynı olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, DM ve SM gruplarının total protein miktarları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).

Pestisit eklenmiş tüm gruplarda protein miktarının azalmasına yönelik DM ve SM'nin mayaların protein üretimini doza bağlı olarak inhibe ettiği söylenebilir. Ayrıca SM'nin protein üretimini baskılama etkisinin DM'den fazla olduğu gözlenmiştir. SM toksisitesinin, *Tor putitora*'da kas, solungaç, beyin ve karaciğerde [257], DM toksisitesinin kahverengi alabalığın (*Salmo trutta fario*) beyin dokusunda [258] toplam protein içeriğinin azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir.

Maya hücrelerinin ürettikleri proteinler biyoteknolojik açıdan önemlidir. *S. cerevisiae* tarafından, terapötik amacıyla medikal alanda biyoteknoloji kullanılarak heterolog proteinler üretilir. Şirketler *S. cerevisiae*'yi kullanarak özellikle diyabetik ülserleri ve çeşitli rahatsızlıkları tedavi etmek için kullanılan çeşitli rekombinant proteinleri üretmektedirler [259, 260]. Ayrıca, birkaç araştırmacı *S. boulardii*'nin RNA stabilizasyonunu sağlayan dolayısıyla büyümeyi ve protein sentezini destekleyen poliaminler salgıladığını rapor etmişlerdir [261, 262].

Tablo 3.2. *S. boulardii* peletlerinden elde edilen total protein, MDA, GSH ve GSSG miktarları

Gruplar	Total Protein (mg/g pelet)	MDA (nmol/g pelet)	GSH (µg/g pelet)	GSSG (µg/g pelet)
K	1,88±0,05 ^a	68,20±1,74 ^d	140,80±2,18 ^a	54,10±1,40 ^{cd}
D50	1,16±0,04 ^b	56,40±2,50 ^e	129,20±3,14 ^{ab}	34,94±2,18 ^e
D100	1,04±0,07 ^b	77,00±2,43 ^{cd}	131,25±1,80 ^{ab}	53,95±3,90 ^{cd}
D200	1,16±0,15 ^b	71,80±1,88 ^{cd}	112,20±7,61 ^{bc}	44,50±3,24 ^{de}
S50	1,14±0,015 ^b	98,60±3,79 ^a	121,00±5,53 ^b	112,20±2,44 ^a
S100	1,10±0,05 ^b	82,80±2,50 ^{bc}	97,80±3,01 ^c	56,24±0,97 ^c
S200	0,89±0,03 ^b	89,80±2,44 ^{ab}	101,40±2,58 ^c	80,04±2,58 ^b

a, b, c, d, e: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P<0,05$).

3.3. *S. boulardii* Gruplarına Ait MDA Miktarı

Pestisitlere maruziyet oksidatif strese neden olmaktadır ve oksidatif stresin bir biyobelirteci olarak malondialdehit (MDA) kullanılmaktadır [12]. Kültür ortamlarına DM ve SM eklenmiş *S. boulardii* hücre peletlerinin MDA miktarları HPLC cihazı ile ölçülmüştür. Maya peletlerine ait MDA miktarları Tablo 3.2'de nmol/g pelet olarak gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre kontrol grubunda ölçülen MDA miktarı (68,20±1,74) ile karşılaştırıldığında D50 grubu hariç diğer tüm grupların MDA miktarlarında artış gözlenmiştir. D50 grubunda (56,40±2,50) en düşük MDA miktarı gözlenirken, S50 grubunda (98,60±3,79) ise en yüksek MDA değeri ölçülmüştür ($P<0,05$).

Elde edilen sonuçlarda pestisit eklenmiş gruplarda MDA miktarının arttığı gözlenmiştir. Ancak ilginç bir şekilde D50 grubunda kontrole kıyasla daha düşük MDA miktarı bulunmuştur. Benzer şekilde, yapılan bir çalışmada yılanbaş balıkları farklı konsantrasyonlarda DM'e maruz

bırakılmıştır. Çalışma sonucunda en düşük doz (0.061 µg/L) DM’de MDA miktarının düşük olduğu gözlenmiş ve antioksidan savunma sistemin düşük DM konsantrasyonlarına karşı etkili olabileceğini belirtmişlerdir [263]. Bununla birlikte, SM eklenmiş grupların daha fazla MDA miktarına sahip olması, SM’in DM’den daha toksik olduğunu göstermektedir. SM’in DM’den daha toksik olduğu belirtilmiştir [20]. Yapılan birçok çalışma ile DM ve SM’nin hedef olmayan organizmalar üzerinde oldukça toksik olduğu, oksidatif strese neden olarak MDA’yı artırdığı rapor edilmiştir [45, 49, 264-266]. Çalışma sonuçları literatür ile örtüşmektedir. Bununla birlikte, D50 grubunda DM dozunun düşük olmasının sebebi olarak hücrelerin antioksidan sistemlerinin bu doza karşı etkili bir savunma göstermiş olduğunu düşündürmektedir. Daha önceki çalışmalar maya hücrelerinin doğal antioksidan kapasitesine sahip olduğunu bildirilmiştir [267-270]. Durmaz vd. [271] yaptıkları araştırma sonucunda, iskemi-perfüzyon hasarına maruz bırakılan sıçanlarda *S. boulardii* takviyesiyle MDA’nın azaldığı bildirilmiştir.

3.4. *S. boulardii* Gruplarına Ait GSH ve GSSG Miktarları

S. boulardii hücre peletlerinde redükte glutatyon (GSH) ve okside glutatyon (GSSG) miktarları HPLC cihazı ile belirlenmiştir. Maya peletlerinin redükte glutatyon (GSH) ve okside glutatyon (GSSG) miktarları Tablo 3.2’de µg/g pelet olarak verilmiştir. GSH miktarı, kontrol grubu (140,80±2,18) ile karşılaştırıldığında DM ve SM eklenen diğer tüm gruplarda azalma göstermiştir. Uygulama grupları karşılaştırıldığında en düşük GSH miktarının S100 grubunda (97,80±3,01) ($P<0,05$), en yüksek D50 (129,20±3,14) ve D100 (131,25±1,80) gruplarında ($P>0,05$) olduğu gözlenmiştir. GSSG miktarları kontrol grubu (54,10±1,40) ile karşılaştırıldığında SM gruplarında artış göstermiştir ($P<0,05$). Bununla birlikte, S100 grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). En yüksek GSSG miktarının S50 grubunun (112,20±2,44) ve en düşük D50 grubunun (34,94±2,18) sahip olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Organizmalar, oksidatif stres kaynaklı ROS’ların zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemlerine sahiptirler. Antioksidan savunma sistemi, ROS seviyelerini kontrol altında tutarak biyomolekülleri hasarlardan koruma ile görevlidir [272, 273]. Bu antioksidan sistemi enzimler (SOD, CAT, GPx, GR, GST), düşük molekül ağırlıklı antioksidan görevi gören moleküller (glutatyon, tiyoredoksin) ve diğer endojen bileşikler (fenolikler, flavonoidler, tokoferol, askorbik asit vb) olarak sınıflandırılırlar [273-275]. Çalışma sonuçlarına göre DM ve SM eklenmiş grupların GSH miktarları kontrole göre azalmıştır. SM eklenmiş grupların GSH miktarları, DM eklenmiş grupların değerlerinden daha düşüktür. GSSG miktarları ise yine kontrole kıyasla SM eklenmiş gruplarda artmışken, DM eklenmiş gruplarda ise azalmıştır. Oksidatif stres koşullarında GSH, glutatyon peroksidaz (GPx) enzimi tarafından oksidasyona uğratarak GSSG’ye dönüştürülür [274] ve glutatyon S-transferaz (GST) enzimi tarafından toksinlerle konjugat

oluşturularak kullanılır [276]. Düşük GSH miktarları oksidatif stresin bir sonucudur [277, 278]. Bu bağlamda, DM ve SM eklenmiş gruplarda GSH'ın azalması beklenen bir sonuçtur.

3.5. *S. boulardii* Gruplarına Ait Antioksidan Enzimlerin (SOD, CAT, GPx, GR, GST) Aktiviteleri

Probiyotik maya olan *S. boulardii* peletlerinin süperoksit dismutaz (SOD) unit/g pelet, katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon s-transferaz (GST) enzim aktiviteleri U/dk/g pelet ve glutatyon redüktaz (GR) ise µg prt/dk/g pelet olarak Tablo 3.3'te verilmiştir. SOD enzim aktivitesi, kontrol grubu (70,81±3,76) ile karşılaştırıldığında DM ve SM eklenmiş grupların enzim aktivitelerinin artmış olduğu gözlenmiştir. SOD enzim aktivitesinin en fazla olduğu grup S100 grubu (103,09±1,91) olarak belirlenmiştir ($P<0,05$). Kontrol grubuna göre en az artış gösteren grup ise D100 grubu (81,53±7,66) olmuştur ($P>0,05$). CAT aktivitesi, kontrol grubu (811,62±46,81) ile kıyaslandığında tüm DM gruplarında azalma göstermesine rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). Bununla birlikte, kontrol grubuna kıyasla S50 (841,64±26,48) ve S100 (889,24±45,72) gruplarının CAT aktiviteleri kısmen artış göstermelerine rağmen bu farkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). S200 grubunun (641,89±23,05) CAT aktivitesinin ise tüm gruplar arasında en düşük değere sahip olduğu tespit edilmiştir ($P<0,05$).

GPx enzim aktivitesi karşılaştırıldığında kontrol grubuna (25,85±8,17) göre diğer tüm grupların enzim aktivitelerinde artış gözlenmiştir. En yüksek GPx aktivitesinin S200 (243,64±13,28) grubunda ($P<0,05$), en düşük enzim aktivitesinin ise D50 (42,86±10,62) grubunda ($P>0,05$) olduğu gözlenmiştir. DM ve SM eklenmiş grupların GPx enzim aktiviteleri pestisit dozlarına paralel olarak artış göstermiş ve DM gruplarına göre SM gruplarının enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubunun (20,29±3,39) GR enzim aktivitesine kıyasla D200 grubunda (18,91±0,57) kısmi olarak bir azalma ve S100 grubunda (21,48±0,78) ise kısmi bir artma tespit edilmiştir. Ancak tüm grupların GR enzim aktiviteleri arasındaki farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Grupların GST enzim aktiviteleri, kontrol grubu (0,06±0,02) ile karşılaştırıldığında D50 grubunda (0,04±0,01) en düşük değere sahipken ($P>0,05$), diğer tüm gruplarda daha yüksek aktivite göstermiştir. En yüksek GST aktivitesi D200 grubunda (0,16±0,02) ölçülmüştür ($P<0,05$).

Tablo 3.3. *S. bouldarii* peletlerinden elde edilen SOD, GPx, GR, CAT ve GST enzim aktiviteleri

Gruplar	SOD (U/g pelet)	CAT (U/dk/g pelet)	GPx (U/dk/g pelet)	GR (µg protein/dk/g pelet)	GST (U/dk/g pelet)
K	70,81±3,76 ^c	811,62±46,81 ^a	25,85±8,17 ^c	20,29±3,39 ^a	0,06±0,02 ^{bc}
D50	89,72±2,02 ^{abc}	761,61±35,87 ^{ab}	42,86±10,62 ^c	19,27±0,98 ^a	0,04±0,01 ^c
D100	81,53±7,66 ^{bc}	763,78±22,47 ^{ab}	71,36±7,67 ^c	20,18±1,27 ^a	0,11±0,02 ^{abc}
D200	90,22±5,16 ^{abc}	783,85±17,79 ^{ab}	129,67±17,32 ^b	18,91±0,57 ^a	0,16±0,02 ^a
S50	90,84±2,44 ^{ab}	841,64±26,48 ^a	167,02±12,01 ^b	19,82±1,01 ^a	0,11±0,02 ^{abc}
S100	103,09±1,91 ^a	889,24±45,72 ^a	227,80±16,93 ^a	21,48±0,78 ^a	0,15±0,02 ^{ab}
S200	90,68±4,45 ^{ab}	641,89±23,05 ^b	243,64±13,28 ^a	20,05±1,68 ^a	0,13±0,03 ^{ab}

a, b, c: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05).

Antioksidan savunma sisteminin ilk basamağı enzimlerden olan SOD, süperoksit radikal anyonlarını hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüştürerek radikallerin oksidasyon reaksiyonunu engeller. Bununla birlikte, katalaz (CAT) toksik olan H_2O_2 'i O_2 ve H_2O 'ya katalizleyerek fizyolojik seviyeyi korumakla görevlidir. GPx enzimi de H_2O_2 'in H_2O 'ya dismutasyonu işleminde GSH'ı substrat olarak kullanır. GSSG'nin rejenerasyonu ise NADPH kullanarak glutatyon redüktaz (GR) tarafından katalizlenir [273]. Ek olarak, GST enzim ailesi de GSH'ı kimyasal toksinlerle konjugasyonunu katalizleyerek savunma sistemine dahil edilmektedir [276]. Elde edilen çalışma sonuçlarında, kontrole kıyasla DM ve SM eklenmiş gruplarda SOD enzim aktivitesi artmıştır. Bu durum pestisitlerden kaynaklanan stres koşullarında serbest radikallerin oluştuğunu ve böylece SOD aktivitesinin arttığını göstermektedir. CAT aktivitesi kontrol ile karşılaştırıldığında SM'nin 50 ve 100 µg/L dozlarında artmışken, SM'nin 200 µg/L dozunda en düşük olmak üzere DM eklenmiş diğer gruplarda da düşük aktivite göstermiştir. Maya hücrelerinin kontrol grubunda oldukça düşük aktiviteye sahip olan GPx enzimi, DM ve SM eklenmiş tüm gruplarda yüksek aktivite göstermiştir. Dahası SM gruplarında GPx en yüksek enzim aktivitesine sahip olmuştur. Ayrıca SM eklenmiş gruplarda GSH'ın azalmış ve GSSG'nin artmış olması GPx aktivitesinin yüksek olmasını açıklamaktadır. Maya hücrelerinin, SOD aktivitesi sonucu oluşan H_2O_2 seviyesini, pestisit eklenmiş gruplardaki yüksek CAT ve GPx enzim aktiviteleri ile kontrol altında tuttuklarını söylemek mümkündür. Maya hücrelerinin GR enzim aktiviteleri kontrol grubu ile diğer grupların yakın değerlere sahip olduğu gözlenmiştir. GR enzimi aktivite gösterebilmek için NADPH kullanmak zorundadır ve yüksek aktiviteye sahip olmaması yetersiz NADPH'tan kaynaklanmış olabilir. GST aktivitesi maya hücrelerinin tüm gruplarında oldukça düşük değerlere sahiptir. Buna rağmen, DM'nin 50 µg/L dozu hariç diğer DM ve SM eklenmiş gruplarda kontrole kıyasla daha yüksek aktivite ölçülmüştür. GPx ve GST enzimlerinin substrat olarak GSH'ı kullanmaları ve pestisit eklenmiş gruplarda daha yüksek aktiviteye sahip olmaları ile GSH miktarının pestisit gruplarında azalmış olması sonuçları doğrulamakta ve açıklamaktadır. Silva Farinazzo vd. [278] *S. bouldarii* ile fermente edilen elma posaları üzerine yaptıkları bir çalışmada, probiyotik mayanın,

güçlü antioksidan olan quersetin yokluğunda dahi biyoyararlanımı ve antioksidan kapasiteyi artırdığını rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, lipopolisakkarid sebepli oksidatif strese karşı, *S. boulardii* probiyotiği verilen sıçanların kortekslerindeki SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin korunduğu ve böylece probiyotik maya tarafından antioksidan parametrelerin başarılı bir şekilde modüle edilebileceği rapor edilmiştir [264]. Çalışma sonuçlarına göre, pestisit kaynaklı oksidatif strese karşı *in vitro* olarak, *S. boulardii*'nin antioksidan sisteminin oldukça iyi bir savunma göstermesi literatür ile örtüşmektedir.

3.6. *S. boulardii* Gruplarına Ait Lipofilik Molekül İçeriği

Maya hücre peletlerinde yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K) ve sterol içerikleri HPLC cihazı ile tanımlanmıştır. *S. boulardii* peletlerinden ekstrakte edilen lipofilik molekül içeriği Tablo 3.4'te $\mu\text{g/g}$ pelet olarak verilmiştir. Lipofilik vitaminlerden D2, D3, E (α -Tokoferol, σ -Tokoferol), K1 ve K2 vitaminleri tüm gruplarda tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre D2, D3, σ -Tokoferol ve K1 vitamin miktarları diğer tüm gruplarda artış göstermiştir. D2 ve K1 vitaminleri en fazla S200 grubunda (sırasıyla $0,53\pm0,09$, $0,37\pm0,03$), D3 vitamini en fazla S100 grubunda ($1,62\pm0,10$), σ -Tokoferol ise en fazla S50 grubunda ($0,44\pm0,02$) tespit edilmiştir ($P<0,05$). α -Tokoferol miktarının DM eklenmiş gruplarda kontrole göre kısmen azalmış, SM eklenmiş gruplarda ise kısmen artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). α -Tokoferol miktarına en yüksek S200 grubu ($1,68\pm0,08$), en düşük ise D200 grubunun ($1,13\pm0,10$) sahip olduğu saptanmıştır. K2 vitamin içeriğinin ise kontrol grubuna ($0,29\pm0,0$) kıyasla D100 ($0,26\pm0,02$) ve D200 ($0,26\pm0,03$) gruplarında benzer şekilde azalmış, diğer gruplarda ise kısmen artmış olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). Vitamin D3 ve α -Tokoferol diğer vitaminlere göre miktarca daha fazla ölçülmüştür. Vitamin E, sekiz izoforma ve antioksidan özelliğe sahiptir [279]. Vitamin D ise bağırsak kalsiyum emilimi için oldukça önemlidir [280]. Çalışma verilerine göre DM ve SM α -Tokoferol, K1 ve K2 vitamin metabolizması üzerine fazla etki etmemiştir. D2, D3 ve σ -Tokoferol miktarları ise DM ve SM eklenmiş gruplarda iz miktarda artmıştır.

Tablo 3.4. *S. boulardii* peletlerinden elde edilen lipofilik vitamin ve sterol içeriği ($\mu\text{g/g}$ pelet)

	K	D50	D100	D200	S50	S100	S200
Vitamin D2	$0,21\pm0,03^b$	$0,38\pm0,07^{ab}$	$0,42\pm0,03^{ab}$	$0,39\pm0,05^{ab}$	$0,42\pm0,07^{ab}$	$0,41\pm0,03^{ab}$	$0,53\pm0,09^a$
Vitamin D3	$1,04\pm0,08^b$	$1,19\pm0,05^{ab}$	$1,55\pm0,25^{ab}$	$1,36\pm0,03^{ab}$	$1,39\pm0,08^{ab}$	$1,62\pm0,10^a$	$1,44\pm0,14^{ab}$
α-Tokoferol	$1,58\pm0,23^a$	$1,20\pm0,11^a$	$1,19\pm0,16^a$	$1,13\pm0,10^a$	$1,65\pm0,08^a$	$1,63\pm0,07^a$	$1,68\pm0,08^a$
(Vitamin E)							
σ-Tokoferol	$0,25\pm0,01^d$	$0,32\pm0,03^{abcd}$	$0,28\pm0,03^{cd}$	$0,31\pm0,05^{bcd}$	$0,44\pm0,02^a$	$0,42\pm0,02^{ab}$	$0,40\pm0,02^{abc}$
(Vitamin E)							
Vitamin K1	$0,09\pm0,00^c$	$0,12\pm0,02^c$	$0,18\pm0,01^{bc}$	$0,14\pm0,03^{bc}$	$0,24\pm0,04^b$	$0,16\pm0,03^{bc}$	$0,37\pm0,03^a$
Vitamin K2	$0,29\pm0,00^a$	$0,34\pm0,04^a$	$0,26\pm0,02^a$	$0,26\pm0,03^a$	$0,32\pm0,01^a$	$0,31\pm0,02^a$	$0,33\pm0,03^a$
Ergosterol	$76,71\pm2,93^d$	$92,98\pm6,56^{cd}$	$120,52\pm8,79^{ab}$	$106,37\pm3,82^{bc}$	$142,50\pm4,24^a$	$138,63\pm1,69^a$	$141,51\pm6,43^a$
Sitosterol	$1,52\pm0,08^d$	$2,00\pm0,19^{cd}$	$3,51\pm0,26^{ab}$	$2,37\pm0,29^{cd}$	$2,82\pm0,23^{abc}$	$2,65\pm0,22^{bc}$	$3,69\pm0,11^a$

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P<0,05$).

Maya peletlerinde sterollerden ergosterol ve sitosterol tespit edilmiştir (Tablo 3.4). Ergosterol miktarının kontrol grubuna ($76,71 \pm 2,93$) kıyasla diğer tüm gruplarda daha yüksek miktarda olduğu bulunmuştur ($P < 0,05$). SM eklenmiş grupların ergosterol içeriğinin DM eklenmiş gruplarından daha fazla olduğu gözlenmiştir. En yüksek ergosterol içeriğine S50 grubunun ($142,50 \pm 4,24$), en düşük ise D50 grubunun ($92,98 \pm 6,56$) sahip olduğu tespit edilmiştir. Sitosterol miktarının da benzer şekilde kontrol grubuna ($1,52 \pm 0,08$) göre diğer tüm gruplarda arttığı gözlenmiştir. En yüksek sitosterol içeriğinin S200 grubunda ($3,69 \pm 0,11$) ($P < 0,05$), en düşük içeriğin ise D50 ($2,00 \pm 0,19$) grubunda olduğu belirlenmiştir. Ergosterolün maya membranlarında bulunan birincil sterol olduğu rapor edilmiştir [281]. *S. bouldardii* maya hücre peletlerinde ölçülen sterol miktarları bunu desteklemektedir. DM ve SM eklenmiş gruplarda ergosterol üretimi artmıştır. Membrandaki ergosterol miktarının artırılmasıyla membranın daha sert hale geldiği ve lipit salının oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir [282-284]. Böylece hücre, oksidatif strese karşı kendini koruma eğilimindedir ve bu durum pestisit eklenmiş gruplarda ergosterol miktarının artmasını açıklamaktadır. Bir araştırma sonucunda *S. bouldardii* ile muamele edilmiş mısır ekstraktlarında, kontrole göre K1 ve D vitaminleri ile ergosterol miktarının artmış olduğu gözlenmiştir [285]. Yapılan çalışmalarda, kişilerde kistik fibrozis kaynaklı oksidatif stres durumunda D vitamininin miktarının değişmediği [286], E vitamini konsantrasyonunun ise azaldığı [5] tespit edilmiştir. *S. bouldardii* ilave edilmiş ve modifiye edilmiş karabuğday filizlerini içeren diyet ile beslenen sıçanlarda %75,2 oranında daha fazla sterol içeriği bulunmuştur [287].

3.7. *S. bouldardii* Gruplarına Ait Yağ Asitleri Kompozisyonu

Probiyotik maya olan *S. bouldardii* hücre peletlerinde yağ asitleri analizi gaz kromatografisi cihazı ile belirlenmiştir. *S. bouldardii* peletlerinin yağ asit kompozisyonu Tablo 3.5'te % olarak verilmiştir. Palmitik (16:0), palmitoleik (16:1 n-7), stearik (18:0) ve oleik (18:1 n-9 c) asitler yüksek yüzdeleri ile başlıca yağ asitleri olarak öne çıkmıştır. 16:0 oranının kontrol grubuna ($34,95 \pm 0,17$) kıyasla diğer gruplarda artmış ($P < 0,05$), 18:0 ve 18:1 n-9 c yağ asitleri oranlarının ise azalmış oldukları gözlenmiştir ($P < 0,05$). 16:0 oranının en fazla D100 grubunda ($42,56 \pm 0,10$) olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). 18:0 ve 18:1 n-9 c oranları ise benzer şekilde en düşük S200 grubunda (sırasıyla; $9,87 \pm 0,20$, $13,40 \pm 0,07$) gözlenmiştir ($P < 0,05$). 16:1 n-7 oranının DM gruplarında azalmış, SM gruplarında ise artmış olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). En düşük 16:1 n-7 oranının D100 grubunda ($15,44 \pm 0,14$), en yüksek ise S200 grubunda ($22,01 \pm 0,29$) olduğu bulunmuştur. Bu yağ asitlerinin dışında peletlerden kaprilik (8:0), laurik (12:0), miristik (14:0), miristoleik (14:1), pentadekanoik (15:0), 10-pentadekanoik (15:1), heptadekanoik (17:0), 10-heptadekanoik (17:1), elaidik (18:1 n-9 t), linolenik (18:2 n-6 c) ve gamma-linolenik (18:3 n-6) yağ asitleri de farklı oranlarda ekstrakte edilmiştir. 8:0 içeriğinin kontrol grubuna ($1,42 \pm 0,06$) kıyasla S50 grubunda ($1,66 \pm 0,06$) artmış, S200 grubunda ($1,17 \pm 0,06$) ise azalmış olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). 12:0

oranın kontrol grubuna (2,28±0,02) göre DM ve SM eklenmiş tüm gruplarda artmış olduğu belirlenmiştir (P<0,05). 14:0 içeriğinin kontrol grubu (1,80±0,02) ile karşılaştırıldığında D50 grubu (1,77±0,07) hariç diğer gruplarda artış gösterdiği gözlenmiştir (P<0,05). 15:1 oranının ise kontrol grubuna (3,13±0,04) göre diğer gruplarda azalmış olduğu bulunmuştur (P<0,05). 18:3 n-6 yağ asidi oranının ise kontrol grubuna (3,40±0,06) kıyasla diğer gruplarda azalma gösterdiği saptanmıştır (P<0,05). Bununla birlikte, 14:1, 15:0, 17:0, 17:1, 18:1 n-9 t, 18:2 n-6 c oranlarının %1'in altında olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 3.5. *S. bouldarii* peletlerinden elde edilen yağ asidi içeriği (%)

Yağ Asitleri	K	D50	D100	D200	S50	S100	S200
8:0	1,42±0,06 ^b	1,50±0,01 ^{ab}	1,44±0,01 ^b	1,38±0,06 ^{bc}	1,66±0,06 ^a	1,46±0,04 ^{ab}	1,17±0,06 ^c
12:0	2,28±0,02 ^d	2,94±0,11 ^c	3,53±0,08 ^b	3,37±0,13 ^{bc}	3,65±0,11 ^b	3,75±0,17 ^b	4,33±0,17 ^a
14:0	1,80±0,02 ^b	1,77±0,07 ^b	2,40±0,10 ^a	2,08±0,08 ^{ab}	2,27±0,14 ^a	2,02±0,04 ^{ab}	2,40±0,10 ^a
14:1	0,28±0,01 ^a	0,18±0,01 ^b	0,16±0,01 ^b	0,14±0,01 ^b	0,18±0,01 ^b	0,16±0,01 ^b	0,16±0,01 ^b
15:0	0,37±0,01 ^a	0,32±0,01 ^a	0,32±0,01 ^a	0,38±0,02 ^a	0,33±0,02 ^a	0,35±0,02 ^a	0,35±0,02 ^a
15:1	3,13±0,04 ^a	2,72±0,02 ^{ab}	2,44±0,08 ^b	2,48±0,20 ^b	2,64±0,15 ^{ab}	2,55±0,05 ^b	2,32±0,12 ^b
16:0	34,95±0,17 ^d	39,55±0,19 ^c	42,56±0,10 ^a	41,49±0,33 ^{ab}	40,44±0,16 ^{bc}	39,28±0,49 ^c	41,52±0,32 ^{ab}
16:1 n-7	18,47±0,12 ^c	17,46±0,25 ^{cd}	15,44±0,14 ^e	17,02±0,33 ^d	20,60±0,21 ^b	20,91±0,25 ^b	22,01±0,29 ^a
17:0	0,08±0,00 ^a	0,06±0,00 ^{ab}	0,06±0,00 ^{ab}	0,07±0,01 ^a	0,07±0,01 ^a	0,05±0,01 ^{ab}	0,04±0,00 ^b
17:1	0,21±0,00 ^c	0,21±0,00 ^c	0,22±0,01 ^{bc}	0,20±0,01 ^c	0,25±0,02 ^{bc}	0,28±0,02 ^{ab}	0,32±0,02 ^a
18:0	13,69±0,12 ^a	12,89±0,10 ^b	12,35±0,03 ^b	12,33±0,09 ^b	10,69±0,19 ^c	10,54±0,09 ^c	9,87±0,20 ^d
18:1 n-9 c	18,06±0,08 ^a	16,05±0,15 ^b	15,62±0,09 ^b	15,14±0,30 ^{bc}	14,42±0,28 ^{cd}	15,57±0,45 ^b	13,40±0,07 ^d
18:1 n-9 t	0,95±0,01 ^{ab}	0,85±0,03 ^{abc}	0,78±0,04 ^{bc}	0,89±0,02 ^{ab}	0,87±0,05 ^{ab}	1,04±0,07 ^a	0,64±0,09 ^c
18:2 n-6 c	0,91±0,03 ^a	0,55±0,03 ^b	0,57±0,06 ^b	0,52±0,07 ^b	0,27±0,02 ^c	0,27±0,01 ^c	0,20±0,03 ^c
18:3 n-6	3,40±0,06 ^a	2,96±0,06 ^b	2,11±0,02 ^d	2,56±0,16 ^c	1,99±0,07 ^d	1,98±0,04 ^d	1,57±0,10 ^e
ΣSFA	54,59±0,10 ^e	59,03±0,26 ^{cd}	62,66±0,15 ^a	61,09±0,32 ^{ab}	58,79±0,50 ^{cd}	57,45±0,61 ^d	59,61±0,09 ^{bc}
ΣUSFA	45,41±0,10 ^a	40,97±0,26 ^{bc}	37,34±0,15 ^e	38,91±0,32 ^{de}	41,21±0,50 ^{bc}	42,55±0,61 ^b	40,39±0,09 ^{cd}
ΣMUFA	41,10±0,14 ^a	37,47±0,27 ^c	34,67±0,11 ^d	35,84±0,42 ^d	38,96±0,44 ^{bc}	40,30±0,57 ^{ab}	38,63±0,13 ^c
ΣPUFA	4,32±0,08 ^a	3,51±0,08 ^b	2,67±0,08 ^{cd}	3,07±0,21 ^{bc}	2,26±0,08 ^d	2,25±0,04 ^{de}	1,76±0,08 ^e

a, b, c, d, e: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05). SFA: Doymuş yağ asitleri; USFA: Doymamış yağ asitleri; MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri; PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri. c: cis, t: trans

Yağ asitleri lipidlerin yapılarında bulunur ve lipidler de hücre zarlarının başlıca bileşenlerinden biri olarak tüm organizmalar için oldukça önemlidir. Bununla birlikte, daha önce değinildiği üzere pestisit maruziyeti oksidatif strese neden olarak hücrelerin antioksidan dengesini bozabilmektedir. Oksidatif stres sonucu üretilen ROS'lar, lipid peroksidasyonuna neden olarak organizmaların yağ asidi bileşimini değiştirebilmektedir. Böylece yağ asidi profillerinin çıktıları oksidatif stres ile ilişkilendirilir. Yapılan çalışmalar ile organizmaların yağ asidi içeriğinin araştırma konusu olarak ilgi gördüğü ve pestisit maruziyeti araştırmalarında yağ asidi içeriğindeki değişimler rapor edilmiştir [288-290]. DM ve SM eklenmiş gruplarda 16:0 oranı artmışken, 18:0

ve 18:1 n-9 yağ asitleri oranı tersi şeklinde azalmıştır. Bununla birlikte, SM eklenmiş gruplardaki azalma DM eklenmiş gruplardan daha fazla olmuştur. Molska vd. [287] *S. boulardii* ilave edilmiş karabuğday filizlerinde kontrole göre C18:2, C18:1 ve C16:0 asitleri daha yüksek oranda bulmuşlardır. Başka bir çalışmada, pendimetalin herbisiti maruziyetinde bir fitoplankton türü olan *Raphidocelis subcapitata*'nın, C11:0 (undesilik), C15:1, C16:0 ve C18:1n9 asit içeriğinde önemli bir düşüş olduğu bildirilmiştir [291, 292]. Ek olarak, yazarlar, yeşil alglerin yağ asidi profillerinin kontrol ve herbisite maruz kalan gruplar arasında benzer olduğunu da belirtmişlerdir. Neves vd. [293], araştırmalarında toksik maddeye maruz kalan organizmalarda yağ asitleri sınıflarında hafif bir artış olmasına rağmen bunun kontrol grubuna göre önemli bir farklılık olmadığını bildirmişlerdir.

Yağ asitleri sınıflarının oranları toplam değerleri (Tablo 3.5) incelendiğinde, Σ SFA oranı kontrol grubuna ($54,59 \pm 0,10$) göre diğer tüm gruplarda artmış ve en yüksek oranın D100 grubunda ($62,66 \pm 0,15$) olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). Σ SFA oranının tam tersi olarak, kontrol grubunun ($45,41 \pm 0,10$) Σ USFA oranı ile kıyaslandığında diğer tüm gruplarda bu oranın azalma gösterdiği tespit edilmiştir ($P < 0,05$). En düşük Σ USFA oranının da D100 grubunda ($37,34 \pm 0,15$) olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). Σ MUFA ve Σ PUFA oranları da paralel şekilde kontrol grubuna göre diğer gruplarda azalma göstermiştir ($P < 0,05$). Σ MUFA oranının en düşük D200 grubunda ($35,84 \pm 0,42$) ($P < 0,05$), kontrol grubundan sonra en yüksek S100 grubunda ($40,30 \pm 0,57$) ($P > 0,05$) olduğu gözlenmiştir. Σ PUFA oranının ise en düşük S200 grubunda ($1,76 \pm 0,08$), kontrol grubundan sonra en yüksek D50 grubunda ($3,51 \pm 0,08$) olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$).

Maya hücre peletlerinin yağ asitleri sınıflarından Σ SFA DM ve SM eklenmiş gruplarda artmış ve bu artış DM gruplarında daha fazla olmuştur. Σ MUFA ve Σ PUFA oranlarında ise DM ve SM eklenmiş gruplarda azalma trendi meydana gelmiştir. DM gruplarında, SM ile karşılaştırıldığında Σ MUFA içeriği daha düşükken, Σ PUFA oranı daha yüksektir. Yağ sınıflarının oranlarındaki meydana gelen farklılıklar, organizmaların maruz kaldığı farklı tür pestisitlere karşı verdiği tepkiler olarak anlamlandırılabilir. Σ PUFA ve Σ HUFA oranındaki azalmanın, Σ PUFA ve Σ MUFA sentezinde rol alan desaturaz enzimlerinin inhibisyonu sonucu meydana geldiği rapor edilmiştir [294, 295]. Ayrıca, Feckler vd. [296] *A. aquaticus*'un, epoksikonazole maruz kaldıktan sonra doymamış yağ asitlerinde yaklaşık %60'lık bir azalmanın, pestisit nereden olduğu oksidatif stres sonucu oluşan lipid peroksidasyonu ile ilişkilendirmişlerdir. Belirtilen her iki durumda da Σ MUFA ve Σ PUFA oranları azalmaktadır ve mevcut çalışma sonuçları ile uyumludur. Ek olarak, çalışmada kullanılan iki farklı pestisit söz konusu olduğundan DM ve SM pestisitleri arasında da farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

3.8. *S. bouldarii* Gruplarına Ait Pestisit Kalıntısı Miktarı

50, 100 ve 200 µg/L pestisitler *S. bouldarii* probiyotik mayaların kültür ortamlarına eklenmiş ve inkübasyon süreci sonunda hücre kültür sıvıları ayrılarak pestisit kalıntıları HPLC cihazı ile ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Tablo 3.6'da kalan pestisit miktarları (µg/L) ile mayalar tarafından detoksifiye edilen pestisit yüzdeleri (%) şeklinde verilmiştir. 50 µg/L eklenen D50 grubunda %11,40, 100 µg/L eklenen D100 grubunda %29,30 ve 200 µg/L eklenen D200 grubunda ise %43,35 oranlarında deltametrinin maya hücreleri tarafından detoksifiye edildiği belirlenmiştir ($P<0,05$). 50 µg/L eklenen S50 grubunda %34,40, 100 µg/L eklenen S100 grubunda %64,60 ve 200 µg/L eklenen S200 grubunda ise %79,78 oranlarında sipermetrinin ise maya hücreleri tarafından detoksifiye edildiği tespit edilmiştir ($P<0,05$). Elde edilen sonuçlara göre, inkübasyon sonunda ölçülen pestisit miktarları, başta ekzojen eklenen pestisit miktarlarından oldukça düşüktür. Low vd. [297] ekmek fermantasyonunda *S. cerevisiae*'nin herbisit glifosatu bozma kapasitesini araştırmış ve 1 saatlik inkübasyon sonrası ortalama %21 oranında azalma gözlemişlerdir. Araştırmacılar, bu azalmanın kaynağını herbisit tahribatı olarak öne sürmüşlerdir. Yakın zamanda, *Lactobacillus plantarum* RS60 ve *Pediococcus acidilactici* D15 suşlarının en yüksek sipermetrin olmak üzere, birkaç piretroidi (deltametrin, siflutrin ve fenvalerat) bağlayarak uzaklaştırma kapasitesine sahip oldukları bulunmuştur [298]. Benzer şekilde, doğal fermente edilmiş siyah zeytinlerin tuzlu suyundan izole edilen iki *L. plantarum* suşlarının (LB-1 ve LB-2), klorpirifos ve deltametrine karşı parçalama potansiyeli incelenmiş ve sonuçlar LB-1 ve LB-2'nin üç gün sonra sırasıyla klorpirifosun %96 ve %90'ını, deltametrinin %24 ve %53'ünü parçaladığını göstermiştir [299]. Literatür sonuçları ile mevcut çalışma sonuçları paralellik göstermektedir. Ek olarak, literatürde pestisitlerin organizmalar üzerindeki toksik etkilerinin rapor edildiği birçok çalışma mevcuttur [300-303]. Bu durum, biyokontrolün, toksik maddelerin aktivitesinin azaltılması açısından antagonistik özellikteki mikroorganizmaların kullanılmasını önemli kılmaktadır. Biyokontrol stratejisi olarak, probiyotikler ağır metaller ve pestisit gibi toksik maddelerin detoksifikasyonu için kullanılabilmektedirler. Pestisitler, probiyotiklerin ürettiği organofosfor hidrolaz, organofosfor asit anhidraz ve metil paration hidrolaz gibi enzimler tarafından parçalanabilirler [129]. Böylece, *S. bouldarii* hücrelerinin de sentezledikleri hidrolaz enzimleri ile DM ve SM pestisitlerinin detoksifasyonuna neden oldukları söylenebilir. Ayrıca, iki pestisit karşılaştırıldığında DM daha düşük, SM ise daha yüksek detoksifiye oranına sahip olmuştur. Ek olarak, her iki pestisitte de doza bağlı olarak bu oran artmıştır.

Tablo 3.6. Pestisit uygulanmış *S. bouldarii* gruplarında pestisit kalıntısı miktarı (µg/L)

Gruplar	Pestisit Kalıntısı (µg/L)	Detoksifiye Edilen Pestisit (%)
D50	44,28±1,80 ^b	11,40±3,61 ^e
D100	70,71±2,22 ^c	29,30±2,21 ^d
D200	113,31±3,34 ^d	43,35±3,34 ^c
S50	32,80±0,34 ^a	34,40±0,68 ^d
S100	35,40±0,15 ^a	64,60±0,15 ^b
S200	40,43±0,80 ^{ab}	79,78±0,40 ^a

a, b, c, d, e : Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05).

3.9. Sazan Balıklarının Deney Sürecindeki Ağırlık Değişim Oranları

Vücut ağırlığı artışı, balığa belli bir süre verilen yemin etkili kullanılıp kullanılmadığını gösteren en iyi büyüme parametrelerinden biridir [304]. Sazan balıklarının 30 günlük deney sürecinin başında ilk ağırlıkları, sonunda da son ağırlıkları ölçülmüştür. Gruplara ait toplam ilk ağırlık (g), toplam son ağırlık (g) ve ağırlık kazanım oranları (%) Tablo 3.7’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre kontrol grubu (%12,44) ile kıyaslandığında *S. bouldarii* probiyotiği ile beslenen balıkların (Sb) (%13,63) ağırlık kazanımlarında artış meydana gelmiştir (P<0,05). Probiyotik maya, sucul canlılarda ilaç ve kimyasal kullanımını azaltmak, tüketici açısından daha güvenilir ve kabul edilebilir ürünler elde etmek amacıyla yem katkı maddesi olarak kullanılır [305, 306]. Mayalar, polisakkaritler, proteinler, lipitler ve vitaminler gibi balık sağlığına katkı sağlayan temel biyoaktif bileşikler ve biyomoleküller bakımından zengindir [166, 307]. Ayrıca, probiyotik maya bağırsak mikrobiyomunun korunması, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve besin emiliminin artmasında önemli bir rol oynar [308]. Kaewda vd. [309] probiyotik Kırmızı Maya *Rhodotorula paludigena* CM33 takviyeli beslenmenin, ticari bir süs balığı olan Flowerhorn balığında büyüme performansı, lizozim aktivitesi, toplam immünoglobulin seviyeleri ve antioksidan enzim aktivitesinde önemli gelişmeler tespit etmişlerdir. Raslan vd. [310] diyet probiyotiklerinin ve esansiyel yağların, balıkların son vücut ağırlığı, ağırlık kazanımı, özgül büyüme oranı, yem dönüşüm oranı, vücut uzunluğu ve kondisyon faktörü dahil olmak üzere çeşitli performans göstergelerini büyük ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir. Başka bir çalışmada, dört hafta boyunca %1, %2 ve %5 maya konsantrasyonları ile büyüme parametrelerinin gelişme gösterdiği belirtilmiştir [311].

Deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz kalan balıkların (sırasıyla %8,87, %8,68) ağırlık kazanımları kontrol grubuna kıyasla oldukça düşük bulunmuştur (P<0,05). Her iki pestisit benzer şekilde sazan balıklarının ağırlık kazanımlarının inhibisyonuna neden olmuştur. Pestisitlerin balıkların büyüme performansları üzerindeki olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir [312, 313]. Nil tilapyasının sipermetrine maruziyetinin büyüme performansı üzerinde olumsuz etkileri ortaya konmuştur [313, 314]. Hanson vd. [315] üç farklı pestisit (lindan, pentaklorofenol ve propoksur) üç farklı balık türünün (*Oreochromis niloticus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* ve *Clarias gariepinus*)

büyüme performansı ve üremesi üzerinde zararlı etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir. *C. carpio*'nun büyüme performansındaki bu azalmalar, sipernetrinin su kalitesi ve balıkların yem kullanımı üzerindeki etkisinden kaynaklanmış olabilir [316]. Ayrıca, protein değişikliği ve karbonhidrat metabolizması ile pestisit detoksifikasyonu balıklarda büyük enerji kayıplarına neden olarak gelişmek için daha az enerjiye sahip olurlar [317, 318].

Tablo 3.7. Balıkların deney sürecindeki ağırlık değişim oranları

Gruplar	İlk ağırlık (g)	Son ağırlık (g)	Ağırlık kazanımları (%)
K	178,179	200,340	12,44 ^b
Sb	180,327	204,909	13,63 ^a
DM	187,461	204,083	8,87 ^d
DMSb	201,254	223,014	10,81 ^c
SM	190,662	207,209	8,68 ^d
SMSb	214,564	236,690	10,31 ^c

^{a, b, c, d}: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05).

Hem pestisite maruz bırakılan ve hem de probiyotik maya ile beslenen grupların (DMSb: %10,81, SMSb: %10,31) ağırlık kazanımlarının ise kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edilmiş olmasına rağmen sadece pestisitlere maruz kalan balıklarınkinden (DM ve SM) yüksek olduğu gözlenmiştir (P<0,05). Balıklarda probiyotik takviyesiyle beslenme sonucu büyüme performansı, bağışıklığı ve hastalık direnci iyileşme gösterir [163, 319]. Yapılan çalışmalar, probiyotiklerin sistemik toksik maddelerin emilimini önlediği ve çevresel olarak kirlenmiş toprak ve sularda biyoremediasyon süreciyle pestisitlerin parçalanmasını sağladıkları gösterilmiştir [162, 163]. *Bacillus subtilis* CCI3, *Cyprinus carpio* yavrularının yemlerinde probiyotik takviyesi olarak kullanılmış ve probiyotik ile beslenen balıkların daha iyi büyüme, önemli ölçüde daha yüksek protein verimliliği oranı ve en yüksek RNA:DNA oranı gösterdiği rapor edilmiştir [320]. Araştırmacılar, probiyotik takviyeli beslenen balıkların büyüme performanslarındaki iyileşmeleri, muhtemelen sindirimi ve besin emilimini destekleyen sindirim aktivitesine atfetmişlerdir [321, 322]. Adineh vd. [323] *Saccharomyces cerevisiae* içeren düşük proteinli diyetin sazan balığının büyüme ve bağışıklık performansı ile kültür sisteminin su kalitesi üzerine etkilerini 56 gün boyunca değerlendirmiş, diyetteki %2 mayanın son ağırlığı artırabileceğini ve yem dönüşüm oranını azaltabileceğini göstermiştir. Ayrıca araştırmacılar, bu %2 maya uygulamasında sindirim enzimleri olan amilaz, lipaz ve intestinal proteaz aktivitelerinin diğer gruplara kıyasla anlamlı bir şekilde arttığını bulmuşlardır. Genel olarak, yem sindiriminin ve emiliminin sindirim enzimlerinin aktivitesine, besin sindirilebilirliğine ve emilimine bağlı olduğu belirtilmiştir [324]. Probiyotiklerin ise yem dönüşüm oranını azaltmak ve büyüme performansını geliştirmek için amilaz, proteaz ve kitinaz gibi sindirim enzimlerini serbest bırakabildikleri rapor edilmiştir [325]. *S. boulardii* mayasının, sirkülasyon sisteminde yetiştirilen sazan balığının (*Cyprinus carpio*) büyüme

performansı, sağlığı ve yaşama oranı üzerindeki etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada 30 günlük deney süresi sonunda maya takviyeli yemle beslenen balıkların ağırlık artışının kontrol balıklarında daha yüksek olduğu rapor edilmiştir [326]. Ayrıca, Khan ve Yousafzai [186] *Labeo Rohita* diyetindeki *S. cerevisiae* var. *boulardii* ve *Lactobacillus rhamnosus* takviyesi için de benzer sonuçlar gözlemlemişlerdir. Mocanu vd. [197] Sibiry mersin balığında (*Acipenser baerii*) diyetlere *L. acidophilus* ve *S. boulardii* ayrı ayrı ve kombine olarak eklenmiş ve *S. boulardii* alan balıkların, *L. acidophilus* alanlara kıyasla daha fazla bireysel ve toplam büyüme artışı gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmadan elde edilen verilere göre probiyotik maya olan *S. boulardii*, DM ve SM pestisitlerinin neden olduğu büyüme performansı inhibisyonuna karşı sazan balıklarının büyüme yani ağırlık kazancını iyileştirmede yararlı olmuştur ve bu sonuçlar literatür ile uyumludur.

3.10. Balık Yemlerinin Total Protein, Yağ Asitleri ve Lipofilik Molekül İçeriği

Sazan balıklarının yemlenmesinde kullanılan ve ticari olarak satın alınan balık yemlerinin total protein miktarı (mg/g), yağ asitleri (%) ve lipofilik molekül içerikleri (µg/g) Tablo 3.8’de verilmiştir. Yemlerin total protein miktarı 27,94 mg/g olarak belirlenmiştir. Yemlerin yüksek oranlara sahip olan başlıca yağ asitlerinin 16:0 (%15,45), 18:1 n-9 c (%34,88) ve 18:2 n-6 c (%21,18) olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 14:0 (%2,22), 16:1 n-7 (%3,89), 18:0 (%4,48), 18:1 n-11 (%1,58), 18:3 n-3 (LNA) (%2,88), 20:1 (%1,77), 20:5 n-3 (EPA) (%1,76) ve 22:6 n-3 (%5,12) ikincil yağ asitleri olarak belirlenmiştir. 15:0, 20:2, 20:3 n-3, 20:4 n-6, 22:0, 22:1 n-9, 24:0, 24:1 ve 22:5 n-6 yağ asitleri oranlarının ise %1’den düşük olduğu saptanmıştır. Σ USFA oranının (%76,78) Σ SFA oranından (%23,22) oldukça yüksek yüzdeliğe sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, Σ MUFA (%42,85) da Σ PUFA oranından (%33,93) daha fazla olduğu saptanmıştır. Lipofilik moleküllerden ise retinol (A vitamini) 1,44 µg/g, D3 vitamini 0,56 µg/g, E vitamini (α -Tokoferol: 3,69 µg/g, σ -Tokoferol: 0,29 µg/g), K vitamini (K1: 1,50 µg/g, K2: 4,43 µg/g) tespit edilmiştir. Sterollerden ise kolesterol 682,36 µg/g, betasterol 54,11 µg/g, ergosterol 38,71 µg/g ve sitosterol 5,60 µg/g olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.8. Balık yemlerinin total protein, yağ asitleri ve lipofilik molekül içeriği

Total Protein (mg/g)	
T. Protein	27,94±0,28
Yağ Asitleri (%)	
14:0	2,22±0,05
15:0	0,24±0,00
16:0	15,45±0,10
16:1 n-7	3,89±0,20
18:0	4,48±0,15
18:1 n9 c	34,88±0,01
18:1 n11	1,58±0,05
18:2 n-6 c	21,18±0,15
18:3 n3	2,88±0,01
20:1	1,77±0,13
20:2	0,99±0,00
20:3 n3	0,39±0,00
20:4 n6	0,93±0,01
20:5 n3	1,76±0,01
22:0	0,61±0,01
22:1 n9	0,42±0,00
22:5 n6	0,81±0,00
22:6 n3	5,12±0,03
24:0	0,29±0,01
24:1	0,45±0,02
ΣSFA	23,22±0,18
ΣUSFA	76,78±0,18
Σ MUFA	42,85±0,20
Σ PUFA	33,93±0,09
ADEK Vitaminleri ve Steroller (µg/g)	
Retinol (Vitamin A)	1,44±0,08
Vitamin D3	0,56±0,10
α-Tokoferol (Vitamin E)	3,69±0,37
σ-Tokoferol (Vitamin E)	0,29±0,02
Vitamin K1	1,50±0,10
Vitamin K2	4,43±0,83
Kolesterol	682,36±36,98
Ergosterol	38,71±2,55
Betasterol	54,11±8,05
Sitosterol	5,60±0,82

SFA: Doymuş yağ asitleri; USFA: Doymamış yağ asitleri; MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri; PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri. c: cis, t: trans

3.11. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının Total Protein Miktarları

Deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz bırakılan ve *S. bouldardii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının karaciğer dokularından elde edilen total protein miktarları Tablo 3.9'de mg/g doku olarak verilmiştir. Kontrol grubu ($84,59 \pm 1,18$) ile karşılaştırıldığında Sb grubunun total protein miktarı ($86,32 \pm 1,13$) benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). DM ($113,23 \pm 1,85$), DMSb ($110,02 \pm 2,27$) ve SM ($115,65 \pm 1,93$) gruplarının total protein miktarlarının ise benzer olarak kontrol grubundan daha yüksek oldukları saptanmıştır ($P < 0,05$). SMSb grubunun total protein miktarının ($78,13 \pm 2,53$) ise gruplar arasında en düşük değere sahip olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$).

Tablo 3.9. Karaciğer dokusu gruplara ait total protein, MDA, GSH ve GSSG miktarları

Gruplar	Total Protein (mg/g)	MDA (nmol/g)	GSH (μ mol/g)	GSSG (μ mol/g)
K	$84,59 \pm 1,18^{bc}$	$380,12 \pm 15,50^{bc}$	$4,24 \pm 0,21^e$	$0,89 \pm 0,04^d$
Sb	$86,32 \pm 1,13^b$	$320,60 \pm 7,89^c$	$19,88 \pm 2,60^b$	$2,25 \pm 0,20^a$
DM	$113,23 \pm 1,85^a$	$551,24 \pm 23,58^a$	$9,37 \pm 0,30^{de}$	$1,18 \pm 0,04^{cd}$
DMSb	$110,02 \pm 2,27^a$	$246,81 \pm 16,88^d$	$12,07 \pm 0,49^{cd}$	$1,44 \pm 0,10^{bc}$
SM	$115,65 \pm 1,93^a$	$446,32 \pm 20,13^b$	$17,21 \pm 1,07^{bc}$	$1,61 \pm 0,06^b$
SMSb	$78,13 \pm 2,53^c$	$177,28 \pm 16,79^d$	$30,37 \pm 1,51^a$	$2,28 \pm 0,08^a$

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P < 0,05$).

Sazan balıklarının kas dokularından elde edilen total protein miktarları Tablo 3.10'da mg/g doku olarak verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde tüm uygulama gruplarının kontrol grubu ile benzer sonuçlara sahip oldukları gözlenmiştir ($P > 0,05$).

Tablo 3.10. Kas dokusu gruplara ait total protein, MDA, GSH ve GSSG miktarları

Gruplar	Total Protein (mg/g)	MDA (nmol/g)	GSH (μ mol/g)	GSSG (μ mol/g)
K	$23,19 \pm 0,21^a$	$248,38 \pm 63,00^d$	$7,00 \pm 0,12^d$	$0,49 \pm 0,01^a$
Sb	$23,22 \pm 0,25^a$	$224,98 \pm 83,70^d$	$8,39 \pm 0,22^c$	$0,43 \pm 0,01^{ab}$
DM	$23,45 \pm 0,40^a$	$384,48 \pm 80,91^a$	$8,98 \pm 0,37^c$	$0,42 \pm 0,02^b$
DMSb	$23,85 \pm 0,21^a$	$296,79 \pm 94,85^c$	$8,23 \pm 0,27^{cd}$	$0,43 \pm 0,02^b$
SM	$22,83 \pm 0,68^a$	$353,00 \pm 102,15^b$	$12,13 \pm 0,33^a$	$0,40 \pm 0,01^b$
SMSb	$23,94 \pm 0,35^a$	$348,14 \pm 107,85^b$	$10,58 \pm 0,50^b$	$0,40 \pm 0,02^b$

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P < 0,05$).

Biyokimyasal parametreler, genellikle balıklar üzerindeki pestisitler, ağır metaller ve farmasötik ilaçlar gibi farklı ekzojen bileşiklerin, toksik maddelerin etkilerini değerlendirmek için biyobelirteçler olarak kullanılmaktadır. Farklı balık türleri üzerinde çeşitli sentetik piretrinler test edilmiş ve farklı düzeylerde biyokimyasal toksisiteye neden oldukları bulunmuştur. Örneğin, deltametrin *Hypophthalmichthys molitrix*'te karaciğer, solungaçlar, kaslar, kan ve beyin dokularındaki toplam protein içeriğinde belirgin bir azalmaya neden olmuştur [111]. Permetrin,

Oryzias latipes'in karaciğerindeki vitellogenin protein konsantrasyonunu değiştirmiştir [327], fenvalerat, *Labeo rohita*'nın serumunda kan glikoz seviyesini, serum kreatinin ve trigliseridi artırmış ve toplam protein, globulin ve albümini azaltmıştır [328], sipermetrin, *Tor putitora*'da kaslarda, solungaçlarda, beyinde ve karaciğerde toplam proteinleri azaltmış ve kan glikozunu artırmıştır [256].

Jindal vd. [79] DM'e maruz bıraktıkları *C. carpio* balıklarının protein seviyelerinde azalma olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca proteinlerdeki azalmanın, sistemin serbest radikallere ve oksidatif strese karşı koyma yeteneğinin azalma gösterdiğini ve protein bozunmasını veya proteinlerin diğer azotlu ürünlere dönüşebileceğini bildirmişlerdir.

DM toksisitesinin kahverengi alabalığın (*Salmo trutta fario*) beyin dokusu üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da protein içeriğinin azalmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir [257]. Ek olarak, bu olgunun DM stresi nedeniyle Krebs döngüsüne giren protein metabolizmasının oranındaki artışa bağlı olarak translasyon sürecinin inhibisyonunun bir sonucu olabileceğini öne sürmüşlerdir [329]. Çünkü canlı organizmaların yapı taşlarından olan proteinler, enerji kullanımı açısından biyomoleküllerin son sınıfı olarak kabul edilir [330].

Yapılan bir çalışmada, fipronil ve buprofezin insektisitlerine maruz bırakılan sazan balıklarının karaciğer, böbrek, beyin ve solungaç dokularındaki protein içeriğinin azalmasına karşı, C vitamini takviyesi ile toplam proteinde artış olduğu belirtilmiştir [331]. Araştırmacılar, C vitamini tarafından oksidatif stresin indüklenmesinin ardından proteinlerin transkripsiyonunda artışın meydana gelmiş olabileceğini varsaymışlardır.

El-Bouhy vd. [332] prefonos insektisitinin ot sazanının (*Ctenopharyngodon idella*) kas ve karaciğerlerinde toplam protein konsantrasyonlarında azalma eğilimine neden olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde, klorpirifos maruziyetinde sazan balıklarının total proteinlerinde ve globülin seviyelerinde azalma gözlenirken proteksin ile muamele edilen gruplarda ise iyileşme gözlenmiştir [179].

Nil tilapyası diyetlerinin *Saccharomyces boulardii* ve *Bifidobacterium bifidum* probiyotikleriyle desteklenmesinin kontrol grubuna kıyasla total protein miktarını artırdığı bildirilmiş ve bunun da probiyotiklerin bağışıklık yanıtını artırmaya yardımcı olduğunun kanıtı olduğu varsayılmıştır [155]. *Sacharomyces boulardii* mayasının, sirkülasyon sisteminde yetiştirilen sazan balığının (*Cyprinus carpio*) etinde protein içeriğini artırdığı rapor edilmiştir [326]. Benzer şekilde, diyet probiyotiği *Saccharomyces cerevisiae*'nin üç noktalı çiklitin (*Cichlasoma trimaculatum*) kontrol grubuna kıyasla vücut ham protein seviyelerini artırdığı bulunmuştur [333].

Mevcut çalışma sonuçlarında ise karaciğer dokusunun total protein miktarı DM, DMSb ve SM gruplarında artmışken SMSb grubunda azalmıştır. Yapılan çalışmalarla SM'in balıkların erken evrelerini daha yüksek potansiyelle etkileyebileceği gösterilmiştir [334, 335]. Ayrıca balık vücudunda büyüme geriliğine ve protein birikimine neden olabileceği rapor edilmiştir [336]. Kas

dokusunda ise muameleler sonucu önemli bir fark tespit edilmemiştir. Serum toplam proteinindeki artışın muhtemelen karaciğer ve böbrek hasarı, kan proteinlerinin mobilizasyonunda göreceli değişiklikler, pestisitlere maruz kalmaya yanıt olarak metabolik sistemlerin aktivasyonu, karaciğerdeki hücrel materyalin bozulması, serumda su kaybı ve karaciğerde protein sentezinin indüklenmesi gibi çeşitli patolojik durumlardan kaynaklandığı varsayılmıştır [332]. Ayrıca pestisitlerin balıklar üzerindeki belirli etkilerinin ve etki şiddetlerinin, ticari formülasyon türü, konsantrasyonu ve maruz kalma süresi gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak değişebileceği belirtilmiştir [75]. Ek olarak, probiyotiklerin etkilerinin de takviye şekli (tüm hücre veya hücrel bileşenler, hücrel üst sıvılar, kapsüllenmiş veya dondurularak kurutulmuş probiyotikler), doz seviyeleri ve uygulama süreleri ile iletim süresinin uzunluğu dahil olmak üzere birçok değişkenlere bağlı olabileceği rapor edilmiştir [205].

3.12. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının MDA Miktarları

Pestisitlere maruz bırakılan ve *S. bouldarii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının karaciğer dokularının malondialdehit (MDA) miktarları Tablo 3.9'da nmol/g doku olarak verilmiştir. Elde edilen verilere göre kontrol grubu ($380,12 \pm 15,50$) ile kıyaslandığında Sb grubunun MDA miktarı ($320,60 \pm 7,89$) kısmen azalma göstermiş olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). DM grubu ($551,24 \pm 23,58$) ve SM grubunun ($446,32 \pm 20,13$) MDA miktarlarında artış olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$). DMSb grubu ($246,81 \pm 16,88$) ve SMSb grubunun ($177,28 \pm 16,79$) MDA miktarlarının ise benzer şekilde diğer tüm gruplara kıyasla en düşük değerlere sahip oldukları belirlenmiştir ($P < 0,05$).

Sazan balıklarının kas dokularının MDA miktarları Tablo 3.10'da nmol/g doku olarak verilmiştir. Elde edilen verilere göre kontrol grubu ($248,38 \pm 63,00$) ile kıyaslandığında Sb grubunun MDA miktarı ($224,98 \pm 83,70$) kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). DM grubu ($384,48 \pm 80,91$) ve SM grubunun ($353,00 \pm 102,15$) MDA miktarlarının tüm gruplardan fazla olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). DMSb grubu ($296,79 \pm 94,85$) ve SMSb gruplarının ($348,14 \pm 107,85$) MDA miktarlarının kontrol ve Sb gruplarından yüksek, DM ve SM gruplarından ise düşük değerlere sahip oldukları tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Yapılan çalışmalar ile pretrinlerin neden olduğu hedef dışı toksisitenin oksidatif stresle yakından ilişkili olabileceğine dair kanıtlar ortaya konmuştur. Oksidatif stres, hücrelerde oksijen radikallerinin aşırı üretiminden kaynaklanmaktadır. Hücrelerde ROS'un aşırı üretimi, DNA, proteinler ve lipitler dahil biyolojik moleküllere zarar verebilir. Lipit peroksidasyonu sırasında üretilen MDA gibi ürünler oldukça reaktiftir [97] ve MDA miktarı oksidatif stresin seviyesi hakkında bilgi sağlar. Piretroidlerin balıklardaki oksidatif stres üzerindeki etkileri birçok balık türlerinde gözlemlenmiştir. Örneğin, iki farklı dozda sentetik piretrin permetrinine (kontrol, taşıyıcı, 10 ppm ve 20 ppm) iki farklı dönemde (4 gün ve 21 gün) maruz bırakılan sazanların

karaciğer ve solungaç dokularındaki MDA seviyelerinde hem doz hem de süre gruplarında kontrol grubuna kıyasla artışa neden olmuştur [76]. Lipid peroksidasyon düzeylerinin göstergelerinden biri olan MDA'nın tespit edilen indüksiyon düzeyleri, SM ve DM gibi pestisitlere farklı doz ve sürelerde maruz kalındığında balık solungaç ve karaciğer dokularında MDA düzeylerinin anlamlı şekilde arttığını bildiren ilgili çalışmalarla uyumludur [263, 337, 338] . SM'e maruz kalan Van Gölü balıklarında (*Alburnus tarichi*) karaciğer, solungaç, böbrek ve beyin dokusundaki MDA seviyelerinde de önemli bir artış tespit edilmiştir [304]. Parlak vd. [339], farklı doz ve sürelerde alfa-sipermetrinin gökkuşağı alabalığı üzerindeki toksik etkilerini incelemiş ve solungaç dokusu MDA seviyelerinde çok önemli bir artış saptamışlardır. Hem sazan hem de zebra balığı, sipermetrin ve klorpirifos karışımına akut maruziyetin, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında lipid peroksidasyonunda artış gösterdiği bildirilmiştir [340]. Wu vd. [341] 28 günlük DM maruziyeti sonucunda havuz balığının beyin dokusunda MDA seviyesinin önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır. Sazan balığının (*Cyprinus carpio*) 30 gün boyunca DM'in (0, 6, 12 ve 18 µg/L) subletal konsantrasyonlarına maruz bırakıldığı bir çalışmada da MDA'nın artarak peroksidanlar ile hücrel antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik olduğu rapor edilmiştir [264]. Das vd. [342] SM'in (0,05 µg/L) ticari formüllerinin Van Gölü balıklarının (*Alburnus tarichi*) karaciğer, böbrek, solungaçlar ve beyin dokularında MDA'yı artırdığını rapor etmişlerdi.

Aşırı ROS birikimi hücre zarı lipidlerine saldırabilir ve lipid peroksidasyonuna yol açabilir [343]. MDA, lipid peroksidasyonunun son bileşiğidir ve yaygın olarak bir lipid peroksidasyon belirteci olarak kullanılır [344]. Mevcut çalışmada DM ve SM'e maruz kalan sazanların hem karaciğer hem de kas dokularındaki MDA miktarlarının önemli ölçüde artmış olduğu gözlenmektedir. MDA seviyelerindeki artışın, DM ve SM indüksiyonu nedeniyle sazan balıklarında artan ROS'tan kaynaklandığı varsayılmaktadır. Mevcut çalışmanın sonuçları, literatür ile uyumludur. Ek olarak sonuçlar, karaciğerdeki MDA miktarının genel olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bunun nedeni, karaciğerin pestisit metabolizması ve detoksifikasyonu için ana organ olması olabilir [345, 346] ve böylece karaciğerin diğer kas dokusuna kıyasla toksisiteden etkilenen ve oksidatif stres faktörlerine karşı hassas olduğu söylenebilir.

Son zamanlarda balık sağlığının korunması için takviye olarak doğal ürünlerin kullanımı ilgi görmektedir [316, 347, 348]. Gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss*, sipermetrine maruz bırakılmış ve 96 saat boyunca N-asetil sistein (bir antioksidan) veya herhangi bir müdahalede bulunulmadan (kendi kendini iyileştirme) iyileşme sürecine bırakılmış ve N-asetil sistein (NAC) uygulanan gruplarda, kendiliğinden iyileşen gruba göre tüm dokularda MDA düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir [349]. Hu vd. [350] diyet katkı maddesi olarak ferulik asitin, sazan balığının (*Cyprinus carpio*) karaciğerinde 30 günlük avermektin maruziyetinin neden olduğu oksidatif stresi hafiflettiğini tespit etmişlerdir. Benzer şekilde, biyoaktif flavonolignanların bir karışımı olan Silymarinin, *Cyprinus carpio* kanındaki DM kaynaklı toksisiteyi azaltma potansiyeli olduğu ve

biyokimyasal ve hücrel parametreleri kontrol grubuna benzer şekilde geri kazandırdığı bulunmuştur [79]. Fipronil ve buprofezin insektisitlerinin kombine toksik dozlarına 96 saat boyunca maruz bırakılan ve Vitamin C takviyesi yapılan sazan balık (*Cyprinus carpio*) gruplarında, doku hasarı ve toksik etkilerde belirgin bir iyileşme, ROS ve TBARS üretiminde önemli azalmalar gözlenmiştir [331]. Lipid peroksidasyonunun yan ürünleri olan TBARS veya tiyobarbitürik asit (TBA) reaktif maddeleri ile MDA yoğunlaşma reaksiyonuna girdiği için, TBARS testi MDA'nın dolaylı bir ölçüsüdür [108]. Probiyotiklerin antioksidan olarak rolü ve ayrıca enzimatik antioksidan enzim sistemi üzerindeki indükleyici etkisi bildirilmesine rağmen, mekanizması hala bilinmemektedir. Balıklardaki probiyotiklerin antioksidan fonksiyonu, antioksidan genlerin modülasyonu üzerindeki teşvik edici etkilerine atfedilmektedir [157]. Örneğin, *Cyprinus carpio*'da klorpirifos kaynaklı oksidatif stres ve immünotoksositeye karşı proteksin (*L. plantarum*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Aspergillus aryzae*, *Candida pintolopesii* ve tamamlayıcı bileşen olarak dekstroz monohidratın karışımı) takviyesinin koruyucu etkisi değerlendirilmiş ve proteksinin MDA'da önemli bir azalmaya neden olduğu bulunmuştur [179]. Yapılan bir çalışmada, *S. boulardii* ile tedavi edilen diyabetik farelerde hepatik oksidatif stresin azalması, probiyotiğe yanıt olarak serbest radikallerin oluşumunun azaltılmasıyla ilişkilendirilmiştir [195]. Benzer sonuçlar, Durmaz vd. [271], Mirzababaei vd. [351], Yaghchi vd. [352] ve de Abreu vd. [234] tarafından da rapor edilmiştir. Nil tilapyası diyetlerinin *S. boulardii* ve *B. bifidum* probiyotikleriyle desteklenmesinin balıkların antioksidan durumunu önemli oranda artırdığı bulunmuştur [155].

DM ve SM'ye maruz bırakılan ve *S. boulardii* probiyotiği ile beslenen sazanların karaciğer ve kas dokularında MDA seviyelerinin, sadece pestisitlere maruz bırakılan sazanlarınkine kıyasla azaldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, karaciğer dokusunda DMSb ve SMSb gruplarının MDA'ları en düşük değerlerde iken, kas dokusunda ise kontrol ve Sb gruplarının MDA'ları en düşük değerlere sahip olmuştur. Atamanalp vd. [349] yaptıkları çalışmada, örneklerin element analizleri sonucu tüm uygulama gruplarında doku bazlı farklılıkların önemli düzeyde gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca, karaciğerin, maddelerin metabolizmasında ve biyotransformasyonunda oldukça önemli olduğu belirtilmiştir [353]. Ek olarak, çalışma sonuçlarına göre, *S. boulardii* probiyotiği DM ve SM'in neden olduğu oksidatif stresin azalmasında rol oynamıştır. *S. boulardii*'nin güçlü antioksidan aktivite ve indirgeyici güce sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur [187, 227]. Ayrıca *S. boulardii*'nin diyet takviyesinin dokuların antioksidan aktivitesini destekleyerek ve nötrofil birikimini önleyerek oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir [191]. Mevcut çalışma sonuçları literatür ile uyumlu olup, probiyotiğin hedeflenen görevi yerine getirdiği söylenebilir.

3.13. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının GSH ve GSSG Miktarları

Pestisitlere maruz bırakılan ve *S. boulardii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının karaciğer dokularında ölçülen redükte glutatyon (GSH) ve okside glutatyon (GSSG) miktarları Tablo 3.9’da $\mu\text{mol/g}$ doku olarak verilmiştir. GSH sonuçlarına göre kontrol grubu ($4,24 \pm 0,21$) ile kıyaslandığında DM grubu ($9,37 \pm 0,30$) ve DMSb grubunun ($12,07 \pm 0,49$) GSH miktarları kısmen artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Sb grubu ($19,88 \pm 2,60$) ve SM grubunun ($17,21 \pm 1,07$) ise benzer şekilde en yüksek GSH miktarlarına sahip olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$). SMSb grubunun ($30,37 \pm 1,51$) GSH miktarı ise kontrol grubuna göre yüksek, Sb ve SM gruplarına göre düşük değere sahip olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). GSSG sonuçlarına göre ise kontrol grubu ($0,89 \pm 0,04$) en düşük değere sahip olmuştur. DM grubu ($1,18 \pm 0,04$) ($P > 0,05$), DMSb grubu ($1,44 \pm 0,10$) ve SM grubunun ($1,61 \pm 0,06$) GSSG miktarları bezer şekilde kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiştir ($P < 0,05$). Sb grubunun ($2,25 \pm 0,20$) en yüksek GSSG miktarına sahip olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$). SMSb grubunun ($2,28 \pm 0,08$) GSSG miktarının ise kontrol, DM, DMSb ve SM gruplarına göre yüksek, Sb grubuna göre ise düşük olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Sazan balıklarının kas dokularında ölçülen GSH ve GSSG miktarları Tablo 3.10’da $\mu\text{mol/g}$ doku olarak verilmiştir. GSH sonuçlarına göre kontrol grubu ($7,00 \pm 0,12$) ile kıyaslandığında DMSb grubunun ($8,23 \pm 0,27$) GSH miktarı artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Bununla birlikte diğer tüm grupların GSH miktarlarında artış gözlenmiştir ($P < 0,05$). SM grubu ($12,13 \pm 0,33$) en yüksek GSH miktarına sahip olmuşken bunu SMSb grubu ($10,58 \pm 0,50$) takip etmiştir ($P < 0,05$). GSSG sonuçlarına göre ise kontrol grubuna ($0,49 \pm 0,01$) göre diğer tüm gruplarda azalma tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

GSH, antioksidan özelliklere sahip endojen bir protein olmayan tiyol içeren tripeptittir [5, 45]. GSH sitoplazmada sentezlenir ve GSSG’ye oksitlenebilen mitokondriyal matrikste daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Toplam GSH seviyeleri ve GSH/GSSG oranı, oksidatif stres altında hücrelerin koruyucu yeteneğinin iki önemli göstergesidir [354, 355]. Sonuç olarak, bu göstergelerin her ikisindeki bir azalma oksidatif strese karşı duyarlılığı artırır ve kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar, solunum bozuklukları, inflamatuvar hastalıklar, diabetes mellitus ve nörodejeneratif bozukluklar dahil olmak üzere çeşitli durumların ilerlemesinde önemli olabilecek potansiyel zarara yol açar [236, 356].

Karaciğer ve kas dokularında DM ve SM maruziyeti sonucu GSH miktarları artmıştır. Probiyotik takviyesi ile beslenen sazanların karaciğer dokularında GSH seviyelerinin ise hem kontrol grubu hem de pestisitlere maruz kalan balıkların değerlerinden daha fazla olduğu gözlenmiştir. Kas dokusunda ise SM maruziyeti ve probiyotik takviyeli sazanların GSH seviyesinde, sadece SM’e maruz kalanların balıklarinkine göre azalma meydana gelmiştir. Karaciğer dokusunda GSSG seviyeleri muamele gruplarında artmış olup probiyotik ile beslenen

sazanların GSSG seviyelerindeki artış DM ve SM'e maruz kalan balıkların değerlerine oranla daha fazla olmuştur. Karaciğer dokusunda GSH ve GSSG seviyeleri gruplar arasında paralellik göstermiştir. Kas dokusunda ise GSSG miktarları düşük seviyelerde ölçülmüş ve DM ve SM'e maruz kalan balıkların daha düşük GSSG seviyelerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Kas dokusunda GSH miktarı artarken GSSG miktarı azalmıştır. GSH, GST'nin etkisi altında elektrofilik bileşikleri birleştirebilir ve lipid ve hidrojen peroksitlere karşı GPx ile birlikte etki edebilir [357]. Bu nedenle GSH, pestisitlerin oksidatif etkisini antagone etmede önemli bir rol oynar [358]. Araştırmacılar yaptıkları çalışmalarında GSH düzeyindeki artışın, hepatopankreas hücrelerindeki pestisit birikimini önlemek veya oksidatif hasarı önlemek için bir yanıt olabileceğini belirtmişlerdir [359]. SM'e maruz kalan sazanlarda gözlenen GSH seviyesindeki azalmanın, pestisit toksisitesini kontrol etmek için GSH tüketimindeki artış ile, zebra balığında gözlenen GSH seviyesindeki artışın ise GSH'un sentezi, kullanımı ve geri dönüşümünde rol alan genlerin ifadesindeki olası bir artış ile ilişkilendirilmiştir [340].

Probiyotik takviyeleri glutatyon, bütirat, folat ve ekzopolisakkaritler gibi antioksidan metabolitleri artırarak hücrel antioksidan kapasitesini artırabilir [360]. Dahası, probiyotik suşlar doğrudan bağırsakta GSH üretimine veya indüksiyonuna neden olabilir [179, 360]. Genel olarak *S. boulardii* probiyotiği sazanların dokularında GSH seviyelerini kontrol grubuna kıyasla artırmıştır. *S. boulardii* tedavisinin erkek Wistar sıçanlarında GSH ve toplam antioksidan kapasitesi seviyelerini yükselttiği gözlenmiştir [351]. Abdel-Latif vd. [183] Nil tilapiasının diyetlerinde maya *S. cerevisiae* ve sarımsak *Allium sativum* karışımı takviyesinin balıklarda GSH seviyelerini arttırdığını bulmuşlardır. Ayrıca birkaç çalışmada araştırmacılar, maya bazlı takviyelerin glutatyon sentezini teşvik ederek antioksidan savunmalarını artırabileceğini ve daha sonra detoksifikasyon süreçlerine yardımcı olabileceğini öne sürmüştür [361, 362]. Yapılan bir çalışmada, *S. boulardii* kullanımının lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen oksidatif stres modeli içinde sıçanların özellikle kortekste GSH dahil olmak üzere antioksidan seviyelerinin azalmasını ve hem hipokampüste hem de kortekste LPS ile indüklenen oksidatif strese karşı GSSG seviyelerinin artmasını önlediği ve her iki dokuda da *S. boulardii*'nin LPS ile uygulanmasından sonra GSH/GSSG oranı koruduğu bulunmuştur [236]. Benzer şekilde, Rajput vd. [363], *Saccharomyces boulardii*'nin broilerlerin serum ve karaciğerinde GSH seviyelerini artırdığını bildirmişlerdir.

Ek olarak, *S. boulardii*'nin içsel antioksidan aktivitesi açıktır. Önceki araştırmalar, bir GSH indükleyicisi olan sistein etil esterinin, *S. cerevisiae*, *S. bayanus* ve *S. boulardii* dahil olmak üzere çeşitli *Saccharomyces* suşlarında hücre içi GSH seviyelerini etkili bir şekilde artırdığını göstermiştir. Bu keşif, gastrointestinal bozuklukların tedavisinde oksidatif strese karşı koymak için GSH'nin antioksidan özelliklerinin *S. boulardii*'nin probiyotik özellikleriyle birleştirilmesi olasılığını öne sürmektedir [364]. Bugüne kadar, GSH'nin verimli üretimi için tercih edilen organizmalar mayalar, özellikle *S. cerevisiae* ve *Candida utilis*'tir [365]. GSH, *S. cerevisiae*

tarafından endüstriyel olarak yüksek konsantrasyonda üretilir ve bu genellikle güvenli olarak kabul edilir [366, 367].

3.14. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularındaki antioksidan Enzimlerin (SOD, CAT, GPx, GR, GST) Aktiviteleri

Deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz bırakılan ve *S. bouldardii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının karaciğer dokularından elde edilen enzim aktiviteleri SOD U/g doku, CAT ve GPx 10^3 U/dk/g doku, GST U/dk/g doku ve GR ise μ g protein/dk/g doku olarak Tablo 3.11’de verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde kontrol grubunun ($638,24 \pm 17,17$) SOD aktivitesine göre Sb grubu ($711,68 \pm 32,38$) ve SM grubunun ($691,55 \pm 18,06$) enzim aktiviteleri kısmen artmış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). DM grubu ($268,89 \pm 10,22$), DMSb grubu ($391,92 \pm 23,00$) ve SMSb grubunun ($438,29 \pm 29,20$) enzim aktivitelerinde önemli azalmalar gözlenmiştir ($P < 0,05$). En düşük SOD aktivitesine DM grubunun sahip olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). CAT aktiviteleri sonuçlara göre kontrol grubu ($19,40 \pm 0,50$), DMSb grubu ($19,31 \pm 0,51$) ve SMSb grubu ($18,12 \pm 0,76$) CAT aktiviteleri benzer bulunmuştur ($P > 0,05$). Sb grubu ($27,53 \pm 0,82$), DM grubu ($32,50 \pm 0,72$) ve SM grubu ($23,33 \pm 0,60$) CAT aktivitelerinin kontrol, DMSb ve SMSb gruplarına kıyasla artmış olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). En yüksek CAT aktivitesine DM grubunun sahip olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$).

Tablo 3.11. Karaciğer dokusu gruplara ait SOD, CAT, GPx, GR ve GST enzim aktiviteleri

Gruplar	SOD (U/g)	CAT (10^3 U/dk/g)	GPx (10^3 U/dk/g)	GR (μ g protein/dk/g)	GST (U/dk/g)
K	$638,24 \pm 17,17^a$	$19,40 \pm 0,50^d$	$2,10 \pm 0,06^{ab}$	$94,70 \pm 3,87^b$	$84,25 \pm 3,10^a$
Sb	$711,68 \pm 32,38^a$	$27,53 \pm 0,82^b$	$2,28 \pm 0,08^a$	$89,65 \pm 2,52^{bc}$	$70,91 \pm 3,13^b$
DM	$268,89 \pm 10,22^c$	$32,50 \pm 0,72^a$	$1,73 \pm 0,15^{bc}$	$113,63 \pm 3,26^a$	$47,93 \pm 2,80^{cd}$
DMSb	$391,92 \pm 23,00^b$	$19,31 \pm 0,51^d$	$1,70 \pm 0,09^{bc}$	$79,80 \pm 2,46^c$	$42,04 \pm 2,55^d$
SM	$691,55 \pm 18,06^a$	$23,33 \pm 0,60^c$	$2,28 \pm 0,08^a$	$93,10 \pm 2,09^b$	$84,11 \pm 3,01^a$
SMSb	$438,29 \pm 29,20^b$	$18,12 \pm 0,76^d$	$1,40 \pm 0,11^c$	$78,70 \pm 2,46^c$	$56,49 \pm 2,95^c$

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P < 0,05$).

GPx aktiviteleri sonuçlarına göre kontrol grubu ($2,10 \pm 0,06$), Sb grubu ($2,28 \pm 0,08$) ve SM grubunun ($2,28 \pm 0,08$) benzer GPx enzim aktivitelerine sahip oldukları belirlenmiştir ($P > 0,05$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubu ($1,73 \pm 0,15$) ve DMSb grubu ($1,70 \pm 0,09$) GPx aktiviteleri kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). SMSb grubunun ($1,40 \pm 0,11$) GPx enzim aktivitesinin ise en düşük değere sahip olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). GR sonuçları incelendiğinde kontrol grubu ($94,70 \pm 3,87$), Sb grubu

(89,65±2,52) ve SM grubunun (93,10±2,09) GR aktiviteleri benzer değerlere sahip olduğu gözlenmiştir (P>0,05). DM grubu (113,63±3,26) GR enzim aktivitesinin en yüksek değere sahip olduğu belirlenmiştir (P<0,05). DMSb grubu (79,80±2,46) ve SMSb grubu (78,70±2,46) enzim aktivitelerinde ise azalma olduğu saptanmıştır (P<0,05). GST sonuçlarına göre kontrol grubu (84,25±3,10) ve SM grubu (84,11±3,01) GST aktiviteleri benzer bulunmuştur (P>0,05). Sb grubu (70,91±3,13), DM grubu (47,93±2,80), DMSb grubu (42,04±2,55) ve SMSb grubunun (56,49±2,95) GST aktivitelerinde azalma olduğu gözlenmiştir (P<0,05). DM ve DMSb gruplarının benzer şekilde en düşük GST aktivitesine sahip oldukları belirlenmiştir (P<0,05).

Deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz bırakılan ve *S. bouldarii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının kas dokularının antioksidan enzimlerinden SOD U/g doku, CAT, GPx ve GST U/dk/g doku ve GR ise µg protein/dk/g doku olarak Tablo 3.12’de verilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde kontrol grubunun (124,01±4,25) SOD aktivitesi ile kıyaslandığında Sb grubunun (141,27±4,21) enzim aktivitesi artmış ve SMSb grubunun (109,25±4,52) ise azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05). DM grubu (48,56±3,34) SOD aktivitesinin en düşük değere sahip olduğu saptanmıştır (P<0,05). DMSb grubu (105,92±4,82) ve SM grubunun (102,03±4,91) SOD aktiviteleri benzer şekilde kontrol grubuna göre azalış gösterdiği belirlenmiştir (P<0,05). CAT aktiviteleri sonuçlarına göre kontrol grubuna (1946,55±62,06) göre Sb grubunun (1970,25±68,75) enzim aktivitesi benzer bulunmuştur (P>0,05). Diğer uygulama gruplarının CAT aktivitelerinin ise artmış olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). En yüksek CAT aktivitesine SMSb grubunun (4087,86±84,88) sahip olduğu ve bunu DMSb grubunun (3879,98±87,29) takip ettiği gözlenmiştir.

Tablo 3.12. Kas dokusu gruplara ait SOD, CAT, GPx, GR ve GST enzim aktiviteleri

Gruplar	SOD (U/g)	CAT (U/dk/g)	GPx (U/dk/g)	GR (µg protein/dk/g)	GST (U/dk/g)
K	124,01±4,25 ^{ab}	1946,55±62,06 ^d	266,77±6,01 ^a	14,42±0,55 ^a	5,48±0,22 ^a
Sb	141,27±4,21 ^a	1970,25±68,75 ^d	262,60±4,19 ^{ab}	15,40±0,48 ^a	5,47±0,11 ^a
DM	48,56±3,34 ^d	3697,85±76,81 ^b	240,93±7,37 ^{bcd}	15,64±0,45 ^a	5,13±0,27 ^a
DMSb	105,92±4,82 ^c	3879,98±87,29 ^{ab}	246,97±3,91 ^{abc}	15,12±0,53 ^a	5,31±0,32 ^a
SM	102,03±4,91 ^c	3249,75±118,85 ^c	217,77±7,30 ^d	16,52±0,51 ^a	4,86±0,28 ^a
SMSb	109,25±4,52 ^{bc}	4087,86±84,88 ^a	237,89±4,53 ^{cd}	15,47±0,55 ^a	5,05±0,28 ^a

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05).

GPx sonuçlara göre kontrol grubu (266,77±6,01) ve Sb grubunun (262,60±4,19) benzer GPx enzim aktivitelerine sahip oldukları belirlenmiştir (P>0,05). Diğer grupların GPx aktivitelerinin azalmış olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). En düşük GPx aktivitesine SM grubunun (217,77±7,30) sahip olduğu ve ikinci en düşük değere sahip olarak SMSb grubunun (237,89±4,53) olduğu gözlenmiştir (P<0,05). GR aktiviteleri incelendiğinde kontrol grubuna (14,42±0,55) kıyasla diğer

grupların GR aktiviteleri kısmen artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). GST aktivitelerine göre, kontrol grubu ($14,42\pm0,55$) ile karşılaştırıldığında diğer grupların GST aktiviteleri benzer değerlere sahip olmuş ve istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Sazanların kas ve karaciğer dokularında DM gruplarında en düşük SOD aktivitesi gözlenmiştir. Bununla birlikte, karaciğerde SM grubunda SOD aktivitesi artmıştır. Sentetik piretrin permetrine maruz kaldığında sazan karaciğer dokularında SOD aktivitesinde azalma ve solungaç dokusunda ise artış gözlenmiştir. Araştırmacılar, karaciğerdeki SOD aktivitesindeki azalmanın antioksidan sistemin bozulduğuna ve pestisit adaptasyonundan veya enzim bazal aktivitesi ile serbest radikal oluşumunun engellenmesinden kaynaklanabileceğini [368] bildirmişlerdir. Pestisitlere maruz kalan balıkların solungaçlarındaki SOD aktivitesindeki artışın ise oksijen radikalının dismutasyonundan kaynaklandığını [304] varsaymışlardır. Kronik DM maruziyetinin genç sazan balığının beyin dokusunda SOD aktivitesini azalttığı ve bunun beyin dokusunun antioksidan savunmasının oksidatif stres tarafından tüketilmesiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir [341]. Hem pestisitlere maruz bırakılan hem probiyotik takviyesiyle beslenen balıkların SOD aktiviteleri kontrol balıklarına göre düşmüştür. Oksidatif stres arttıkça SOD aktivitesinin artarak canlının savunmasına katkı sağlaması beklenen bir sonuçtur. Sonuçlara göre pestisitlere maruz kalan gruplara kıyasla hem pestisitlere maruz kalan ve hem de probiyotik ile beslenen balıkların SOD aktivitelerinin artması probiyotiklerin oksidatif strese karşı sazanlarda yararlı etkilerinin olduğuna işaret etmektedir. Pestisitlere maruz kalma dönemlerinde toksik strese yanıt olarak artan SOD aktivitesinin artan ROS üretimini nötralize etmeye hizmet ettiği düşünülmektedir [217, 369]. Pestisitler SOD aktivitesini aşağı, probiyotik maya takviyesi ise yukarı regüle etmiştir. Diyetlerinin *S. boulardii* ve *B. Bifidum* probiyotikleriyle desteklenmesinin Nil tilapyası balıkların kontrol grubuna kıyasla SOD aktivitelerinin önemli ölçüde artmasına neden olduğu ve bunun balıkların antioksidan savunma yollarında probiyotiklerin aktif katılımlarını ortaya koyduğunu bildirmişlerdir [155].

SOD enzimi reaktif oksijenleri H_2O_2 'e dönüştürerek antioksidan savunma sistemin ilk basamağında rol alır. CAT enzimi ise H_2O_2 'i H_2O ve O_2 'e dönüştürerek H_2O_2 'in toksisitesinden hücreyi korur. SOD'un artmış aktivitesi, organizmanın ksenobiyotik kaynaklı oksijen radikallerine karşı adaptif bir yanıtını gösterebilir ve bu da O_2 'nin H_2O_2 'ye dönüşümünü teşvik eder ve bu da nihayetinde CAT tarafından katabolize edilir [178].

Karaciğer ve kas dokularında DM ve SM pestisitleri balıkların CAT aktivitesini artırmıştır. Probiyotik maya ise pestisit maruziyetinde karaciğer CAT aktivitesini kontrol grubuna benzer seviyelere düşürmüştür. Kas dokusunda ise tersi durum meydana gelmiş olup CAT aktivitesini artırmıştır. Permetrin ile muamele edilen sazan balıklarının karaciğer dokusunda CAT aktivitesinde

azalma ve solungaçlarda artış gözlenmiştir. Araştırmacılar, CAT aktivitesindeki azalmayı enzimatik aktiviteyi inhibe eden süperoksit radikallerin ve H_2O_2 'in artışından kaynaklanabileceğini [370] belirtmişlerdir. Solungaçtaki yüksek CAT aktivitesinin ise permetrinin su ve oksijene olan etkisiyle hücresel düzeyde artan H_2O_2 'i azaltma yeteneğine bağlamışlardır. Benzer şekilde, alfa-sipermetrine maruz kalan gökkuşağı alabalıklarının solungaç dokularında ise CAT seviyelerinde önemli bir artış ve karaciğer dokusunda CAT aktivitesinde azalmalar gözlenmiş ve bunun H_2O_2 'in yüksek olduğu ve adaptasyonun sağlanamadığı durumlarda meydana geldiği ileri sürülmüştür [339]. Oksidatif stres faktörleri (pestisitler, kirlilik, vb.) antioksidan savunma mekanizmasını indükleyebilir veya bu enzimleri inaktive ederek hücrelerin antioksidan potansiyelini azaltabilir [371]. Kahverengi alabalık (*Salmo trutta fario*) balıklarının beyin dokusunda DM kaynaklı SOD ve CAT aktivitelerinde azalma gözlenmiştir [257].

Sazan kas dokusunda DM ve SM, GPx aktivitelerinin düşmesine neden olmuş ve karaciğer dokusunda ise SM grubunda artış meydana gelmiştir. Permetrine maruz kaldığında sazan karaciğer dokularında GPx aktivitesinde azalma ve solungaç dokusunda ise artış gözlenmiştir. Araştırmacılar, pestisitlere maruz kalan organların peroksitlerin etkilerini azaltma veya nötralize etmedeki yetersizliğin GPx aktivitesinde azalmaya neden olabileceğini [372] ve ayrıca pestisit kaynaklı toksisiteyle mücadele etmek veya oksidatif strese karşı korumak [373] veya H_2O_2 üretiminin artması ve enzim indükleyici etkisi nedeniyle [374] artırılabilceğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde, SM maruziyetinin Van Gölü balıklarının karaciğer, böbrek, solungaç ve beyin dokularında GPx aktivitesinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu belirlenmiştir [342]. Bununla birlikte, pestisit maruziyetinde probiyotik takviyesi ile karaciğerde GPx aktiviteleri düşmüş, kas dokusunda artmıştır.

Sazan balıklarının karaciğer dokularında GR aktivitesi DM'e maruz kalan balık grubu hariç diğer gruplarda azalmıştır. Kas dokusunda ise hafif bir artış meydana gelmiştir. Fungisit penkonazole akut maruz kalmanın kerevitlerin hepatopankreaslarında GR aktivitesini artırdığı ve bu artışın balıkların oksidatif stres koşullarına uyum sağlama eğilimi olabileceği bildirilmiştir [375]. Bununla birlikte, probiyotik takviyesi pestisit maruziyetine göre GR aktivitesinin daha fazla düşmesine neden olmuştur.

GST aktivitesi ise sazan karaciğerlerinde SM grubu hariç diğer muamele gruplarında azalmıştır. SM'e maruz kalan sazan ve zebra balıklarında GST aktivitesi artmış ve bu artış ise GST konjuge ürünleri tarafından lipid peroksitlerin ortadan kaldırılmasıyla ilişkilendirilmiştir [340]. Beta-sipermetrin ve piraklostrobin maruziyetinin kancalı burunlu sazan balığının (*Opsariichthys bidens*) GST enzimin aktivitesini düşürerek detoksifikasyon kapasitesinde inhibisyon olduğu bildirilmiştir [376]. Başka bir çalışmada ise GST aktivitesinin, *C. carpio*'nun atrazine maruziyetinden sonra önemli ölçüde azaldığı ve karaciğer, beyin, böbrek ve solungaçtaki dört GST izoformu transkriptinin (GSTK, GSTT, GSTR ve GSTM) ifadesi, dokuya, konsantrasyona ve

maruziyet süresine bağlı olarak yukarı veya aşağı düzenlendiği rapor edilmiştir [377]. Probiyotik takviyesi ile beslenen sazanlarda pestisitlere maruz kalan sazanlara kıyasla daha düşük GST aktivitesi gözlenmiştir. Kas dokusunun ise GST aktivitelerinde belirgin bir değişim meydana gelmemiştir. Sonuçlara göre karaciğer dokusunda GST aktivitesinin düşmesi ile GSH miktarının artmış olması ilişkili olabilir. Çünkü GST enzimi GSH'nu konjugatlarla bağlayarak zararlı maddeleri uzaklaştırır. Kas dokusunda ise GSH seviyelerinin artması GPx ve GST enzim aktivitelerinin azalmasının bir sonucu olabilir. GSSG seviyelerindeki azalmayı da GR enziminin aktivesinin artmasına bağlayabiliriz.

Klorpirifos ve sipermetrine maruz kalan sazan balığında GPx ve GR aktivitelerinin kontrole kıyasla önemli ölçüde azaldığı ve CAT aktivitesinin ise arttığı bildirilmiştir. Araştırmacılar CAT aktivitesindeki artışı balıkların adaptif tepkilerine ve oksidatif strese karşı savunma mekanizması olarak açıklamışlardır [378]. Başka bir çalışmada, DM'e maruz kalan sazan balıklarının hepositlerinde SOD ve GPx aktivitesinin arttığını, CAT ve GR aktivitesinin ise azaldığını bildirilmiştir [264]. Yapılan başka bir çalışmada, sazan balıkları DM'in farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmış ve solungaç dokusunda düşük dozda SOD aktivitesinin arttığı ve DM dozunun artmasıyla SOD ve CAT aktivitesinin baskılandığı rapor edilmiştir. Ayrıca solungaçlarda GPx aktivitesinde önemsiz hafif değişiklikler tespit edilmiştir [52].

Karatas vd. [379], gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) solungaç ve karaciğerinde SM kaynaklı toksisiteye karşı çay yaprağı ekstraktının (*Camellia sinensis*) etkisini araştırmış ve çay yaprağı ekstraktının, SM'in etkisiyle aktivitelerinin düştüğü SOD ve CAT enzimlerinin seviyelerini artırdığını bildirmişlerdir. Atamanalp vd. [349], SM'e maruz bırakılmış gökkuşağı alabalığının N-asetilsistein ile tedavi sonucu solungaç, karaciğer ve böbrek dokularında SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin arttığını bulmuşlardır. SM'e maruz kalan sazan balığında SOD ve CAT seviyelerinde azalma ve diyet *Origanum vulgare* esansiyel yağı takviyesinin ise bu enzimlerin aktivitelerini normal seviyelerde tutabildiği gözlenmiştir [66]. Diyet katkı maddesi ferulik asitin, sazan balığının karaciğerinde kronik avermektin maruziyeti sonucu azalan SOD, CAT ve GPx aktivitelerini artırarak oksidatif hasarı hafiflettiği tespit edilmiştir [350]. Gökkuşağı alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) SM'e karşı fitoterapötik bir madde olan siyah kimyon yağının (*Nigella sativa*) tedavi edici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, SM'in SOD, CAT ve GPx aktivitelerinin inhibisyonuna karşı kimyon yağının bu enzimlerin üretimini teşvik ederek kontrole benzer seviyelere sahip olmalarını sağladığı bulunmuştur [380]. Benzer sonuçlar Vineetha vd. [381] tarafından DM maruziyetinde Shatavari (*Asparagus racemosus*) özütünün takviyesi sonucunda da rapor edilmiştir.

Probiyotiklerin antioksidan olarak rolü ve ayrıca enzimatik antioksidan enzim sistemi üzerindeki indükleyici etkisi bildirilmesine rağmen, mekanizması hala bilinmemektedir. Balıklardaki probiyotiklerin antioksidan fonksiyonu, antioksidan genlerin modülasyonu üzerindeki

teşvik edici etkilerine atfedilmektedir [157]. *Cyprinus carpio*'da klorpirifos kaynaklı oksidatif strese karşı proteksin takviyesinin etkisi değerlendirilmiş ve proteksinin azalan SOD ve GR enzim aktivitelerini geri kazandığı, CAT ve GPx aktivitelerine etki etmediği bulunmuştur [179]. Sazanlarda probiyotik takviyelerinin balık yeminde kullanılmasının, probiyotiklerin ROS temizleyici ve iyon şelat oluşturuıcı özelliklerinden dolayı CAT ve GPx düzeylerini artırabileceği rapor edilmiştir [147]. Abdel-Latif vd. [183], Nil tilapiasının diyetlerinde maya *S. cerevisiae* ve sarımsak *Allium sativum* karışımı takviyesinin balıklarda SOD ve CAT aktivitelerinin arttığını ve böylece balıkların ROS temizleme yeteneklerini geliştirdiğini rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, *S. boulardii* kullanımının lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen oksidatif stres modeli içinde sıçanlarda SOD ve GPx aktivitelerinin hipokampüste LPS modelinde değişmediğini, ancak sıçan korteksinde azaldığını ve probiyotik *S. boulardii*'nin LPS ile oluşan oksidatif stres ve inflamasyon ortamında oksidan ve antioksidan parametreleri başarılı bir şekilde modüle edebildiğini gözlemlenmiştir [236]. Rajput vd. [363], *Saccharomyces boulardii*'nin broilerlerin serum ve karaciğerinde GR enzim aktivitelerini artırdığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, hayvanların endojen antioksidan savunma mekanizmasının diğer dış kaynaklara da bağlı olduğunu ve bunun, oksidatif stresin neden olduğu etkilerden korunmanın doğal bir kaynağı olan probiyotikler tarafından desteklenebileceğini belirtmişlerdir.

Enzimler, karotenoidler, vitaminler ve düşük moleküler ağırlıklı temizleyiciler gibi lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlayan faktörler tüm balık dokularında bulunmuştur [382]. Özel olarak adapte olmuş enzimler olan katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon bağımlı enzimler birçok balık türünde tespit edilmiştir. Balıkların hem oksidatif tepkileri hem de antioksidan potansiyeli tür habitatına ve beslenme davranışına göre farklılık göstermektedir [383, 384]. Antioksidan sistemin çeşitli dokulardaki oksidatif strese tepkisi, dokuya özgü antioksidan potansiyellerden kaynaklanan farklılıklar göstermektedir [385]. Çalışma sonuçlarında, dokuların oksidatif tepkilerinde ve antioksidan kapasitelerinde benzer şekilde önemli farklılıklar bulunmuştur. Doku farklılıkları, farklı serbest radikal üretim oranlarından, oksidatif hasara karşı duyarlılıktaki farklılıklardan veya dokuların farklı antioksidan kapasitelerinden kaynaklanıyor olabilir, ancak probiyotik *S. boulardii* dokuların DM ve SM toksisitesine karşı oksidatif duyarlılığını değiştirmiştir.

3.15. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının Lipofilik Molekül İçeriği

Deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz bırakılan ve *S. boulardii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının karaciğer dokularının lipofilik molekül içerikleri Tablo 3.13'te $\mu\text{g/g}$ doku olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sazan balıklarının karaciğer dokularında yağda çözünen vitaminlerden (ADEK) D2, E (α -Tokoferol), K1 ve K2 vitaminleri iz miktarlarda tanımlanmıştır. D2 vitamini, kontrol grubu ($0,28 \pm 0,02$), Sb grubu ($0,24 \pm 0,01$) ve SM gruplarında

(0,29±0,01) benzer bulunmuştur ($P>0,05$). DM grubu (0,21±0,01) ve SMSb grubunda (0,16±0,01) kontrol grubuna göre azalma olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). DMSb grubu (0,34±0,01) D2 vitamin içeriğinin ise en yüksek değere sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). α -Tokoferol (E Vitamini), kontrol grubu (0,28±0,01) ve Sb gruplarında (0,28±0,02) benzer bulunmuştur ($P>0,05$). DM grubu (0,24±0,02), DMSb grubu (0,22±0,00) ve SM grubu (0,20±0,01) α -tokoferol içeriklerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında SMSb grubunun (0,32±0,02) α -tokoferol içeriği ise kısmen artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). K1 vitamini içeriğinin, kontrol grubuna (0,35±0,01) kıyasla diğer tüm gruplarda azalmış olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). K2 vitamini ise sadece kontrol grubu (0,28±0,01) ve DM grubunda (0,39±0,03) bulunmuştur.

Sazan balıklarının karaciğer dokularında sterollerden kolesterol, ergosterol, betasterol ve sitosterol tanımlanmıştır (Tablo 3.13). Kolesterol içeriği açısından kontrol grubu (575,36±24,86) ve Sb grubunun (576,50±18,12) benzer sonuçlara sahip olduğu gözlenmiştir ($P>0,05$). DM grubunun kolesterol içeriği (537,65±25,36) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). DMSb grubu (406,52±11,96) ve SMSb gruplarının (413,26±22,20) kolesterol içeriklerinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$). SM grubunun kolesterol içeriğinin (652,35±17,43) ise kontrol grubuna kıyasla artmış olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Ergosterol içeriğinin, kontrol grubu (44,79±1,18) ile Sb grubunda (49,70±1,28) benzer sonuçlar gösterdiği tespit edilmiştir ($P>0,05$). DM grubu (61,30±2,47) ve SM grubu (66,33±1,74) ergosterol içeriğinin kontrol grubuna göre artmış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). DMSb grubu (38,06±1,21) ve SMSb grubu (3,21±0,20) ergosterol içeriklerinin ise kontrol grubuna kıyasla azalmış oldukları tespit edilmiştir ($P<0,05$). Betasterol içeriğinin kontrol grubu (0,95±0,09) ile kıyaslandığında diğer tüm gruplarda azalmış oldukları gözlenmiştir. Sb grubu (0,81±0,08) ve SM grubu (0,86±0,07) betasterol içeriklerinin kontrol grubuna göre azalmış olmaları istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). DM grubu (0,47±0,03), DMSb grubu (0,45±0,05) ve SMSb gruplarının (0,57±0,03) betasterol içeriklerin en düşük değerlere sahip oldukları saptanmıştır ($P<0,05$). Sitosterol içeriği ise kontrol grubu (1,66±0,10) ile kıyaslandığında Sb grubunda (2,11±0,18) kısmen artmış olmasına ve DM grubunda (1,57±0,10) ise kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). DMSb grubu (0,45±0,02), SM grubu (1,02±0,13) ve SMSb grubu (1,12±0,08) sitosterol içeriklerinin kontrol grubuna göre azalmış oldukları tespit edilmiştir ($P<0,05$).

Tablo 3.13. Karaciğer dokusu gruplara ait lipofilik molekül içeriği (µg/g)

	K	Sb	DM	DMSb	SM	SMSb
Vitamin D2	0,28±0,02 ^b	0,24±0,01 ^{bc}	0,21±0,01 ^{cd}	0,34±0,01 ^a	0,29±0,01 ^{ab}	0,16±0,01 ^d
α-Tokoferol (Vitamin E)	0,28±0,01 ^{ab}	0,28±0,02 ^{ab}	0,24±0,02 ^c	0,22±0,00 ^c	0,20±0,01 ^c	0,32±0,02 ^a
Vitamin K1	0,35±0,01 ^a	0,26±0,01 ^b	0,22±0,01 ^{bc}	0,20±0,01 ^c	0,20±0,01 ^c	0,18±0,01 ^c
Vitamin K2	0,28±0,01	-	0,39±0,03	-	-	-
Kolesterol	575,36±24,86 ^{ab}	576,50±18,12 ^{ab}	537,65±25,36 ^b	406,52±11,96 ^c	652,35±17,43 ^a	413,26±22,20 ^c
Ergosterol	44,79±1,18 ^b	49,70±1,28 ^b	61,30±2,47 ^a	38,06±1,21 ^c	66,33±1,74 ^a	3,21±0,20 ^d
Betasterol	0,95±0,09 ^a	0,81±0,08 ^{ab}	0,47±0,03 ^c	0,45±0,05 ^c	0,86±0,07 ^a	0,57±0,03 ^{bc}
Sitosterol	1,66±0,10 ^{ab}	2,11±0,18 ^a	1,57±0,10 ^{bc}	0,45±0,02 ^e	1,02±0,13 ^d	1,12±0,08 ^{cd}

a, b, c, d, e; Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05).

Sazan balıklarının kas dokularının lipofilik molekül içerikleri Tablo 3.14'te µg/g doku olarak verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre sazan balıklarının kas dokularında yağda çözünen vitaminlerden (ADEK) D2, D3, E (α-Tokoferol, σ-Tokoferol), K1 ve K2 vitaminleri tanımlanmıştır. D2 vitamini yalnız DM grubu (0,20±0,01) ve DMSb grubunda (0,12±0,01) iz miktarlarda bulunmuştur. D3 vitamini içeriği kontrol grubuna (1,10±0,08) göre Sb grubu (1,43±0,19) ve SM grubunda (1,26±0,11) kısmen artmış ve DM grubu (0,82±0,06), DMSb grubu (0,90±0,08) ve SMSb grubunda (1,00±0,05) ise kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05). Kontrol grubu (0,16±0,01) ile kıyaslandığında diğer grupların α-Tokoferol içeriği benzer bulunmuştur (P>0,05). σ-Tokoferol içeriğinin ise kontrol grubuna (0,16±0,01) kıyasla Sb grubu (0,36±0,03), DM grubu (0,20±0,02) ve DMSb grubunda (0,31±0,01) artmış olduğu ve SM grubu (0,08±0,01) ile SMSb grubunda (0,12±0,01) ise azalmış olduğu gözlenmiştir (P<0,05). K1 vitamin içeriğinin kontrol grubuna (0,89±0,07) göre diğer tüm gruplarda azalma gösterdiği bulunmuştur (P<0,05). En düşük K1 vitamini içeriğine ise DM grubunun (0,33±0,02) sahip olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Kontrol grubu (3,79±0,15) ile kıyaslandığında K2 vitamin içeriği DM grubu (4,94±0,39), DMSb grubu (4,37±0,25) ve SMSb grubunda (3,96±0,22) artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05). Sb grubu (7,52±0,40) ve SM grubunun (5,41±0,40) K2 vitamin içeriğinin diğer gruplara göre artmış olduğu gözlenmiştir (P<0,05).

Sazan balıklarının kas dokularında sterollerden kolesterol, ergosterol, betasterol ve sitosterol tanımlanmıştır (Tablo 3.14). Kolesterol içeriği açısından kontrol grubuna (346,24±5,66) kıyasla Sb grubu (307,32±11,17), DM grubu (329,25±10,47), DMSb grubu (325,35±7,19) ve SMSb grubunun (341,64±8,55) değerleri kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur (P>0,05). SM grubunun (391,37±14,71) kolesterol içeriğinin ise diğer gruplara göre artmış olduğu gözlenmiştir (P<0,05). Ergosterol içeriğinin kontrol grubuna (23,66±0,61) göre Sb grubu (29,34±1,46) ve DM grubunda (28,97±0,86) artmış olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (P>0,05). Bununla birlikte, DMSb grubu (33,56±1,88), SM grubu (47,99±2,14) ve SMSb grubunun (52,23±2,07) ergosterol içeriğinin kontrol grubuna kıyasla yüksek

değerlere sahip olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Betasterol içeriği DMSb grubunda tanımlanmamıştır. Kontrol grubuna ($0,26\pm0,02$) göre Sb grubunda ($0,14\pm0,02$) azalmış ve DM grubu ($0,29\pm0,02$), SM grubu ($0,90\pm0,07$) ve SMSb grubunda ($1,20\pm0,06$) da artmış olduğu tespit edilmiştir. Sitosterol içeriğinin ise kontrol grubu ($0,27\pm0,02$) ile karşılaştırıldığında Sb grubu ($0,17\pm0,02$) ve DMSb grubunda azalmış ($0,21\pm0,02$) ve DM grubunda ($0,32\pm0,03$) artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). SM grubu ($0,95\pm0,03$) ve SMSb grubunun ($0,87\pm0,02$) sitosterol içeriğinin ise diğer gruplardan daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir ($P<0,05$).

Tablo 3.14. Kas dokusu gruplara ait lipofilik molekül içeriği ($\mu\text{g/g}$)

	K	Sb	DM	DMSb	SM	SMSb
Vitamin D2	-	-	$0,20\pm0,01$	$0,12\pm0,01$	-	-
Vitamin D3	$1,10\pm0,08^{abc}$	$1,43\pm0,19^a$	$0,82\pm0,06^c$	$0,90\pm0,08^{bc}$	$1,26\pm0,11^{ab}$	$1,00\pm0,05^{bc}$
α-Tokoferol (Vitamin E)	$0,16\pm0,01^{ab}$	$0,20\pm0,02^a$	$0,18\pm0,01^a$	$0,11\pm0,01^b$	$0,16\pm0,01^{ab}$	$0,19\pm0,02^a$
σ-Tokoferol (Vitamin E)	$0,16\pm0,01^{bc}$	$0,36\pm0,03^a$	$0,20\pm0,02^b$	$0,31\pm0,01^a$	$0,08\pm0,01^d$	$0,12\pm0,01^{cd}$
Vitamin K1	$0,89\pm0,07^a$	$0,60\pm0,06^b$	$0,33\pm0,02^c$	$0,42\pm0,03^{bc}$	$0,54\pm0,04^b$	$0,47\pm0,04^{bc}$
Vitamin K2	$3,79\pm0,15^c$	$7,52\pm0,40^a$	$4,94\pm0,39^{bc}$	$4,37\pm0,25^{bc}$	$5,41\pm0,40^b$	$3,96\pm0,22^c$
Kolesterol	$346,24\pm5,66^b$	$307,32\pm11,17^b$	$329,25\pm10,47^b$	$325,35\pm7,19^b$	$391,37\pm14,71^a$	$341,64\pm8,55^b$
Ergosterol	$23,66\pm0,61^c$	$29,34\pm1,46^{bc}$	$28,97\pm0,86^{bc}$	$33,56\pm1,88^b$	$47,99\pm2,14^a$	$52,23\pm2,07^a$
Betasterol	$0,26\pm0,02$	$0,14\pm0,02$	$0,29\pm0,02$	-	$0,90\pm0,07$	$1,20\pm0,06$
Sitosterol	$0,27\pm0,02^{bc}$	$0,17\pm0,02^c$	$0,32\pm0,03^b$	$0,21\pm0,02^c$	$0,95\pm0,03^a$	$0,87\pm0,02^a$

a, b, c, d; Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P<0,05$).

Yağda çözünen bir vitamin olan α -tokoferol, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) oksidasyonundan kaynaklanan serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırmaktan sorumlu olan önemli bir antioksidandır [386]. Bu nedenle, PUFA'nın hücresel lipid peroksidasyonunu engellemek için α -tokoferol takviyesinin miktarının artırılması önerilmiştir. α -tokoferol, memelilerin hücre zarlarındaki lipid peroksidasyonuna karşı başlıca antioksidan savunma olarak kabul edilir. α -tokoferolün dokulardaki en önemli rolü, zar PUFA'sını oksijen radikallerinin etkilerine karşı korumak gibi görünmektedir. Lipid peroksil radikallerini temizleyerek zar lipidlerinin peroksidasyonunu inhibe eder ve sonuç olarak bir tokoferoksil radikale dönüşür [386]. α -tokoferol, normal sodyum kanallarını etkilemeden, doza bağlı bir şekilde piretrinle modifiye edilmiş sodyum kanalını seçici olarak bloke eder. Dahası, α -tokoferol zarla bağlı enzimlerin aktivitelerini neredeyse normal değerlerde tutarak, mitokondriyal zar bütünlüğünü korur ve bazı enzim aktivitelerini serbest radikaller tarafından oksidasyondan korur [387]. SM maruziyetine bağlı olarak sazanlarda azalmış IgM ve lizozim seviyesini, *M. oleifera*'nın içeriğinde bulunan A, K ve C vitaminleri ile amino asit içeriği, gelişmiş bağışıklık için yol açan IgM üretimini iyileştirdiği bildirilmiştir [388, 389]. Çalışma sonuçları incelendiğinde probiyotik mayanın, sazanların hem karaciğer hem de kas dokusunda vitamin sentezi üzerinde çok etkili olmadığı

gözlenmiştir. Bununla birlikte, kas dokusunun K2 vitamin içeriğini kontrole göre oldukça artırmıştır. Biyokimyasal değişimler, genellikle bir hayvanın çevresel değişikliklere verdiği sağlık tepkisinin en belirgin gözlemlenebilir ve ölçülebilir işaretleridir [178, 390, 391].

Sazan balıklarının karaciğer ve kas dokularında kolesterol SM uygulanmış gruplarda artmıştır. Pestisit maruz kalmış ve probiyotik maya uygulanmış gruplarda ise sadece pestisit maruziyeti olan gruplara kıyasla kolesterol düşmüştür. Yapılan bir çalışmada, klorpirifosa maruz kalan balıkların plazmasındaki kolesterol seviyelerinin arttığı ve hiperkolesteroleminin, kolesterolün safra yoluyla atılımının bozulmasından kaynaklanıyor olabileceği rapor edilmiştir. Balık hepatositlerinde safra oluşumundaki metabolik bozukluklar kolestaza neden olabilmektedir [392]. Ayrıca araştırmacılar, kolesteroldeki artışın, pestisit toksik etkilerinin neden olduğu bozulmuş karaciğer fonksiyonu nedeniyle yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerinde meydana gelen azalmayla ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Benzer sonuçlar, Abdel-Daim vd. [393] ve Mokhbatly vd. [394] tarafından sırasıyla klorpirifosa maruz kaldıktan sonra *O. niloticus* ve Afrika yayın balığı *Clarias gariepinus*'ta bildirilmiştir. Xiao vd. [395] sıçanlarda ve Ataie-Jafari vd. [396] insanlarda probiyotik takviyesinin dolaşımdaki kolesterolü düşürerek serum lipid profillerini iyileştirebileceğini bulmuşlardır. Probiyotiklerle tedavi edilen kişilerde toplam kolesterol ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerinin düzenlenmesi de Guo vd. [397] tarafından bir meta-analizde bildirilmiştir.

Ergosterol miktarı hem karaciğer hem de kas dokusunda DM ve SM'e maruz kalan balıklarda artış göstermiştir. Membrandaki ergosterol miktarının artırılmasıyla membranın daha sert hale geldiği ve lipid salının oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir [282-284]. Balık karaciğerinde pestisitlerden kaynaklanan oksidatif strese karşı savunma göreviyle ergosterol sentezi artmış olabilir. Karaciğerde probiyotik maya ergosterol miktarının düşmesine neden olurken, kas dokusunda artırmıştır. Probiyotik maya, serbest radikallere ve metal iyonlarına karşı antioksidan temizleme eylemleri yoluyla hepatik enzim aktivitelerini geri kazandırma konusunda önemli bir yetenek göstermiştir. Bu da lipid peroksidasyonunu engellemeye ve membran geçirgenlik özelliklerini korumaya yardımcı olur. Bu eylemler toplu olarak karaciğer hasarına karşı koymak için çalışır [398].

3.16. Sazan Balıklarının Karaciğer ve Kas Dokularının Yağ Asit Kompozisyonu

Deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz bırakılan ve *S. bouldardii* probiyotiği ile beslenen sazan balıklarının karaciğer dokularının yağ asitleri profilleri Tablo 3.15'te % olarak verilmiştir. Palmitik (16:0), palmitoleik (16:1 n-7), stearik (18:0), oleik (18:1 n-9 c), linoleik (18:2 n-6 c), araşidonik (20:4 n-6) ve dokosaheksaenoik (22:6 n-3) asitler yüksek yüzdeleri ile başlıca yağ asitleri olarak öne çıkmıştır. 16:0 oranının kontrol grubuna (19,95±0,29) kıyasla DM grubu (20,03±0,33) hariç diğer tüm gruplarda azaldığı belirlenmiştir (P<0,05). 16:1 n-7 oranının kontrol

grubu ($3,00 \pm 0,11$) ile kıyaslandığında diğer gruplarda artmış olduğu ve en fazla artışın Sb grubunda ($3,89 \pm 0,11$) olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$). 18:0 oranının kontrol grubuna ($6,19 \pm 0,17$) göre DM grubu ($6,82 \pm 0,15$) ile DMSb grubunda ($6,36 \pm 0,10$) artmış olduğu ($P < 0,05$), diğer gruplarda ise kısmen azalmış olduğu bulunmuştur ($P > 0,05$). Kontrol grubu ($21,22 \pm 0,88$) ile kıyaslandığında DM grubunun ($21,48 \pm 0,43$) 18:1 n-9 c oranının benzer olduğu ($P > 0,05$) ve diğer tüm gruplarda artmış olduğu bulunmuştur ($P < 0,05$). En fazla artış SMSb grubunda ($29,00 \pm 0,28$) meydana gelmiş ve bunu Sb grubu ($27,30 \pm 0,11$) takip etmiştir ($P < 0,05$). 18:2 n-6 c oranının kontrol grubuna ($11,93 \pm 0,36$) kıyasla DM grubunda ($10,81 \pm 0,32$) kısmen azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Bununla birlikte, Sb grubu ($16,71 \pm 0,33$), DMSb grubu ($13,71 \pm 0,28$), SM grubu ($17,00 \pm 0,29$) ve SMSb grubunun ($17,43 \pm 0,26$) 18:2 n-6 c oranlarının artmış olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). 20:4 n-6 oranının kontrol grubu ($5,02 \pm 0,22$) ile karşılaştırıldığında DM grubunun ($5,29 \pm 0,15$) benzer olduğu ($P > 0,05$) ve diğer tüm gruplarda azaldığı saptanmıştır ($P < 0,05$). 20:4 n-6 oranının en düşük olduğu grubun SMSb grubu ($2,84 \pm 0,10$) olduğu belirlenmiştir ($P < 0,05$). Kontrol grubuna ($17,25 \pm 0,77$) göre 22:6 n-3 oranının tüm gruplarda azalmış olduğu ve bu azalmanın DM grubunda ($16,10 \pm 0,48$) istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P > 0,05$). Sb grubu ($10,17 \pm 0,21$), SM grubu ($10,28 \pm 0,15$) ve SMSb grubunun ($9,58 \pm 0,12$) 22:6 n-3 oranlarının benzer şekilde en düşük değerlere sahip olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$). Bu yağ asitlerinin dışında karaciğer dokularında miristik (14:0), pentadekanoik (15:0), heptadekanoik (17:0), 10-heptadekanoik (17:1), elaidik (18:1 n-9 t), vakseinik asit (18:1 n-11), linolenik (18:3 n-3), cis-11-eikozenoik (20:1), cis-11,14-eikodadienoik (20:2), cis-11,14,17-eikozatrienoik (20:3 n-3), eikozapentaenoik (20:5 n-3), dokosapentaenoik asit (22:5 n-3), bütirik (24:0) ve nervonik (24:1) yağ asitleri de farklı oranlarda tanımlanmıştır. 18:1 n-11 oranının kontrol grubuna ($2,74 \pm 0,02$) kıyasla diğer gruplarda azalmış olduğu saptanmıştır ($P < 0,05$). 18:3 n-3 oranının kontrol grubuna ($1,36 \pm 0,06$) göre SMSb grubunda ($1,97 \pm 0,08$) artmış olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). 20:1 ve 20:3 n-3 yağ asitlerinin oranlarının kontrol grubu ile diğer grupların benzer olduğu gözlenmiştir ($P > 0,05$). 20:5 n-3 oranının kontrol grubu ile kıyaslandığında diğer gruplarda azalmış olduğu belirlenmiştir ($P > 0,05$; $P < 0,05$). 22:5 n-3 oranının ise kontrol grubuna ($1,11 \pm 0,07$) göre DM grubu ($1,02 \pm 0,02$) hariç diğer gruplarda azalmış olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$).

Yağ asitleri sınıflarının oranları toplam değerleri (Tablo 3.15) incelendiğinde, Σ SFA oranı kontrol grubuna ($28,49 \pm 0,27$) göre DM grubunda ($29,64 \pm 0,36$) kısmen artmış ve DMSb grubunda ($27,83 \pm 0,20$) ise kısmen azalmış olmasına rağmen bu farklar istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$). Bununla birlikte, Sb grubu ($25,86 \pm 0,20$), SM grubu ($25,49 \pm 0,31$) ve SMSb gruplarında ($24,96 \pm 0,33$) azalmış olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Σ USFA oranının değişimleri Σ SFA oranı değişimlerinin tam tersi sonuçlara sahip olmuştur. Σ MUFA oranı kontrol grubuna ($31,08 \pm 0,89$) göre DM grubunda ($32,02 \pm 0,48$) kısmen artmış olmasına rağmen istatistiksel olarak

önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Diğer tüm gruplarda ise Σ MUFA oranının artmış olduğu gözlenmiştir ($P<0,05$). Σ PUFA oranları ise kontrol grubu ($40,43\pm0,80$) ile karşılaştırıldığında diğer tüm gruplarda azalmış olduğu saptanmıştır ($P<0,05$).

Tablo 3.15. Karaciğer dokusu gruplara ait yağ asidi içeriği (%)

Yağ Asitleri	K	Sb	DM	DMSb	SM	SMSb
14:0	0,98 $\pm$ 0,03 ^b	1,11 $\pm$ 0,04 ^a	0,85 $\pm$ 0,02 ^c	0,94 $\pm$ 0,01 ^{bc}	0,95 $\pm$ 0,02 ^{bc}	1,12 $\pm$ 0,02 ^a
15:0	0,26 $\pm$ 0,01 ^a	0,23 $\pm$ 0,01 ^b	0,024 $\pm$ 0,01 ^{ab}	0,27 $\pm$ 0,01 ^a	0,28 $\pm$ 0,01 ^a	0,24 $\pm$ 0,01 ^{ab}
16:0	19,95 $\pm$ 0,29 ^a	17,17 $\pm$ 0,14 ^c	20,03 $\pm$ 0,33 ^a	18,74 $\pm$ 0,15 ^b	17,22 $\pm$ 0,17 ^c	16,69 $\pm$ 0,27 ^c
16:1 n-7	3,00 $\pm$ 0,11 ^c	3,89 $\pm$ 0,11 ^a	3,24 $\pm$ 0,12 ^{bc}	3,09 $\pm$ 0,09 ^c	3,67 $\pm$ 0,11 ^{ab}	3,55 $\pm$ 0,10 ^{ab}
17:0	0,62 $\pm$ 0,03 ^c	0,98 $\pm$ 0,05 ^b	1,18 $\pm$ 0,07 ^a	1,02 $\pm$ 0,02 ^{ab}	0,86 $\pm$ 0,04 ^b	0,52 $\pm$ 0,04 ^c
17:1	1,10 $\pm$ 0,07 ^{ab}	0,46 $\pm$ 0,02 ^d	1,14 $\pm$ 0,04 ^a	1,12 $\pm$ 0,04 ^{ab}	0,98 $\pm$ 0,02 ^b	0,70 $\pm$ 0,01 ^c
18:0	6,19 $\pm$ 0,17 ^{bc}	5,96 $\pm$ 0,10 ^{bc}	6,82 $\pm$ 0,15 ^a	6,36 $\pm$ 0,10 ^{ab}	5,78 $\pm$ 0,12 ^c	6,10 $\pm$ 0,08 ^{bc}
18:1 n-9 c	21,22 $\pm$ 0,88 ^c	27,30 $\pm$ 0,11 ^{ab}	21,48 $\pm$ 0,43 ^c	25,48 $\pm$ 0,50 ^b	26,52 $\pm$ 0,23 ^b	29,00 $\pm$ 0,28 ^a
18:1 n-9 t	-	0,21 $\pm$ 0,01	-	0,29 $\pm$ 0,02	0,32 $\pm$ 0,01	0,30 $\pm$ 0,02
18:1 n-11	2,74 $\pm$ 0,02 ^a	2,50 $\pm$ 0,05 ^b	2,48 $\pm$ 0,03 ^b	2,58 $\pm$ 0,03 ^{ab}	2,51 $\pm$ 0,04 ^b	2,46 $\pm$ 0,06 ^b
18:2 n-6 c	11,93 $\pm$ 0,36 ^c	16,71 $\pm$ 0,33 ^a	10,81 $\pm$ 0,32 ^c	13,71 $\pm$ 0,28 ^b	17,00 $\pm$ 0,29 ^a	17,43 $\pm$ 0,26 ^a
18:3 n-3	1,36 $\pm$ 0,06 ^{bc}	1,62 $\pm$ 0,05 ^b	1,28 $\pm$ 0,10 ^c	1,35 $\pm$ 0,04 ^{bc}	1,61 $\pm$ 0,07 ^b	1,97 $\pm$ 0,08 ^a
20:1	2,15 $\pm$ 0,06 ^{ab}	2,20 $\pm$ 0,03 ^{ab}	2,31 $\pm$ 0,04 ^a	2,10 $\pm$ 0,04 ^b	2,35 $\pm$ 0,03 ^a	2,21 $\pm$ 0,08 ^{ab}
20:2	1,10 $\pm$ 0,04 ^a	1,03 $\pm$ 0,02 ^{ab}	1,12 $\pm$ 0,02 ^a	1,12 $\pm$ 0,02 ^a	1,07 $\pm$ 0,03 ^{ab}	0,98 $\pm$ 0,02 ^b
20:3 n-3	1,23 $\pm$ 0,03 ^{ab}	1,20 $\pm$ 0,04 ^{ab}	1,34 $\pm$ 0,03 ^a	1,13 $\pm$ 0,03 ^b	1,16 $\pm$ 0,03 ^b	1,23 $\pm$ 0,05 ^{ab}
20:4 n-6	5,02 $\pm$ 0,22 ^a	3,75 $\pm$ 0,10 ^b	5,29 $\pm$ 0,15 ^a	3,50 $\pm$ 0,10 ^b	4,05 $\pm$ 0,11 ^b	2,84 $\pm$ 0,10 ^c
20:5 n-3	1,43 $\pm$ 0,10 ^a	1,16 $\pm$ 0,04 ^{bc}	1,39 $\pm$ 0,05 ^{ab}	1,28 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,96 $\pm$ 0,03 ^c	1,04 $\pm$ 0,03 ^c
22:5 n-3	1,11 $\pm$ 0,07 ^a	0,70 $\pm$ 0,01 ^b	1,02 $\pm$ 0,02 ^a	0,77 $\pm$ 0,11 ^b	0,81 $\pm$ 0,02 ^b	0,72 $\pm$ 0,03 ^b
22:6 n-3	17,25 $\pm$ 0,77 ^a	10,17 $\pm$ 0,21 ^c	16,10 $\pm$ 0,48 ^a	13,38 $\pm$ 0,39 ^b	10,28 $\pm$ 0,15 ^c	9,58 $\pm$ 0,12 ^c
24:0	0,49 $\pm$ 0,02 ^a	0,42 $\pm$ 0,01 ^b	0,51 $\pm$ 0,02 ^a	0,49 $\pm$ 0,02 ^a	0,48 $\pm$ 0,02 ^{ab}	0,30 $\pm$ 0,01 ^c
24:1	0,88 $\pm$ 0,05 ^c	1,24 $\pm$ 0,07 ^{ab}	1,37 $\pm$ 0,06 ^a	1,35 $\pm$ 0,06 ^a	1,29 $\pm$ 0,06 ^{ab}	1,08 $\pm$ 0,03 ^{bc}
ΣSFA	28,49 $\pm$ 0,27 ^{ab}	25,86 $\pm$ 0,20 ^c	29,64 $\pm$ 0,36 ^a	27,83 $\pm$ 0,20 ^b	25,49 $\pm$ 0,31 ^c	24,96 $\pm$ 0,33 ^c
ΣUSFA	71,51 $\pm$ 0,27 ^{bc}	74,14 $\pm$ 0,20 ^a	70,36 $\pm$ 0,36 ^c	72,17 $\pm$ 0,20 ^b	74,52 $\pm$ 0,31 ^a	75,04 $\pm$ 0,33 ^a
ΣMUFA	31,08 $\pm$ 0,89 ^c	37,80 $\pm$ 0,14 ^{ab}	32,02 $\pm$ 0,48 ^c	35,94 $\pm$ 0,48 ^b	37,60 $\pm$ 0,30 ^{ab}	39,26 $\pm$ 0,18 ^a
ΣPUFA	40,43 $\pm$ 0,80 ^a	36,33 $\pm$ 0,14 ^c	38,34 $\pm$ 0,21 ^b	36,23 $\pm$ 0,40 ^c	36,32 $\pm$ 0,19 ^{bc}	35,78 $\pm$ 0,19 ^c

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir ($P<0,05$). SFA: Doymuş yağ asitleri; USFA: Doymamış yağ asitleri; MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri; PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri. c: cis, t: trans

Sazan balıklarının kas dokularının yağ asitleri profilleri ise Tablo 3.16'da % olarak verilmiştir. Palmitik (16:0), palmitoleik (16:1 n-7), stearik (18:0), oleik (18:1 n-9 c), linoleik (18:2 n-6 c), araşidonik (20:4 n-6) ve dokosaheksaenoik (22:6 n-3) asitler yüksek yüzdeleri ile başlıca yağ asitleri olarak öne çıkmıştır. 16:0 oranının kontrol grubuna ($16,58\pm0,20$) kıyasla diğer tüm gruplarda benzer değerler gözlenmiştir ($P>0,05$). Kontrol grubu ($2,45\pm0,14$) ile karşılaştırıldığında 16:1 n-7 oranının da diğer tüm gruplarda benzer sonuçlara sahip oldukları tespit edilmiştir ($P>0,05$). 18:0 oranının kontrol grubu ($6,95\pm0,06$) ile kıyaslandığında DM grubu ($6,85\pm0,06$), SM grubu ($6,77\pm0,14$) ve SMSb grubunda ($6,47\pm0,13$) azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Sb grubu ($6,27\pm0,22$) ve DMSb grubunun ($6,35\pm0,12$) 18:0 oranının ise kontrol grubuna göre daha düşük değerlere sahip oldukları belirlenmiştir ($P<0,05$). 18:1 n-9 c oranının kontrol grubuna ($19,12\pm0,30$) göre SMSb grubunda ($21,60\pm0,51$) artış gösterdiği ($P<0,05$)

ve diğer gruplarda benzer değerlere sahip olduğu gözlenmiştir ($P>0,05$). Kontrol grubunun ($12,02\pm0,11$) 18:2 n-6 c oranı ile karşılaştırıldığında Sb grubu ($14,60\pm0,55$) ve SMSb grubunun ($14,63\pm0,29$) değerlerinin artmış ($P<0,05$) ve diğer grupların ise benzer sonuçlara sahip olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$). 20:4 n-6 oranının kontrol grubuna ($5,44\pm0,06$) göre Sb grubu ($4,67\pm0,19$) ve SMSb grubunun ($4,44\pm0,16$) değerlerinde azalma ve diğer gruplarda ise benzer sonuçlar olduğu gözlenmiştir ($P>0,05$). 22:6 n-3 oranının ise SMSb grubunda ($14,87\pm0,57$) en düşük değere ($P<0,05$) ve diğer gruplarda kontrol grubuna ($17,72\pm0,32$) benzer sonuçlara sahip olduğu saptanmıştır ($P>0,05$). Bununla birlikte, DM grubunun ($19,29\pm0,23$) en yüksek orana sahip olduğu gözlenmiştir ($P>0,05$).

Bu yağ asitlerinin dışında kas dokularında miristik (14:0), cis-10-pentadekanoik (15:1), heptadekanoik (17:0), 10-heptadekanoik (17:1), elaidik (18:1 n-9 t), vakseinik asit (18:1 n-11), linolenik (18:3 n-3), araşidik (20:0), cis-11-eikozenoik (20:1), cis-11,14-eikodadienoik (20:2), cis-11,14,17-eikozatrienoik (20:3 n-3), eikozapentaenoik (20:5 n-3), erusik (22:1 n-9), dokosapentaenoik asit (22:5 n-3), bütirik (24:0) ve nervonik (24:1) yağ asitleri de farklı oranlarda tanımlanmıştır. 18:1 n-11 oranının kontrol grubu ($2,70\pm0,02$) ile kıyaslandığında Sb grubunda ($2,55\pm0,05$) azalmış ($P<0,05$) ve diğer gruplarda benzer olduğu gözlenmiştir ($P>0,05$). 18:3 n-3 oranının ise kontrol grubuna ($1,58\pm0,07$) göre DM grubu ($1,12\pm0,03$) ve DMSb grubunda ($1,21\pm0,05$) azalma gösterdiği saptanmıştır ($P<0,05$). Kontrol grubunun ($2,60\pm0,06$) 20:1 oranı ile kıyaslandığında diğer grupların benzer değerlere sahip olduğu belirlenmiştir ($P>0,05$). 20:5 n-3 ve 22:5 n-3 oranları açısından kontrol grubu ile diğer gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($P>0,05$).

Yağ asitleri sınıflarının oranları toplam değerleri (Tablo 3.16) incelendiğinde, diğer tüm grupların Σ SFA ve Σ USFA oranları, kontrol grubu ile kıyaslandığında benzer sonuçlara sahip oldukları ve gruplar arasındaki farkların istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($P>0,05$). Bununla birlikte, Σ MUFA ve Σ PUFA oranları kontrol grubuna göre diğer gruplarda kısmen artmış veya azalmış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Tablo 3.16. Kas dokusu gruplara ait yağ asidi içeriği (%)

Yağ Asitleri	K	Sb	DM	DMSb	SM	SMSb
14:0	0,51±0,02 ^{bc}	0,60±0,04 ^{ab}	0,44±0,02 ^c	0,56±0,02 ^b	0,52±0,03 ^{bc}	0,72±0,04 ^a
15:1	1,49±0,02 ^a	1,29±0,05 ^{bc}	1,41±0,02 ^{ab}	1,34±0,04 ^{ab}	1,18±0,03 ^{cd}	1,13±0,05 ^d
16:0	16,58±0,20 ^a	16,41±0,33 ^a	16,58±0,09 ^a	16,85±0,08 ^a	17,01±0,16 ^a	16,66±0,12 ^a
16:1 n-7	2,45±0,14 ^{ab}	2,27±0,10 ^{ab}	2,08±0,06 ^b	2,39±0,17 ^{ab}	2,30±0,11 ^{ab}	2,62±0,12 ^a
17:0	0,33±0,01 ^b	0,38±0,01 ^{ab}	0,37±0,01 ^{ab}	0,39±0,01 ^a	0,34±0,02 ^b	0,25±0,01 ^c
17:1	0,50±0,01 ^a	0,38±0,02 ^c	0,43±0,02 ^{bc}	0,48±0,01 ^{ab}	0,42±0,01 ^c	0,37±0,01 ^c
18:0	6,95±0,06 ^a	6,27±0,22 ^c	6,85±0,06 ^{ab}	6,35±0,12 ^{bc}	6,77±0,14 ^{abc}	6,47±0,13 ^{abc}
18:1 n-9 c	19,12±0,30 ^b	19,97±0,86 ^{ab}	18,75±0,26 ^b	20,90±0,70 ^{ab}	19,24±0,46 ^b	21,60±0,51 ^a
18:1 n-9 t	0,45±0,01 ^a	0,36±0,03 ^b	0,42±0,01 ^{ab}	0,40±0,01 ^{ab}	0,42±0,01 ^{ab}	0,42±0,01 ^{ab}
18:1 n-11	2,70±0,02 ^a	2,55±0,05 ^b	2,74±0,03 ^a	2,66±0,02 ^{ab}	2,66±0,01 ^{ab}	2,64±0,03 ^{ab}
18:2 n-6 c	12,02±0,11 ^b	14,60±0,55 ^a	12,60±0,19 ^b	13,16±0,25 ^b	13,09±0,20 ^b	14,63±0,29 ^a
18:3 n-3	1,58±0,07 ^{ab}	1,41±0,11 ^{abc}	1,12±0,03 ^d	1,21±0,05 ^{cd}	1,32±0,06 ^{bcd}	1,61±0,06 ^a
20:0	-	0,81±0,13	-	-	0,18±0,02	0,19±0,02
20:1	2,60±0,06 ^{ab}	2,43±0,03 ^b	2,52±0,05 ^{ab}	2,66±0,05 ^a	2,70±0,06 ^a	2,62±0,04 ^{ab}
20:2	1,09±0,02 ^a	1,08±0,02 ^a	1,12±0,01 ^a	1,05±0,03 ^a	1,09±0,02 ^a	1,08±0,01 ^a
20:3 n-3	1,81±0,03 ^a	1,58±0,07 ^b	1,80±0,02 ^a	1,78±0,02 ^a	1,80±0,02 ^a	1,70±0,05 ^{ab}
20:4 n-6	5,44±0,06 ^a	4,67±0,19 ^{bc}	5,32±0,08 ^a	5,27±0,07 ^a	5,08±0,09 ^{ab}	4,44±0,16 ^c
20:5 n-3	2,49±0,07 ^a	2,30±0,08 ^a	2,47±0,04 ^a	2,40±0,04 ^a	2,29±0,07 ^a	2,27±0,06 ^a
22:1 n-9	-	-	-	-	0,33±0,01	0,34±0,01
22:5 n-3	2,48±0,06 ^a	2,42±0,10 ^a	2,63±0,06 ^a	2,49±0,07 ^a	2,60±0,08 ^a	2,33±0,07 ^a
22:6 n-3	17,72±0,32 ^{ab}	16,97±0,61 ^{bc}	19,29±0,23 ^a	16,40±0,83 ^{bc}	17,47±0,36 ^{ab}	14,87±0,57 ^c
24:0	0,39±0,01 ^{ab}	0,35±0,01 ^b	0,39±0,01 ^{ab}	0,42±0,00 ^a	0,41±0,01 ^a	0,38±0,01 ^{ab}
24:1	1,36±0,04 ^a	0,88±0,07 ^b	0,69±0,03 ^c	0,85±0,02 ^{bc}	0,82±0,04 ^{bc}	0,082±0,03 ^{bc}
ΣSFA	24,71±0,22 ^a	24,83±0,46 ^a	24,63±0,11 ^a	24,57±0,13 ^a	25,23±0,11 ^a	24,63±0,14 ^a
ΣUSFA	75,29±0,22 ^a	75,17±0,46 ^a	75,37±0,11 ^a	75,43±0,13 ^a	74,77±0,11 ^a	75,37±0,14 ^a
ΣMUFA	30,67±0,43 ^{ab}	30,14±0,91 ^{ab}	29,03±0,31 ^b	31,68±0,79 ^a	30,03±0,60 ^{ab}	32,46±0,51 ^a
ΣPUFA	44,62±0,50 ^{ab}	45,03±0,54 ^{ab}	46,34±0,24 ^a	43,76±0,72 ^b	44,74±0,53 ^{ab}	42,91±0,50 ^b

a, b, c, d: Her bir harf gruplar arası farkı temsil etmektedir (P<0,05). SFA: Doymuş yağ asitleri; USFA: Doymamış yağ asitleri; MUFA: Tekli doymamış yağ asitleri; PUFA: Çoklu doymamış yağ asitleri. c: cis, t: trans

SM maruziyeti karaciğer dokusunda, kontrol grubuna kıyasla 16:0, 18:0, 20:4 n-6 ve 22:6 n-3 yağ asidi oranlarını düşürmüştü ve 16:1 n-7, 18:1 n-9 ve 18:2 n-6 yağ asitlerini ise artırmıştır. Kas dokusunda ise önemli farklar bulunmamıştır. DM maruziyeti SM'den farklı olarak kontrol grubuna göre hem karaciğer hem de kas dokusunda önemli değişimlere neden olmamıştır. Fenpropatrin maruziyetinde sazanların solungaçlarında lipid metabolizması, amino asit metabolizması, glikan biyosentezi ve metabolizması gibi çoklu metabolik yolların önemli ölçüde etkilenmiş olduğu rapor edilmiştir [399]. Zhong vd. [400], C20:3(n-3), C20:4(n-6) ve C22:6(n-3) dahil PUFA'ların diklorodifeniltriokloroetan (DDT) maruziyetine yanıt olarak azaldığını göstermiştir. Ancak, C16:0 ve C18:0 dahil SFA'lar ve C18:1(n-9) dahil MUFA'lar, DDT'ye bağlı bir şekilde sürekli olarak artmıştır. Deltametrinin sazan eritrosit zarı üzerindeki etkisini araştıran Kotkat vd. [401], deltametrinin eritrosit zarındaki fosfolipitlerin yağ asidi örüntülerinde belirgin bir fark meydana getirdiğini bildirmiştir. Çalışmalarında, yüksek konsantrasyonlarda deltametrinin öncelikle 16:0 ve 18:0 olmak üzere SFA seviyelerinde artışa yol açtığını, 20:5n-3 ve 22:6n-3 seviyelerinin ise önemli ölçüde azaldığını bulmuşlardır. Mevcut çalışma sonuçlarında ise DM'in önemli farklara yol

açmamasının nedeni balıkların maruz bırakılan pestisit konsantrasyonunun düşük olması olabilir. Yapılan başka bir çalışmada, kontrollerin aynı organlarındaki serbest yağ asidi konsantrasyonuna kıyasla 10 gün boyunca sipermetrine maruz bırakılan *C. batrachus*'un kas ve yumurtalıklarındaki serbest yağ asidi konsantrasyonunun daha düşük olmasının, serbest yağ asitlerinin hızlandırılmış bir şekilde parçalanmasını yansıtabileceği bildirilmiştir. Kaslardaki serbest yağ asidinin oksidasyonu nedeniyle açığa çıkan enerji, SM stres faktörlerinden kaçmak için balıkların hipermusküler aktivitesi için kullanılmış olabileceği ve serbest yağ asitlerinin sipermetrine karşı dokuya özgü tepkisinin söz konusu dokunun metabolik gereksinimlerine bağlı olduğu sonucuna varılmıştır [402]. DM ve SM'e maruz kalan sazan balıklarının karaciğer ve kas dokularındaki yağ asitlerinde farklılıklar artma veya azalma şeklinde gözlenmiştir. Bu durum pestisitlerin akut toksisitesinden kaynaklanıyor olabilir. DM ve SM karaciğer ve solungaçta oksidatif hasara neden olur [403]. Hücre zarları DM ve SM stresine karşı kendilerini savunmak için bir mekanizma geliştirebilirler ve yağ asidi bileşimlerindeki değişiklikler pestisit stresine karşı bir mekanizma olabilir. Yağ asitlerinde gözlenen değişimler, pestisitlerin n-9, n-6 ve n-3 serisi yağ asitleri ile $\Delta 9$, $\Delta 6$, $\Delta 5$ ve $\Delta 4$ desaturaz enzimlerinin desaturasyon ve uzama yollarını etkileyebileceği şeklinde de açıklanabilir [404]. Ek olarak, *S. cerevisiae* gibi maya türlerinin doymamış yağ asitleri ve yağ asidi desaturazı tarafından da oluşturulabilen linoleik ve alfa-linolenik asitlere sahip olduğu belirtilmektedir [405]. Çalışma sonuçlarına göre, *S. boulardii* probiyotiği sazan karaciğer dokusunda linoleik ve alfa-linolenik asitlerin miktarını artırmıştır.

SM maruziyeti sonucu karaciğerde SFA oranının kontrole göre düştüğü, USFA'nın ise arttığı gözlenmiştir. MUFA oranı artarken PUFA'lar azalmıştır. DM maruziyetinde ise SFA ve USFA oranları kontrol ile benzer bulunmuş olmasına rağmen, MUFA'lar artmış, PUFA'lar ise azalmıştır. Membran fosfolipidlerinde (PL'ler) bulunan yağ asitleri ROS saldırısına karşı çok hassastır. Oksidatif stres, lipid çift tabakasının normal işlevini bozan ve çeşitli patolojik durumların gelişmesine yardımcı olan membran PL'lerinin peroksidasyonundan sorumludur [406]. DM'e yanıt olarak PL sınıflarının yağ asitlerindeki değişiklikler, membran sistemlerinin yapısını ve işlevlerini etkileyebilir. Organizmaların ana PL sınıfları fosfatidilkolin (PC), fosfatidiletanolamin (PE), fosfatidilinositol (PI) ve fosfatidilserindir (PS). Yağ asitlerindeki değişiklikler, deltametrine karşı bir savunma mekanizması olabilir. Yapılan bir çalışmada, Nil tilapiasının karaciğer ve solungaç dokularındaki fosfolipid sınıflarının yağ asidi kompozisyonlarının deltametrinin toksisitesinden etkilendiği gösterilmiştir. Karaciğer ve solungaç dokularındaki PL sınıflarının yüzdeleri karşılaştırıldığında, her iki dokuda PC'de Σ MUFA'larda azalma ve Σ (n-6)PUFA'larda artış; PE'de Σ SFA, Σ MUFA'larda azalma ve Σ PUFA'lar, Σ (n-3)PUFA'lar, Σ (n-6)PUFA'larda artış; PI'de Σ (n-3)PUFA'lar ve Σ (n-6)PUFA'larda artış; PS'de Σ (n-3)PUFA'larda artış şeklinde bir korelasyon gözlenmiştir. Ayrıca, DM maruziyetine maruz kalan balıkların karaciğer dokusunda, PC sınıfında 16:0, 18:2(n-6), 22:6(n-3); PE sınıfında 16:0, 18:1(n-9), 18:2(n-6), 20:4(n-6), 22:6(n-3); PI

sınıfında 16:0, 18:0, 18:1(n-9), 20:4(n-6), 22:6(n-3) ve PS sınıfında 16:0, 18:1(n-9) 20:4(n-6), 22:6(n-3) yağ asitlerinin etkilenendikleri belirtilmiştir [407].

Pestisitlerin çoğu yüksek lipofilite ile karakterize edilir. Bu nedenle hücre zarlarının lipitleriyle etkileşime girmelerinin en yaygın yolu, pestisit moleküllerinin lipit çift tabakasının hidrokarbon bölgesine dahil edilmesini içerir. Pestisit moleküllerinin zar fosfolipitlerinin polar grupları bölgesindeki adsorpsiyonu, hidrofilik preparatların ve lipofilik bileşiklerin lipit çift tabakasıyla etkileşiminin karakteristiğidir [408]. DM'in *O. niloticus*'un solungaç dokusundaki PS'nin C22:6n-3'ünde önemli bir azalma gözlemlenmiş ve bunun da desaturazların aktivitelerindeki azalmaları veya eksikliğini düşündürdüğü belirtilmiştir. Balık dokularındaki 22:6n-3, zarın biyofiziksel özelliklerinden, lipid protein etkileşimlerinin ve zara bağlı enzimlerin düzenlenmesinden sorumludur ve aynı zamanda işlevsel olarak önemli lipooksijenaz ürünlerinin öncüsüdür [404, 409].

Bratberg vd. [410], yüksek düzeyde kalıcı organik kirleticilerin karışımına maruz bırakılan morina balığının karaciğerlerinden elde edilen fosfatidiletanolamin (PE) fraksiyonunda, toplam SFA düzeylerinde bir artış ve 20:5(n-3)'te bir azalma gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçlarında ise bunun tersi gözlemlenmiştir. Bu, kullanılan kirleticinin farklı karakteristiğinden kaynaklanıyor olabilir. Benzer şekilde, Cengiz vd. [404] yaptıkları çalışmada, deltametrinin PC, PE ve PS'de PUFA seviyelerinde azalmaya ve PC ve PE'de toplam SFA seviyelerinde artışa yol açtığını bulmuşlardır. Mevcut çalışmada, probiyotik maya takviyesiyle beslenen balıkların karaciğerlerinde ise SFA oranı azalmışken, USFA oranı artmıştır. Ayrıca *S. boulardii* MUFA'ların artmasına ve PUFA'ların azalmasına sebep olmuştur. Yapılan önceki bir araştırmada, sazan diyetine eklenen *S. boulardii* maya konsantrasyonunun arttıkça balığının etinden elde edilen lipit içeriğinin azaldığı bildirilmiştir. Araştırmacılar, %2,5 maya ile zenginleştirilmiş yemle beslenen B2 grup (%2,5 maya) balıkların lipid içeriği, yalnızca klasik yemle beslenen kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde daha düşük (%1,25) olduğunu bulmuşlardır [326]. Balık plazmasındaki trigliserid seviyelerinin, klorpirifosa maruz kalan gruplarda önemli bir yükselme gösterdiği ve bu artışın, klorpirifosa maruz kalan karaciğerde yağ işleme oranındaki azalmasıyla ilişkili olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca protexin takviyesi ile beslenen balıkların ve kontrol grubu arasında trigliserid seviyelerinde ise önemli bir fark gözlenmemiş ve protexin uygulamasının klorpirifosa maruz kalan balıkların plazma trigliserid seviyeleri üzerinde önemli bir koruyucu etkisinin olmadığı tespit edilmiştir [172].

4. SONUÇLAR

Tez çalışmasının ilk aşamasında, *in vitro* koşullarda *Saccharomyces boulardii*'nin eksojen olarak deltametrin ve sipermetrin pestisitlerinin üç farklı dozlarına karşı metabolik yanıtları araştırılmıştır. Her iki pestisit oksidatif strese neden olmuştur. Probiyotik maya olan *S. boulardii*'nin antioksidan savunma sistemi oksidatif strese karşı savunma göstermiştir. Biyokimyasal metabolizma kapsamında, maya hücreleri yine ergosterol sentezini artırarak pestisit toksisitesine karşı koruma sağlamıştır. *S. boulardii*'nin eksojen olarak eklenmiş pestisitleri detoksifiye edebildiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, her iki pestisit, mayanın biyokimyasal metabolizması üzerinde dozla ilişkili olarak negatif etkileri olmuştur. Probiyotik *S. boulardii* ise baskın yararlı özellikleri ile pestisitlerin toksisitesinin üstesinden gelebilmiştir. Pestisit gibi toksik özellikteki maddelere karşı tek probiyotik maya türü *S. boulardii*, *in vitro* koşullarda başarılı sonuçlar göstermiştir.

İkinci aşamada ise probiyotik *S. boulardii* takviyesiyle beslenen aynalı sazan (*Cyprinus carpio* L.) balıklarının, deltametrin ve sipermetrin pestisitlerine maruz kalması sonucu karaciğer ve kas dokularında meydana gelen biyokimyasal değişimler araştırılmıştır. Pestisit maruziyeti balıklarda ağırlık kazanımını düşürmüştü, probiyotikli beslenme ise artırmıştır. Pestisitlere maruz kalan sazan dokularında MDA seviyesi artmış ve probiyotik ile beslenen balıkların dokularında ise azalmıştır. Bu da pestisitlerin oksidatif strese neden olduğunun ve *S. boulardii*'nin de pestisit kaynaklı oksidatif stresin azalmasında rol oynadığının bir göstergesi olmuştur. Probiyotik katkılı beslenme, sazan karaciğerlerinde GSH miktarını artırmıştır. Bununla birlikte, balık dokularında da *in vitro* aşamasında olduğu gibi *S. boulardii*'nin, deltametrin ve sipermetrin kaynaklı oksidatif strese karşı antioksidan sistem enzimlerini desteklediği gözlenmiştir. Ayrıca hem pestisitler hem de probiyotik sazanların karaciğer ve kas dokularında lipofilik moleküller ve yağ asitleri metabolizması üzerine farklı etkileri olmuştur.

Sonuç olarak, bu bulgular ışığında, literatürde bildirildiği üzere, *C. carpio*'yu ve diğer balık türlerini doğal göletler ve su ürünleri yetiştirme sistemlerinde deltametrin ve sipermetrinin olumsuz etkilerinden korumak için *S. boulardii*'nin koruyucu bir önlem amacıyla yem katkı maddesi olarak kullanılmasının dikkate alınmasını tavsiye etmekteyiz. *S. boulardii*'nin antioksidan potansiyeli ve antagonistik özellikleri, pestisit toksisitelerinde güvenli ve düşük maliyetli bir biyokontrol aracı olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Doğal tedavilerin ve özellikle *S. boulardii*'nin potansiyel faydalı etkisi, farmasötik tedavilere karşı koruyucu, geliştirici, etkili ve sürdürülebilir bir alternatif olabileceğinden bilim dünyasında dikkat çekmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Bu nedenle, bu konuda ayrıntılı bir şekilde daha fazla çalışmanın yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] M. G. García, J. I. L. Sánchez, K. A. S. Bravo, M. D. C. Cabal, E. Pérez-Santín, Presence, distribution and current pesticides used in Spanish agricultural practices, *Science of the total environment*. 845 (2022) 157291.
- [2] L. Rani, K. Thapa, N. Kanojia, N. Sharma, S. Singh, A. S. Grewal, A. L. Srivastav, J. Kaushal, An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment, *Journal of cleaner production*. 283 (2021) 124657.
- [3] R. Kaur, D. Choudhary, S. Bali, S. S. Bandral, V. Singh, M. A. Ahmad, N. Rani, T.G. Singh, B. Chandrasekaran, Pesticides: An alarming detrimental to health and environment, *Science of The Total Environment*. 915 (2024) 170113.
- [4] V. M. Pathak, V. K. Verma, B. S. Rawat, B. Kaur, N. Babu, A. Sharma, S. Dewali, M. Yadav, R. Kumari, S. Singh, A. Mohapatra, V. Pandey, N. Rana, J. M. Cunill, Current status of pesticide effects on environment, human health and it's eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review, *Frontiers in microbiology*. 13 (2022) 962619.
- [5] I. C. Yadav, N. L. Devi, Pesticides classification and its impact on human and environment, *Environmental science and engineering*. 6(7) (2017) 140-158.
- [6] R. C. Boro, J. Kaushal, Y. Nangia, N. Wangoo, A. Bhasin, C. R. Suri, Gold nanoparticles catalyzed chemiluminescence immunoassay for detection of herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid, *Analyst*. 136(10) (2011) 2125-2130.
- [7] L. C. Pereira, D. J. Dorta, Impact of Pesticides on Environmental and Human, *Toxicology studies: cells, drugs and environment*. 195 (2015).
- [8] S. L. Aitken, T. J. Dilworth, E. L. Heil, M. D. Nailor, Agricultural applications for antimicrobials. A danger to human health: An official position statement of the Society of Infectious Diseases Pharmacists, *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 36(4) (2016) 422-432.
- [9] J. Chávez-Mardones, C. Gallardo-Escárate, Next-generation transcriptome profiling of the salmon louse *caligus rogercresseyi* exposed to deltamethrin (alphamax™): Discovery of relevant genes and sex-related differences, *Marine biotechnology*. 17 (2015) 793-810.
- [10] R. Gautam, R. Vanderstichel, A. S. Boerlage, C. W. Revie, K. L. Hammell, Evaluating bath treatment effectiveness in the control of sea lice burdens on Atlantic salmon in New Brunswick, Canada, *Journal of Fish Diseases*. 40(7) (2017) 895-905.
- [11] G. R. Chang, Persistent organochlorine pesticides in aquatic environments and fishes in Taiwan and their risk assessment, *Environmental Science and Pollution Research*. 25 (2018) 7699-7708.
- [12] C. Yang, W. Lim, G. Song, Mediation of oxidative stress toxicity induced by pyrethroid pesticides in fish, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 234 (2020) 108758.
- [13] J. A. Kapeleka, E. Sauli, P. A. Ndakidemi, Pesticide exposure and genotoxic effects as measured by DNA damage and human monitoring biomarkers, *International journal of environmental health research*. 31(7) (2021) 805-822.
- [14] W. C. Evans, D. Evans, Pesticides of natural origin, *Trease and Evans' Pharmacognosy*. (2009).
- [15] M. A. Sogorb, E. Vilanova, Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis, *Toxicology letters*. 128(1-3) (2002) 215-228.
- [16] D. M. Soderlund, Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: recent advances, *Archives of toxicology*. 86 (2012) 165-181.
- [17] R. Aggarwal, S. Diddee, Organophosphate or organochlorines or something else....?, *Indian Journal of Critical Care Medicine: Peer-Reviewed, Official Publication of Indian Society of Critical Care Medicine*. 13(1) (2009) 31.

- [18] M. Yoo, Y. H. Lim, T. Kim, D. Lee, Y. C. Hong, Association between urinary 3-phenoxybenzoic acid and body mass index in Korean adults: 1 st Korean National Environmental Health Survey, *Annals of occupational and environmental medicine*. 28, (2016) 1-8.
- [19] N. Lissenden, J. S. Armistead, K. Gleave, S. R. Irish, J. L. Martin, L. A. Messenger, S. J. Moore, C. Ngufor, N. Protopopoff, R. Oxborough, A. Spiers, R. S. Lees, Developing consensus standard operating procedures (SOPs) to evaluate new types of insecticide-treated nets, *Insects*. 13(1) (2021) 7.
- [20] A. Ahamad, J. Kumar, Pyrethroid pesticides: an overview on classification, toxicological assessment and monitoring, *Journal of Hazardous Materials Advances*. 10 (2023) 100284.
- [21] A. Gajendiran, J. Abraham, An overview of pyrethroid insecticides, *Frontiers in Biology*. 13 (2018) 79-90.
- [22] Q. Liu, Q. He, S. Zhang, Y. Chai, Q. Gao, J. Xiao, Q. Fang, L. Yu, H. Cao, Toxic effects of detected pyrethroid pesticides on honeybee (*Apis mellifera ligustica* Spin and *Apis cerana cerana* Fabricius), *Scientific Reports*. 12(1) (2022) 16695.
- [23] I. Hołyńska-Iwan, J. Bogusiewicz, D. Chajdas, K. Szewczyk-Golec, M. Lampka, D. Olszewska-Słonina, The immediate influence of deltamethrin on ion transport through rabbit skin. An in vitro study, *Pesticide biochemistry and physiology*. 148 (2018) 144-150.
- [24] M. F. Hughes, B. C. Edwards, In vitro dermal absorption of pyrethroid pesticides in human and rat skin, *Toxicology and applied pharmacology*. 246(1-2) (2010) 29-37.
- [25] A. P. D. M. S. Mohapatra, P. Panikkar, P. D. S. G. B. Behera, Synthetic pyrethroids (Type II) and freshwater fish culture: Perils and mitigations, (2009).
- [26] I. Bashir, F. A. Lone, R. A. Bhat, S. A. Mir, Z. A. Dar, S. A. Dar, Concerns and threats of contamination on aquatic ecosystems, *Bioremediation and biotechnology: sustainable approaches to pollution degradation*. (2020) 1-26.
- [27] K. S. Rajmohan, R. Chandrasekaran, S. Varjani, A review on occurrence of pesticides in environment and current technologies for their remediation and management, *Indian journal of microbiology*. 60(2) (2020) 125-138.
- [28] M. Galadima, S. Singh, A. Pawar, S. Khasnabis, D. S. Dhanjal, A. G. Anil, P. Rai, P. C. Ramamurthy, J. Singh, Toxicity, microbial degradation and analytical detection of pyrethroids: A review, *Environmental Advances*. 5 (2021) 100105.
- [29] Y. S. El-Sayed, T. T. Saad, Subacute Intoxication of a Deltamethrin-Based Preparation (Butox® 5% EC) in Monosex Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L., *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 102(3) (2008) 293-299.
- [30] M. R. Farag, M. Alagawany, R. M. Bilal, A. G. Gewida, K. Dhama, H. M. Abdel-Latif, M. S. Amer, N. Rivero-Perez, A. Zaragoza-Bastida, Y. S. Binnaser, G. E. Batiha, M. A. E. Naiel, An overview on the potential hazards of pyrethroid insecticides in fish, with special emphasis on cypermethrin toxicity, *Animals*. 11(7) (2021) 1880.
- [31] A. K. Prusty, D. K. Meena, S. Mohapatra, P. Panikkar, P. Das, S. K. Gupta, B. K. Behera, Synthetic pyrethroids (Type II) and freshwater fish culture: Perils and mitigations, *International aquatic research*. 7 (2015) 163-191.
- [32] S. M. Brander, G. He, K. L. Smalling, M. S. Denison, G. N. Cherr, The in vivo estrogenic and in vitro anti-estrogenic activity of permethrin and bifenthrin, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 31(12) (2012) 2848-2855.
- [33] C. Guven, Y. Sevgiler, E. Taskin, Pyrethroid insecticides as the mitochondrial dysfunction inducers, *Mitochondrial diseases*. 293 (2018) 322.
- [34] R. Gabbianelli, M. Palan, D. J. Flis, D. Fedeli, C. Nasuti, L. Skarydova, W. Ziolkowski, Imbalance in redox system of rat liver following permethrin treatment in adolescence and neonatal age, *Xenobiotica*. 43(12) (2013) 1103-1110.

- [35] A. Romero, E. Ramos, I. Ares, V. Castellano, M. Martínez, M. R. Martínez-Larrañaga, A. Anadón, M. A. Martínez, Oxidative stress and gene expression profiling of cell death pathways in alpha-cypermethrin-treated SH-SY5Y cells, *Archives of toxicology*. 91 (2017) 2151-2164.
- [36] J. Gan, S. J. Lee, W. P. Liu, D. L. Haver, J. N. Kabashima, Distribution and persistence of pyrethroids in runoff sediments, *Journal of Environmental Quality*. 34(3) (2005) 836-841.
- [37] D. W. Gammon, A. Chandrasekaran, S. F. ElNaggar, Comparative metabolism and toxicology of pyrethroids in mammals, (2012).
- [38] Y. Yang, X. Ye, B. He, J. Liu, Cadmium potentiates toxicity of cypermethrin in zebrafish, *Environmental Toxicology and Chemistry*. 35(2) (2016) 435-445.
- [39] S. Ullah, Z. Li, A. Zuberi, M. Z. U. Arifeen, M. M. F. A. Baig, Biomarkers of pyrethroid toxicity in fish, *Environmental chemistry letters*. 17, (2019) 945-973.
- [40] Z. Richterová, Z. Svobodova, Pyrethroids influence on fish. (2012).
- [41] C. D. S. Tomlin, *The Pesticide Manual: A World Compendium*. 14th ed British Crop Protection Council, Hampshire. UK. (2006).
- [42] M. Elliott, A. W. Farnham, N. F. Janes, P. H. Needham, D. A. Pulman, Synthetic insecticide with a new order of activity, *Nature*. 248(5450) (1974) 710-711.
- [43] D. P. Morgan, Pesticides Studied in Man, *JAMA*. 247(22) (1982) 3140-3140.
- [44] S. B. Ceyhun, M. Şentürk, D. Ekinci, O. Erdoğan, A. Çiltaş, E. M. Kocaman, Deltamethrin attenuates antioxidant defense system and induces the expression of heat shock protein 70 in rainbow trout, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 152(2) (2010) 215-223.
- [45] Q. Lu, Y. Sun, I. Ares, A. Anadón, M. Martínez, M. R. Martínez-Larrañaga, Z. Yuan, X. Wang, M. A. Martínez, Deltamethrin toxicity: A review of oxidative stress and metabolism, *Environmental research*. 170 (2019) 260-281.
- [46] D. P. Weston, A. M. Asbell, S. A. Hecht, N. L. Scholz, M. J. Lydy, Pyrethroid insecticides in urban salmon streams of the Pacific Northwest, *Environmental pollution*. 159(10) (2011) 3051-3056.
- [47] M. A. Dawood, M. F. AbdEl-Kader, E. M. Moustafa, M. S. Gewaily, S. E. Abdo, Growth performance and hemato-immunological responses of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to deltamethrin and fed immunobiotics, *Environmental Science and Pollution Research*. 27 (2020) 11608-11617.
- [48] F. A. Guardiola, P. González-Párraga, J. Meseguer, A. Cuesta, M. A. Esteban, Modulatory effects of deltamethrin-exposure on the immune status, metabolism and oxidative stress in gilthead seabream (*Sparus aurata* L.), *Fish & Shellfish Immunology*. 36(1) (2014) 120-129.
- [49] H. Arslan, S. Altun, S. Özdemir, Acute toxication of deltamethrin results in activation of iNOS, 8-OHdG and up-regulation of caspase 3, iNOS gene expression in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Aquatic Toxicology*. 187 (2017) 90-99.
- [50] M. A. Dawood, E. M. Moustafa, M. S. Gewaily, S. E. Abdo, M. F. AbdEl-Kader, M. S. SaadAllah, A. H. Hamouda, Ameliorative effects of *Lactobacillus plantarum* L-137 on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to deltamethrin toxicity in rearing water, *Aquatic Toxicology*. 219 (2020) 105377.
- [51] L. Zhang, X. Hong, X. Zhao, S. Yan, X. Ma, J. Zha, Exposure to environmentally relevant concentrations of deltamethrin renders the Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) vulnerable to *Pseudomonas fluorescens* infection, *Science of the Total Environment*. 715 (2020) 136943.
- [52] X. Yuan, H. Wu, J. Gao, X. Geng, M. Xie, R. Song, J. Zheng, Y. Wu, D. Ou, Acute deltamethrin exposure induces oxidative stress, triggers endoplasmic reticulum stress, and impairs hypoxic resistance of crucian carp, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 263 (2023) 109508.
- [53] H. Zhang, X. Hong, S. Yan, J. Zha, J. Qin, Environmentally relevant concentrations of bifenthrin induce changes in behaviour, biomarkers, histological characteristics, and the transcriptome in *Corbicula fluminea*, *Science of the total environment*. 728 (2020) 138821.

- [54] H. Zhao, Y. Wang, M. Guo, Y. Liu, H. Yu, M. Xing, Environmentally relevant concentration of cypermethrin or/and sulfamethoxazole induce neurotoxicity of grass carp: involvement of blood-brain barrier, oxidative stress and apoptosis, *Science of the Total Environment*. 762 (2021) 143054.
- [55] H. Zhao, Y. Wang, M. Guo, M. Mu, H. Yu, M. Xing, Grass carps co-exposed to environmentally relevant concentrations of cypermethrin and sulfamethoxazole bear immunodeficiency and are vulnerable to subsequent *Aeromonas hydrophila* infection, *Environmental Pollution*. 266 (2020) 115156.
- [56] S. Muenstermann, F. G. R. Rinkanya, N. R. Tome, Tick control in small ruminants with a Cypermethrin 'pour-on' in Kenya, *International Journal of Pest Management*. 34(4) (1988) 399-401.
- [57] A. Chrustek, I. Hołyńska-Iwan, I. Dziembowska, J. Bogusiewicz, M. Wróblewski, A. Cwynar, D. Olszewska-Słonina, Current research on the safety of pyrethroids used as insecticides, *Medicina*. 54(4), (2018) 61.
- [58] C. Corcellas, E. Eljarrat, D. Barceló, First report of pyrethroid bioaccumulation in wild river fish: a case study in Iberian river basins (Spain), *Environment International*. 75 (2015) 110-116.
- [59] O. K. Afolabi, F. A. Aderibigbe, D. T. Folarin, A. Arinola, A. D. Wusu, Oxidative stress and inflammation following sub-lethal oral exposure of cypermethrin in rats: mitigating potential of epicatechin, *Heliyon*. 5(8) (2019).
- [60] H. Fetoui, M. Makni, E. M. Garoui, N. Zeghal, Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide, on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid, *Experimental and Toxicologic Pathology*. 62(6) (2010) 593-599.
- [61] S. Saha, A. Kaviraj, Effects of cypermethrin on some biochemical parameters and its amelioration through dietary supplementation of ascorbic acid in freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*, *Chemosphere*. 74(9) (2009) 1254-1259.
- [62] E. V. Paravani, M. F. Simoniello, G. L. Poletta, V. H. Casco, Cypermethrin induction of DNA damage and oxidative stress in zebrafish gill cells, *Ecotoxicology and environmental safety*. (2019) 173, 1-7.
- [63] E. V. Paravani, M. F. Simoniello, G. L. Poletta, F. R. Zolessi, V. H. Casco, Cypermethrin: Oxidative stress and genotoxicity in retinal cells of the adult zebrafish, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 826 (2018) 25-32.
- [64] F. U. Dawar, A. Zuberi, A. Azizullah, M. N. K. Khattak, Effects of cypermethrin on survival, morphological and biochemical aspects of rohu (*Labeo rohita*) during early development, *Chemosphere*. 144 (2016) 697-705.
- [65] S. Soltanian, M. S. Fereidouni, Immunotoxic responses of chronic exposure to cypermethrin in common carp, *Fish physiology and Biochemistry*. 43 (2017) 1645-1655.
- [66] A. F. Khafaga, M. A. Naiel, M. A. Dawood, H. M. Abdel-Latif, Dietary *Origanum vulgare* essential oil attenuates cypermethrin-induced biochemical changes, oxidative stress, histopathological alterations, apoptosis, and reduces DNA damage in Common carp (*Cyprinus carpio*), *Aquatic Toxicology*. 228 (2020) 105624.
- [67] R. Sharma, R. Jindal, Assessment of cypermethrin induced hepatic toxicity in *Catla catla*: A multiple biomarker approach, *Environmental Research*. 184 (2020) 109359.
- [68] R. Jindal, R. Sharma, Neurotoxic responses in brain of *Catla catla* exposed to cypermethrin: A semiquantitative multibiomarker evaluation, *Ecological Indicators*. 106 (2019) 105485.
- [69] V. Babu, S. Mariadoss, C. E. Ipek, B. Serbest, S. Ali, Surface structures of gill, scale and erythrocyte of *Anabas testudineus* exposed to sublethal concentration of cypermethrin, *Environmental toxicology and pharmacology*. 37(3) (2014) 1109-1115.
- [70] R. I. Bonansea, D. A. Wunderlin, M. V. Amé, Behavioral swimming effects and acetylcholinesterase activity changes in *Jenynsia multidentata* exposed to chlorpyrifos and cypermethrin individually and in mixtures, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 129 (2016) 311-319.
- [71] Ö. Fırat, H. Y. Cogun, T. A. Yüzereroğlu, G. Gök, Ö. Fırat, F. Kargin, Y. Kötemen, A comparative study on the effects of a pesticide (cypermethrin) and two metals (copper, lead) to serum biochemistry of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Fish Physiology and Biochemistry*. 37 (2011) 657-666.

- [72] M. J. Parma, A. Loteste, M. Campana, C. Bacchetta, Changes of hematological parameters in *Prochilodus lineatus*(Pisces, Prochilodontidae) exposed to sublethal concentration of cypermethrin, *Journal of Environmental Biology*. 28(1) (2007) 147-149.
- [73] G. L. Poletta, F. Gigena, A. Loteste, M. J. Parma, E. C. Kleinsorge, M. F. Simoniello, Comet assay in gill cells of *Prochilodus lineatus* exposed in vivo to cypermethrin, *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 107(3) (2013) 385-390.
- [74] P. Ji, G. Liu, J. Xu, X. Wang, J. Li, Z. Zhao, X. Zhang, Y. Zhang, P. Xu, X. Sun, Characterization of common carp transcriptome: sequencing, de novo assembly, annotation and comparative genomics, *PloS one*. 7(4) (2012) e35152.
- [75] Z. Khoshnood, A review on toxic effects of pesticides in Zebrafish, *Danio rerio* and common carp, *Cyprinus carpio*, emphasising Atrazine herbicide, *Toxicology Reports*. (2024) 101694.
- [76] N. Korkmaz, O. Uğurer, İ. Örün, Toxic effects of the synthetic pyrethroid permethrin on the hematological parameters and antioxidant enzyme systems of the freshwater fish *Cyprinus carpio* L., *Ecotoxicology*. 32(5) (2023) 646-655.
- [77] M. El Hajam, G. I. Plavan, N. I. Kandri, G. Dumitru, M. N. Nicoara, A. Zerouale, C. Faggio, Evaluation of softwood and hardwood sawmill wastes impact on the common carp" *Cyprinus carpio*" and its aquatic environment: An oxidative stress study, *Environmental toxicology and pharmacology*. 75 (2020) 103327.
- [78] M. Hatami, M. Banaee, B. N. Haghi, Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos alone and in combination with polyethylene glycol to common carp (*Cyprinus carpio*), *Chemosphere*. 219 (2019) 981-988.
- [79] R. Jindal, R. Sharma, P. Kaur, S. Kaur, C. R. Multisanti, C. Faggio, Mitigation of haemato-genotoxic and stress response effects in *Cyprinus carpio* via silymarin dietary supplementation following deltamethrin exposure, *Heliyon*. 10(7) (2024).
- [80] L. Plhalova, J. Blahova, L. Divisova, V. Enevova, F. Casuscelli di Tocco, C. Faggio, F. Tichy, V. Vecerek, Z. Svobodova, The effects of subchronic exposure to NeemAzal T/S on zebrafish (*Danio rerio*), *Chemistry and ecology*. 34(3) (2018) 199-210.
- [81] S. Ramya, A. Barathinivas, R. Jayakumararaj, C. Pothiraj, D. Ali, G. Piccione, C. R. Multisanti, P. Balaji, C. Faggio, Ecotoxicological insights: Effects of pesticides on ionic metabolism regulation in freshwater catfish, *Mystus keletius*, *Aquatic Toxicology*. 265 (2023) 106764.
- [82] A. M. Yalsuyi, M. F. Vajargah, A. Hajimoradloo, M. M. M. D. Galangash, Prokić, C. Faggio, Evaluation of behavioral changes and tissue damages in common carp (*Cyprinus carpio*) after exposure to the herbicide glyphosate, *Veterinary Sciences*. 8(10) (2021) 218.
- [83] J. Brusle, G. G. Anadon, The structure and function of fish liver, *Fish Morphology*. Edited by Munshi, JSD and Dutta, HM Science Publishers Inc. (1996).
- [84] N. Korkmaz, E. I. Cengiz, E. Unlu, E. Uysal, M. Yanar, Cypermethrin-induced histopathological and biochemical changes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), and the protective and recuperative effect of ascorbic acid, *Environmental toxicology and pharmacology*. 28(2) (2009) 198-205.
- [85] U. Arisekar, R. J. Shakila, G. Jeyasekaran, R. Shalini, P. Kumar, A. H. Malani, V. Rani, Accumulation of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in fish, water, and sediments in the Thamirabarani river system of southern peninsular India, *Environmental nanotechnology, monitoring & management*. 11 (2019) 100194.
- [86] L. Li, S. Liu, Y. Yin, G. Zheng, C. Zhao, L. Ma, Q. Shan, X. Dai, L. Wei, J. Lin, W. Xie, The toxicokinetics and risk assessment of pyrethroids pesticide in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) upon short-term water exposure, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 241 (2022) 113751.
- [87] W. Xie, J. Zhao, X. Zhu, S. Chen, X. Yang, Pyrethroid bioaccumulation in wild fish linked to geographic distribution and feeding habit, *Journal of Hazardous Materials*. 430 (2022) 128470.
- [88] A. Borges, L. V. Scotti, D. R. Siqueira, R. Zanini, F. do Amaral, D. F. Jurinitz, G. F. Wassermann, Changes in hematological and serum biochemical values in jundiá *Rhamdia quelen* due to sub-lethal toxicity of cypermethrin, *Chemosphere*. 69(6) (2007) 920-926.

- [89] M. Ramesh, C. F. Bindu, S. Mohanthi, T. Hema, R. K. Poopal, Z. Ren, B. Li, Efficiency of hematological, enzymological and oxidative stress biomarkers of *Cyprinus carpio* to an emerging organic compound (alphamethrin) toxicity, *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 101 (2023) 104186.
- [90] R. X. S. Tulcan, W. Ouyang, X. Gu, C. Lin, M. Tysklind, B. Wang, Typical herbicide residues, trophic transfer, bioconcentration, and health risk of marine organisms, *Environment International*. 152 (2021) 106500.
- [91] T. Xu, Q. Liu, D. Chen, Y. Liu, Atrazine exposure induces necroptosis through the P450/ROS pathway and causes inflammation in the gill of common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Fish & Shellfish Immunology*. 131 (2022) 809-816.
- [92] R. Bal, M. Naziroğlu, G. Türk, Ö. Yilmaz, T. Kuloğlu, E. Etem, G. Baydas, Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats, *Cell biochemistry and function*. 30(6) (2012) 492-499.
- [93] R. Franco, S. Li, H. Rodriguez-Rocha, M. Burns, M. I. Panayiotidis, Molecular mechanisms of pesticide-induced neurotoxicity: Relevance to Parkinson's disease, *Chemico-biological interactions*. 188(2) (2010) 289-300.
- [94] G. Velmurugan, D. V. Babu, S. Ramasamy, Prolonged monocrotophos intake induces cardiac oxidative stress and myocardial damage in rats, *Toxicology*. 307 (2013) 103-108.
- [95] Y. Z. Fang, S. Yang, G. Wu, Free radicals, antioxidants, and nutrition, *Nutrition*. 18(10) (2002) 872-879.
- [96] B. Halliwell, S. Chirico, Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance, *The American journal of clinical nutrition*. 57(5) (1993) 715S-725S.
- [97] G. Barrera, S. Pizzimenti, M. U. Dianzani, Lipid peroxidation: control of cell proliferation, cell differentiation and cell death, *Molecular aspects of Medicine*. 29(1-2) (2008) 1-8.
- [98] B. Ates, I. Orun, Z. S. Talas, G. Durmaz, I. Yilmaz, Effects of sodium selenite on some biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) exposed to Pb 2+ and Cu 2+, *Fish physiology and biochemistry*. 34 (2008) 53-59.
- [99] I. Ahmad, V. L. Maria, M. E. D. E. S. Oliveira, M. Pacheco, M. A. Santos, Oxidative stress and genotoxic effects in gill and kidney of *Anguilla anguilla* L. exposed to chromium with or without pre-exposure to β -naphthoflavone, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. 608(1) (2006) 16-28.
- [100] P. Wu, W. D. Jiang, Y. Liu, G. F. Chen, J. Jiang, S. H. Li, L. Feng, X. Q. Zhou, Effect of choline on antioxidant defenses and gene expressions of Nrf2 signaling molecule in the spleen and head kidney of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian), *Fish & Shellfish Immunology*. 38(2) (2014) 374-382.
- [101] L. Velkova-Jordanoska, G. Kostoski, B. Jordanoska, Antioxidative enzymes in fish as biochemical indicators of aquatic pollution, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 14(2) (2008) 235-237.
- [102] S. Miriyala, I. Spasojevic, A. Tovmasyan, D. Salvemini, Z. Vujaskovic, D. S. Clair, I. Batinic-Haberle, Manganese superoxide dismutase, MnSOD and its mimics, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 1822(5) (2012) 794-814.
- [103] C. S. Carvalho, V. A. Bernusso, H. S. S. Araujo, E. L. G. Espíndola, M. N. Fernandes, Biomarker responses as indication of contaminant effects in *Oreochromis niloticus*, *Chemosphere*. 89 (2012) 60-69.
- [104] B. Halliwell, J. M. Gutteridge, Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts, *Archives of biochemistry and biophysics*. 246(2) (1986) 501-514.
- [105] B. Tekman, H. Ozdemir, M. Senturk, M. Ciftci, Purification and characterization of glutathione reductase from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver and inhibition effects of metal ions on enzyme activity, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 148(2) (2008) 117-121.

- [106] Z. Bouraoui, M. Banni, J. Ghedira, C. Clerandeanu, H. Guerbej, J. F. Narbonne, H. Boussetta, Acute effects of cadmium on liver phase I and phase II enzymes and metallothionein accumulation on sea bream *Sparus aurata*, *Fish physiology and biochemistry*. 34 (2008) 201-207.
- [107] L. B. Printes, M. N. Fernandes, E. L. G. Espíndola, Laboratory measurements of biomarkers and individual performances in *Chironomus xanthus* to evaluate pesticide contamination of sediments in a river of southeastern Brazil, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 74(3) (2011) 424-430.
- [108] A. Slaninova, M. Smutna, H. Modra, Z. Svobodova, Reviews Oxidative stress in fish induced by pesticides, *Neuroendocrinology Letters*. 30(1) (2009) 2.
- [109] J. Zhang, H. Shen, X. Wang, J. Wu, Y. Xue, Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*, *Chemosphere*. 55(2) (2004) 167-174.
- [110] E. Georgieva, V. Yancheva, S. Stoyanova, I. Velcheva, I. Iliev, T. Vasileva, V. Bivolarski, E. Petkova, B. László, K. Nyeste, L. Antal, Which is more toxic? Evaluation of the short-term toxic effects of chlorpyrifos and cypermethrin on selected biomarkers in common carp (*Cyprinus carpio*, Linnaeus 1758), *Toxics*. 9(6) (2021) 125.
- [111] S. Ullah, Z. Li, M. Z. U. Arifeen, S. U. Khan, S. Fahad, Multiple biomarkers based appraisal of deltamethrin induced toxicity in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), *Chemosphere*. 214 (2019) 519-533.
- [112] J. P. Provost, G. Hanton, J. L. Net, Plasma triglycerides: an overlooked biomarker of hepatotoxicity in the rat, *Comparative clinical pathology*. 12 (2003) 95-101.
- [113] I. Altuntas, N. Delibas, M. Demirci, I. Kilinc, N. Tamer, The effects of methidathion on lipid peroxidation and some liver enzymes: role of vitamins E and C, *Archives of toxicology*. 76 (2002) 470-473.
- [114] B. K. Binukumar, A. Bal, A. Sunkaria, K. D. Gill, Mitochondrial energy metabolism impairment and liver dysfunction following chronic exposure to dichlorvos, *Toxicology*. 270(2-3) (2010) 77-84.
- [115] S. Kalender, F. G. Uzun, D. Durak, F. Demir, Y. Kalender, Malathion-induced hepatotoxicity in rats: the effects of vitamins C and E, *Food and Chemical Toxicology*. 48(2) (2010) 633-638.
- [116] S. Karami-Mohajeri, M. Abdollahi, Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: a systematic review, *Human & experimental toxicology*. 30(9) (2011) 1119-1140.
- [117] R. Rezg, B. Mornagui, S. El-Fazaa, N. Gharbi, Biochemical evaluation of hepatic damage in subchronic exposure to malathion in rats: effect on superoxide dismutase and catalase activities using native PAGE, *Comptes rendus. Biologies*. 331(9) (2008) 655-662.
- [118] J. Gomes, A. H. Dawodu, O. Lloyd, D. M. Revitt, S. V. Anilal, Hepatic injury and disturbed amino acid metabolism in mice following prolonged exposure to organophosphorus pesticides, *Human & experimental toxicology*. 18(1) (1999) 33-37.
- [119] E. G. Duysen, O. Lockridge, Induction of plasma acetylcholinesterase activity in mice challenged with organophosphorus poisons, *Toxicology and applied pharmacology*. 255(2) (2011) 214-220.
- [120] G. J. Gores, B. Herman, J. J. Lemasters, Plasma membrane bleb formation and rupture: a common feature of hepatocellular injury, *Hepatology*. 11(4) (1990) 690-698.
- [121] F. Kaloyanova, T. Vergieva, Estimation of human exposure to mixtures of chemicals: methods of clinical surveillance, In *Methods for Assessing the Effects of Mixtures of Chemicals*. (1987) 379-394. John Wiley & Sons Chichester.
- [122] O. Gokalp, K. Gulle, O. Sulak, E. Cicek, I. Altuntas, The effects of methidathion on liver: role of vitamins E and C, *Toxicology and industrial health*. 19(2-6) (2003) 63-67.
- [123] T. A. Slotkin, K. K. Brown, F. J. Seidler, Developmental exposure of rats to chlorpyrifos elicits sex-selective hyperlipidemia and hyperinsulinemia in adulthood, *Environmental health perspectives*. 113(10) (2005) 1291-1294.

- [124] R. Sutcu, I. Altuntas, B. Yildirim, N. Karahan, H. Demirin, N. Delibas, The effects of subchronic methidathion toxicity on rat liver: role of antioxidant vitamins C and E, *Cell biology and toxicology*. 22 (2006) 221-227.
- [125] A. F. Hernández, F. Gil, M. Lacasaña, M. Rodríguez-Barranco, A. M. Tsatsakis, M. Requena, T. Parrón, R. Alarcón, Pesticide exposure and genetic variation in xenobiotic-metabolizing enzymes interact to induce biochemical liver damage, *Food and chemical toxicology*. 61 (2013) 144-151.
- [126] C. P. Barros, J. T. Guimarães, E. A. Esmerino, M. C. K. Duarte, M. C. Silva, R. Silva, B. M. Ferreira, A. S. Sant'Ana, M. Q. Freitas, A. G. Cruz, Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products, *Current opinion in food science*. 32 (2020) 1-8.
- [127] P. F. Cuevas-González, A. M. Liceaga, J. E. Aguilar-Toalá, Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications, *Food research international*. 136 (2020) 109502.
- [128] C. Hill, F. Guarner, G. Reid, G. R. Gibson, D. J. Merenstein, B. Pot, L. Morelli, R. B. Canani, H. J. Flint, S. Salminen, P. C. Calder, M. E. Sanders, The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic, *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 11(8) (2014) 506-514.
- [129] M. Mohammadi, M. Shadnough, S. Sohravandi, M. Yousefi, N. Khorshidian, A. M. Mortazavian, Probiotics as potential detoxification tools for mitigation of pesticides: a mini review, *International Journal of Food Science and Technology*. 56(5) (2021) 2078-2087.
- [130] C. Tenorio-Jiménez, M. J. Martínez-Ramírez, Á. Gil, C. Gómez-Llorente, Effects of probiotics on metabolic syndrome: A systematic review of randomized clinical trials, *Nutrients*. 12(1) (2020) 124.
- [131] J. E. Aguilar-Toalá, R. Garcia-Varela, H. S. Garcia, V. Mata-Haro, A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Cordoba, A. Hernández-Mendoza, Postbiotics: An evolving term within the functional foods field, *Trends in food science & technology*. 75 (2018) 105-114.
- [132] M. I. Hossain, M. Sadekuzzaman, S. D. Ha, Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review, *Food research international*. 100 (2017) 63-73.
- [133] M. Indira, T. C. Venkateswarulu, K. Abraham Peele, M. Nazneen Bobby, S. Krupanidhi, Bioactive molecules of probiotic bacteria and their mechanism of action: a review, *3 Biotech*. 9(8) (2019) 306.
- [134] M. Kavitha, M. Raja, P. Perumal, Evaluation of probiotic potential of *Bacillus* spp. isolated from the digestive tract of freshwater fish *Labeo calbasu* (Hamilton, 1822), *Aquaculture Reports*. 11 (2018) 59-69.
- [135] A. Redhwan, E. S. H. Eissa, O. H. Ezzo, A. S. Abdelgeliel, M. B. Munir, A. J. K. Chowdhury, Z. A. Kari, M. N. Syafaat, A. E. Suryani, M. E. H. Eissa, O. M. Abd Al-Kareem, Effects of water additive mixed probiotics on water quality, growth performance, feed utilization, biochemical analyses and disease resistance against *Aeromonas sobria* of Nile tilapia, *Desalination and Water Treatment*. 319 (2024) 100480.
- [136] E. Sîrbu, M. F. Dima, M. Tenciu, M. Cretu, M. T. Coadă, A. Țoțoiu, V. Cristea, N. Patriche, Effects of dietary supplementation with probiotics and prebiotics on growth, physiological condition, and resistance to pathogens challenge in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Fishes*. 7(5) (2022) 273.
- [137] W. Wee, N. K. A. Hamid, K. Mat, R. I. A. R. Khalif, N. D. Rusli, M. M. Rahman, M. A. Kabir, L. S. Wei, The effects of mixed prebiotics in aquaculture: A review, *Aquaculture and Fisheries*. 9(1) (2024) 28-34.
- [138] M. Taherpour, L. Roomiani, H. R. Islami, M. S. Mehrgan, Effect of dietary butyric acid, *Bacillus licheniformis*(probiotic), and their combination on hemato-biochemical indices, antioxidant enzymes, immunological parameters, and growth performance of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Aquaculture Reports*. 30 (2023) 101534.
- [139] S. Thiam, J. Fall, A. Loum, M. Sagne, M. Diouf, Use of effective microorganisms (Em) in tilapia diets: effects of growth performance and carcass composition, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(11) (2015) 536-549.
- [140] R. B. Cavalcante, G. S. Telli, L. Tachibana, D. de Carla Dias, E. Oshiro, M. M. Natori, W. F. da Silva, M. J. Ranzani-Paiva, Probiotics, Prebiotics and Synbiotics for Nile tilapia: Growth performance and protection against *Aeromonas hydrophila* infection, *Aquaculture Reports*. 17 (2020) 100343.

- [141] S. H. Hoseinifar, Y. Z. Sun, A. Wang, Z. Zhou, Probiotics as means of diseases control in aquaculture, a review of current knowledge and future perspectives, *Frontiers in microbiology*. 9 (2018) 2429.
- [142] S. Yilmaz, E. Yilmaz, M. A. Dawood, E. Ringø, E. Ahmadifar, H. M. Abdel-Latif, Probiotics, prebiotics, and synbiotics used to control vibriosis in fish: A review, *Aquaculture*. 547 (2022) 737514.
- [143] E. R. El-Haroun, A. S. Goda, M. A. Kabir Chowdhury, Effect of dietary probiotic Biogen® supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.), *Aquaculture research*. 37(14) (2006) 1473-1480.
- [144] B. M. Hendam, M. B. Munir, M. E. Eissa, E. El-Haroun, H. van Doan, T. H. Chung, E. S. H. Eissa, Effects of water additive probiotic, *Pediococcus acidilactici* on growth performance, feed utilization, hematology, gene expression and disease resistance against *Aspergillus flavus* of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Animal Feed Science and Technology*. 303 (2023) 115696.
- [145] F. K. Kuebutornye, J. Tang, J. Cai, H. Yu, Z. Wang, E. D. Abarike, Y. Lu, Y. Li, G. Afriyie, In vivo assessment of the probiotic potentials of three host-associated *Bacillus* species on growth performance, health status and disease resistance of *Oreochromis niloticus* against *Streptococcus agalactiae*, *Aquaculture*. 527 (2020) 735440.
- [146] C. C. Yi, C. H. Liu, K. P. Chuang, Y. T. Chang, S. Y. Hu, A potential probiotic *Chromobacterium aquaticum* with bacteriocin-like activity enhances the expression of indicator genes associated with nutrient metabolism, growth performance and innate immunity against pathogen infections in zebrafish (*Danio rerio*), *Fish & shellfish immunology*. 93 (2019) 124-134.
- [147] M. Arghideh, S. H. Hoseinifar, R. Ghorbani Nasrabadi, M. Mazandarani, E. El-Haroun, H. Van Doan, Evaluation of Soil-Derived *Streptomyces chartreusis* KU324443 Effects as Probiotic on Growth Performance, Antioxidant Enzyme Activity, Mucosal and Serum Immune Parameters, and Related Gene Expression in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fingerlings, *Aquaculture Nutrition*. 2022(1) (2022) 2278130.
- [148] K. Saravanan, T. Sivaramakrishnan, J. Praveenraj, R. Kiruba-Sankar, H. Haridas, S. Kumar, B. Varghese, Effects of single and multi-strain probiotics on the growth, hemato-immunological, enzymatic activity, gut morphology and disease resistance in Rohu, *Labeo rohita*, *Aquaculture*. 540 (2021) 736749.
- [149] A. A. El-Kady, F. I. Magouz, S. A. Mahmoud, M. M. Abdel-Rahim, The effects of some commercial probiotics as water additive on water quality, fish performance, blood biochemical parameters, expression of growth and immune-related genes, and histology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Aquaculture*. 546 (2022) 737249.
- [150] N. H. Hamid, H. M. Daud, P. Kayansamruaj, H. A. Hassim, M. S. M. Yusoff, S. N. A. Bakar, P. Srisapoom, Short-and long-term probiotic effects of *Enterococcus hirae* isolated from fermented vegetable wastes on the growth, immune responses, and disease resistance of hybrid catfish (*Clarias gariepinus* × *Clarias macrocephalus*), *Fish & Shellfish Immunology*. 114 (2021) 1-19.
- [151] M. K. Hossain, S. D. Ishak, S. Iehata, M. N. Noordiyana, M. A. Kader, A. B. Abol-Munafi, Growth performance, fatty acid profile, gut, and muscle histo-morphology of Malaysian mahseer, *Tor tambroides* post larvae fed short-term host associated probiotics, *Aquaculture and Fisheries*. 9(1) (2024) 35-45.
- [152] S. Nimrat, W. Khaopong, J. Sangsong, T. Boonthai, V. Vuthiphandchai, Dietary administration of *Bacillus* and yeast probiotics improves the growth, survival, and microbial community of juvenile whiteleg shrimp, *Litopenaeus vannamei*, *Journal of Applied Aquaculture*. 33(1) (2021) 15-31.
- [153] M. Soltani, K. Ghosh, S. H. Hoseinifar, V. Kumar, A. J. Lymbery, S. Roy, E. Ringø, Genus *Bacillus*, promising probiotics in aquaculture: aquatic animal origin, bio-active components, bioremediation and efficacy in fish and shellfish, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 27(3) (2019) 331-379.
- [154] A. M. Goda, E. A. Omar, T. M. Srour, A. M. Kotiet, E. El-Haroun, S. J. Davies, Effect of diets supplemented with feed additives on growth, feed utilization, survival, body composition and intestinal bacterial load of early weaning European seabass, *Dicentrarchus labrax* post-larvae, *Aquaculture international*. 26 (2018) 169-183.
- [155] N. Mashhadizadeh, S. Khezri, D. E. Esfahani, S. Mohammadzadeh, E. Ahmadifar, M. Ahmadifar, M. Ahmadifar, M. S. Moghadam, E. El-Haroun, Enhancing growth performance, antioxidant defense,

- immunity response, and resistance against heat stress in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) fed *Saccharomyces boulardii* and/or *Bifidobacterium bifidum*, *Aquaculture Reports*. 39 (2024) 102462.
- [156] S. Mohapatra, T. Chakraborty, A. K. Prusty, K. Kumar, K. P. Prasad, K. N. Mohanta, Fenvalerate induced stress mitigation by dietary supplementation of multispecies probiotic mixture in a tropical freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton), *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 104(1) (2012) 28-37.
- [157] A. H. M. Salih, I. Patra, R. Sivaraman, R. Alhamzawi, K. M. Khalikov, Z. H. Al-Qaim, S. Golgouneh, M. A. Jawad, A. H. Adhab, A. L. Vázquez-Cárdenas, S. Abarghouei, The probiotic *Lactobacillus sakei* subsp. *Sakei* and hawthorn extract supplements improved growth performance, digestive enzymes, immunity, and resistance to the pesticide acetamiprid in common carp (*Cyprinus carpio*), *Aquaculture Nutrition*. 2023(1) (2023) 8506738.
- [158] P. F. Cuevas-González, A. F. González-Córdova, B. Vallejo-Cordoba, J. E. Aguilar-Toalá, F. G. Hall, U. C. Urbizo-Reyes, A. M. Liceaga, A. Hernandez-Mendoza, H. S. García, Protective role of lactic acid bacteria and yeasts as dietary carcinogen-binding agents—a review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 62(1) (2022) 160-180.
- [159] N. Khorshidian, M. Y. Asli, H. Hosseini, M. Shadnoush, A. M. Mortazavian, Potential anticarcinogenic effects of lactic acid bacteria and probiotics in detoxification of process-induced food toxicants. (2016).
- [160] N. Khorshidian, M. Yousefi, M. Shadnoush, S. D. Siadat, M. Mohammadi, A. M. Mortazavian, Using probiotics for mitigation of acrylamide in food products: a mini review, *Current Opinion in Food Science*. 32 (2020) 67-75.
- [161] M. Yousefi, N. Shariatifar, M. Tajabadi Ebrahimi, A. M. Mortazavian, A. Mohammadi, N. Khorshidian, M. Arab, H. Hosseini, In vitro removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by lactic acid bacteria, *Journal of applied microbiology*. 126(3) (2019) 954-964.
- [162] D. N. Barman, M. A. Haque, S. M. A. Islam, H. D. Yun, M. K. Kim, Cloning and expression of ophB gene encoding organophosphorus hydrolase from endophytic *Pseudomonas* sp. BF1-3 degrades organophosphorus pesticide chlorpyrifos, *Ecotoxicology and environmental safety*. 108 (2014) 135-141.
- [163] Y. Yuan, C. Yang, C. Song, H. Jiang, A. Mulchandani, C. Qiao, Anchorage of GFP fusion on the cell surface of *Pseudomonas putida*, *Biodegradation*. 22 (2011) 51-61.
- [164] T. M. Đorđević, S. S. Šiler-Marinković, R. D. Đurović-Pejčev, S. I. Dimitrijević-Branković, J. S. Gajić Umiljendić, Dissipation of pirimiphos-methyl during wheat fermentation by *Lactobacillus plantarum*, *Letters in applied microbiology*. 57(5) (2013) 412-419.
- [165] T. M. Đorđević, S. S. Šiler-Marinković, R. D. Đurović, S. I. Dimitrijević-Branković, J. S. Gajić Umiljendić, Stability of the pyrethroid pesticide bifenthrin in milled wheat during thermal processing, yeast and lactic acid fermentation, and storage, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93(13) (2013) 3377-3383.
- [166] S. M. A. Islam, R. K. Math, K. M. Cho, W. J. Lim, S. Y. Hong, J. M. Kim, M. G. Yun, J. J. Cho, H. D. Yun, Organophosphorus hydrolase (OpdB) of *Lactobacillus brevis* WCP902 from kimchi is able to degrade organophosphorus pesticides, *Journal of agricultural and food chemistry*. 58(9) (2010) 5380-5386.
- [167] C. Li, Y. Ma, Z. Mi, R. Huo, T. Zhou, H. Hai, L. Kwok, Z. Sun, Y. Chen, H. Zhang, Screening for *Lactobacillus plantarum* strains that possess organophosphorus pesticide-degrading activity and metabolomic analysis of phorate degradation, *Frontiers in microbiology*. 9 (2018) 2048.
- [168] R. R. M. Thengodkar, S. Sivakami, Degradation of chlorpyrifos by an alkaline phosphatase from the cyanobacterium *Spirulina platensis*, *Biodegradation*. 21 (2010) 637-644.
- [169] G. K. Sidhu, S. Singh, V. Kumar, D. S. Dhanjal, S. Datta, J. Singh, Toxicity, monitoring and biodegradation of organophosphate pesticides: a review, *Critical reviews in environmental science and technology*. 49(13) (2019) 1135-1187.
- [170] X. Yuan, Z. Pan, C. Jin, Y. Ni, Z. Fu, Y. Jin, Gut microbiota: An underestimated and unintended recipient for pesticide-induced toxicity, *Chemosphere*. 227 (2019) 425-434.

- [171] P. Feng, Z. Ye, A. Kakade, A. K. Virk, X. Li, P. Liu, A review on gut remediation of selected environmental contaminants: possible roles of probiotics and gut microbiota, *Nutrients*. 11(1) (2018) 22.
- [172] R. C. Ramya, A. Palavesam, Assessing the Efficacy of Probiotics in Detoxifying Pesticides in Ornamental Fish (*Cyprinus rubrofasciatus*), *Biochemical & Cellular Archives*. 24(1) (2024).
- [173] S. Dasari, C. Kathera, A. Janardhan, A. P. Kumar, B. Viswanath, Surfacing role of probiotics in cancer prophylaxis and therapy: A systematic review, *Clinical Nutrition*. 36(6) (2017) 1465-1472.
- [174] Y. Wang, Y. Wu, Y. Wang, H. Xu, X. Mei, D. Yu, Y. Wang, W. Li, Antioxidant properties of probiotic bacteria, *Nutrients*. 9(5) (2017) 521.
- [175] M. D. Baldissera, C. F. Souza, R. Zanella, O. D. Prestes, A. D. Meinhart, A. S. Da Silva, B. Baldisserotto, Behavioral impairment and neurotoxic responses of silver catfish *Rhamdia quelen* exposed to organophosphate pesticide trichlorfon: Protective effects of diet containing rutin, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 239 (2021) 108871.
- [176] J. Blahova, C. Cocilovo, L. Plhalova, Z. Svobodova, C. Faggio, Embryotoxicity of atrazine and its degradation products to early life stages of zebrafish (*Danio rerio*), *Environmental toxicology and pharmacology*. 77 (2020) 103370.
- [177] M. Faria, E. Prats, J. R. R. Ramirez, M. Bellot, J. Bedrossiantz, M. Pagano, A. Valls, C. Gomez-Canela, J. M. Porta, J. Mestres, N. Garcia-Reyero, C. Faggio, L. M. G. Oliván, D. Raldua, Androgenic activation, impairment of the monoaminergic system and altered behavior in zebrafish larvae exposed to environmental concentrations of fenitrothion, *Science of the Total Environment*. 775 (2021) 145671.
- [178] S. Sharma, O. Iqbal Dar, M. Andotra, S. Sharma, A. Kaur, C. Faggio, Environmentally relevant concentrations of Triclosan induce cyto-genotoxicity and biochemical alterations in the hatchlings of *Labeo rohita*, *Applied Sciences*. 11(21) (2021) 10478.
- [179] M. Banaee, A. Sureda, C. Faggio, Protective effect of protexin concentrate in reducing the toxicity of chlorpyrifos in common carp (*Cyprinus carpio*), *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 94 (2022) 103918.
- [180] M. A. Dawood, N. I. Abdel-Razik, M. S. Gewaily, H. Sewilam, B. A. Paray, A. A. Soliman, E. Y. Abdelhiee, M. Aboubakr, H. V. Doan, M. El-Sabagh, M. F. El Basuni, β -Glucan improved the immunity, hepato-renal, and histopathology disorders induced by chlorpyrifos in Nile tilapia, *Aquaculture Reports*. 18 (2020) 100549.
- [181] H. S. Hamed, M. Abdel-Tawwab, Ameliorative effect of propolis supplementation on alleviating bisphenol-A toxicity: Growth performance, biochemical variables, and oxidative stress biomarkers of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) fingerlings, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 202 (2017) 63-69.
- [182] H. S. Hamed, S. M. Ismal, C. Faggio, Effect of allicin on antioxidant defense system, and immune response after carbofuran exposure in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 240 (2021) 108919.
- [183] H. M. Abdel-Latif, A. A. Soliman, M. S. Gewaily, A. A. Amer, M. Shukry, R. H. Khalil, A. I. Shehata, Dietary effects of *Saccharomyces cerevisiae* and *Allium sativum* on growth, antioxidant status, hepatic and intestinal histoarchitecture, expression of growth-and immune-related genes, and resistance of *Oreochromis niloticus* to *Aeromonas sobria*, *Fish & Shellfish Immunology*. 148 (2024) 109493.
- [184] S. Albrektsen, R. Kortet, P. V. Skov, E. Ytteborg, S. Gitlesen, D. Kleinegris, L.T. Mydland, J. Ø. Hansen, E. J. Lock, T. Mørkøre, P. James, X. Wang, R. D. Whitaker, B. Vang, B. Hatlen, E. Daneshvar, A. Bhatnagar, L. B. Jensen, M. Øverland, Future feed resources in sustainable salmonid production: A review, *Reviews in aquaculture*. 14(4) (2022) 1790-1812.
- [185] M. Øverland, A. Skrede, Yeast derived from lignocellulosic biomass as a sustainable feed resource for use in aquaculture, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(3) (2017) 733-742.

- [186] E. U. Khan, A. M. Yousafzai, Immune Modulation, Bacterial Resistance, Growth Parameters, and the Response of Related Gene Expression to Alone and Consortium of *Saccharomyces Cerevisiae* VAR. *Boulardii* and *Lactobacillus Rhamnosus* in the Diet of *Labeo Rohita*. *Boulardii* and *Lactobacillus Rhamnosus* in the Diet of *Labeo Rohita*. (2025).
- [187] M. D. Fakruddin, M. N. Hossain, M. M. Ahmed, Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic, *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 17 (2017) 1-11.
- [188] C. B. Herath, F. J. Warner, J. S. Lubel, R. G. Dean, Z. Jia, R. A. Lew, A. I. Smith, L. M. Burrell, P. W. Angus, Upregulation of hepatic angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and angiotensin-(1–7) levels in experimental biliary fibrosis, *Journal of Hepatology*. 47(3) (2007) 387-395.
- [189] J. Wysocki, M. Ye, D. Battle, Plasma and kidney angiotensin peptides: importance of the aminopeptidase A/angiotensin III axis, *American journal of hypertension*. 28(12) (2015) 1418-1426.
- [190] J. S. Lubel, C. B. Herath, L. M. Burrell, P. W. Angus, Liver disease and the renin–angiotensin system: recent discoveries and clinical implications, *Journal of gastroenterology and hepatology*. 23(9) (2008) 1327-1338.
- [191] D. G. Duman, Z. N. Ö. Kumral, F. Ercan, M. Deniz, G. Can, B. Ç. Yeğen, *Saccharomyces boulardii* ameliorates clarithromycin-and methotrexate-induced intestinal and hepatic injury in rats, *British Journal of Nutrition*. 110(3) (2013) 493-499.
- [192] A. Everard, S. Matamoros, L. Geurts, N. M. Delzenne, P. D. Cani, *Saccharomyces boulardii* administration changes gut microbiota and reduces hepatic steatosis, low-grade inflammation, and fat mass in obese and type 2 diabetic db/db mice, *MBio*. 5(3) (2014) 10-1128.
- [193] H. Szajewska, M. Kołodziej, Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea, *Alimentary pharmacology & therapeutics*. 42(7) (2015) 793-801.
- [194] R. C. M. F. Albuquerque, A. B. P. Brandão, I. C. M. E. De Abreu, F. G. Ferreira, L. B. Santos, L. N. Moreira, C.R. Taddei, F. Aimbire, T.S. Cunha, *Saccharomyces boulardii* Tht 500101 changes gut microbiota and ameliorates hyperglycaemia, dyslipidaemia, and liver inflammation in streptozotocin-diabetic mice, *Beneficial Microbes*. 10(8) (2019) 901-912.
- [195] L. Barssotti, I. C. Abreu, A. B. P. Brandão, R. C. Albuquerque, F. G. Ferreira, M. A. Salgado, D. D. S. Dias, K. De Angelis, R. Yokota, D. E. Casarini, L. B. Souza, C. R. Taddei, T. S. Cunha, *Saccharomyces boulardii* modulates oxidative stress and renin angiotensin system attenuating diabetes-induced liver injury in mice, *Scientific Reports*. 11(1) (2021) 9189.
- [196] L. Yu, X. K. Zhao, M. L. Cheng, G. Z. Yang, B. Wang, H. J. Liu, Y. Hu, L. Zhu, S. Zhang, Z. Xiao, Y. Liu, B. Zhang, M. Mu, *Saccharomyces boulardii* administration changes gut microbiota and attenuates D-galactosamine-induced liver injury, *Scientific Reports*. 7(1) (2017) 1359.
- [197] E. E. Mocanu, V. Savin, M. D. Popa, F. M. Dima, The effect of probiotics on growth performance, haematological and biochemical profiles in Siberian sturgeon (*Acipenser baerii* Brandt, 1869), *Fishes*. 7(5) (2022) 239.
- [198] R. Kalita, A. Pegu, C. Baruah, Prospects of probiotics and fish growthpromoting bacteria in aquaculture: A review, *Int J Agri Biosci*. 12(4) (2023) 234-244.
- [199] G. Maricchiolo, L. Caccamo, M. Mancuso, G. M. Cusimano, F. Gai, M. Genovese, A. Ghonimy, L. Genovese, *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* preserves the integrity of intestinal mucosa in gilthead seabream, *Sparus aurata* subjected to a bacterial challenge with *Vibrio anguillarum*, *Aquac Res*. 48 (2017) 725-8.
- [200] Y. Hooshyar, A. Abedian Kenari, H. Paknejad, H. Gandomi, Effects of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 on different parameters related to health status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and the protection against *Yersinia ruckeri*, *Probiotics and antimicrobial proteins*. 12 (2020) 1370-1384.
- [201] M. A. Siddik, M. J. Foysal, R. Fotedar, D. S. Francis, S. K. Gupta, Probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* coupled with *Lactobacillus casei* modulates physiological performance and promotes gut microbiota in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*, *Aquaculture*. 546 (2022) 737346.

- [202] F. A. Guardiola, C. Porcino, R. Cerezuela, A. Cuesta, C. Faggio, M. A. Esteban, Impact of date palm fruits extracts and probiotic enriched diet on antioxidant status, innate immune response and immune-related gene expression of European seabass (*Dicentrarchus labrax*), *Fish & Shellfish Immunology*. 52 (2016) 298-308.
- [203] R. Rahimi, S. A. Mirahmadi, S. Hajirezaee, A. A. Fallah, How probiotics impact on immunological parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)? A systematic review and meta-analysis, *Reviews in Aquaculture*. 14(1) (2022) 27-53.
- [204] M. K. P. Iwashita, I. B. Nakandakare, J. S. Terhune, T. Wood, M. J. T. Ranzani-Paiva, Dietary supplementation with *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus oryzae* enhance immunity and disease resistance against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* infection in juvenile tilapia *Oreochromis niloticus*, *Fish & shellfish immunology*. 43(1) (2015) 60-66.
- [205] A. Perdichizzi, M. Meola, L. Caccamo, G. Caruso, F. Gai, G. Maricchiolo, Live yeast (*Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*) supplementation in a European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax*) diet: effects on the growth and immune response parameters, *Animals*. 13(21) (2023) 3383.
- [206] M. G. Cabral, C. A. Viegas, M. C. Teixeira, I. Sa-Correia, Toxicity of chlorinated phenoxyacetic acid herbicides in the experimental eukaryotic model *Saccharomyces cerevisiae*: role of pH and of growth phase and size of the yeast cell population, *Chemosphere*. 51(1) (2003) 47-54.
- [207] T. Simoes, M. C. Teixeira, A. R. Fernandes, I. Sá-Correia, Adaptation of *Saccharomyces cerevisiae* to the herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid, mediated by Msn2p-and Msn4p-regulated genes: important role of SPI1, *Applied and Environmental Microbiology*. 69(7) (2003) 4019-4028.
- [208] A. Malik, Metal bioremediation through growing cells, *Environment international*. 30(2) (2004) 261-278.
- [209] P. Cabras, A. Angioni, V. L. Garau, F. M. Pirisi, F. Cabitza, M. Pala, G. A. Farris, Fate of quinoxifen residues in grapes, wine, and their processing products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(12) (2000) 6128-6131.
- [210] P. Cabras, G. A. Farris, M. G. Fiori, A. Pusino, Interaction between fenhexamid and yeasts during the alcoholic fermentation of *Saccharomyces cerevisiae*, *Journal of agricultural and food chemistry*. 51(17) (2003) 5012-5015.
- [211] P. Cabras, V. L. Garau, A. Angioni, G. A. Farris, M. Budroni, L. Spanedda, Interactions during fermentation between pesticides and oenological yeasts producing H₂S and SO₂, *Applied microbiology and biotechnology*. 43 (1995) 370-373.
- [212] K. H. R. Baronian, The use of yeast and moulds as sensing elements in biosensors, *Biosensors and bioelectronics*. 19(9) (2004) 953-962.
- [213] D. Braconi, A. Santucci, G. Jacomelli, G. Bernardini, L. Millucci, V. Micheli, *Saccharomyces cerevisiae* as a tool to evaluate the effects of herbicides on eukaryotic life. INTECH Open Access Publisher. (2011).
- [214] L. Campanella, G. Favero, M. Tomassetti, Immobilised yeast cells biosensor for total toxicity testing, *Science of the total environment*. 171(1-3) (1995) 227-234.
- [215] M. Monachese, J. P. Burton, G. Reid, Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics?, *Applied and environmental microbiology*. 78(18) (2012) 6397-6404.
- [216] A. Zoghi, K. Khosravi-Darani, S. Sohrabvandi, Surface binding of toxins and heavy metals by probiotics, *Mini reviews in medicinal chemistry*. 14(1) (2014) 84-98.
- [217] S. Patil, Probiotics and prebiotics: Fabulous nutritional supplements, *Int. J. Sci. Eng. Res.* 4, (2013) 318-333.
- [218] A. C. Ouwehand, S. Salminen, E. Isolauri, Probiotics: an overview of beneficial effects. In *Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications: Proceedings of the seventh Symposium on lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications*. 1–5 September 2002, Egmond aan Zee, the Netherlands (pp. 279-289). Springer Netherlands. (2002).

- [219] M. Candela, F. Perna, P. Carnevali, B. Vitali, R. Ciati, P. Gionchetti, F. Rizzello, M. Campieri, P. Brigidi, Interaction of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains with human intestinal epithelial cells: adhesion properties, competition against enteropathogens and modulation of IL-8 production, *International journal of food microbiology*. 125(3) (2008) 286-292.
- [220] Z. Gul, C. Demircan, D. Bagdas, R. L. Buyukuysal, Protective effects of chlorogenic acid and its metabolites on hydrogen peroxide-induced alterations in rat brain slices: a comparative study with resveratrol, *Neurochemical research*. 41, (2016) 2075-2085.
- [221] H. Hardy, J. Harris, E. Lyon, J. Beal, A. D. Foey, Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology, *Nutrients*. 5(6) (2013) 1869-1912.
- [222] M. Trinder, J. E. Bisanz, J. P. Burton, G. Reid, Probiotic lactobacilli: a potential prophylactic treatment for reducing pesticide absorption in humans and wildlife, *Beneficial microbes*. 6(6), (2015) 841-848.
- [223] C. Sevim, E. Akpınar, A. Tsatsakis, S. Yildirim, M. Tzatzarakis, A. I. Vardavas, C. I. Vardavas, M. Kara, Z. Gul, Investigation of the effects of probiotics on sub-chronic neonicotinoid toxicity in rats, *Agronomy*. 11(10), (2021) 2003.
- [224] P. Średnicka, E. Juszczuk-Kubiak, M. Wójcicki, M. Akimowicz, M. Roszko, Probiotics as a biological detoxification tool of food chemical contamination: A review, *Food and Chemical Toxicology*. 153 (2021) 112306.
- [225] Ç. Sevim, E. Akpınar, E. H. Aksu, A. D. Ömür, S. Yıldırım, M. Kara, İ. Bolat, A. Tsatsakis, R. Mesnage, K. S. Golokhvast, S. K. Uzunçakmak, R. N. Ersoylu, Reproductive effects of *S. boulardii* on Sub-chronic acetamiprid and imidacloprid toxicity in male rats, *Toxics*. 11(2) (2023) 170.
- [226] C. Hennequin, A. Thierry, G. F. Richard, G. Lecointre, H. V. Nguyen, C. Gaillardin, B. Dujon, Microsatellite typing as a new tool for identification of *Saccharomyces cerevisiae* strains, *Journal of clinical microbiology*. 39(2) (2001) 551-559.
- [227] S. Datta, D. J. Timson, U. S. Annapure, Antioxidant properties and global metabolite screening of the probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 97(9) (2017) 3039-3049.
- [228] J. Fu, J. Liu, X. Wen, G. Zhang, J. Cai, Z. Qiao, Z. An, J. Zheng, L. Li, Unique probiotic properties and bioactive metabolites of *Saccharomyces boulardii*, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 15(4) (2023) 967-982.
- [229] T. Feng, J. Wang, Oxidative stress tolerance and antioxidant capacity of lactic acid bacteria as probiotic: a systematic review, *Gut microbes*. 12(1) (2020) 1801944.
- [230] P. Shobharani, M. Prakash, P. M. Halami, Probiotic bacillus spp. In soy-curd: nutritional, rheological, sensory, and antioxidant properties, *Journal of Food Science*. 80(10) (2015) M2247-M2256.
- [231] E. P. Ryan, A. L. Heuberger, T. L. Weir, B. Barnett, C. D. Broeckling, J. E. Prenni, Rice bran fermented with *Saccharomyces boulardii* generates novel metabolite profiles with bioactivity, *Journal of agricultural and food chemistry*. 59(5) (2011) 1862-1870.
- [232] N. Değirmencioglu, O. Gurbuz, Y. Şahan, The monitoring, via an in vitro digestion system, of the bioactive content of vegetable juice fermented with *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces boulardii*, *Journal of Food Processing and Preservation*. 40(4) (2016) 798-811.
- [233] A. B. Brandao, I. C. de Abreu, F. Aimbire, E. M. Higa, A. Casali, F. G. Ferreira, R. C. M. Albuquerque, L. B. Santos, M. C. C. Ingoyen, K. R. Casali, T. S. Cunha, *Saccharomyces boulardii* attenuates autonomic cardiovascular dysfunction and modulates inflammatory cytokines in diabetic mice, *Diabetes*. 67(Supplement_1) (2018).
- [234] I. C. M. E. de Abreu, R. C. M. F. de Albuquerque, A. B. P. Brandão, L. Barssotti, L. B. de Souza, F. G. Ferreira, L. C. G. de Oliveira, R. Yokota, L. G. Sparvoli, D. da Silva Dias, M. A. C. Salgado, C. Taddei, K. De Angelis, D. E. Casarini, T. S. Cunha, *Saccharomyces boulardii* exerts renoprotection by modulating oxidative stress, renin angiotensin system and uropathogenic microbiota in a murine model of diabetes, *Life sciences*. 301 (2022) 120616.
- [235] A. G. Miranda-Díaz, L. Pazarín-Villaseñor, F. G. Yanowsky-Escatell, J. Andrade-Sierra, Oxidative stress in diabetic nephropathy with early chronic kidney disease, *Journal of diabetes research*. 2016(1) (2016) 7047238.

- [236] F. Babaei, A. Navidi-Moghaddam, A. Naderi, S. Ghafghazi, M. Mirzababaei, L. Dargahi, G. Mohammadie, M. Nassiri-Asl, The preventive effects of *Saccharomyces boulardii* against oxidative stress induced by lipopolysaccharide in rat brain, *Heliyon*. 10(9) (2024).
- [237] M. Z. A. Chan, M. Toh, S. Q. Liu, Growth, survival, and metabolic activities of probiotics *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* CNCM-I745 in fermented coffee brews, *International Journal of Food Microbiology*. 350 (2021) 109229.
- [238] M. Calonne, A. L. H. Sahraoui, E. Campagnac, D. Debiane, F. Laruelle, A. Grandmougin-Ferjani, J. Fontaine, Propiconazole inhibits the sterol 14 α -demethylase in *Glomus irregulare* like in phytopathogenic fungi, *Chemosphere*. 87(4) (2012) 376-383.
- [239] F. R. Dos Passos, K. L. Maestre, B. F. da Silva, A. C. Rodrigues, C. C. Triques, H. A. Garcia, M. R. Fagundes-Klen, E. A. da Silva, M. L. Fiorese, Production of a synbiotic composed of galacto-oligosaccharides and *Saccharomyces boulardii* using enzymatic-fermentative method, *Food Chemistry*. 353 (2021) 129486.
- [240] A. Hara, N. S. Radin, Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent, *Analytical biochemistry*. 90(1) (1978) 420-426.
- [241] M. E. Yonar, F. Sakin, Ameliorative effect of lycopene on antioxidant status in *Cyprinus carpio* during pyrethroid deltamethrin exposure, *Pesticide biochemistry and physiology*. 99(3) (2011) 226-231.
- [242] M. A. Husen, S. Sharma, Anaesthetics efficacy of MS-222, Benzoak® vet, AQUI-S® and clove oil on common carp (*Cyprinus carpio*) fry, *International Journal of Research in Fisheries and Aquaculture*. 5(3) (2015) 104-114.
- [243] O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall, Protein measurement with the Folin phenol reagent, (1951).
- [244] M. Karatepe, Simultaneous determination of ascorbic acid and free malondialdehyde in human serum by HPLC-UV, *Lc Gc North America*. 22(4) (2004) 362-365.
- [245] Ö. Yilmaz, S. Keser, M. Tuzcu, M. Güvenc, B. Çetintas, S. Irtegün, H. Tastan, K. Sahin, A practical HPLC method to measure reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione concentrations in animal tissues, (2009).
- [246] Y. I. Sun, L. W. Oberley, Y. Li, A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clinical chemistry*. 34(3) (1988) 497-500.
- [247] M. Korolyuk, L. Ivanova, I. Majorova, Methods of definition of catalase activity, *Lab Manuals*. 1 (1988) 16-19.
- [248] A. Y. Ahmed, S. A. Aowda, M. H. Hadwan, A validated method to assess glutathione peroxidase enzyme activity, *Chemical Papers*. 75 (2021) 6625-6637.
- [249] H. V. Dileepkumar, K. R. Ritesh, Dichlorvos induces differential oxidative stress in the brain regions of rat, *Adv Pharmac J*. 3(5) (2018) 150-156.
- [250] J. T. Rotruck, A. L. Pope, H. E. Ganther, A. B. Swanson, D. G. Hafeman, W. Hoekstra, Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase, *Science*. 179(4073) (1973) 588-590.
- [251] I. K. Smith, T. L. Vierheller, C. A. Thorne, Assay of glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5, 5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid), *Analytical biochemistry*. 175(2) (1988) 408-413.
- [252] W. H. Habig, M. J. Pabst, W. B. Jakoby, Glutathione S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *Journal of biological Chemistry*. 249(22) (1974) 7130-7139.
- [253] E. Katsanidis, P. B. Addis, Novel HPLC analysis of tocopherols, tocotrienols, and cholesterol in tissue, *Free Radical Biology and Medicine*. 27(11-12) (1999) 1137-1140.
- [254] J. Lopez-Cervantes, D. I. Sanchez-Machado, N. J. Rios-Vazquez, High-performance liquid chromatography method for the simultaneous quantification of retinol, α -tocopherol, and cholesterol in shrimp waste hydrolysate, *Journal of Chromatography A*. 1105(1-2) (2006) 135-139.
- [255] W.W. Christie, *Gas chromatography and lipids: a practical guide*, (No Title). (1989).

- [256] S. Boonchiangma, W. Ngeontae, S. Srijaranai, Determination of six pyrethroid insecticides in fruit juice samples using dispersive liquid–liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography, *Talanta*. 88 (2012) 209-215.
- [257] R. Ullah, A. Zuberi, S. Ullah, I. Ullah, F. U. Dawar, Cypermethrin induced behavioral and biochemical changes in mahseer, *Tor putitora*, *The Journal of toxicological sciences*. 39(6) (2014) 829-836.
- [258] T. Karatas, M. Cakir, Assessment of deltamethrin-induced DNA damage, neurotoxic and neuroimmune effects in the brain tissue of brown trout (*Salmo trutta fario*), *Veterinárni medicína*. 69(3) (2024) 77.
- [259] J. Kroll, S. Klintner, C. Schneider, I. Voß, A. Steinbüchel, Plasmid addiction systems: perspectives and applications in biotechnology, *Microbial biotechnology*. 3(6) (2010) 634-657.
- [260] V. Tullio, Yeast genomics and its applications in biotechnological processes: what is our present and near future?, *Journal of Fungi*. 8(7) (2022) 752.
- [261] M. I. Moré, Y. Vandenplas, *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 improves intestinal enzyme function: a trophic effects review, *Clinical Medicine Insights: Gastroenterology*. 11 (2018) 1179552217752679.
- [262] P. Pais, V. Almeida, M. Yılmaz, M. C. Teixeira, *Saccharomyces boulardii*: what makes it tick as successful probiotic?, *Journal of Fungi*. 6(2) (2020) 78.
- [263] Y. Kong, M. Li, X. Shan, G. Wang, G. Han, Effects of deltamethrin subacute exposure in snakehead fish, *Channa argus*: Biochemicals, antioxidants and immune responses, *Ecotoxicology and environmental safety*. 209 (2021) 111821.
- [264] M. Banaei, M. Forouzanfar, M. Jafarinia, Evaluation of Blood Biochemical Parameters and Oxidative Stress Biomarkers in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Deltamethrin, *Journal of Chemical Health Risks*. 12(3) (2022).
- [265] D. Crowley, M. R. Penk, S. J. Macaulay, J. J. Piggott, Acute toxicity of the insecticide cypermethrin to three common European mayfly and stonefly nymphs, *Limnologica*. 88 (2021) 125871.
- [266] S. K. Maurya, J. Mishra, V. K. Tripathi, R. Sharma, M. H. Siddiqui, Cypermethrin induces astrocyte damage: Role of aberrant Ca²⁺, ROS, JNK, P38, matrix metalloproteinase 2 and migration related reelin protein, *Pesticide biochemistry and physiology*. 111 (2014) 51-59.
- [267] L. S. Chen, Y. I. N. G. Ma, J. L. Maubois, L. J. Chen, Q. H. Liu, J. P. Guo, Identification of yeasts from raw milk and selection for some specific antioxidant properties, *International Journal of Dairy Technology*. 63(1) (2010) 47-54.
- [268] A. G. T. Menezes, C. L. Ramos, G. Cenzi, D. S. Melo, D. R. Dias, R. F. Schwan, Probiotic potential, antioxidant activity, and phytase production of indigenous yeasts isolated from indigenous fermented foods, *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 12 (2020) 280-288.
- [269] O. R. Ogunremi, R. Agrawal, A. I. Sanni, Development of cereal-based functional food using cereal-mix substrate fermented with probiotic strain–*Pichia kudriavzevii* OG 32, *Food science & nutrition*. 3(6) (2015) 486-494.
- [270] G. Siesto, R. Pietrafesa, V. Infantino, C. Thanh, I. Pappalardo, P. Romano, A. Capece, In vitro study of probiotic, antioxidant and anti-inflammatory activities among indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains, *Foods*. 11(9) (2022) 1342.
- [271] S. Durmaz, T. Kurtoğlu, E. Barbarus, N. K. Çetin, M. Yılmaz, Ö. F. Rahman, F. Abacıgil, Probiotic *Saccharomyces boulardii* alleviates lung injury by reduction of oxidative stress and cytokine response induced by supraceliac aortic ischemia-reperfusion injury in rats, *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 36(4) (2021) 515-521.
- [272] B. Halliwell, Understanding mechanisms of antioxidant action in health and disease, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 25(1) (2024) 13-33.
- [273] K. Jomova, S. Y. Alomar, S. H. Alwasel, E. Nepovimova, K. Kuca, M. Valko, Several lines of antioxidant defense against oxidative stress: Antioxidant enzymes, nanomaterials with multiple enzyme-mimicking activities, and low-molecular-weight antioxidants, *Archives of Toxicology*. 98(5) (2024) 1323-1367.

- [274] H. J. Forman, H. Zhang, Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy, *Nature Reviews Drug Discovery*. 20(9) (2021) 689-709.
- [275] O. M. Ighodaro, O. A. Akinloye, First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid, *Alexandria journal of medicine*. 54(4) (2018) 287-293.
- [276] L. I. McLellan, C. R. Wolf, Glutathione and glutathione-dependent enzymes in cancer drug resistance, *Drug Resistance Updates*. 2(3) (1999) 153-164.
- [277] F. Q. Schafer, G. R. Buettner, Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple, *Free radical biology and medicine*. 30(11) (2001) 1191-1212.
- [278] F. Silva Farinazzo, T. Bervelier Madeira, M. T. Carlos Fernandes, C. S. Ishii Mauro, A. A. Bosso Tomal, S. L. Nixdorf, S. Garcia, Organic and conventional apple fermented by *Saccharomyces boulardii*—The effect of the antioxidant quercetin on cellular oxidative stress, *British Food Journal*. 123(2) (2021) 520-534.
- [279] D. Raederstorff, A. Wyss, P. C. Calder, P. Weber, M. Eggersdorfer, Vitamin E function and requirements in relation to PUFA, *British Journal of Nutrition*. 114(8) (2015) 1113-1122.
- [280] R. Siener, I. Machaka, B. Altelheld, N. Bitterlich, C. Metzner, Effect of fat-soluble vitamins A, D, E and K on vitamin status and metabolic profile in patients with fat malabsorption with and without urolithiasis, *Nutrients*. 12(10) (2020) 3110.
- [281] J. Eardley, D. J. Timson, Yeast cellular stress: impacts on bioethanol production, *Fermentation*. 6(4) (2020) 109.
- [282] E. Endress, S. Bayerl, K. Prechtel, C. Maier, R. Merkel, T. M. Bayerl, The effect of cholesterol, lanosterol, and ergosterol on lecithin bilayer mechanical properties at molecular and microscopic dimensions: a solid-state NMR and micropipet study, *Langmuir*. 18(8) (2002) 3293-3299.
- [283] Y. W. Hsueh, K. Gilbert, C. Trandum, M. Zuckermann, J. Thewalt, The effect of ergosterol on dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers: a deuterium NMR and calorimetric study, *Biophysical Journal*. 88(3) (2005) 1799-1808.
- [284] X. Xu, R. Bittman, G. Duportail, D. Heissler, C. Vilcheze, E. London, Effect of the structure of natural sterols and sphingolipids on the formation of ordered sphingolipid/sterol domains (rafts), *Journal of Biological Chemistry*. 276(36) (2001) 33540-33546.
- [285] P. Erecevit, S. Kirbag, O. Yilmaz, Determination of phytochemical characteristics of the extract of *Zea mays* with *Saccharomyces boulardii*, *Chemistry of Natural Compounds*. 49 (2013) 12-16.
- [286] C. Oliveira, A. Padilla, A. Dorado, V. Contreras, E. Garcia-Fuentes, E. Rubio-Martin, N. Porras, E. Doña, A. Carmona, G. Oliveira, Inflammation and oxidation biomarkers in patients with cystic fibrosis: the influence of azithromycin, *The Eurasian journal of medicine*. 49(2) (2017) 118.
- [287] M. Molska, J. Reguła, A. Grygier, A. Muzsik-Kazimierska, M. Rudzińska, A. Gramza-Michałowska, Effect of the Addition of Buckwheat Sprouts Modified with the Addition of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* to an Atherogenic Diet on the Metabolism of Sterols, Stanols and Fatty Acids in Rats, *Molecules*. 27(14) (2022) 4394.
- [288] V. Galhano, J. Gomes-Laranjo, F. Peixoto, Exposure of the cyanobacterium *Nostoc muscorum* from Portuguese rice fields to Molinate (Ordram®): Effects on the antioxidant system and fatty acid profile, *Aquatic Toxicology*. 101(2) (2011) 367-376.
- [289] B. Lal, T. P. Singh, Impact of pesticides on lipid metabolism in the freshwater catfish, *Clarias batrachus*, during the vitellogenic phase of its annual reproductive cycle, *Ecotoxicology and environmental safety*. 13(1) (1987) 13-23.
- [290] S. B. Rosas, M. Secco, N. E. Ghittoni, Effects of pesticides on the fatty acid and phospholipid composition of *Escherichia coli*, *Applied and environmental microbiology*. 40(2) (1980) 231-234.
- [291] M. B. Da Silva, N. Abrantes, T. A. P. Rocha-Santos, A. C. Duarte, A. C. Freitas, A. M. Gomes, A.P. Carvalho, J.C. Marques, F. Gonçalves, R. Pereira, Effects of dietary exposure to herbicide and of the

nutritive quality of contaminated food on the reproductive output of *Daphnia magna*, *Aquatic Toxicology*. 179 (2016) 1-7.

- [292] A. M. Gonçalves, C. P. Rocha, J. C. Marques, F. J. Gonçalves, Fatty acids as suitable biomarkers to assess pesticide impacts in freshwater biological scales—A review, *Ecological indicators*. 122 (2021) 107299.
- [293] M. F. J. V. Neves, B. B. Castro, T. Vidal, R. H. S. D. F. Vieira, J. C. Marques, J. A. P. Coutinho, F. Gonçalves, A.M.M. Gonçalves, Biochemical and populational responses of an aquatic bioindicator species, *Daphnia longispina*, to a commercial formulation of a herbicide (Primextra® Gold TZ) and its active ingredient (S-metolachlor), *Ecological indicators*. 53 (2015) 220-230.
- [294] V. Filimonova, M. De Troch, F. Gonçalves, J. C. Marques, S. M. Marques, A. M. Gonçalves, F. De Laender, Effects of a herbicide and copper mixture on the quality of marine plankton, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 156 (2018) 9-17.
- [295] V. Filimonova, F. Goncalves, J. C. Marques, M. De Troch, A. M. Goncalves, Biochemical and toxicological effects of organic (herbicide Primextra® Gold TZ) and inorganic (copper) compounds on zooplankton and phytoplankton species, *Aquatic toxicology*. 177 (2016) 33-43.
- [296] A. Feckler, W. Goedkoop, J. P. Zubrod, R. Schulz, M. Bundschuh, Exposure pathway-dependent effects of the fungicide epoxiconazole on a decomposer-detritivore system, *Science of the Total Environment*. 571 (2016) 992-1000.
- [297] F. L. Low, I. C. Shaw, J. A. Gerrard, The effect of *Saccharomyces cerevisiae* on the stability of the herbicide glyphosate during bread leavening, *Letters in applied microbiology*. 40(2) (2005) 133-137.
- [298] M. Zhang, Y. Ming, H. Guo, Y. Zhu, Y. Yang, S. Chen, L. He, X. Ao, A. Liu, K. Zhou, L. Zou, S. Liu, Screening of lactic acid bacteria for their capacity to bind cypermethrin in vitro and the binding characteristics and its application, *Food Chemistry*. 347 (2021) 129000.
- [299] A. Kumral, N. A. Kumral, O. Gurbuz, Chlorpyrifos and deltamethrin degradation potentials of two *Lactobacillus plantarum* (Orla-Jensen, 1919) (Lactobacillales: Lactobacillaceae) strains, *Turkish journal of entomology*. 44(2) (2020) 165-176.
- [300] A. Alvarez, J. M. Saez, J. S. D. Costa, V. L. Colin, M. S. Fuentes, S. A. Cuzzo, C. S. Benimeli, M. A. Polti, M. J. Amoroso, Actinobacteria: current research and perspectives for bioremediation of pesticides and heavy metals, *Chemosphere*. 166 (2017) 41-62.
- [301] H. Qi, Q. Huang, Y. C. Hung, Effectiveness of electrolyzed oxidizing water treatment in removing pesticide residues and its effect on produce quality, *Food chemistry*. 239 (2018) 561-568.
- [302] M. Sarwar, The dangers of pesticides associated with public health and preventing of the risks, *International Journal of Bioinformatics and Biomedical Engineering*. 1(2) (2015) 130-136.
- [303] M. Villarini, G. Caldini, M. Moretti, F. Trotta, R. Pasquini, G. Cenci, Modulatory activity of a *Lactobacillus casei* strain on 1, 2-dimethylhydrazine-induced genotoxicity in rats, *Environmental and molecular mutagenesis*. 49(3) (2008) 192-199.
- [304] N. Özok, Effects of cypermethrin on antioxidant enzymes and lipid peroxidation of Lake Van fish (*Alburnus tarichi*), *Drug and Chemical Toxicology*. 43(1) (2020) 51-56.
- [305] J. C. del Valle, M. C. Bonadero, A. V. Fernández-Gimenez, *Saccharomyces cerevisiae* as probiotic, prebiotic, synbiotic, postbiotics and parabiotics in aquaculture: An overview, *Aquaculture*. 569 (2023) 739342.
- [306] M. A. Mahdy, M. T. Jamal, M. Al-Harb, B. A. Al-Mur, M. F. Haque, Use of yeasts in aquaculture nutrition and immunostimulation: A review, *J. Appl. Biol. Biotechnol*. 10(5) (2022) 59-65.
- [307] M. R. Banu, S. Akter, M. R. Islam, M. N. Mondol, M. A. Hossain, Probiotic yeast enhanced growth performance and disease resistance in freshwater catfish gulsa tengra, *Mystus cavasius*, *Aquaculture Reports*. 16 (2020) 100237.
- [308] M. A. Dawood, S. Koshio, Recent advances in the role of probiotics and prebiotics in carp aquaculture: a review, *Aquaculture*. 454 (2016) 243-251.
- [309] J. Kaewda, P. Sangsawad, S. Boonanutanasarn, P. Manassila, A. Boontawan, M. Ketudat-Cairns, C. Sriphuttha, C. Nakharuthai, Effects of Probiotics Red Yeast *Rhodotorula paludigena* CM33 on

- enhancing color pigmentation, antioxidant activity, immune response, intestinal microbiota, and growth in a commercial ornamental fish: Flowerhorn fish, *Aquaculture Reports*. 40 (2025) 102609.
- [310] W. S. Raslan, A. Shehab, A. F. Matter, H. A. Youssuf, O. A. Farid, A. Sabek, Y. Magdy, A. Kadah, Impact of essential oil and probiotics supplementation on growth performance, serum biomarkers, antioxidants status, bioenergetics and histomorphometry of intestine of Nile tilapia fingerlings challenged with *Aeromonas veronii*, *BMC Veterinary Research*. 21(1) (2025) 6.
- [311] C. Sriphuttha, S. Limkul, J. Pongsetkul, T. Phiwthong, A. Massu, N. Sumniangyen, P. Boontawan, M. Ketudat-Cairns, A. Boontawan, P. Boonchuen, Effect of fed dietary yeast (*Rhodotorula paludigena* CM33) on shrimp growth, gene expression, intestinal microbial, disease resistance, and meat composition of *Litopenaeus vannamei*, *Developmental & Comparative Immunology*. 147 (2023) 104896.
- [312] K. S. Murthy, B. R. Kiran, M. Venkateshwarlu, A review on toxicity of pesticides in Fish, *International Journal of Open Scientific Research*. 1(1) (2013) 15-36.
- [313] A. Rafieepour, S. Hajirezaee, R. Rahimi, Moderating effects of dietary oregano extract (*Origanum vulgare*) on the toxicity induced by organophosphate pesticide, diazinon in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: metabolic hormones, histology and growth parameters, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 20(3) (2019) 207-219.
- [314] M. Öz, E. Üstüner, F. Bölükbaş, Effects of dietary black cumin (*Nigella sativa* L.) oil on growth performance, hemato-biochemical and histopathology of cypermethrin-intoxicated Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Journal of the World Aquaculture Society*. 55(1) (2024) 273-288.
- [315] R. Hanson, D. K. Dodoo, D. K. Essumang, J. Blay, K. Yankson, The effect of some selected pesticides on the growth and reproduction of fresh water *Oreochromis niloticus*, *Chrysichthys nigrodigitatus* and *Clarias gariepinus*, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 79 (2007) 544-547.
- [316] R. Tahir, A. Ghaffar, F. Afzal, I. H. Qazi, L. Zhao, H. Yan, H. Kuo, H. Khan, S. Yang, Chronic cypermethrin induced toxicity and molecular fate assessment within common carp (*Cyprinus carpio*) using multiple biomarkers approach and its novel therapeutic detoxification, *Chemosphere*. 357 (2024) 142096.
- [317] A. Ebrahimi, R. Akrami, E. H. Najdegerami, Z. Ghiasvand, H. Koohsari, Effects of different protein levels and carbon sources on water quality, antioxidant status and performance of common carp (*Cyprinus carpio*) juveniles raised in biofloc based system, *Aquaculture*. 516 (2020) 734639.
- [318] M. Tabarrok, J. Seyfabadi, G. Salehi Jouzani, H. Younesi, Comparison between recirculating aquaculture and biofloc systems for rearing juvenile common carp (*Cyprinus carpio*): Growth performance, haemato-immunological indices, water quality and microbial communities, *Aquaculture Research*. 51(12) (2020) 4881-4892.
- [319] C. T. Buruiană, A. G. Profir, C. Vizireanu, Effects of probiotic *Bacillus* species in aquaculture-an overview, *Annals of the University Dunarea de Jos of Galati Fascicle VI: Food Technology/Analele Universității Dunărea de Jos din Galați, Fascicula VI: Tehnologia Produselor Alimentare*. 38(2) (2014).
- [320] D. Nalle, Investigation of Potential Probiotic Bacterium (*Bacillus subtilis* CCI3) in the Formulated Diets on Immunity, Growth Performance and Nutritional Quality of *Cyprinus carpio*, *Growth Performance and Nutritional Quality of Cyprinus carpio* (June 27, 2024). (2024).
- [321] O. Carnevali, F. Maradonna, G. Gioacchini, Integrated control of fish metabolism, wellbeing and reproduction: the role of probiotic, *Aquaculture*. 472 (2017) 144-155.
- [322] Z. Zhang, J. Lv, L. Pan, Y. Zhang, Roles and applications of probiotic *Lactobacillus* strains, *Applied microbiology and biotechnology*. 102 (2018) 8135-8143.
- [323] H. Adineh, H. Jafarya, M. Farhangi, Z. Kohestani, S. A. M. Hashemianfar, Improvement of growth performance, digestive enzymes of common carp (*Cyprinus carpio*) and water quality using diets containing *Saccharomyces cerevisiae* yeast in a biofloc culture system, *Journal of Fisheries*. 77(4) (2024) 325-336.

- [324] Z. Y. Du, Y. J. Liu, L. X. Tian, J. T. Wang, Y. Wang, G. Y. Liang, Effect of dietary lipid level on growth, feed utilization and body composition by juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Aquaculture Nutrition*. 11(2) (2005) 139-146.
- [325] M. A. Gaffar, M. K. Zaman, M. S. Islam, M. Islam, M. K. Hossain, S. I. M. Shahriar, M. Shahjahan, Effects of probiotics on growth, survival, and intestinal and liver morphometry of Gangetic mystus (*Mystus cavasius*), *Saudi Journal of Biological Sciences*. 30(7) (2023) 103683.
- [326] V. Savin, N. Patriche, E. Mocanu, M. Tenciu, M. Lăcătuș, D. Popa, C. Savin, The effect of *Saccharomyces boulardii* yeast feed supplementation on growth parameters and biochemical composition of carp (*Cyprinus carpio*), *Univ. Agric. Sci. Vet. Med. Iasi*. 72 (2019) 188-192.
- [327] M. G. Nillos, S. Chajkowski, J. M. Rimoldi, J. Gan, R. Lavado, D. Schlenk, Stereoselective biotransformation of permethrin to estrogenic metabolites in fish, *Chemical Research in Toxicology*. 23(10) (2010) 1568-1575.
- [328] A. K. Prusty, M. P. S. Kohli, N. P. Sahu, A. K. Pal, N. Saharan, S. Mohapatra, S. K. Gupta, Effect of short term exposure of fenvalerate on biochemical and haematological responses in *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings, *Pesticide biochemistry and physiology*. 100(2) (2011) 124-129.
- [329] J. K. Dubey, D. B. Mishra, V. K. Tripathi, Evaluation of biochemical profile in liver tissues of two fish *Channa punctatus* & *Channa gachua* exposed to deltamethrin, *Res Spectra*. 2(2-3) (2016) 29-39.
- [330] D. B. Mishra, J. K. Dubey, S. Prashant, V. K. Tripathi, Observation of biochemical property in brain tissue of fish *channa punctatus* and exposed to deltamethrin, *Int J Sci Res Bio Sci*. 5(5) (2018) 66-9.
- [331] M. Ghazanfar, S. Shahid, I. Z. Qureshi, Vitamin C attenuates biochemical and genotoxic damage in common carp (*Cyprinus carpio*) upon joint exposure to combined toxic doses of fipronil and buprofezin insecticides, *Aquatic toxicology*. 196 (2018) 43-52.
- [332] Z. M. El-Bouhy, F. A. Mohamed, M. W. Elashhab, W. El-Houseiny, Toxicity bioassay and sub-lethal effects of profenofos-based insecticide on behavior, biochemical, hematological, and histopathological responses in Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), *Ecotoxicology*. 32(2) (2023) 196-210.
- [333] F. Mohammadi, S. M. Mousavi, M. Zakeri, E. Ahmadmoradi, Effect of dietary probiotic, *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, survival rate and body biochemical composition of three spot cichlid (*Cichlasoma trimaculatum*), *Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation*. 9(3) (2016) 451-457.
- [334] R. Aydın, K. Köprücü, M. Dörücü, S. Ş. Köprücü, M. Pala, Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae, *Aquaculture International*. 13 (2005) 451-458.
- [335] H. Polat, F. Ü. Erkoç, R. Viran, O. Koçak, Investigation of acute toxicity of beta-cypermethrin on guppies *Poecilia reticulata*, *Chemosphere*. 49(1) (2002) 39-44.
- [336] S. Saha, A. Kaviraj, Dietary ascorbic acid as a means to counter the stress of cypermethrin on the growth of freshwater catfish *Heteropneustes fossilis*, *Toxicology and Industrial Health*. 29(5) (2013) 468-473.
- [337] O. M. Awoyemi, N. Kumar, C. Schmitt, S. Subbiah, J. Crago, Behavioral, molecular and physiological responses of embryo-larval zebrafish exposed to types I and II pyrethroids, *Chemosphere*. 219 (2019) 526-537.
- [338] V. Parlak, Evaluation of apoptosis, oxidative stress responses, AChE activity and body malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos exposed to deltamethrin, *Chemosphere*. 207 (2018) 397-403.
- [339] V. Parlak, M. Atamanalp, G. Alak, A. Uçar, Alfa Sipermetrinin Gökkuşluğu Alabalığı Solungaç Dokusunda Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi, In SETSCI-Conference Proceedings (Vol. 3, pp. 322-323). SETSCI-Conference Proceedings. (2018, December).
- [340] M. E. Nunes, T. E. Müller, C. Murussi, A. M. do Amaral, J. L. Gomes, A. T. Marins, J. Leitemperger, C. C.R. Rodrigues, T. L. Fiuza, M. D. Costa, E. S. Severo, D. B. Rosemberg, V. L. Loro, Oxidative effects of the acute exposure to a pesticide mixture of cypermethrin and chlorpyrifos on carp and zebrafish—a comparative study, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 206 (2018) 48-53.

- [341] H. Wu, J. Gao, Z. Xie, M. Xie, R. Song, X. Yuan, Y. Wu, D. Ou, Effect of chronic deltamethrin exposure on brain transcriptome and metabolome of juvenile crucian carp, *Environmental Toxicology*. 39(3) (2024) 1544-1555.
- [342] B. K. Das, S. Ganguly, A. Adhikari, S. S. Raut, S. P. Pradhan, S. K. Nag, K. Kumari, V. Kumar, Comparative toxicotranscriptomics of longterm cypermethrin exposure to aquacultured fish Labeo catla (Catla), *Scientific Reports*. 15(1) (2025) 9479.
- [343] G. A. Raza, A. Ghaffar, R. Hussain, A. Jamal, Z. Ahmad, B. B. Mohamed, A. S. Aljohani, Nuclear and morphological alterations in erythrocytes, antioxidant enzymes, and genetic disparities induced by brackish water in mrigal carp (*Cirrhinus mrigala*), *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2022(1) (2022) 4972622.
- [344] S. Gawęł, M. Wardas, E. Niedworok, P. Wardas, Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiadomosci lekarskie (Warsaw, Poland: 1960)*. 57(9-10) (2004) 453-455.
- [345] A. C. Elia, R. Galarini, M. I. Taticchi, A. J. M. Dörr, L. Mantilacci, Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 55(2) (2003) 162-167.
- [346] S. Parvez, S. Raisuddin, Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch), *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 20(1) (2005) 112-117.
- [347] H. S. Hamed, M. Abdel-Tawwab, Dietary pomegranate (*Punica granatum*) peel mitigated the adverse effects of silver nanoparticles on the performance, haemato-biochemical, antioxidant, and immune responses of Nile tilapia fingerlings, *Aquaculture*. 540 (2021) 736742.
- [348] W. A. Mohamed, W. El-Houseiny, R. E. Ibrahim, Y. M. Abd-Elhakim, Palliative effects of zinc sulfate against the immunosuppressive, hepato-and nephrotoxic impacts of nonylphenol in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Aquaculture*. 504 (2019) 227-238.
- [349] M. Atamanalp, V. Parlak, F. B. Özgeriş, A. Çilingir Yeltekin, A. Ucar, M. S. Keleş, G. Alak, Treatment of oxidative stress, apoptosis, and DNA injury with N-acetylcysteine at simulative pesticide toxicity in fish, *Toxicology Mechanisms and Methods*. 31(3) (2021) 224-234.
- [350] Z. Hu, Y. Sun, S. Liu, Y. Xiang, M. Li, Y. Li, Y. Li, X. Liu, M. Fu, Dietary additive ferulic acid alleviated oxidative stress, inflammation, and apoptosis induced by chronic exposure to avermectin in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*), *Toxicol*. 244 (2024) 107755.
- [351] M. Mirzababaei, F. Babaei, S. Ghafghazi, Z. Rahimi, S. Asadi, L. Dargahi, *Saccharomyces Boulardii* alleviates neuroinflammation and oxidative stress in PTZ-kindled seizure rat model, *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 398(2) (2025) 1625-1635.
- [352] S. S. Yaghchi, M. Fatemi, F. Ghandehari, Comparing the effects of *Saccharomyces boulardii* and selenium-enriched *S. boulardii* on hematological parameters and total antioxidant capacity in aluminum induced toxicity in rats, *J. Kermanshah Univ. Med. Sci.* 22(3) (2018).
- [353] A. T. Mansour, H. H. Mahboub, R. M. Amen, M. A. El-Beltagy, A. Ramah, A. M. Abdelfattah, H. S. El-Beltagi, T. A. Shalaby, H. S. Ghazzawy, K. M. A. Ramadan, A. H. M. Alhajji, H. S. Hamed, Ameliorative effect of quercetin against abamectin-induced hemato-biochemical alterations and hepatorenal oxidative damage in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Animals*. 12(23) (2022) 3429.
- [354] M. A. Ansari, S. W. Scheff, Oxidative stress in the progression of Alzheimer disease in the frontal cortex, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*. 69(2) (2010) 155-167.
- [355] J. H. Han, Y. S. Lee, J. H. Im, Y. W. Ham, H. P. Lee, S. B. Han, J. T. Hong, Astaxanthin ameliorates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation, oxidative stress and memory dysfunction through inactivation of the signal transducer and activator of transcription 3 pathway, *Marine drugs*. 17(2) (2019) 123.
- [356] N. Ballatori, S. M. Krance, S. Notenboom, S. Shi, K. Tieu, C. L. Hammond, Glutathione dysregulation and the etiology and progression of human diseases, (2009).
- [357] R. Dringen, J. M. Gutterer, J. Hirrlinger, Glutathione metabolism in brain: metabolic interaction between astrocytes and neurons in the defense against reactive oxygen species, *European journal of biochemistry*. 267(16) (2000) 4912-4916.

- [358] D. V. Parke, J. K. Piotrowski, Glutathione: its role in the detoxication of reactive oxygen and environmental chemicals, *Acta Poloniae Toxicologica*. 4(1) (1996).
- [359] L. L. de Andrade, A. D. E. Santo Pereira, L. F. Fraceto, C. B. dos Reis Martinez, Can atrazine loaded nanocapsules reduce the toxic effects of this herbicide on the fish *Prochilodus lineatus*? A multibiomarker approach, *Science of the Total Environment*. 663 (2019) 548-559.
- [360] S. H. Hoseinifar, S. Yousefi, H. Van Doan, G. Ashouri, G. Gioacchini, F. Maradonna, O. Carnevali, Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics, *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*. 29(2) (2020) 198-217.
- [361] H. J. T. Andriamialinirina, M. Irm, S. Taj, J. H. Lou, M. Jin, Q. Zhou, The effects of dietary yeast hydrolysate on growth, hematology, antioxidant enzyme activities and non-specific immunity of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, *Fish & Shellfish Immunology*. 101 (2020) 168-175.
- [362] A. Gupta, S. K. Gupta, M. Priyam, M. A. Siddik, N. Kumar, P. K. Mishra, K. K. Gupta, B. Sarkar, T. R. Sharma, A. Pattanayak, Immunomodulation by dietary supplements: A preventive health strategy for sustainable aquaculture of tropical freshwater fish, *Labeo rohita* (Hamilton, 1822), *Reviews in Aquaculture*. 13(4) (2021) 2364-2394.
- [363] I. Rajput, L. YaLi, X. Xin, H. Yi, Z. WenCui, Y. DongYou, L. WeiFen, Supplementary effects of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on digestive enzyme activities, antioxidation capacity and blood homeostasis in broiler, (2013).
- [364] E. Lorenz, M. Schmach, M. Senz, Evaluation of cysteine ethyl ester as efficient inducer for glutathione overproduction in *Saccharomyces* spp, *Enzyme and microbial technology*. 93 (2016) 122-131.
- [365] G. Liang, X. Liao, G. Du, J. Chen, A new strategy to enhance glutathione production by multiple H₂O₂-induced oxidative stresses in *Candida utilis*, *Bioresource technology*. 100(1) (2009) 350-355.
- [366] J. Y. Hong, S. H. Son, S. P. Hong, S. H. Yi, S. H. Kang, N. K. Lee, H. D. Paik, Production of β -glucan, glutathione, and glutathione derivatives by probiotic *Saccharomyces cerevisiae* isolated from cucumber jangajji, *LWT*. 100 (2019) 114-118.
- [367] Y. Li, G. Wei, J. Chen, Glutathione: a review on biotechnological production, *Applied microbiology and biotechnology*. 66 (2004) 233-242.
- [368] G. Alak, A. Ç. Yeltekin, F. B. Özgeriş, V. Parlak, A. Uçar, M. S. Keleş, M. Atamanalp, Therapeutic effect of N-acetyl cysteine as an antioxidant on rainbow trout's brain in cypermethrin toxicity, *Chemosphere*. 221 (2019) 30-36.
- [369] M. E. Yonar, Protective effect of lycopene on oxidative stress and antioxidant status in *Cyprinus carpio* during cypermethrin exposure, *Environmental Toxicology*. 28(11) (2013) 609-616.
- [370] V. I. Lushchak, Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals, *Aquatic toxicology*. 101(1) (2011) 13-30.
- [371] F. D. de Moraes, F. P. Venturini, P. A. Rossi, I. M. Avilez, N. E. da Silva de Souza, G. Moraes, Assessment of biomarkers in the neotropical fish *Brycon amazonicus* exposed to cypermethrin-based insecticide, *Ecotoxicology*. 27 (2018) 188-197.
- [372] M. Fatima, I. Ahmad, I. Sayeed, M. Athar, S. Raisuddin, Pollutant-induced over-activation of phagocytes is concomitantly associated with peroxidative damage in fish tissues, *Aquatic Toxicology*. 49(4) (2000) 243-250.
- [373] A. Dabas, N. S. Nagpure, R. M. Mishra, B. Kushwaha, R. Kumar, P. Kumar, Investigation of cadmium-induced genotoxicity and oxidative stress response in Indian major carp, *Labeo rohita*, *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 20(2) (2014) 510-526.
- [374] E. O. Oruc, Y. Sevgiler, N. Uner, Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 137(1) (2004) 43-51.
- [375] A. Alkan Uçkun, Ö. Barım Öz, Acute exposure to the fungicide penconazole affects some biochemical parameters in the crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823), *Environmental Science and Pollution Research*. 27(28) (2020) 35626-35637.

- [376] Y. Wang, Z. Li, C. Ji, Y. Wang, Z. Chu, T. Zhang, C. Chen, Synergistic toxic effects and mechanistic insights of beta-cypermethrin and pyraclostrobin exposure on hook snout carp (*Opsariichthys bidens*): A biochemical, transcriptional, and molecular approach, *Environmental Pollution*. 358 (2024) 124535.
- [377] H. Xing, X. Wang, G. Sun, X. Gao, S. Xu, X. Wang, Effects of atrazine and chlorpyrifos on activity and transcription of glutathione S-transferase in common carp (*Cyprinus carpio* L.), *Environmental toxicology and pharmacology*. 33(2) (2012) 233-244.
- [378] V. Yancheva, E. Georgieva, I. Velcheva, I. Iliev, S. Stoyanova, T. Vasileva, V. Bivolarski, D. Todorova-Bambaldokova, N. Zulkipli, L. Antal, K. Nyeste, Assessment of the exposure of two pesticides on common carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758): Are the prolonged biomarker responses adaptive or destructive?, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 261 (2022) 109446.
- [379] T. Karatas, B. Apaydin Yildirim, S. Yildirim, Protective effects of tea leaf extract (*Camellia sinensis*) against cypermethrin induced toxicity in gill and liver of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), *Pakistan J Zool*. 56(2) (2023) 1-11.
- [380] V. K. Gültekin, M. Atamanalp, A. Ucar, G. Alak, V. Parlak, Testing the detoxification power of black cumin oil (*Nigella sativa*) over cypermethrin insecticide effects in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) at multiple scales, *Drug and Chemical Toxicology*. 47(6) (2024) 909-922.
- [381] V. P. Vineetha, H. N. Tejaswi, N. S. Sooraj, S. Das, D. Pillai, Implications of deltamethrin on hematology, cardiac pathology, and gene expression in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its possible amelioration with Shatavari (*Asparagus racemosus*), *Veterinary Research Communications*. 48(2) (2024) 811-826.
- [382] B. Matkovics, R. Novak, H. D. Hanh, L. Szabo, S. I. Varga, A comparative study of some more important experimental animal peroxide metabolism enzymes. *Comparative biochemistry and physiology, B, Comparative biochemistry*. 56(4) (1977) 397-402.
- [383] A. A. Radi, B. Matkovics, Effects of metal ions on the antioxidant enzyme activities, protein contents and lipid peroxidation of carp tissues. *Comparative biochemistry and physiology, C, Comparative pharmacology and toxicology*. 90(1) (1988) 69-72.
- [384] G. W. Winston, R. T. Di Giulio, Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms, *Aquatic toxicology*. 19(2) (1991) 137-161.
- [385] I. Ahmad, T. Hamid, M. Fatima, H. S. Chand, S. K. Jain, M. Athar, S. Raisuddin, Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*. 1523(1) (2000) 37-48.
- [386] M. Ciocoiu, M. Badescu, I. Paduraru, Protecting antioxidative effects of vitamins E and C in experimental physical stress, *J. Physiol. Biochem.* (2007) 187-194.
- [387] S. M. Bradberry, S. A. Cage, A. T. Proudfoot, J. A. Vale, Poisoning due to pyrethroids, *Toxicological reviews*. 24 (2005) 93-106.
- [388] R. E. Ibrahim, H. I. Ghamry, S. A. Althobaiti, D. A. Almalki, M. S. Shakweer, M. A. Hassan, T. Khamis, H. M. Abdel-Ghany, S. A. A. Ahmed, *Moringa oleifera* and *Azadirachta indica* Leaves enriched diets mitigate chronic oxyfluorfen toxicity induced immunosuppression through disruption of pro/anti-inflammatory gene pathways, alteration of antioxidant gene expression, and histopathological Alteration in *Oreochromis niloticus*, *Fishes*. 8(1) (2022) 15.
- [389] R. Tahir, F. Afzal, J. Liang, S. Yang, Novel protective aspects of dietary polyphenols against pesticidal toxicity and its prospective application in rice-fish mode: A Review, *Fish & Shellfish Immunology*. 146 (2024) 109418.
- [390] M. A. Burgos-Aceves, L. Lionetti, C. Faggio, Multidisciplinary haematology as prognostic device in environmental and xenobiotic stress-induced response in fish, *Science of the total environment*. 670 (2019) 1170-1183.
- [391] G. Rashidian, R. Mohammadi-Aloucheh, F. Hosseinzadeh-Otaghvari, L. V. Chupani, Stejskal, H. Samadikhah, S. Zamanlui, C. R. Multisanti, C. Faggio, Long-term exposure to small-sized silica nanoparticles (SiO₂-NPs) induces oxidative stress and impairs reproductive performance in adult

- zebrafish (*Danio rerio*), *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*. 273 (2023) 109715.
- [392] S. Kakizaki, D. Takizawa, H. Tojima, Y. Yamazaki, M. Mori, Xenobiotic-sensing nuclear receptors CAR and PXR as drug targets in cholestatic liver disease, *Current drug targets*. 10(11) (2009) 1156-1163.
- [393] M. M. Abdel-Daim, M. A. Dawood, M. Elbadawy, L. Aleya, S. Alkahtani, *Spirulina platensis* reduced oxidative damage induced by chlorpyrifos toxicity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), *Animals*. 10(3) (2020) 473.
- [394] A. A. A. Mokhbatly, D. H. Assar, E. W. Ghazy, Z. Elbialy, S. A. Rizk, A. A. Omar, A. Y. Gaafar, M. A. O. Dawood, The protective role of spirulina and β -glucan in African catfish (*Clarias gariepinus*) against chronic toxicity of chlorpyrifos: hemato-biochemistry, histopathology, and oxidative stress traits, *Environmental Science and Pollution Research*. 27 (2020) 31636-31651.
- [395] J. Z. Xiao, S. Kondo, N. Takahashi, K. Miyaji, K. Oshida, A. Hiramatsu, K. Iwatsuki, S. Kokubo, A. Hosono, Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers, *Journal of dairy science*. 86(7) (2003) 2452-2461.
- [396] A. Ataie-Jafari, B. Larijani, H. Alavi Majd, F. Tahbaz, Cholesterol-lowering effect of probiotic yogurt in comparison with ordinary yogurt in mildly to moderately hypercholesterolemic subjects, *Annals of Nutrition and Metabolism*. 54(1) (2009) 22-27.
- [397] Z. Guo, X. M. Liu, Q. X. Zhang, Z. Shen, F. W. Tian, H. Zhang, Z. H. Sun, H.P. Zhang, W. Chen, Influence of consumption of probiotics on the plasma lipid profile: a meta-analysis of randomised controlled trials, *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 21(11), (2011) 844-850.
- [398] M. Borsari, C. Gabbi, F. Ghelfi, R. Grandi, M. Saladini, S. Severi, F. Borella, Silybin, a new iron-chelating agent, *Journal of inorganic biochemistry*. 85(2-3) (2001) 123-129.
- [399] W. Wang, S. Mou, W. Xiu, Y. Li, Z. Liu, Y. Feng, J. Ma, X. Li, Fenpropathrin disrupted the gills of common carp (*Cyprinus carpio* L.) through oxidative stress, inflammatory responses, apoptosis, and transcriptional alterations, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 271 (2024) 116007.
- [400] H. Zhong, L. Dong, Q. Dong, C. Ke, J. Fu, X. Wang, C. Liu, L. Dai, Quantitative analysis of aberrant fatty acid composition of zebrafish hepatic lipids induced by organochlorine pesticide using stable isotope-coded transmethylation and gas chromatography-mass spectrometry, *Analytical and bioanalytical chemistry*. 404 (2012) 207-216.
- [401] H. M. Kotkat, A. A. Rady, N. Janos, Influence of Pesticide Pyrethroid Deltamethrin Pollution on the Phospholipid Composition of Carp Erythrocyte Plasma Membrane, *Asian Fisheries Science*. 12(2) (1999) 165-173.
- [402] G. Begum, Toxicity of cypermethrin on total lipids and free fatty acids in liver, muscle, kidney and ovary of *Clarias batrachus* (L) and recovery response, *Toxicological & Environmental Chemistry*. 87(2) (2005) 253-260.
- [403] A. Kumar, S. Jasrotia, J. Dutta, G. Z. Kyzas, Pyrethroids toxicity in vertebrates and invertebrates and amelioration by bioactive compounds: A review, *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 196 (2023) 105615.
- [404] E. I. Cengiz, A. S. Bayar, V. Kizmaz, The protective effect of vitamin E against changes in fatty acid composition of phospholipid subclasses in gill tissue of *Oreochromis niloticus* exposed to deltamethrin, *Chemosphere*. 147 (2016) 138-143.
- [405] A. P. Bertolo, A. P. Biz, A. P. Kempka, E. Rigo, D. Cavalheiro, Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): evaluation of cellular disruption processes, chemical composition, functional properties and digestibility, *Journal of Food Science and Technology*. 56 (2019) 3697-3706.
- [406] D. Milatovic, R. C. Gupta, A. Dekundy, T. J. Montine, W. D. Dettbarn, Carbofuran-induced oxidative stress in slow and fast skeletal muscles: prevention by memantine and atropine, *Toxicology*. 208(1) (2005) 13-24.
- [407] E. I. Cengiz, A. S. Bayar, V. Kizmaz, M. Başhan, A. Satar, Acute toxicity of deltamethrin on the fatty acid composition of phospholipid classes in liver and gill tissues of Nile tilapia, *International Journal of Environmental Research*. 11 (2017) 377-385.

- [408] V. N. Golubev, Mechanisms of interaction of pesticides with the lipid bilayer in cell membranes, *Russian Chemical Reviews*. 62(7) (1993) 683.
- [409] N. G. Bazan, Supply of n-3 polyunsaturated fatty acids and their significance in the central nervous system, *Nutrition and Brain*. 8 (1990) 1-24.
- [410] M. Bratberg, P. A. Olsvik, R. B. Edvardsen, H. K. Brekken, R. Vadla, S. Meier, Effects of oil pollution and persistent organic pollutants (POPs) on glycerophospholipids in liver and brain of male Atlantic cod (*Gadus morhua*), *Chemosphere*. 90(7) (2013) 2157-2171.



ÖZGEÇMİŞ

Görkem KIRMIZIKAYA ÖZMEN

ARAŞTIRMACI BİLGİLERİ

Öğrenci Orcid ID	: 0000-0001-8516-4933
Danışman Orcid ID	: 0000-0002-8276-4498

AKADEMİK FAALİYETLER

Makaleler:

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. S. Selçuk Pekdemir, G. Kirmizikaya Özmen, Ö. Yılmaz, Phytochemical composition and antioxidant activity of Euphorbia falcata/PEG biocomposites: a functional analysis using Saccharomyces cerevisiae, Journal of Polymer Research. 32(8) (2025) 1-12. Doi: 10.1007/s10965-025-04495-w
2. S. D. Cinkara, N. Badıllı, İ. H. Güngör, A. Ç. Cihangiroğlu, T. C. Acısu, G. K. Özmen, G. Arkalı, Ş. K. Özer, M. Sönmez, S.Gür, A. Yüce, Ö. Yılmaz, G. Türk, Morpho-functional and biochemical improvements in ram spermatozoa following intraepididymal platelet-rich plasma administration, Reproductive Biology. 25(3) (2025)101045. Doi: 10.1016/j.repbio.2025.101045
3. İ. Özgen, Ö. Yılmaz, E. Aydoğmuş, A. Topdemir, G. Kırmızııkaya Özmen, A. Kılınçtepe, Alterations in Plant Fatty Acid Composition Induced by Insect Herbivory and Elevated

Carbon Dioxide: A Case Study on *Halyomorpha halys* (Stål, 1855) (Hemiptera: Pentatomidae), International Journal of Advanced Natural Sciences and Engineering Researches. 9(6) (2025) 165-173.

4. M. Kocabaş, F. Kutluyer-Kocabaş, N. Başçınar, E. Özçiçek, G. Kırmızıyaka-Özmen, Ö. Yılmaz, The profile of fatty acids in the gametes of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) during the spawning period under culture conditions Perfil de ácidos grasos en gametos de trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*) cultivada en época de desove, Revista Científica de la Facultad de Veterinaria. 35(2) (2025) 1-6. Doi: 10.52973/rcfcv-e35565
5. O. A. Kireççi, Y. Kustili, G. Kırmızıyaka Özmen, A. D. Özşahin Kireççi, Effects of Imidacloprid Application on Antioxidant System In Sunflower Leaves, Applied Ecology and Environmental Research. 22(5) (2024) 4277-4287. Doi: 10.15666/aeer/2205_42774287
6. A. D. Özşahin Kireççi, Y. Demirkol, G. Kırmızıyaka, O. A. Kireççi, Biochemical Analysis of Bitlis-Hizan (Turkey) Region's Honey, Applied Ecology and Environmental Research. 22(4) (2024) 3771-3783. Doi: 10.15666/aeer/2204_37713783 (Yayın No: 9103076)
7. F. Yılmaz, İ. Türkoğlu, G. Kırmızıyaka Özmen, E. Yüce Babacan, Ö. Yılmaz Investigation of Flower, Leaf, and Stem Parts of Three Gundelia Species Growth in the Eastern Anatolia Region of Türkiye from a Biochemical Perspective, KSU Tarım ve Doğa Dergisi KSU Journal of Agriculture and Nature. 27(1) (2024) 16-27., Doi: 10.18016/ksutarimdoga.vi.1480388
8. A. Topdemir, T. Okutan, G. Kırmızıyaka, Ö. Yılmaz, Naftalin Asetik Asit, 6-Benzilaminopürin ve İndol-3-Bütirik Asit Kombinasyonlarının *Actinidia deliciosa* Kallus Gelişimi Üzerine Biyokimyasal Bir Araştırma, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi. 27(2) (2024) 249-260. Doi: 10.18016/ksutarimdoga.vi.1292478
9. E. Vanlı, A. Harlioğlu, M. Harlioğlu, G. Kırmızıyaka, Ö. Yılmaz, Determination of Fatty Acid Composition, Cholesterol and Fat-soluble Vitamin Levels of *Capoeta trutta*, *Luciobarbus mystaceus* and *Luciobarbus esocinus* Caught from the Keban Dam Lake, Elazığ, Turkey, Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 23(8) (2023) 1-11. Doi: 10.4194/TRJFAS22526
10. G. Kırmızıyaka, T. Okutan, O. A. Kireççi, Ö. Yılmaz, Responses of *Saccharomyces cerevisiae* Cells Grown in Cultures Prepared from Different Tea Infusions to Oxidative Stress, KSU Journal of Agriculture and Nature. 26(5) (2023) 957-965. Doi: 10.18016/ksutarimdoga.vi.1221661
11. G. Kırmızıyaka, M. Karakaya, A. S. Babaoğlu, Black, green, and white tea infusions and powder forms improve oxidative stability of minced beef throughout refrigerated storage, Journal of Food Processing and Preservation. 45 (2021). Doi: 10.1111/jfpp.15359 (**Yüksek Lisans Tez Yayını**)

Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

1. E. Özçiçek, M. Kocabaş, F. Kutluyer Kocabaş, G. Kırmızıyaka Özmen, Ö. Yılmaz, Kuzgun Barajı'nda (Erzurum) Yaşayan *Squalius semae* Turan, Kottelat & Bayçelebi, 2017 Türünün Kas Dokularındaki Yağ Asidi Kompozisyonunun Belirlenmesi, Research in agricultural sciences. 56(1) (2025) 66-72. Doi: 10.17097/agricultureatauni.1506166
2. E. Özçiçek, F. Kutluyer Kocabaş, M. Kocabaş, G. Kırmızıyaka Özmen, Ö. Yılmaz, *Alburnoides velioglui* (Turan vd., 2014)'nin Yağ Asidi Profili: Pülümür Çayı (Tunceli) Örneği, Memba Kastamonu Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dergisi. 10(3) (2024) 154-161. Doi: 10.58626/menba.1542856

Bildiriler:

3. G. Kırmızııkaya Özmen, Ö. Yılmaz, Effect of *Saccharomyces boulardii* CNCM I-745 Supplementation on Weight Changes of Carp (*Cyprinus carpio* L.) Exposed to Deltamethrin And Cypermethrin Pesticides, 11th International New York Conference on Evolving Trends in Interdisciplinary Research & Practices. (2025) 167175. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum) **(Doktora Tez Yayını)**
4. G. Kırmızııkaya Özmen, Ö. Yılmaz, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces boulardii*'nin Kültür Ortamlarına Eklenen Deltametrin ve Sipermetrin Pestisitlerine Karşı Metabolik Yanıtlarının Karşılaştırılması, Hodja Akhmet Yassawi 8th International Congress on Scientific Research, (2024) 2153-2167. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
5. A. Sarıtop, G. Kırmızııkaya Özmen, Ö. Yılmaz, Biyoaktif Özellikli Polietilen Glikol ile Kompozit Oluşturulan Morin'in 7, 12-Dmba Verilen *Saccharomyces cerevisiae* Üzerinde Metabolik Etkileri, Hodja Akhmet Yassawi 8th International Congress on Scientific Research. (2024) 1582-1594. (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
6. A. Çakır Cihangiroğlu, G. Türk, G. Tunç, T. C. Acısu, İ. H. Güngör, N. Badıllı, A. O. Çeribaşı, A. Tektemur, G. Arkalı, G. Kırmızııkaya, Ş. Özer Kaya, M. C. Han, S. Gür, M. Sönmez, A. Yüce, Ö. Yılmaz, The Effect of Intratesticular Platelet-Rich Plasma (PRP) Administration on Testicular Development in Lambs. ICRAI 2022 (2022). (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)
7. A. Çakır Cihangiroğlu, G. Türk, İ. H. Güngör, T. C. Acısu, N. Badıllı, A. Tektemur, G. Arkalı, G. Kırmızııkaya, Ş. Özer Kaya, S. Gür, M. Sönmez, A. Yüce, Ö. Yılmaz, Effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) Applied Intratesticularly from the Infantile Period on the Molecular Structures of Post-Pubertal Ram Semen. International Congress on Reproduction and Artificial Insemination September 28- October 1 2022 Konya (2022). (Özet Bildiri/Poster)
8. A. Çakır Cihangiroğlu, G. Türk, İ. H. Güngör, T. C. Acısu, N. Badıllı, A. Tektemur, G. Arkalı, G. Kırmızııkaya, Ş. Özer Kaya, S. Gür, M. Sönmez, A. Yüce, Ö. Yılmaz, Effect of Platelet-Rich Plasma (PRP) Applied Intratesticularly from the Infantile Period on the Molecular Structures of Post-Pubertal Ram Semen. ICRAI 2022 (2022). (Özet Bildiri/Sözlü Sunum)
9. G. Kırmızııkaya, T. Okutan, A. Z. K. Abbas, H. Zengin, Ö. Yılmaz, Biochemical Effects of Certain Aliphatic Side Chain Amino Acids on *Saccharomyces cerevisiae* L., 5. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. (2022). (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)
10. T. Okutan, G. Kırmızııkaya, A. Z. K. Abbas, H. Zengin, Ö. Yılmaz, Biochemical Effects of Certain Aromatic Side Chain Amino Acids on *Saccharomyces cerevisiae* L., 5. International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences. (2022). (Tam Metin Bildiri/Sözlü Sunum)

Projeler:

1. *Saccharomyces boulardii*'nin Deltametrin ve Sipermetrin Toksisitelerine Karşı in vitro Metabolik Tepkisi ve Bu Pestisitlere Maruz Kalan Aynalı Sazan (*Cyprinus carpio* L.) Üzerindeki Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, Yürütücü:Ökkeş Yılmaz, 01/01/2023 (Devam Ediyor) (Ulusal) **(Doktora Tez Projesi)**
2. Tarhana Otuunun (*Echinophora tenuifolia* subsp. *Sibthorpiana*) Şavak Tulum Peynirinin Kalitesi Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi , Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı:Aybike Reyhan Deniz, Araştırmacı:Pelin Demir,

Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya Özmen, Yürütücü:Ali Arslan, 22/03/2024 (Devam Ediyor) (Ulusal)

3. Doğal ve Kültür Ortamındaki Çoruh Alabalığının *Salmo Coruhensis* Yumurta ve Sperminde Yağ Asidi ve Yağda Eriyen Vitamin A D E ve K vitaminleri Kompozisyonlarının Karşılaştırılması, Araştırma Projesi, Yürütücü:Mehmet Kocabaş, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, Araştırmacı:Esin Özççek, Araştırmacı:Filiz Kutluyer Kocabaş, Araştırmacı:Ökkeş Yılmaz, 21/07/2023 (Devam Ediyor) (Ulusal)
4. Akdeniz Bölgesinde Yetişen Tespih Ağacı (*Melia azedarach* L.) Tohum Ekstraktlarının Anti-Diyabetik ve Antioksidan Etkilerinin In vitro Olarak Araştırılması , Tübitak 2209-A Projesi, Danışman:Görkem Kırmızııkaya, , 01/03/2023 - 19/09/2023 (Ulusal)
5. Biyoaktif Özellikli Polietilen Glikol ile Kompozit Oluşturulan Quersetin ve Morin'in 7, 12-DMBA verilen *Saccharomyces cerevisiae* Üzerinde Metabolik Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü:Ökkeş Yılmaz, Araştırmacı:Tuba Okutan, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya Özmen, 04/08/2023 - 16/07/2024 (Ulusal)
6. Entansif ve Ekstansif Beslenen Kazlardan Elde Edilen Pepsin Enziminin Salamura Beyaz Peynir Yapımında Kullanılması ve Enzimin Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi, -Tübitak 1002, Yürütücü:Pelin Demir, Araştırmacı:Ali Arslan, Araştırmacı:Yasin Baykalır, Araştırmacı:Ülkü Gülcihan Şimşek, Araştırmacı:Fadime Tonbak, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, 15/01/2023 14/03/2024 (Ulusal)
7. Aromatik ve Alifatik Yan Zincirli gibi Bazı Amino Asitlerin H₂O₂ ile Oksidatif Hasar Oluşturulan *S. cerevisiae* L. Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı:Zınah Khudhair Abbas Abbas, Yürütücü:Ökkeş Yılmaz, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, 08/03/2021 - 08/03/2023 (Ulusal)
8. *Saccharomyces cerevisiae* L. Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, Yürütücü:İbrahim Akın Temizer, Araştırmacı:Selahattin Gönaylı, 08/03/2021 - 08/03/2023 (Ulusal)
9. Endemik *Gundelia munzurensis*'in Biyoteknolojik Yöntemlerle Biyokimyasal İçeriğinin Belirlenmesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Yürütücü:İsmail Türkoğlu, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, Bursiyer:Fatih Yılmaz, 14/06/2021 - 02/03/2023 (Ulusal)
10. Patojen Özellikli *Candida albicans* L. Gelişimi Üzerine Nanopartikül Titanyum Dioksit ve Çinko Oksidin Biyokimyasal Etkilerinin İncelenmesi. FF.22.03 Nolu FÜBAP projesi. Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı:Görkem Kırmızııkaya, Yürütücü:Ökkeş Yılmaz, Araştırmacı:Salah Ahmed Abdulazeez, 03/03/2022 - 03/03/2023 (Ulusal)