

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**PROBİYOTİKLERİN ZEBRA MİDYE (*Dreissena polymorpha*)’DE
MALATHİON TOKSİSİTESİ ÜZERİNDEKİ İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER İLE BELİRLENMESİ**

Neşe AKÇANAL ÖDÜN

**DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman SERDAR**

TUNCELİ – 2022

T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**PROBİYOTİKLERİN ZEBRA MİDYE (*Dreissena polymorpha*)'DE
MALATHİON TOKSİSİTESİ ÜZERİNDEKİ İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER İLE BELİRLENMESİ**

Neşe AKÇANAL ÖDÜN
(210100008)

DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Osman SERDAR

TUNCELİ-2022

**T.C.
MUNZUR ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**PROBİYOTİKLERİN ZEBRA MİDYE (*Dreissena polymorpha*)'DE
MALATHİON TOKSİSİTESİ ÜZERİNDEKİ İYİLEŞTİRİCİ ETKİSİNİN BAZI
BİYOKİMYASAL PARAMETRELER İLE BELİRLENMESİ**

**Neşe AKÇANAL ÖDÜN
DOKTORA TEZİ
SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI**

Bu tez 02/12/2022 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

İmza

**Prof. Dr. Bülent VEREP
BAŞKAN**

İmza

**Doç. Dr. Osman SERDAR
DANIŞMAN**

İmza

**Prof. Dr. Rahmi AYDIN
ÜYE**

İmza

**Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ
ÜYE**

İmza

**Prof. Dr. Nuran ÇIKCIKOĞLU YILDIRIM
ÜYE**

Bu tez, Enstitümüz Su Ürünleri Anabilim Dalı'nda hazırlanmıştır.

**Doç. Dr. Murat KORUNUR
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür**

NOT: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı “Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu”ndaki hükümlere tabidir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

İmza
Neşe AKÇANAL ÖDÜN

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmanın araştırma konusunun belirlenmesi, planlanıp yürütülmesi ve tez haline getirilmesinde; bilgi, birikim, yönlendirme ve deneyimleri ile bana yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım Sayın Doç. Dr. Osman SERDAR'a,

Tez çalışmasında histopatolojik verilerin değerlendirilmesi ve işlemleri için yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğ. Üyesi Tuba PARLAK AK'a

Araştırmanın yapılabilmesi için gerekli altyapıyı sunan Munzur Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanlığı'na ve Öğretim Elemanlarına,

Çalışmalarda kullanılan probiyotiklerin temini hususunda katkılarından dolayı Marinbio Teknoloji Ltd. Şti.'ne,

Başöğretmenimiz Mustafa Kemal ATATÜRK başta olmak üzere, eğitim öğretim hayatım boyunca, üzerimde emeği bulunan tüm öğretmen ve akademisyen hocalarıma,

Doktora çalışmamın her aşamasında yanımda olup, hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini her zaman hissettiğim eşim Uğur Cansın ÖDÜN, oğlum Rüzgar Ege ÖDÜN ve kızım Rüya ÖDÜN'e, bugünlere gelmeme vesile olan annem Emel AKÇANAL ve babam Özcan AKÇANAL başta olmak üzere tüm aile fertlerime sonsuz şükranlarımı sunarım.

Neşe AKÇANAL ÖDÜN

TUNCELİ-2022

İÇİNDEKİLER

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	III
TEŞEKKÜR.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VI
TABLolar LİSTESİ	VII
RESİMLER LİSTESİ	VIII
SEMBOLLER LİSTESİ	IX
KISALTMALAR LİSTESİ	X
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT	16
2.1. Model Canlının Toplanması.....	16
2.2. Probiyotik Uygulaması.....	17
2.3. Metrik Meristik Verilerin Ölçülmesi.....	17
2.4. Akut Letal Konsantrasyon (LC ₅₀)’unun Belirlenmesi.....	18
2.5. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi.....	19
2.6. Histopatolojik Yanıtın Belirlenmesi.....	22
2.7. İstatistiksel Analiz	23
3. BULGULAR	24
3.1. Metrik Meristik Bulgular.....	24
3.2. LC ₅₀ Değerleri	24
3.3. Biyokimyasal Bulgular	25
3.3.1. Tiobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) seviyesinin belirlenmesi	25
3.3.2. Redükte glutatyon (GSH) seviyesinin belirlenmesi	26
3.3.3. Süper oksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi	27
3.3.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi	28
3.3.5. Glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi	29
3.4. Histopatolojik Bulgular	30
4. TARTIŞMA	35
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	47
6. KAYNAKLAR.....	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Sucul Organizmalarda antioksidan savunma sistemi ve etki faktörleri (Hoseinifar ve ark., 2020).....	7
Şekil 3.1. Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki TBARS seviye değerleri.....	26
Şekil 3.2. Malathion etken maddeli pestisitine maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki GSH seviye değerleri.....	27
Şekil 3.3. Malathion etken maddeli pestisitine maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki SOD enzim aktivite değerleri	28
Şekil 3.4. Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki CAT enzim aktivite değerleri	29
Şekil 3.5. Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki GPx enzim aktivite değerleri	30
Şekil 3.6. Doğrudan malathiona maruz bırakılan ve probiyotikle muamele edilerek malathiona 24 saat süreyle maruz bırakılan <i>D. polymorpha</i> 'da histopatolojik yanıtlar.....	32
Şekil 3.7. Malathiona doğrudan ve probiyotik uygulaması ile birlikte 96 saat süreyle maruz bırakılan <i>D. polymorpha</i> 'da histopatolojik yanıtlar.	34

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. LC ₅₀ değerin belirlendiği konsantrasyonlar.....	24
Tablo 3.2. LC ₅₀ ortalama değeri.....	25
Tablo 3.3. LC ₅₀ değeri oranla oluşturulan deneysel uygulama grupları	25



RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Araziden toplanmış canlı materyaller	16
Resim 2.2. Probiyotik uygulaması yapılan model canlılar	17
Resim 2.3. Letal konsantrasyon belirleme çalışmaları.....	18
Resim 2.4. Doku homojenatı.....	20
Resim 2.5. Biyokimyasal analizler.....	20



SEMBOLLER LİSTESİ

C₁₀H₁₉O₆PS₂	: Malathion
Cd	: Kadmiyum
Cl⁻	: Klorür
Cr	: Crom
Cu	: Bakır
Fe	: Demir
L	: Litre
La	: Lantan
Mn	: Mangan
Mg	: Magnezyum
N	: Azot
NH₃	: Amonyak
Ni	: Nikel
¹O₂⁻	: Singlet Oksijen
O⁻	: Süperoksit Radikali
P	: Fosfor
Pb	: Kurşun
Ti	: Titanium
TiO₂	: Titanyum Dioksit
W	: Ağırlık
Zn	: Çinko

KISALTMALAR LİSTESİ

AChE	: Asetilenkolinesteraz
CAT	: Katalaz
DPT	: Devlet Planlama Teşkilatı
EC	: Elektrokoagülasyon
DTNB	: 2-nitrobenzoic acid
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Redükte Glutasyon
GSH-Px	: Glutathione Peroxidase
GSH-Rd	: Glutathione reductase
GSSG	: Okside glutasyon
GST	: Glutasyon-S-transferazı
GSTNB	: Glutathione thionitrobenzene
LL	: Atık depolama sızıntı suyu
LP	: Lipid peroksidasyonu
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
MDA	: Malondialdehid
MPa	: Megapascal
MT	: Metallotionin
Nm	: Nanometre
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NADP+	: Sodium salt hydrate
PAH	: Polisiklik Aromatik Hidrokarbon
pH	: Potansiyel hidrojen
REE	: Nadir Toprak Elementleri
RNA	: Ribonükleik asit
RPM	: Dakikadaki devir sayısı
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBARS	: Thiobarbituric acid reactive substances
US-EPA	: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı
XO	: Ksantin oksidaz
Wp	: Malathion preparatı
V	: Hacim
β-CF	: Beta-Cyfluthrin
°C	: Derece Santigrat
µg/L	: Mikrogramlitre

ÖZET

Probiyotikler, konakçı olduğu organizmaların sağlığı açısından yararlı sindirim kanalı mikroorganizmaları olarak tanımlanabilirler. Artan nüfusun gıda gereksinimlerini karşılamak amacıyla birim alandan daha fazla ürün elde etmek için zararlılarla mücadelede kullanılan pestisitler, sentetik veya doğal ürünlerdir. Pestisit kullanımının ekosistem üzerinde doğrudan ve dolaylı birtakım zararları bulunmaktadır.

Sunulan bu çalışmada, malathion etken maddeli pestisit hedef dışı sucul bir organizma olan zebra midye (*Dreissena polymorpha*) üzerindeki etkisinin biyobelirteçlerle belirlenmesi, probiyotik kullanımı esnasındaki koruyucu etkisinin biyobelirteçlerle belirlenmesi amaçlanmıştır. Malathiona maruz bırakılan *D. polymorpha*'da LC₅₀ değeri 120,11 ± 19,32 mg/l olarak hesaplanmıştır. Probiyotik ile muamele edilen *D. polymorpha* bireyleri ve doğrudan *D. polymorpha* bireyleri malathion etken maddeli pestisite LC₅₀ değerine oranla (1/5, 1/10 ve 1/20) sublethal konsantrasyonlarına 24 ve 96 saatlik zaman zarfında maruziyet sağlanmıştır. Deneme gruplarından alınan doku supernatantlarında, tiobarbitürik asit reaktif maddeleri (TBARS) ve redükteglutasyon (GSH) düzeyleri ile superoksitdismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutasyon peroksidaz (GPx), enzim aktiviteleri tespit edilmiştir. Ayrıca deneme gruplarından alınan örneklerde histopatolojik yanıt değerlendirilmiştir.

Malathiona maruz bırakılan *D. polymorpha* bireylerinde TBARS seviyelerinde artışa, GSH seviyesinde azalışa, SOD enzim aktivesinde azalışa, CAT enzim aktivesinde azalışa, GPx enzim aktivitesinde azalışa sebebiyet verdiği tespit edilmiştir. Histopatolojik yanıtın araştırıldığı gruplarda artan konsantrasyona bağlı olarak uygulama gruplarında probiyotik kullanılmayan gruba kıyaslandığında probiyotik kullanılmayan gruplarda şiddetli lezyonlar tespit edilmiştir. Koruyucu olarak uygulanan probiyotik ile muamele edilen grupların hepsinde doğrudan maruziyete kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı farklar bulunmuştur. Probiyotik ile muamele edilen grupların histopatolojik yanıtları doğrudan uygulama gruplarına kıyasla hafif ve orta şiddetli lezyonlar olarak koruyucu etkisi gösterdiği belirlenmiştir.

Yapılan deneysel çalışmada *D. polymorpha*'da malathion uygulamasında kullanılan biyobelirteçlerin faydalı olduğu biyokimyasal ve histopatolojik analizlerle belirlenmiştir. Sucul organizmalarda probiyotik kullanımının iyileştirici etkisinin olduğu hem biyokimyasal hem de histopatolojik biyobelirteçlerle teyit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyobelirteç, *Dreissena polymorpha*, malathion, oksidatif stres, probiyotik

ABSTRACT

Determination of the curative effect of probiotics on malathion toxicity in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) by some biochemical parameters

Probiotics can be defined as digestive tract microorganisms beneficial to the health of host organisms. Pesticides are synthetic or natural products used to combat pests in order to obtain more product per unit area in order to meet the food requirements of the increasing population. Pesticide use has some direct and indirect damage to the ecosystem.

In this study, it was aimed to determine the effect of malathion active ingredient pesticide on zebra mussel (*Dreissena polymorpha*), which is a non-target aquatic organism, with biomarkers, and to determine the protective effect with the use of probiotics with biomarkers. The LC₅₀ value of *D. polymorpha* exposed to malathion was calculated as 120.11 ± 19.32 mg/L. *D. polymorpha* individuals treated with probiotics and *D. polymorpha* individuals directly were exposed to sublethal concentrations of malathion active ingredient pesticide LC₅₀ value (1/5, 1/10 and 1/20) for 24 and 96 hours. In the tissue supernatants taken from the experimental groups, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and reducte glutathione (GSH) levels, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) enzyme activities were determined. In addition, the histopathological response was evaluated in the samples taken from the experimental groups.

It has been determined that *D. polymorpha* exposed to malathion causes an increase in TBARS levels, a decrease in GSH levels, SOD, CAT, and GPx enzyme activity. Severe lesions were detected in the administration groups compared to the increased concentration in the groups in which the histopathological response was investigated. Statistically significant differences were found in all groups treated with the probiotic compared to direct exposure. It was determined that the groups treated with probiotics showed an ameliorative effect on the histopathological responses as mild and moderate lesions compared to the direct application groups.

In the experimental study, it was determined by biochemical and histopathological analyzes that the biomarkers used in the application of malathion in *D. polymorpha* were useful. The curative effect of the use of probiotics in aquatic organisms has been confirmed by both biochemical and histopathological biomarkers.

Keywords: Biomarker, *Dreissena polymorpha*, malathion, oxidative stress, probiotic

1. GİRİŞ

Canlı yaşamının varlığı ve devamlılığı için en önemli gereksinimlerden bir tanesi de sudur. Hayatın kaynağı olarak tabir edebileceğimiz su, insan vücudunun yaşamsal fonksiyonlarında görev alan bir bileşendir. Çeşitli biyolojik ve kimyasal reaksiyonların oluşumunda önemli olmasının yanı sıra birçok canlıya yaşam alanı oluşturmaktadır. Yer kürenin 3/4'ünü oluşturan su, birçok canlı türüne ev sahipliği yapmaktadır.

İnsan popülasyonunun hızla artmasıyla birlikte gıda tedariki önem kazanmıştır. Tarımsal gıda talebinin yeteri miktarda sağlanabilmesi için tarımsal uygulama yöntemlerinde kullanılan pestisitlerin rolü de gittikçe önem kazanmaktadır.

Pestisitler, günümüz koşullarında tarımsal faaliyetlerde üretimin ve kalitenin artırılması bakımından vazgeçilmez bir duruma gelmiştir. Kontrolsüz olarak ve yüksek miktarda pestisit kullanılması; su, toprak ve canlı kaynaklarımız için tehlikeli durumlar oluşturmaktadır. Doğal su kaynaklarındaki pestisitlerin oluşturduğu kirliliğin kontrol edilebilmesi, pestisitlerin kullanımı, uygulaması, taşınım ve dönüşümünün iyi bilinmesi gerekmektedir (Doğan ve Karpuzcu, 2019).

Tarımsal zararlılar ve böceklerle mücadele amacıyla yaygın olarak kullanılan dört temel insektisit grubu bulunmaktadır (Alak ve ark., 2011).

- Organik fosforlar
- Karbamatlar
- Piretroidler
- Organik klorlar

Kimyasal yapılarına göre pestisitler fosforlu, organik klorlu, karbamatlı, doğal ve sentetik piretroidler olarak farklı gruplara ayrılmıştır (Tiryaki, 2016). Etki ettikleri zararlı türlerine göre yapılan sınıflandırmada ise pestisitler aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır:

İnsektisitler (Böceklerle Mücadele): Bakteriler, klorlanmış hidrokarbonlar, karbamatlar, organik fosforlar vd.

Akarasitler (Böcek, Uyuz ve Parazitlerle Mücadele): Dinitrofenol ve esterleri, kükürtlüler, halojen ve oksijenler, organik kalaylılar, amin ve hidrozin türevleri vd.

Fungusitler (Mantarla Mücadele): Koruyucu fungusitleri (kükürtlüler, bakırlılar, kalaylılar, nitro bileşikler, dithiokarbonatlar, phtalimidler vd.), sistematik fungusitler (morpholinler, benzimidazoller, pyrimidler, anilidler, triazoller, piperazinler vd.).

Herbisitler (Yabani Otlarla Mücadele): Pikolinik asitler, benzimidazol, anilidler, karbamatlar, phenoxy bileşikleri, dinitroamin analin, triazinler, urasiller, üre bileşikleri, nitrofenoller ve türevleri (DPT, 2008).

Malathion, Amerika'da 1956 yılında tescil edilen malathion, geniş spektrumlu organofosfatlı bir insektisittir. Farklı türdeki böceklerin kontrolü için malathion içerikli ürünler kullanılır. Ürün; toz, konsantre ve eriyebilen formları ile çeşitlilik gösterir. Malathion organofosfat kimyasal sınıfında bulunur ve $C_{10}H_{19}O_6PS_2$ kimyasal formülüne sahiptir (Bakal, 2010).

Malathion açık kehribar rengine, sarımsak kokusunda bir sıvıdır. Kimyasal ismi diethyl (dimethoxy thiophosphorylthio) succinatedir. Molekül ağırlığı 330,36 olan, 2,85 °C erime noktasına sahip, kaynama noktası 156 °C, adsorpsiyon katsayı 1800 olan malathionun suda çözünürlüğü (145 mg/L 25°C) oldukça yüksektir (Bakal, 2010).

Canlılar üzerinde maddelerin zehirleyici seviyesinin tespit edilebilmesi için toksisite testleri yapılması gereklidir. En çok kullanılan test ise akut toksisite (letalite) testidir. Bu test ile kimyasala maruz bırakılarak canlı üzerindeki toksik semptomların, bazı organları etkileme seviyesini ya da öldürücü doz/konsantrasyon düzeyinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Letal doz veya letal derişim seviyesi, o maddenin kullanılan güvenlik seviyesinin bir göstergesi olarak kabul edilir (Saygı, 2003).

Ekotoksikolojik çalışmaların temellerinden biri, standart bir biyolojik model yardımıyla kolayca ulaşılabilen veri karşılaştırma ihtiyacıdır. İç sularda çift kabuklu türü için olası referans organizma olarak gösterilen zebra midye (*Dreissena polymorpha*) ile yapılan ekotoksikolojik çalışmaları önerilmektedir. Hem invitro hem de invivo deneyler yapılarak, çeşitli kirleticilerin neden olduğu olumsuz etkilerin değerlendirilmesinin yanısıra biyoizleme uygulaması ayrıntılı olarak gösterilmiştir. *D. polymorpha* ekotoksikolojik çalışmalar ile birlikte istilacı doğası nedeniyle olası kullanılabilirliği belirtilmiştir (Binelli ve ark., 2015). Sucul ortamlarda suyu süzerek, seçici olmayan beslenmeleri, yüksek toleranslı olmaları, yerli türler üzerine baskı kurmaları sebebiyle ekotoksikolojik çalışmalarda model canlı olarak kullanımları uygundur.

Zebra midye ismi ile bilinen *D. polymorpha*, ismini kabuklarındaki çizgilerden almaktadır (DSİ, 2012). Kabuklarındaki çizgilerin renkleri açık ve koyu olarak değişkenlik gösterebilir. Zebra midyesine ait taksonomik sınıflandırma aşağıda verilmiştir.

Alem: Animalia

Şube: Mollusca

Sınıf: Bivalvia

Takım: Cardiida

Üst Familya: Dreissenaceae

Familya: Dreissenidae

Cins: Dreissena (**Beneden, 1835**)

Tür: *Dreissena polymorpha* (**Pallas, 1771**)

D. polymorpha'nın dağılım alanları Doğu Avrupa, Kuzey Amerika ve Batı Asya'dır (Kinzelbach, 1992). Zebra midyenin istilacı davranış biçimi genel anlamda dezavantaj olarak görülmektedir. Bu belirgin dezavantaj biyo-izleme ve toksik etki değerlendirmesi çalışmalarında hem istilacı, hem de çok sayıda ve geniş dağılım gösteren zebra midyenin örneklenmesiyle, yerli türlerin korunmasının sağlanabilmesi için önemli nedenlerden birini temsil edebilir (Binelli ve ark., 2015). Bu nedenle çalışmanın canlı materyali olarak zebra midye seçilmiştir (Akçanal Ödün ve Serdar, 2022).

Ekotoksikolojik çalışmaların amaçlarından bir diğeri de çevre ve bileşenlerinin durumlarını izlemek, yapısını korumaktır. Sucul çevre, günümüzde insan tüketimi ile birlikte, sucul canlılara yaşam alanı oluşturma, endüstri için elverişli ve nitelikli su tedarigi açısından çok önem kazanmıştır. Bir taraftan amacına uygun su kaynağı aranırken, diğer taraftan var olan kaynaklar kirletilmektedir. Bu kirlilik, kirleticinin miktar ve cinsine bağlı olarak artış göstererek, canlılar için tehlikeli durumlar oluşturmaktadır. Toksik organik atıkların metallerle tepkimeye girerek başka bileşikler oluşturması daha da toksik bir etki oluşturarak önemli sorunlara yol açmaktadır (Gündüz ve Çukur, 1984).

Dünyada su ürünlerine olan talep giderek artış göstermektedir. Bu artışla, sucul canlılarda görülen paraziter, bakteriyel, fungal ve viral hastalıklar önemli hale gelmektedir. Bu durum da geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanımını arttırmaktadır. Bu antibiyotiklerin yaygın kullanımı, ilaca karşı dayanıklılık oluşturmuş patojenlerin artmasına sebep olmaktadır (Ai ve ark., 2011). Su ürünleri yetiştiriciliğinde verimlilik artışına, çok çeşitli patojenlerin ortaya çıkması ve bakteri direnci dahil olmak üzere ekolojik etkiler eşlik etmiştir. Bu etkiler kısmen, üretim döngülerindeki yönetim uygulamalarının bir sonucu olarak antibiyotiklerin gelişigüzel kullanımından kaynaklanmaktadır. Bugüne kadar elde edilen sonuçların eleştirel bir değerlendirmesiyle, su ürünleri yetiştiriciliğinde bakteriyel hastalıkların önlenmesi için probiyotik

kullanımındaki durumlar belirtilmiştir (Balcázar ve ark., 2006). Su ürünlerinde probiyotik kullanımının amacı; Sucul canlıların deri, mukus veya bağırsak muhteviyatını biçimlendiren faydalı ve patojenik mikroorganizmalar arasında olması gereken ilişkinin düzenlemesini sağlayıp revize etmesidir (Alak ve Atamanalp, 2012).

Probiyotik terimi, bağırsak mikrobiyal dengesine katkıda bulunan organizmalar ve maddeler olarak tanımlanmaktadır. Bağırsak mikrobiyal dengesini geliştirerek konakçıyı etkilerler (Fuller, 1989). Probiyotikler, yem yoluyla verildiğinde sağlık üzerinde olumlu etkisi olan canlı bakteri ve mantar kültürleridir. WHO tarafından şu anda benimsenen tanıma göre, probiyotikler; “yeterli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalar”dır (WHO, 2001). Probiyotiklerin bazıları bireylerin sindirim kanallarında bulunurken, diğerleri dış kaynaklıdır. Bazen doğrudan beslenen mikrobiyaller olarak adlandırılırlar. Probiyotikler, büyüme destekleyicileri olarak ve terapötik amaçlar için kullanılabilir (Ramakrishnan ve ark., 2008). Bağırsakta çeşitli mikroorganizma popülasyonları bulunur. Bu popülasyonlar yaş, diyet, çevre, stres ve ilaç tedavisi gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Probiyotik preparatlarda en sık kullanılan organizmalar laktobasiller, streptokoklar ve bifidobakterilerdir. Ayrıca probiyotik olarak *Bacillus spp.*, mayalar, *Saccharomyces spp.* ve filamentli mantarlar (*Aspergillus oryzae*) kullanılmaktadır (Ganguly ve ark., 2010).

Su ürünleri yetiştiriciliği, gıda sektöründe en hızlı büyüyen sektörlerden biridir. Bu hızlı büyümeye paralel olarak başta bakteriyel hastalık olmak üzere çok sayıda balık hastalığının patlak vermesiyle gölgelenerek, çok yüksek stok ölümlerine yol açmaktadır (Kurath, 2008). Hastalıkların önlenmesi ve kontrolü, son yıllarda veteriner ilaçlarının kullanımında önemli bir artışa neden olmuştur. Bununla birlikte, iyileştirici bir önlem olarak antimikrobiyal ajanların ve antibiyotiklerin faydası sorgulanmıştır. Bu büyük miktarlardaki antibiyotikler, bu duruma direnç genlerinin akışına adapte olmuş bakteriler arasındaki direnç üzerinde çok güçlü bir seçim baskısı uygulamıştır (European Commission, 2001; Cabello, 2006; Yousefian ve Amiri, 2009). Bu nedenle hastalıklarla mücadele etmek ve esas olarak antibiyotik bağımlılığını önlemek için biyoremediasyon, aşı, immün uyarıcılar ve probiyotikler açısından mikrobiyal müdahale günün ihtiyacı haline gelmiştir (Panigrahi ve Azad, 2007). Diyet takviyesi yoluyla bağırsak mikrobiyotasını manipüle eden faydalı bakteriler, hem beslenme hem de bağışıklık açısından yeni bir yaklaşımdır. “Probiyotik” terimi, yaşam anlamına gelen Yunanca “pro” ve “bios” kelimelerinden türetilmiştir (Parker, 1974). FAO’ya göre probiyotik, yeterli

miktarda uygulanan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanabilir ve konakçıya sağlık açısından fayda sağlar (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), 2001). Bu yararlı mikropların konakçıya verilmesinden sonra, konakçının bağırsağında kolonize olarak, çoğalabilirler ve konaktaki çeşitli biyolojik sistemleri modüle ederek çok sayıda faydalı etki gösterirler (Cross, 2002). Probiyotiklerin uygulanması, bağırsaklardaki yerli mikrop(lar)ı teşvik etmedeki yardımlarından dolayı özel ilgi kazanmıştır ve böylece mikrobiyal dengenin yeniden kurulmasına yardımcı olur (Cross, 2002; Morelli ve ark., 2003). Probiyotikler, aşıların uygulanamadığı larva ve erken yavru evrelerinde uygulanabilir. Farklı kültür balıkçılığı türlerinden iyileşen probiyotikleri (mikrobiyal suşları), probiyotiklerin etki tarzlarının yanında farklı kabuklu ve balıklar üzerindeki rollerini, bağışıklık tepkileri, metabolizma, stres, oksidatif stres ve sağlık üzerindeki iyileştirici etkileri açısından özetlenmiştir (Mohapatra ve ark., 2012).

Kirletici maddelerin uyardığı reaktif oksijen türlerinin (ROT) üretimi ve bunun sonucunda ortaya çıkan oksidatif stres, kirliliğe maruz kalan sucul organizmalarda toksisite mekanizması olarak belirtilmiştir (Livingstone, 2003). Oksidatif stres, tolere edilemeyen miktarda serbest radikal ve radikal olmayan ROT, hücrenin antioksidan savunma kapasitesini aştığında ve daha sonra ROT, metabolizmada hücresel hasara neden olduğunda meydana gelmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2015; Nishida, 2011). Ağır metaller ve pestisitler gibi çevresel kirleticiler, ROT mekanizmalarının aktivasyonu yoluyla sucul organizmalarda oksidatif stres oluşturabilecek potansiyel faktörlerdir (Valavanidis ve ark., 2006; Slaninova ve ark., 2009; Lushchak, 2011). Organizmalarda enzimatik (katalaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, vb.) ve enzimatik olmayan (askorbik asit, tokoferoller, glutatyon vb.) antioksidan mekanizmalar hücresel bileşenlerin oksidatif hasara karşı korunmasından yardımcıdır (Uluturhan ve ark., 2019). Artan ROT üretimine maruz kalma aynı zamanda antioksidanlara cevap veren gen elementleri ve artan transkripsiyon ile etkileşime girerek belirli antioksidan enzimlerinin uyarılmasına da yol açabilir (Şekil 1.1) (Livingstone, 2003).

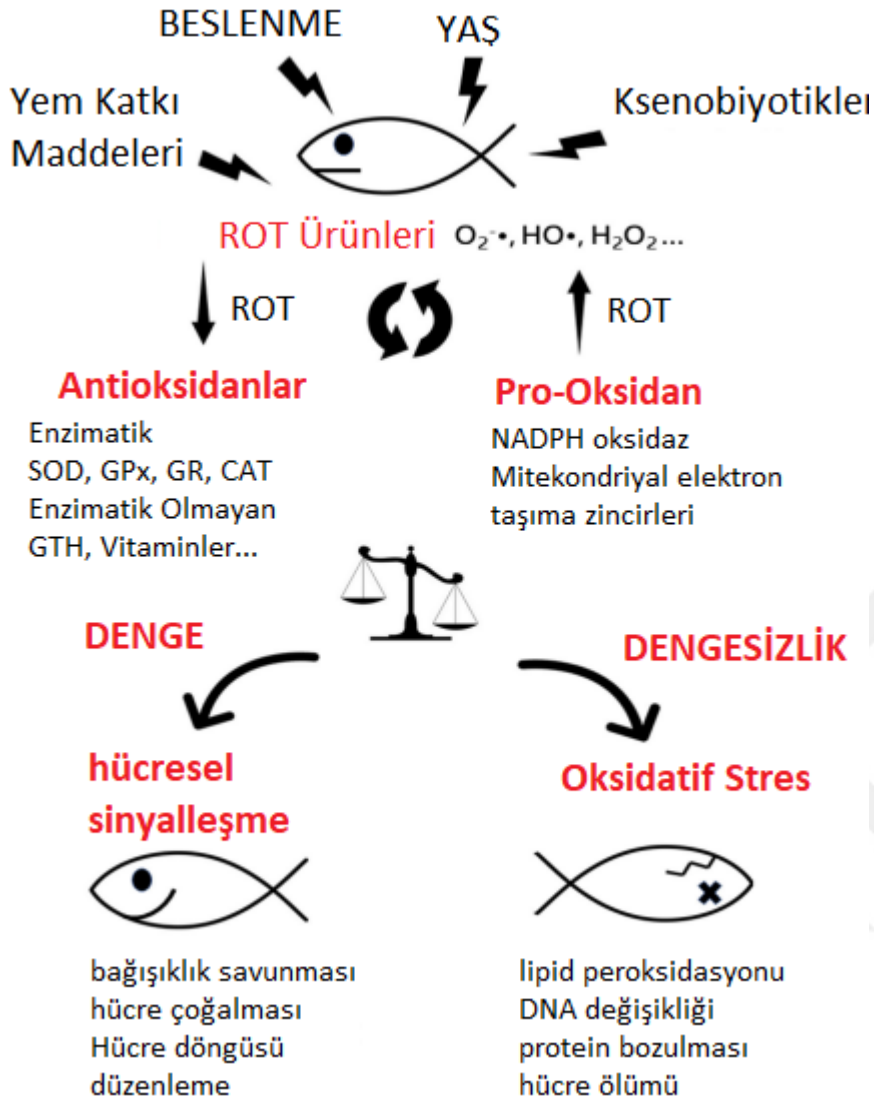
Lipit peroksidasyonu (LPO), hücre zarının yapısını değiştirerek, iyon geçirgenliğinde artışa, zarın akışkanlığında da azalmaya yol açar. LPO, ROT'a bağlı hasara ilişkin en fazla üzerinde çalışılan konulardandır. Zarlardaki fosfolipidler ROT'un etkileyebileceği, en yaygın hedeflerdir. Antioksidan enzim aktiviteleri, glutatyon redoks durumları ve LPO ürün seviyeleri (TBARS veya MDA) toksikolojik değerlendirmelerde en fazla yararlanılan biyobelirteçlerdir (Oruç ve ark., 2004).

Oksidatif strese karşı önemli bir biyolojik savunma görevi yapan, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar, organizma hücrelerinin redoks durumunu korumak üzere önemlidir. GSH hücre içi redoks dengesinin korunması ve oksidatif strese karşı önemli bir etkiye sahip enzimatik olmayan bir antioksidan şeklinde tanımlanmaktadır (Pena-Llopis ve ark., 2001).

SOD, reaktif oksijen türlerine doğru ilk savunma görevini gerçekleştiren enzimdir (Karabulut ve Gülay 2016; Pak 2019). SOD, süperoksit radikalini (O_2^-), hidrojen peroksit ile moleküler oksijene katalizleyen bir antioksidandır. Daha sonra hidrojen peroksitin ortamdaki uzaklaştırılması, glutatyon peroksidaz (GPx) ya da katalaz yardımıyla moleküler oksijen ve suya dönüştürülerek oluşur.

Biyolojik açıdan önemli olan moleküllerin çoğu ile reaksiyona girmemesine ve bir radikal olmamasına rağmen, hidrojen peroksit; Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali ($OH^\cdot$) oluşumunda bir ön madde olarak görev almaktadır (Cheung ve ark., 2001; Karabulut ve Gülay 2016; Pak 2019). Bu fonksiyonu sebebiyle ortamdaki ayrıştırılması gerekmektedir. Hidrojenperoksit (H_2O_2)'in hücre içinde yıkımını sağlayan enzimlerden biri katalaz enzimidir. Katalaz enzimi H_2O_2 'den kaynaklı oksidatif tahribatı ortadan kaldıran etkili bir antioksidandır (Kuru, 2007; Pak, 2019).

Her bir molekül başına 4 atom selenyum içeren GPx enzimi 84000 dalton molekül ağırlığındadır. GPx hidrojen peroksidi glutatyon varlığında suya katalizler. GPx enzimi H_2O_2 ve lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı tesiri katalizler. GPx enzimi reaksiyon esnasında indirgenmiş GSH elektron alıcısı olarak kullanır ve meydana gelen okside glutatyon (GSSG) NADPH bağlı GSH-Rd enzimi tarafından yeniden oluşur (Ak ve ark., 1994; Yanbeyi, 1999).



Şekil 1.1. Sucul Organizmalarda antioksidan savunma sistemi ve etki faktörleri (Hoseinifar ve ark., 2020)

Histopatoloji, bir organizmanın hücrelerinin ve dokularının mikroskopik incelemesini ve histolojik anormalliklerinin yarı kantitatif olarak belirlenmesini içerir (Yancheva ve ark., 2016). Greenfield ve ark. (2008) ve Poleksić ve ark., (2010) seçilen hedef organlardaki histolojik değişikliklerin ksenobiyotik etkiler için hassas biyobelirteçler olduğunu, diğer biyo-belirteçlere nazaran daha önce ortaya çıktıklarını ve su kirliliğinin etkilerinin herhangi bir biyokimyasal parametresinden daha iyi bir şekilde değerlendirildiğini açıklamaktadır (Yancheva ve ark., 2016).

Sucul ortamdaki kirlilik belirleme yöntemlerinden biri de, indikatör türler kullanılarak ve ortamda yaşayan canlıların etkilenmesi ile yapılmaktadır. Toksikolojik

kirliliğin sucul indikatör türler üzerindeki toksisitesi, biyobelirteç olarak kullanımları ve etkileri üzerine bazı araştırmalar yapılmıştır.

Sayım ve Akyurtaklı (1999), saf halde (%95) aktif n-malathion ve %25'lik malathion preparatının (wp) Ranidae familyasından *Rana ridibunda* türünün 25. Evre larvalarında yapılan akut toksisite çalışmasında larvaların büyüme oranları ve pigmentasyonunda azalmalara aynı zamanda malathion'un *R. ridibunda* larvalarının hareketleri deney başlangıcında hiperaktif semptomlar daha sonra da denge kaybı ve yüzme kabiliyetinin azalması, son aşamada da hareketsizlik olduğunu saptamıştır.

Atamanalp (2000), makroskobik olarak (çıplak gözle) incelendiği pestisit uygulanan guruplardaki balıkların solungaçlarında anemik görünüm ile birlikte kanamalar, intestinal bölgede dokuda peteşiler, peritonda ve göz çevresinde hemoraji, dalak renginde koyulaşma, karaciğer renginde ise solgunluk ve gövde renginde koyuluk olduğunu belirtmiştir.

Correi ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada 10 gün boyunca deniz amfipodu *Gammarus locusta*'nın 4 µgCu/l maruziyetinin metallothionein (MT; diferansiyel puls polarografisi ile ölçülen) koruma sistemi ve lipid peroksidasyonu (LPO) üzerindeki etkilerini oksidatif hasarın bir ölçüsü olarak tiyobarbitürik asitle reaktif malondialdehit eşdeğerleri) belirlemişlerdir. Bakıra maruz kalan canlılardaki MT seviyelerinin 2. Günde önemli ölçüde arttığı (%36 > kontrol; p<0.001) ve 6. ve 10. günlerde yüksek kaldığı (sırasıyla %55 ve %38, p<0.001), 6. günde maksimum MT seviyesine ulaştığı ve en yüksek Cu vücut yükü ile çakıştığı belirtilmiştir. LPO'nunu Cu maruziyetinden sonraki bir gün içinde arttığı görülmüştür. Bu da Cu'nun oksidatif bir stres etkeni olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, 4. günde MT'nin aksine, en yüksek LPO seviyesi (%68 > kontrol, p<0.001) görülmüştür ve 6. günde kontrol değerlerine dönmeden önce MT'nin Cu'nun pro-oksidan etkilerine karşı koruyucu bir rolü olduğunu gösterdiğini belirtmiştir.

Brooks ve ark. (2009), yaptıkları çalışmada biyolojik etki ölçümlerini kimyasal analizle daha fazla bütünleştirmek ve midye sağlık durumunun bir değerlendirmesini sağlamak ve yöntemleri uygulamak amacıyla biyolojik etki tekniklerini kullanmışlardır. Midyeler, Test, Thames, Tees ve Clyde nehirleri ile Lunderston Körfezi dahil olmak üzere Britanya Adaları çevresindeki kıyı ve nehir ağız alanlarından toplanmıştır. Bu midyeler üzerinde, tüm organizma tepkileri (büyüme kapsamı), doku tepkileri (histopatoloji) ve hücre altı tepkileri (lizozomal stabilite, çoklu ksenobiyotik direnç [MXR] ve Comet tahlili) dahil olmak üzere bir dizi biyolojik etki tekniği uygulanmıştır. Ek olarak, organik

(polisiklik aromatik hidrokarbonlar [PAH], poliklorlu bifeniller [PCB]) ve metal konsantrasyonlarını ölçmek için bütün midye homojenatları kullanmışlardır. Histopatolojik belirteçlere, önemli ölçüde daha yüksek DNA hasarına ve MXR detoksifiye edici proteinlerin yüksek ekspresyonuna dayalı olarak; Thames nehrinden toplanan midyelerin geneli nispeten kötü durumda olmasına karşın, histopatolojik belirteçlere, solunum hızına (SFG) ve düşük DNA hasarı sıklığına göre Test Nehri'nden toplanan midyelerin en iyi durumda olanlar şeklinde saptamışlardır. Sonuç olarak, biyolojik etki teknikleri, Thames midyelerinin sağlığı en kötü durumda olup, nispeten kirli ve temiz ortamlar arasında ayrım yapabildiği ve midye doku kimyası verilerinin biyolojik tepkideki varyasyonları açıklayamadığını ifade etmişlerdir. Sonuçta, farklı örnekleme alanları arasındaki midye sağlığındaki farkın, ölçülmeyen kirleticilerin etkilerinden ya da bir eşik etkisi ile sonuçlanan karışım toksisitesinin birleşik etkilerinden kaynaklandığını belirlemişlerdir.

Boran (2009), Gökkuşuğu alabalıklarında histopatolojik olarak maneb ve karbarilin etken maddeli pestisitlerin solungaç lamel ödemine, lamel epitelyum ayrılmasına, lamel birleşmesine, epitel hücrelerinin şişmesine ve epitel hücrelerde nekrozlara sebep olduğunu saptamıştır. Solungaçlarda, yaygın bir şekilde yüksek hücre çoğalması belirlemişlerdir. Balıkların böbrek, karaciğer, dalak ve dokularında sıvı birikimi, dalak ve böbrekteki melanomakrofaj artışa ve bu organların bazı yerlerinde ölü doku eksenleri saptanmıştır. Bu semptomların kontrol grubu balıkların dokularında saptanmadığı görülmüştür.

Korkmaz (2013), pullu sazan (*Cyprinus carpio*, L., 1758)'da olan Organofosfatlı (OP) pestisit grubuna dahil diazinon'un cinsiyet steroidleri ve vitellojenin seviyelerindeki tesiriyle histopatolojisi üzerine çalışma gerçekleştirmiştir. Sazanların her iki cinsiyeti üzerinde serum 17 β - Estradiol (E2), testosteron (T), vitellojenin (VTG) düzeyleri tanımlanmış olan gonad ve karaciğer dokularından örnekleme yapılarak, histopatolojik değişiklikleri incelemiştir. Histopatolojik kontrollerde, karaciğer yapısında, safra kanalları ve sinuzoidlerde dilatasyon, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, nekrozlar ve pigment birikimlerinin varlığı saptanmıştır. Testis dokularında zarar görme, konjesyon ve fibrosizasyon rastlanmış olduğu ve ovaryum yapılarında oositler arasında adezyonlar ve oositlerin sitoplazmalarında nekrozlar tespit edildiğini belirtmiştir. Bu nedenle; diazinonun endokrin bozucu (EB) nitelikte olduğunu ve cinsiyetler arası etki seviyelerinin farklı olduğunu bildirmiştir.

Altıkat ve ark. (2013), bitki koruma alanında kullanılan pestisitlerin bilinçsiz bir şekilde kullanıldığında, insanlarda farklı rahatsızlıklara sebebiyet verdiği ve ortamda

oluşturduğu negatif etkiler belirtilerek, pestisitlerin bu etkilerine karşın gelişmiş ülkelerin yaptığı çalışmalar ve önlemlerini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmalara paralel olarak; Türkiye’de bulunan ruhsatlı pestisitlerin araştırmalarının sonuçları değerlendirildiğinde, bazı pestisitlerin kullanılmasının yasaklanıp, ruhsatlarının iptal edildiği, bir kısmının da sınırlandırıldığı veya denetimli olarak kullanıldığını tespit etmişlerdir.

Falfushynska ve ark. (2015), model canlı olarak tatlı su midyesi (*Unio tumidus*)’nin kullanıldığı çalışmada; n-ZnO’nun etkilerini ve bu etkilerin ortak çevresel stresörler tarafından potansiyel modülasyonunu değerlendirmiş ve midyelerde metallotiyoneine bağlı ve toplam Zn seviyelerinin yanı sıra metallotioneinlerin (MT) seviyeleri, hücresel stres tepkileri ve sitotoksikite biyobelirteçleri değerlendirilip, tatlı su organizmalarına yönelik n-ZnO toksisitesinin organik kirleticiler tarafından modüle edildiği ve yüksek sıcaklıklarla arttığını belirlemişlerdir.

Aydın (2018), tarafından yapılan çalışmada, cyfluthrin ve dimethoate etken maddeli insektisitler kullanarak, *G. pulex* (L., 1758) üzerindeki letal konsantrasyonları (LC₅₀) belirlemiştir. Çalışma sonucunda kullanılan insektisitlerin ikisinin de *G. pulex* üzerinde etkili olduğu, insektisitlerin en düşük konsantrasyonlarda bile %10 oranında ölüme sebebiyet verdiği, ayrıca dimethoate insektisiti için ortalama LC₅₀ değerinin 170,51±8,15 µg/L, cyfluthrin için ortalama LC₅₀ değerinin 0,800±0,12 µg/L olduğu tespit etmiştir.

Khan ve ark. (2018), yaptıkları araştırmada, seçilmiş ağır metallerin sudaki ve tortulardaki konsantrasyonları ile tatlı su midyelerinin dokularında biyobirikimleri ile bunların sindirim bezleri, solungaçları ve gonadları üzerindeki histopatolojik etkilerini değerlendirmişlerdir. Su, tortular ve tatlı su midye örnekleri, Kabil Nehri, Hayber Pakhtunkhwa boyunca referans ve kirli alanlar olmak üzere dört bölgede toplanmıştır. Kirli alanlar endüstriyel, tarım, belediye ve evsel atık suların deşarj edildiği alanlardan belirlenmiştir. Sudaki metallerin sırasını Zn > Pb > Ni > Cu > Mn > Fe > Cr > Cd, tortularda Fe > Zn > Cr > Ni > Mn > Pb > Cu > Cd, yumuşak dokularda ise sıralama Fe > Zn > Mn > Pb > Cu > Cr > Ni > Cd olarak belirtmişlerdir. Kabil Nehri’nin kirli bölgelerinde gözlenen histopatolojik değişiklikler; iltihaplanma, hidropik vakuolasyon ve lipofuskin pigmentleri (sindirim bezinde), solungaç lamel füzyonu, dilate hemolenfatik sinüs, silia ve hemositik infiltrasyonda (solungaçlarda) kümelenme ile atrezi, nekroz, granülositoma, hemositik infiltrasyon ve lipofuscin pigmentleri (gonadlarda) olduğunu bildirmişlerdir. *Anodonta cygnea*’nın organlarındaki histopatolojik değişiklikler, sucul

ekosistemlerde ağır metal kirliliğinin biyolojik olarak izlenmesinde güvenilir biyolojik belirteç olarak kabul edilebilir olduğu kanısına varılmıştır.

Şahinkuşu (2018), yaptığı çalışmada farklı konsantrasyonlarda malathion insektisine maruz bırakılan *G. pulex* (L., 1758) üzerinde akut toksisitesini (LC₅₀) belirlemiştir. Mevcut toksikoloji metodları kullanılarak *G. pulex* örneklerini farklı doz konsantrasyonlardaki malathiona maruz bırakmıştır. Maruziyet süresince pH, su sıcaklığı, çözünmüş oksijen gibi fizikokimyasal parametreler kontrol altında tutularak, değişmemesi sağlanmıştır. Çalışmada 6 adet deney grubu oluşturmuştur. Deneyleri, içlerine 0,5 litre su konulan 1 litrelik cam akvaryumlarda gerçekleştirmiştir. Her konsantrasyon grubu için 10 adet *G. pulex* canlısı kullanmıştır. LC₅₀ değerinin tespit edilmesi için 24 saatlik zaman dilimlerinde canlıların hareketlilik durumlarını izleyip kayıt altına almıştır. Hareket yeteneğini yitirmiş *G. pulex*'ler deney ortamından uzaklaştırmıştır. 3 tekerrür olarak yürütülen çalışmada, ortalama LC₅₀ değerleri; $1,58 \pm 0,56$ mg/L, alt bant seviye değeri $0,47 \pm 0,17$ mg/L, üst bant seviye değeri ise $5,46 \pm 2,18$ mg/L olduğunu rapor etmiştir.

Yıldırım ve ark. (2018), *G. pulex*'in malahit yeşiline (MG) maruziyeti sağlanarak, *Coriolus versicolor* ile renk giderme işlemi sonrasında detoksifiye edici ve antioksidan enzim tepkisini araştırmışlardır. MG sentetik solüsyonlarının renk giderme koşullarını *C. versicolor* yardımıyla optimize etmek için tepki yüzeyi metodolojisi (RSM) kullanmışlardır.. *G. pulex*'te glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) seviyeleri ve glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), sitokrom P450 1A1 (CYP1A1) aktiviteleri renksiz (A1) ve renksiz (A2) MG sentetik solüsyonu 24 ve 96 saat boyunca ELISA yöntemi kullanılarak test etmişlerdir. SOD ve GPx renk gideriminden sonra enzim aktivitesi arttığını ($p > ,05$). CAT enzim aktivitesi A2 grubunda 24 saat boyunca arttığını ($p > 0,05$), ancak 96 saat boyunca azaldığını ($p < 0,05$). A2 grubunda 24 ve 96. Saatlerde GSH seviyeleri arttığını ($p < 0,05$). GST, CYP1A1 enzim aktivitesi ve MDA seviyeleri renk gidermeden sonra 96 saat boyunca azaldığını belirtmişlerdir ($p < 0,05$). Bu çalışmada, *G. pulex*'teki GSH seviyeleri, CAT, GST ve CYP1A1 aktiviteleri, *C. versicolor*'un RSM ile optimize edilmiş MG renk giderimindeki düzeyini onaylamıştır.

Serdar ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışmada, *Gammarus pulex*'te antioksidan biyobelirteçler kullanılarak atık depolama sızıntı suyunun (LL) arıtılması için elektrokoagülasyon işleminin etkili olup olmadığını değerlendirilmesini amaçlamıştır. Seyreltilmiş (1/10, 1/20) işlem görmemiş ve işlem görmüş LL suyunu maruz bıraktıkları

G. pulex’te glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri 24 ve 96 saat boyunca izlenmiştir. Sızıntı suyunun fizyokimyasal özellikleri (kimyasal oksijen ihtiyacı, elektriksel iletkenlik, pH, fosfat, bulanıklık, NH_3 , Cl^- ve renk) arıtma öncesi ve sonrası olarak belirlenmiştir. LL’nin tüm fizyokimyasal özelliklerinin maruziyet sürecinden sonra azaldığı, GSH-Px ve CAT aktiviteleri ile GSH ve MDA seviyeleri giderim yapılmayan gruplarda kontrole göre arttığını bildirmişlerdir ($p < 0.05$). Elektrokoagülasyon ile giderimden sonra MDA ve GSH seviyeleri ve CAT aktiviteleri kontrol değerlerine döndüğünü rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, LL’nin *G. pulex*’te oksidatif stresi uyarma yetenekleri kanıtlanmıştır. Sonuçlar, antioksidan parametrelerin elektrokoagülasyon işleminin EC giderim etkinliğini belirlemek için yararlı biyobelirteçler olduğunu ortaya koymuştur.

Pinto ve ark. (2019), Elektronik atıkların uygun olmayan şekilde işlenmesi ve bertarafının, lantan (La) içeren nadir toprak elementleri (REE) gibi çeşitli kirleticiler tarafından sucul ortamın kirletildiğini belirtmiştir. Akdeniz midyesi (*Mytilus galloprovincialis*), metabolik, oksidatif stres, nörotoksisite ve histopatolojik belirteçlerin analizleriyle su kirliliğinin iyi bir biyoindikatörü olduğu kabul edilmektedir. Organizmalar, kontrollü sıcaklık ($18 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1.0$) ve tuzluluk (30 ± 1) koşulları altında 28 günlük (0, 0.1, 1, 10 mg/L) bir süre boyunca farklı La konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. La konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları midyelerde, artan konsantrasyona paralel olarak artmıştır. La’a maruz kalma, midyelerde, metabolizmanın azalması ve enerji birikimi ile kanıtlanan bir biyokimyasal tepki göstermiştir. Bu sonuçlar, La’nın deniz organizmaları için bir risk oluşturabileceğini ve bu nedenle çevreye dşarjının dikkate alınması gerekliliği belirtilmiştir.

Serdar (2019), yaptığı çalışmada pestisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkilerinin biyokimyasal tepkilerle belirlenmesi amacıyla tatlı su amfipodu *Gammarus pulex*’te dimethoate pestisitinin etkisini araştırmıştır. Öncelikle dimethoate pestisitinin *G. pulex*’teki akut toksisite değeri (LC_{50}) belirlenmiştir. Subletal konsantrasyonlara maruz bırakılan *G. pulex* organizmasının süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ve malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) seviyeleri belirlenmiştir. ELISA ile 24 ve 96 saat boyunca analiz edilmiş ve sonuç olarak, yapılan çalışmada dimethoate pestisitinin oksidatif strese neden olma yeteneklerini göstermiştir. Sonuçlar, *G. pulex*’in MDA, GSH

düzeylerinin SOD, CAT, GPx ve GST aktivitelerinin etkili bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Hernández-García ve Martínez-Jerónimo (2020), tarafından toksik maddelerin deşarjı ve ötrofikasyonu, fitoplankton topluluğunda değişikliklere yol açabildiği ve siyanobakteri patlamalarını teşvik edebildiği belirtilmiştir. Glifosat bazlı herbisitler, fitoplankton topluluklarının yapısını etkileyebilen ve ayrıca siyanobakteriler tarafından siyanotoksinlerin sentezini uyaran mikroyalglerin kimyasal stresörleri olduğu açıklanmaktadır. Glifosat ve toksijenik siyanobakterilerin eşzamanlı mevcudiyeti, mikroyalgler üzerindeki stresi artırıp, büyümelerini ve gelişmelerini birlikte etkilediğini bildirmişlerdir. Bu çalışma ile deneysel bir mikroyalg topluluğunun gelişiminde toksijenik bir siyanobakteri ve glifosatın birleşik etkisi değerlendirilmiştir. *Microcystis aeruginosa*'nın *Ankistrodesmus falcatus*, *Chlorella vulgaris*, *Pseudokirchneriella subcapitata* ve *Scenedesmus incrassatulus* mikroyalglerinin popölasyon büyümesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Alt inhibitör glifosat konsantrasyonlarının makromoleküllerin içeriği ve süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimlerinin yanı sıra TBARS konsantrasyonu üzerindeki birleşik etkisinin de değerlendirildiği çalışmadaki biyobelirteç yanıtı etkileri bütünleşik olarak değerlendirilmiştir. Bireysel deneylerde, mikroyalgler, *M. aeruginosa* 'ya kıyasla daha düşük büyüme oranlarını, karışık biyoanalizlerde, hem *M. aeruginosa* hem de mikroyalgler, büyümenin azaldığını göstermiştir. Mikroyalg + siyanobakteri biyo-tahlillerinde, herbisit mikroyalglerin büyüme oranlarını düşürmüş, ancak *M. aeruginosa* 'nın çoğalmasını uyarmıştır. Her iki stres etkeninin ortak etkisi olarak, büyüme hızını ve popölasyon dinamiklerini, makromolekül içeriğini etkilemiş ve CAT ile GPx aktiviteleri , oksidatif strese neden olarak büyüme hızını etkilediğini belirtmişlerdir. Diğer yandan, herbisit, mikroyalg gelişimini daha da etkileyen siyanotoksinlerin sentezini uyardığı bildirilmiştir.

Leite ve ark. (2020), Titanyum dioksit (TiO₂) partikülleri, çeşitli endüstriyel uygulamalarda ve tüketici ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yaygın kullanım nedeniyle zamanla sucul ortamlara girdi sağlayabilmektedir. Su ortamında TiO₂ partikülleri organizmalarla etkileşime girebilmekte ve toksik etkilere neden olabilmektedir. TiO₂'in en yaygın kristalografik formları rutil ve anataz olduğundan, midyeler yirmi sekiz gün boyunca farklı konsantrasyonlarda rutil ve anataz partiküllerine (0, 5, 50, 100 µg/L) maruz bırakılmıştır. Ti konsantrasyonlarının, histopatolojik değişiklikleri ve biyokimyasal etkileri değerlendirilerek, rutil ve anataza maruz kalan midyelerde, histopatolojik sonuçlar,

artan maruz kalma gradyanı boyunca her iki TiO₂ formunun da solungaçlarda ve sindirim bezlerinde değişikliklere neden olduğunu tespit etmişlerdir. Biyokimyasal belirteçler, rutile maruz kalan midyelerin metabolik kapasitelerini (Elektron Taşıma Sistemi, ETS'nin aktivitesi ile değerlendirilir) koruduğunu, anataz ise midyelerin metabolizmasını arttırdığını göstermiştir. Rutile maruz kalan midyeler, test edilen düşük konsantrasyonlar nedeniyle hücresel hasarı önlemek için yeterli olan detoksifiye edici savunmalarını arttırmıştır. Öte yandan, anataza maruz kalan midyeler, yüksek ETS aktivitesine bağlı olabilecek antioksidan savunmalarının artmasına rağmen hücresel hasar gördüğünü bildirmişlerdir. Hem rutil hem de anataz partikülleri, kristal form anataz tarafından uygulanan en yüksek oksidatif stres olan Akdeniz Midyesi için toksik olarak belirtilmiştir.

Tatar ve Türkmenoğlu (2020), yaptıkları çalışmada dünyadaki en önemli çevre sorunlarından birinin de mikro kirleticiler olduğunu rapor etmişlerdir. *Gammarus pulex*'in endokrin bozucu bir ajan olan Bisfenol A'ya (BPA) karşı antioksidan tepkilerinin araştırmışlardır. Bu amaçla, *G. pulex*'e öldürücü olmayan BPA konsantrasyonları uygulayarak, biyokimyasal tepkileri araştırmışlardır. *G. pulex*'te enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ve enzimatik olmayan antioksidanlar glutatyon (GSH) ve tiyobarbitürik asit reaktifleri (TBARS) seviyeleri 24 ve 96 saat boyunca dört farklı grupta belirlenmiştir. Biyokimyasal biyobelirteçler, bir mikroparka okuyucuda ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her iki dönemde de gruplarda SOD enzim aktivitesi artarken, tüm gruplarda CAT enzim aktivitesi azalmıştır. GSH ve TBARS seviyeleri kontrole göre tüm gruplarda 24 ve 96 saatlik uygulama periyotlarından sonra artış göstermiştir. SOD ve CAT aktiviteleri ve GSH'deki değişiklikler için, TBARS düzeylerinin *G. pulex* dokularında BPA'ya karşı biyobelirteç olarak yararlı olduğunu belirlemişlerdir. Böylece *G. pulex*'in suda BPA kirliliğini gösteren biyoindikatör olabileceğini bildirmişlerdir. Biyokimyasal biyobelirteçlerin sonuçları, metabolik süreçlerin göstergesi olarak değerlendirilebilir ve *G. pulex*'in biyokimyasal cevabı, endüstriyel sulardan kaynaklanan BPA kirliliğinin çevresel sonuçlarını ortaya çıkarabildiğini belirtmişlerdir.

Söylemez (2021), yaptığı çalışmada, ticari bir insektisit olan Beta-Cyfluthrin'in (β -CF) *D. polymorpha*'daki bazı biyokimyasal tepkilerini araştırmıştır. *D. polymorpha* üzerinde β -CF'nin 96 saatlik LC₅₀ değeri 509,62 μ g/L olarak hesaplanmıştır. *D. polymorpha* 24 ve 96 saat boyunca subletal konsantrasyonlarda (LC₅₀ değerinin 1/16, 1/8 ve 1/4'ü: 32, 64 ve 128 μ g/L) β -CF'ye maruz bırakılarak; *D. polymorpha* bireylerinde

malondialdehit (MDA) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri ve Asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitelerini belirlemiştir. B-CF'ye maruz bırakılan *D. polymorpha*'da MDA düzeyleri kontrol grubuna göre, artan konsantrasyon ile arttığını belirtmiştir. Kontrol grubuna göre ve artan konsantrasyon ile GSH seviyesinin düştüğü ve AChE aktivitesinin inhibe olduğunu belirlemiştir. Sonuçta, β -CF'ye maruz kalmanın oksidatif hasarın artmasına ve düşük konsantrasyonlarda bile nörotoksisiteye neden olduğunu rapor etmiştir.

Bu çalışma ile malathion etken maddeli pestisitlere doğrudan ve probiyotikle muamele edilerek maruz bırakılan zebra midyenin biyokimyasal ve histopatolojik yanıtlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Literatürde zebra midyesinin model organizma olarak kullanılıp malathion etken maddeli pestisite doğrudan ve probiyotik ile muamele edilerek maruz bırakıldığı biyobelirteçlerle biyokimyasal ve histopatolojik yanıtlarının araştırıldığı herhangi bir yayına rastlanmamıştır. Bu yönüyle literatürde boşluk dolduracağı ve yapılacak bilimsel çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

2. MATERYAL VE METOT

Çalışma kapsamındaki canlı materyali *D. polymorpha*, Fırat Nehri (Keban Baraj Gölü çıkışı, koordinatlar: 38°48'11.2"K 38°43'42.5"D)'nden el yordamıyla toplanarak temin edilmiştir. Canlı materyalin laboratuvar ortamına adaptasyonu için 500 litre hacimli stok tankları hazırlanmıştır. Stok tanklarındaki suyun sıcaklığı 18 ± 1 °C olacak şekilde chiller ile ayarlanmıştır. Ortam aydınlatması 12:12 karanlık:aydınlık olacak şekilde düzenlenmiştir. Ayrıca ortam suyunun su kalitesi için stok tanklarındaki suyu filtre eden harici filtre cihazı, havuzların su sıcaklığının sabitlenmesi için chiller kullanılmıştır.

2.1. Model Canlının Toplanması

Canlı materyaller önceden belirlenmiş koordinatlardan el yordamıyla toplanarak alınmıştır (Resim 2.1). Toplanan canlı modeller daha önceden doğal ortamına uygun olarak hazırlanan tanklara taşınmış ve tanklara mikroalgler ilave edilerek beslenmeleri sağlanmıştır.



Resim 2.1. Araziden toplanmış canlı materyaller

2.2. Probiyotik Uygulaması

Laboratuvar şartlarına adapte olan model organizmalar arasından sağlıklı görünen örnekler seçilerek 80 litrelik akvaryumlara konulmuş ve akvaryum suyuna 2,4 ml probiyotik ilavesi yapılmıştır. Bu işleme 21 gün boyunca devam edilmiştir (Resim 2.2). Probiyotik uygulaması Balcázar ve ark., (2006) ve Didinen ve ark., (2008)'nın uygulamalarından revize edilmiştir. Probiyotik uygulama süresince model organizmaların mikro alglerle beslenmesine devam edilmiştir. Çalışmada kullanılan probiyotik içeriğinde bulunan bakteri türleri: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, *Pediococcus spp.*'dir. Bakteri koloni sayısı (CFU/ml) 2.2×10^{11} 'dir.



Resim 2.2. Probiyotik uygulaması yapılan model canlılar

2.3. Metrik Meristik Verilerin Ölçülmesi

Çalışmada kullanılan *D. polymorpha* bireylerine ait metrik meristik veriler ölçülerek kayıt edilmiştir. Ağırlık ölçümleri 0,1 mg hassasiyetli elektronik hassas terazide ölçülmüştür. Boy verileri ölçümünde ise 0,001 mm hassasiyetli elektronik kumpas kullanılmıştır.

2.4. Akut Letal Konsantrasyon (LC₅₀)'unun Belirlenmesi

Model organizma *D. polymorpha* laboratuvar koşullarına 1 ay süre ile adapte edilmiştir. Model canlı için çalışma kapsamında akut letal konsantrasyon (LC₅₀) değerleri için öncelikle aralık belirleme testleri yapılmıştır. Bu testlerden sonra belirlenen konsantrasyonlara (0,0 (kontrol); 0,1; 1,0; 10,0; 100,0 ve 200,0 mg/l malathion) maruz bırakılan model canlılarda LC₅₀ değerleri subletal toksisite testleri statik test koşulları altında OECD Kılavuzu No. 203'e göre belirlenmiştir (Resim 2.3).



Resim 2.3. Letal konsantrasyon belirleme çalışmaları

D. polymorpha'da malathion etken maddeli pestisit için belirlenen LC₅₀ değerlerine 1/20, 1/10 ve 1/5 oranlarında subletal konsantrasyonlar oluşturularak, aşağıda listelenen uygulama grupları oluşturulmuştur.

C₀ (Kontrol): Herhangi bir kirleticiye maruz bırakılmamış organizmalar,

C₁ grubu : LC₅₀ değerlerinin 1/20 oranında malathion etken maddesine maruz bırakılmış organizmalar,

C₂ grubu : LC₅₀ değerlerinin 1/10 oranında malathion etken maddesine maruz bırakılmış organizmalar,

C₃ grubu : LC₅₀ değerlerinin 1/5 oranında malathion etken maddesine maruz bırakılmış organizmalar,

P+C₀ grubu : 21 gün boyunca probiyotik uygulanmış, ancak herhangi bir kirleticiye maruz bırakılmamış organizmalar,

P+C₁ grubu : 21 gün boyunca probiyotik uygulanmış + LC₅₀ değerlerinin 1/20 oranında malathion etken maddesine maruz bırakılmış organizmalar,

P+C₂ grubu : 21 gün boyunca probiyotik uygulanmış + LC₅₀ değerlerinin 1/10 oranında malathion etken maddesine maruz bırakılmış organizmalar,

P+C₃ grubu : 21 gün boyunca probiyotik uygulanmış + LC₅₀ değerlerinin 1/5 oranında malathion etken maddesine maruz bırakılmış organizmalar.

Deneyisel uygulama süresince deneme gruplarından 24. ve 96. Saatlerde örnek organizmalar alınarak etiketlenip, biyokimyasal analizleri yapılncaya kadar -80 °C’de (ultra dondurucuda) muhafaza edilmiştir.

2.5. Biyokimyasal Parametrelerin Belirlenmesi

Belirlenen konsantrasyonlarda malathion etken maddesine maruz bırakılan model canlılardan 24. ve 96. saatlerde alınan örnekler çözündürölüp homojenize edilmiştir (Resim 2.4). *D. polymorpha* organizma bireylerinden yaş ağırlık olarak 0,5 g tartılmıştır. Örnekler kurutma kağıdı üzerinde bekletilerek su uzaklaştırılmış ve 1/5 w/v oranında PBS tamponu (fosfat ile tamponlanmış tuz çözeltisi) eklenerek, buz ile birlikte ultratoraks homojenizatör kullanılarak homojenize işlemi yapılmıştır. Homojenizasyon işleminden sonra örnekler 17000 rpm’de santrifüj edilerek, süpernatant elde edilmiştir. Süpernatantlar etiketlenip -80 °C’de ultra derin dondurucuda biyokimyasal analizler yapılncaya kadar muhafaza edilmiştir.



Resim 2.4. Doku homojenatı

Muhafaza edilen süpernatant örneklerinde süperoksitdismutaz (SOD), Katalaz CAT, Glutasyon Peroksidaz GPx enzim aktiviteleri ile Redükte glutasyon (GSH) ve Lipid Peroksidasyonu (TBARS) seviyeleri ticari bir firma olan CAYMAN'dan deney ELISA kitleri satın alınarak analizleri yapılmıştır (Resim 2.5).



Resim 2.5. Biyokimyasal analizler

Lipit peroksidasyonu, membran yapısını bozmak suretiyle iyon iletkenliğinin artmasına böylece membran akışkanlığında zarara neden olur. Reaktif oksijen türlerine (ROT) ilişkin zarar ile alakalı en fazla araştırılan konulardan bir tanesi lipid

peroksidasyonudur. ROT'un etki edebileceği hedeflerin çoğu hücre zarında bulunan fosfolipidlerdir. Özellikle poliansatüre yağ asidi (PUFA) takımları ROT reaksiyonlarına fazla miktarda hassasiyet gösterir (De Zwart ve ark., 1999; Piner, 2009). Lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak malondialdehid (MDA) tayini, biyolojik örneklerde en fazla kullanılan yöntemlerden biridir. Biyolojik materyallerde MDA, serbest ve bağlı şekilde yar alır (Özden, 2006).

GSH sülfhidril grubu, DTNB (5,5'-ditiyo-bis-2- nitrobenzoik asit, Ellman reaktifi) ile reaksiyona girer ve sarı renkli bir TNB üretir. Disülfür karışımı GSH'nin geri dönüşümü ve daha fazla TNB üretmek için GSTNB (GSH ile TNB arasında), glutatyon redüktazı azaltılır. TNB üretiminin hızı, direkt numunedeki GSH konsantrasyonu ile orantılı olan bu geri dönüşüm tepkimesiyle doğru orantılıdır. TNB'nin 405 veya 412 nm'de emiliminin ölçülmesi, numunede GSH'nin doğru bir tahminini sağlar. GSH disülfid dimer GSSG'ye kolayca okside edilir. GSH test kitinde glutatyon redüktaz kullanımı nedeniyle, hem GSH hem de GSSG ölçülür ve test toplam glutatyonu yansıtmaktadır. Çalışmada ticari bir firmadan satın alınan Elisa Kitleri ile GSH seviyeleri ölçülmüştür. Kit bünyesinde bulunan standartlarla absorbans eğrisi oluşturulmuş firmanın hesaplama formülleri ilgili internet sayfasından indirilerek GSH seviyeleri hesaplanmıştır.

Elde edilen örneklerde SOD enzim aktivitesi ticari kit ile 450 nm'de mikropilaya okuyucuda ölçülmüştür. Yöntemin temeli, ortamda oluşturulan süperoksitin, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile ortamdan uzaklaştırılması ve kalan miktarın boyanarak renklenmesine dayanan ksantin ksantin oksidaz (XO) ile O_2^- oluşturma ve bunun da NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk yoğunluğunun spektrofotometrik olarak tespit edilmesidir. Çalışmada ticari bir firmadan satın alınan Elisa Kitleri ile SOD enzim aktiviteleri ölçülmüştür. Kit bünyesinde bulunan standartlarla absorbans eğrisi oluşturulmuş ve firmanın hesaplama formülleri ilgili internet sayfasından indirilerek SOD aktiviteleri hesaplanmıştır.

Elde edilen süpernatant örneklerinde CAT enzim aktivitesi ticari kit ile 540 nm'de mikropilaya okuyucuda ölçülmüştür. Yapılan ölçümler neticesinde kit içeriğinde bulunan protokole göre belirlenen grafik çizilerek absorbans eğrisi oluşturulmuş ve firmanın hesaplama formülleri ilgili internet sayfasından indirilerek CAT enzim aktivite değerleri hesaplanmıştır. Kullanılan kit, enzim aktivitesinin tayin edilmesi için CAT'ın peroksidatik fonksiyonunu kullanır. Yöntem enzimin optimal bir H_2O_2 konsantrasyonunun mevcudiyetinde metanol ile reaksiyona girmesine dayanır. Üretilen formaldehit, 4-amino-

3-hidrazino-5-merkapt-1,2,4-triazol (Purpald) ile kromojen olarak spektrofotometrik olarak ölçülür. 1,2 Purpald, özellikle aldehitlerle bisiklik bir heterosiklik oluşturur; oksidasyon değişimine bağlı olarak renksizden mor renge doğru bir değişim gözlenir.

Elde edilen supernatant örneklerde GPx enzim aktivitesi ticari kit kullanılarak 340 nm’de mikropilaya okuyucuda değerlendirilmiştir. Kullanılan kit, GPx aktivitesini glutatyon redüktaz (GR) ile birleşmiş reaksiyon ile dolaylı olarak ölçer. GPx tarafından bir organik hidroperoksitin indirilmesi sonucunda üretilen okside glutatyon (GSSG), GR ve NADPH ile indirgenmiş duruma revize olur. NADPH’nin NADP^+ ya oksidasyonu, 340 nm’de absorbansda bir azalmayı tetikler. A340’daki düşüş oranı (1’er dakika aralıklarla 6 dakika), numunedeki GPx etkinliği ile doğru orantılı olarak hesaplanır. Kit satın alınan firmanın hesaplama formülleri ilgili internet sayfasından indirilerek GPx enzim aktivite değerleri hesaplanmıştır.

2.6. Histopatolojik Yanıtın Belirlenmesi

Denemelerin 24. ve 96. saatlerinde alınan midye doku örnekleri histopatolojik incelemeler için rutin histolojik aşamalardan geçirilmiştir. Bu amaçla Bouin’s doku tespit solüsyonuna bırakılan örnekler, 24 saat süreyle fikse edildikten sonra 12-24 saat kadar akarsuda yıkamaya alınmıştır. Daha sonra % 50, 70, 80, 96 I, 96 II, 100 I ve 100 II’lik alkol serilerinden geçirilen örnekler ksilol I, ksilol II ve ksilol III serilerinden de geçirilerek 45 °C’lik etüvde ksilol-parafin karışımında 1 gece bekletilmiştir. Bunu takiben üç ayrı parafin serisinde birer saat süreyle bekletilerek parafin bloklar hazırlanmıştır. Hazırlanan parafin bloklardan kızaklı mikrotomla, 1/4’ü tıraşlanmış lamlara 5 µm kalınlığında seri kesitler alınmıştır. Bu kesitlere 24 saat ya da daha uzun süreyle oda ısısında kurutma yapılmıştır. Kesitler, histopatolojik incelemeler için Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama yöntemine göre boyanarak mounting medium ile kapatılmıştır (Ross ve ark., 1989). Örnekler binoküler başlıklı fotomikroskop özelliğine sahip ışık mikroskopunda (Olympus BX-51, Olympus Optical Co., Ltd., Tokyo, Japan) 400X büyütme ile incelenip fotoğrafları çekilmiştir. Örneklerin histopatolojik değerlendirmesi ise semi-kantitatif skorlama sistemi ile yapılmıştır.

2.7. İstatistiksel Analiz

Çalışmada kurgulanan aralık belirleme ve LC_{50} testleri dahil tüm deneysel uygulamalar üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Akut toksisite değerinin hesaplanmasında SPSS paket program 24.0 PROBIT analizi kullanılmıştır. Çalışmadan elde edilen bulgular istatistiksel verileri SPSS paket program 24.0 ONEWAY ANOVA kullanılarak değerlendirilmiştir. Aynı uygulama süre içinde farklı gruplar arasındaki istatistiksel analizler için DUNCAN testi kullanılmıştır.



3. BULGULAR

3.1. Metrik Meristik Bulgular

Çalışmada kullanılan *D. polymorpha* bireylerine ait metrik meristik verileri; ağırlık $1,035 \pm 0,28$ g, uzunluk $20,36 \pm 2,14$ mm, genişlik $10,078 \pm 0,99$ mm ve yükseklik $9,824 \pm 1,06$ mm olarak kayıt edilmiştir.

3.2. LC₅₀ Değerleri

Aralık belirleme konsantrasyonları sonucunda LC₅₀ değeri belirlemek için saptanan uygulama konsantrasyonları Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1. LC₅₀ değerinin belirlendiği konsantrasyonlar

Tekerrür	Konst (mg/l)	Yanıt (adet)	Tekerür	Toplam Birey
1	0	0	1	10
	0,1	0	1	10
	1	0	1	10
	10	0	1	10
	100	4	1	10
	200	8	1	10
2	0	0	2	10
	0,1	0	2	10
	1	0	2	10
	10	0	2	10
	100	4	2	10
	200	9	2	10
3	0	0	3	10
	0,1	0	3	10
	1	0	3	10
	10	1	3	10
	100	7	3	10
	200	9	3	10

LC₅₀ değeri, uygulanan konsantrasyon grupları ile SPSS 24.0 paket programı Probit analizi ile $120,11 \pm 19,32$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. LC₅₀ ortalama değerleri

Tekerrür 1	135,36 (mg/l)
Tekerrür 2	126,59 (mg/l)
Tekerrür 3	98,39 (mg/l)
Ortalama	120,11±19,32 (mg/l)

Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan zebra midyede LC₅₀ değeri hesaplandıktan sonra LC₅₀ değerine 1/5, 1/10 ve 1/20 oranla (Tablo 3.3) aşağıda belirlenen deneysel uygulama grupları oluşturulmuştur. Oluşturulan deney gruplarına maruz bırakılan *D. polymorpha*'da bazı biyokimyasal SOD, CAT, GPx enzim aktiviteleri ile GSH ve TBARS seviye analizleri CAYMAN marka ELISA KIT'leri ile ölçölmüştür.

Tablo 3.3. LC₅₀ değerine oranla oluşturulan deneysel uygulama grupları

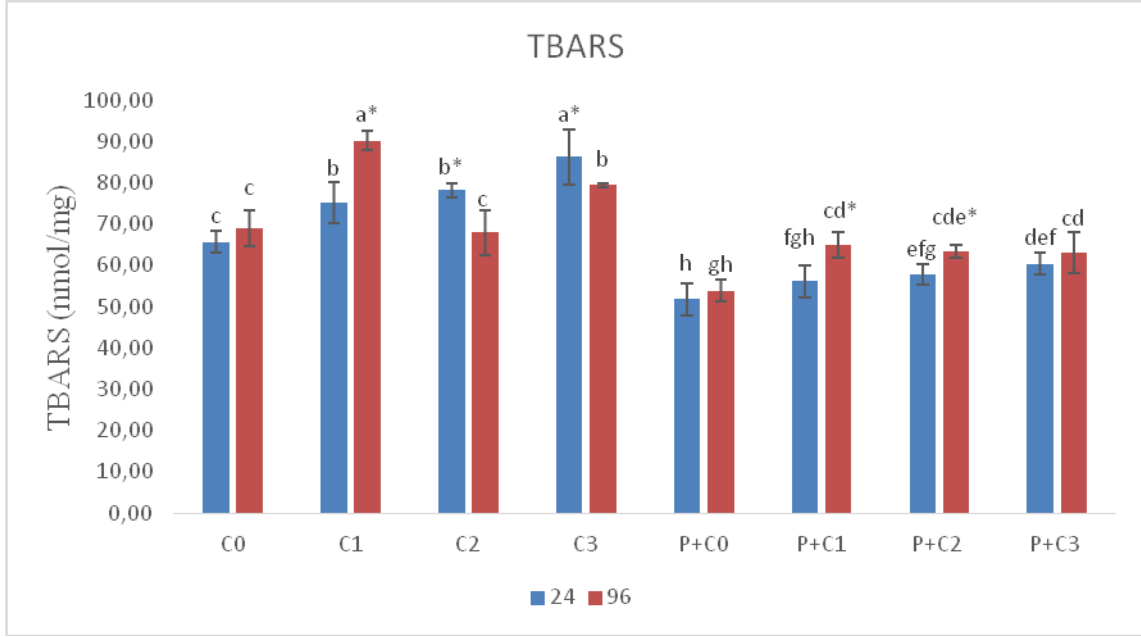
Kontrol	0,00 (mg malathion/l)
C1	15,01 (mg malathion/l)
C2	30,03 (mg malathion/l)
C3	60,06 (mg malathion/l)
Probiyotik kontrol	0,00 (mg malathion/l)
PC1	15,01 (mg malathion/l)
PC2	30,03 ((mg malathion/l)
PC3	60,06 (mg malathion/l)

3.3. Biyokimyasal Bulgular

3.3.1. Tiobarbitürük asit reaktif maddeleri (TBARS) seviyesinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında malathion etken maddeli pestisit zebra midye üzerindeki TBARS seviyelerinin belirlenmesi için LC₅₀ değerine oranla oluşturulan üç farklı konsantrasyon grubu ve bir adet kontrol grubundan 24. ve 96. saatlerde örnekler alınarak TBARS seviyesi ölçölmüştür (Şekil 3.1). TBARS seviyesinde, uygulama gruplarında kontrole kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) farklılıklar olduğu görölmüştür. Probiyotik ile muamele edilen gruplardaki TBARS seviyelerinde probiyotik uygulanmayan gruba göre istatistiki olarak anlamlı düşüş olduğu Şekil 3.1'de görölmektedir.

Uygulama süreleri (24. ve 96. saat) kıyaslandığında ise; malathiona doğrudan maruz bırakılan C₁, C₂ ve C₃ gruplarında TBARS seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) fark olduğu görülmektedir. Probiyotik uygulanarak malathiona maruz bırakılan P+C₁ ve P+C₂ grupları TBARS seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark ($p<0,05$) olduğu görülmektedir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki TBARS seviye değerleri

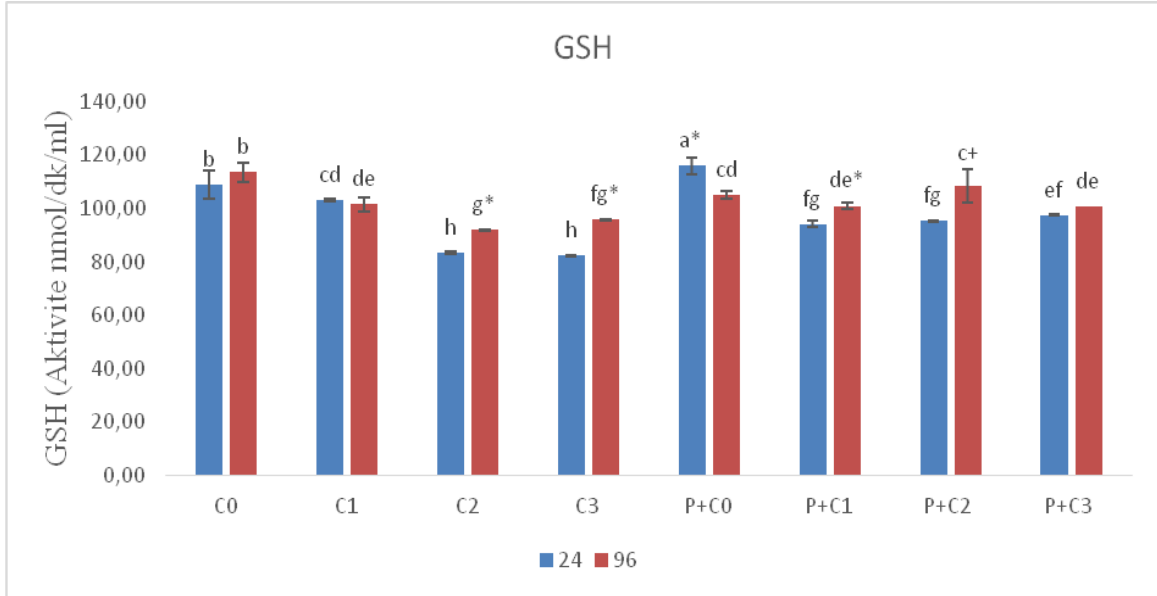
Aynı zaman grubu içerisindeki sütun üzerinde ayrı harflerle belirtilen veriler arasında önemli ($p<0,05$) düzeyde farklılıklar vardır (SPSS, Duncan). Sütunlar üzerindeki yıldız (*) işareti aynı grubun farklı zamanları (24. ve 96. saat) arasındaki istatistiksel farklılıkları ($p<0,05$) gösterir (bağımsız t-testi).

3.3.2. Redükte glutatyon (GSH) seviyesinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında malathion etken maddeli pestisit zebra midye üzerindeki GSH seviyelerinin belirlenmesi çalışma kapsamında GSH seviye değerlerinin belirlenmesi için LC₅₀ değerine oranla oluşturulan üç farklı konsantrasyon grubu ve bir adet kontrol grubundan 24 ve 96. saatlerde örnekler alınarak GSH seviyesi ölçülmüştür (Şekil 3.2). GSH seviyesinde, uygulama gruplarında kontrole kıyasla istatistiki yönden anlamlı ($p<0,05$) farklar görülmüştür. Probiyotik ile muamele edilen gruplardaki GSH seviyelerinde probiyotik uygulanmayan gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı bir artış

olduğu Şekil 3.2’de görülmektedir.

Uygulama süreleri (24. ve 96. saat) kıyaslandığında ise; malathiona doğrudan maruz bırakılan C₂ ve C₃ grupları GSH seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) fark olduğu görülmektedir. Probiyotik uygulanarak malathiona maruz bırakılan P+C₀, P+C₁ ve P+C₂ grupları GSH seviyeleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) fark olduğu görülmektedir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Malathion etken maddeli pestisitine maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki GSH seviye değerleri

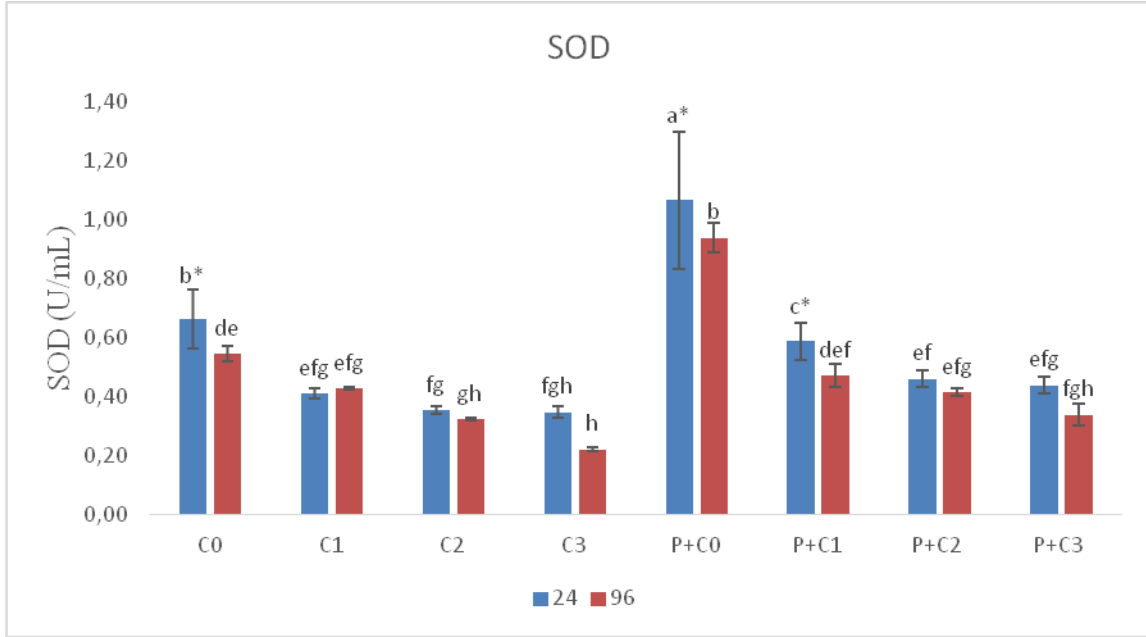
Aynı zaman grubu içerisindeki sütun üzerinde ayrı harflerle belirtilen veriler arasında önemli (p<0,05) düzeyde farklılıklar vardır (SPSS, Duncan). Sütunlar üzerindeki yıldız (*) işareti aynı grubun farklı zamanları (24. ve 96. saat) arasındaki istatistiksel farklılıkları (p<0,05) gösterir (bağımsız t-testi).

3.3.3. Süper oksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında malathion etken maddeli pestisit, zebra midye üzerindeki SOD enzim aktivite değerlerinin belirlenmesi için LC₅₀ değerine oranla oluşturulan üç farklı konsantrasyon grubu ve bir adet kontrol grubundan 24 ve 96. saatlerde örnekler alınarak SOD enzim aktivitesi ölçülmüştür (Şekil 3.3). SOD enzim aktivitesinde, uygulama gruplarında kontrole kıyasla istatistiki olarak anlamlı (P<0,05) farklar görülmüştür. Probiyotikle muamele edilen gruplardaki SOD aktivitesinde ise; probiyotik uygulanmayan gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı artmış olduğu Şekil 3.3’te görülmektedir.

Uygulama süreleri (24. ve 96. saat) kıyaslandığında ise; malathiona doğrudan

maruz bırakılan C₀ (kontrol) grubu SOD enzim aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ($p<0,05$) fark olduğu görülmektedir. Probiyotik uygulanarak malathiona maruz bırakılan P+C₀ ve P+C₁ grupları SOD enzim aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark ($p<0,05$) olduğu görülmektedir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Malathion etken maddeli pestisitine maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki SOD enzim aktivite değerleri

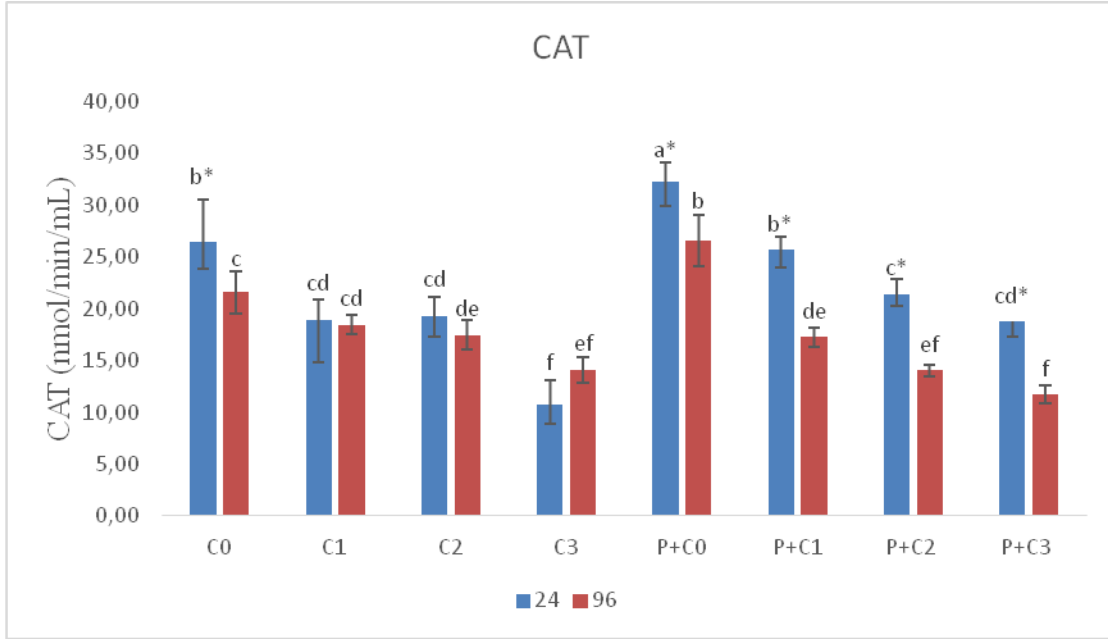
Aynı zaman grubu içerisindeki sütun üzerinde ayrı harflerle belirtilen veriler arasında önemli ($p<0,05$) düzeyde farklılıklar vardır (SPSS, Duncan). Sütunlar üzerindeki yıldız (*) işareti aynı grubun farklı zamanları (24. ve 96. saat) arasındaki istatistiksel farklılıkları ($p<0,05$) gösterir (bağımsız t-testi).

3.3.4. Katalaz (CAT) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında malathion etken maddeli pestisit zebra midyesi üzerindeki CAT enzim aktivite değerlerinin belirlenmesi için LC₅₀ değerine oranla oluşturulan üç farklı konsantrasyon grubu ve bir adet kontrol grubundan 24 ve 96. saatlerde örnekler alınarak CAT enzim aktivitesi ölçülmüştür (Şekil 3.4). CAT enzim aktivitesinde, uygulama gruplarında kontrole kıyasla istatistiki yönden anlamlı ($p<0,05$) farklar görülmüştür. Probiyotik ile muamele edilen gruplardaki CAT enzim aktivitesinde probiyotik uygulanmayan gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı artmış olduğu Şekil 3.4'te görülmektedir.

Uygulama süreleri (24. ve 96. saat) kıyaslandığında ise; malathiona doğrudan

maruz bırakılan C₀ grubu CAT enzim aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) fark olduğu görülmektedir. Probiyotik uygulanarak malathiona maruz bırakılan tüm grupların CAT enzim aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) fark olduğu görülmektedir (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki CAT enzim aktivite değerleri

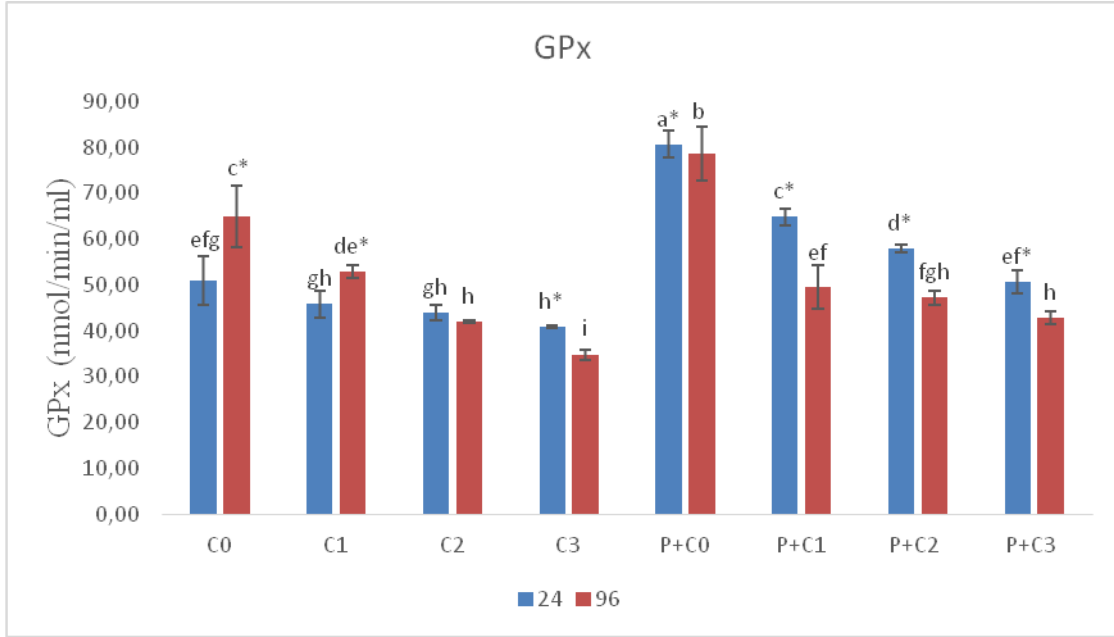
Aynı zaman grubu içerisindeki sütun üzerinde ayrı harflerle belirtilen veriler arasında önemli (p<0,05) düzeyde farklılıklar vardır (SPSS, Duncan). Sütunlar üzerindeki yıldız (*) işareti aynı grubun farklı zamanları (24. ve 96. saat) arasındaki istatistiksel farklılıkları (p<0,05) gösterir (bağımsız t-testi).

3.3.5. Glutasyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesinin belirlenmesi

Çalışma kapsamında malathion etken maddeli pestisit kirleticisine maruz bırakılan zebra midye üzerindeki GPx enzim aktivite değerlerinin belirlenmesi için LC₅₀ değerine oranla oluşturulan üç farklı konsantrasyon grubu ve bir adet kontrol grubundan 24 ve 96. saatlerde örnekler alınarak GPx enzim aktivitesi ölçülmüştür (Şekil 3.5). GPx enzim aktivitesinde, uygulama gruplarında kontrol grubuna kıyasla istatistiki değerlendirme sonucu anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir (P<0,05). Probiyotik uygulanan gruplardaki GPx aktivitesinde, probiyotik uygulanmayan gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı artmış olduğu Şekil 3.5'te görülmektedir.

Uygulama süreleri (24. ve 96. saat) kıyaslandığında ise; malathiona doğrudan

maruz bırakılan C₀, C₁ ve C₃ grupları GPx enzim aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) fark olduğu görülmektedir. Probiyotik uygulanarak malathiona maruz bırakılan tüm grupların GPx enzim aktiviteleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı (p<0,05) fark olduğu görülmektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Malathion etken maddeli pestisite maruz bırakılan Zebra Midye üzerindeki GPx enzim aktivite değerleri

Aynı zaman grubu içerisindeki sütun üzerinde ayrı harflerle belirtilen veriler arasında önemli (p<0,05) düzeyde farklılıklar vardır (SPSS, Duncan). Sütunlar üzerindeki yıldız (*) işareti aynı grubun farklı zamanları (24. ve 96. saat) arasındaki istatistiksel farklılıkları (p<0,05) gösterir (bağımsız t-testi).

3.4. Histopatolojik Bulgular

Malathion etken maddeli pestisitinin doğrudan uygulandığı zebra midye grupları ile probiyotik uygulaması yapılarak malathiona maruz bırakılan gruplar arasındaki 24 Saatlik histopatolojik yanıtlar Şekil 3.6'da görülmektedir. Şekil 3.6a'da 24 saat süreyle kontrol grubu bireyleri, Şekil 3.6b'de malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/20 oranla 24 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.6c'de malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/10 oranla 24 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.6d'de malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/5 oranla 24 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.6e'de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş 24 saat süreyle kontrol grubu bireyleri, Şekil

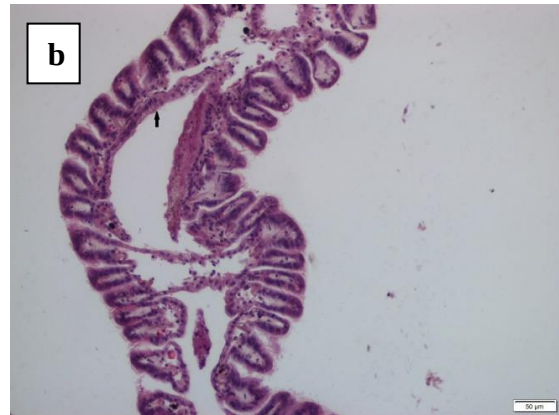
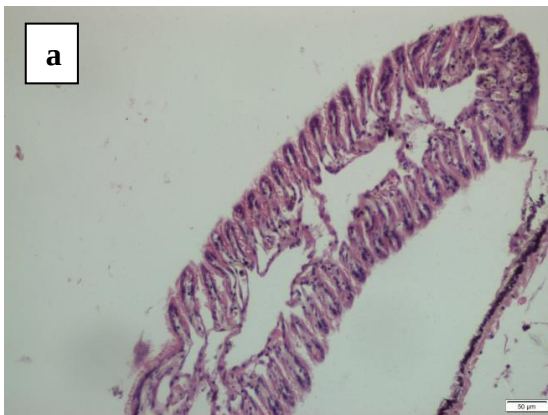
3.6f’de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş ve malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/20 oranla 24 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.6g’de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş ve malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/10 oranla 24 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.6h’de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş ve malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/5 oranla 24 saat süreyle maruz bırakılmış bireylere ait histopatolojik yanıtlar gösterilmiştir.

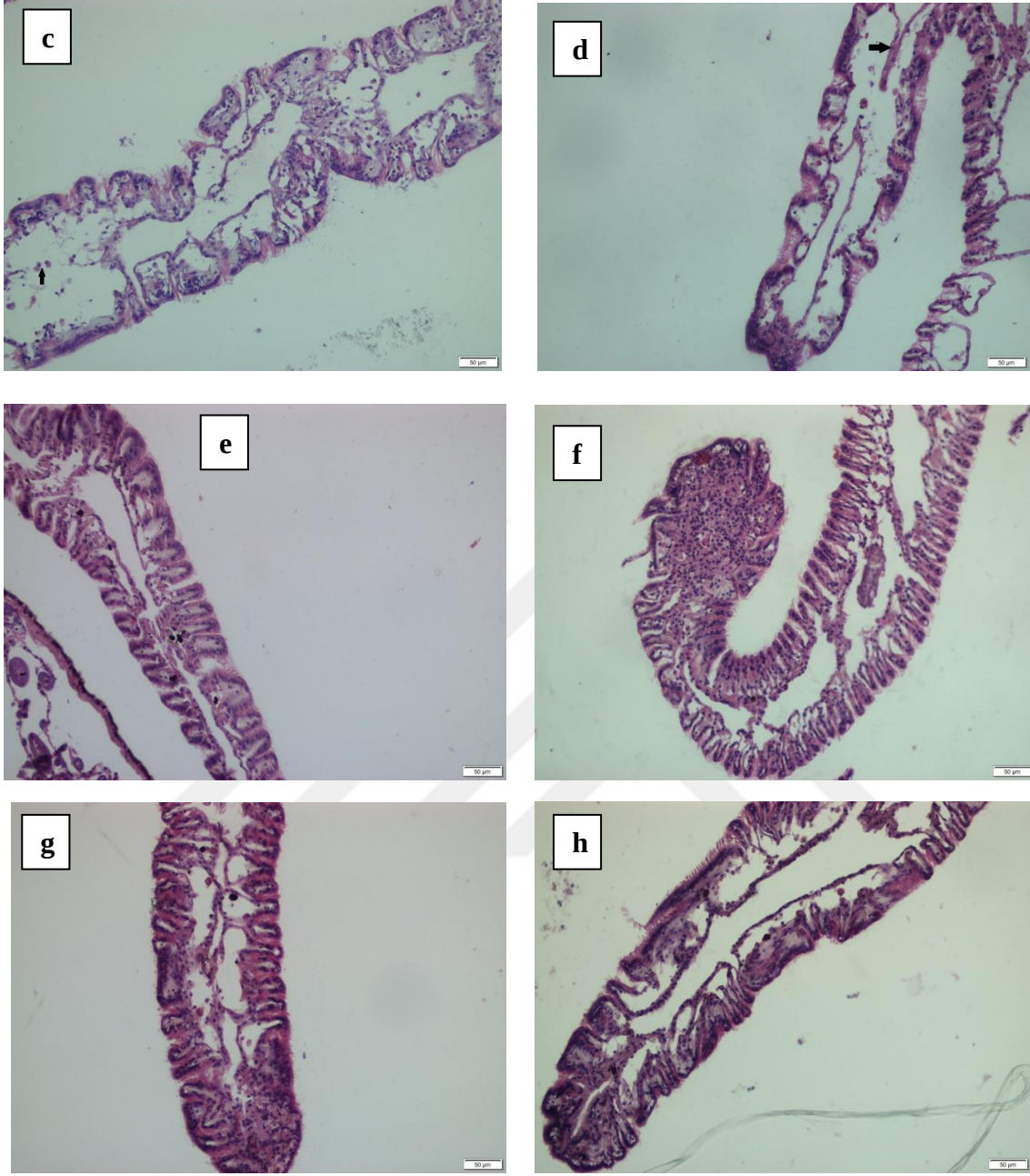
Kontrol grupları (Şekil 3.6a ve Şekil 3.6e)’na ait solungaç dokularında normal görünüm belirlenmiştir.

Malathion etken maddeli pestisitinin LC₅₀ değerine 1/20 oranla sublethal konsantrasyonuna doğrudan maruz bırakılan gruplarda hafif düzeyde (Şekil 3.6b), aynı grubun probiyotik ile muamele edilen bireylerine ait dokularda normale yakın histolojik görünüm belirlenmiştir (Şekil 3.6f).

Malathion etken maddeli pestisitinin LC₅₀ değerine 1/10 oranla sublethal konsantrasyonuna doğrudan maruz bırakılan gruplarda orta düzeyde (Şekil 3.6c) histopatolojik hasar gözlenirken, aynı grubun probiyotik ile muamele edilen bireylerine ait dokularda hafiflemiş histopatolojik değişiklikler belirlenmiştir (Şekil 3.6g).

Malathion etken maddeli pestisitinin LC₅₀ değerine 1/5 oranla sublethal konsantrasyonuna doğrudan maruz bırakılan gruplarda şiddetli düzeyde (Şekil 3.6d) histopatolojik hasar gözlenirken, aynı grubun probiyotik ile muamele edilen bireylerine ait dokularda hafiflemiş histopatolojik değişiklikler belirlenmiştir (Şekil 3.6h).





Şekil 3.6. Doğrudan ve probiyotikle muamele edilerek malathiona 24 saat süreyle maruz bırakılan *D. polymorpha*'da histopatolojik yanıtlar

Malathiona doğrudan ve probiyotik ile muamele edilerek maruz bırakılan *D. polymorpha*'da 96. saat histopatolojik yanıtları Şekil 3.7'de gösterilmiştir. Şekil 3.7a'da 96 saat süreyle kontrol grubu bireyleri, Şekil 3.7b'de malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/20 oranla 96 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.7c'de malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/10 oranla 96 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.7d'de malathion etken maddesinin LC₅₀ değerine 1/5 oranla 96 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.7e'de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş 96 saat süreyle

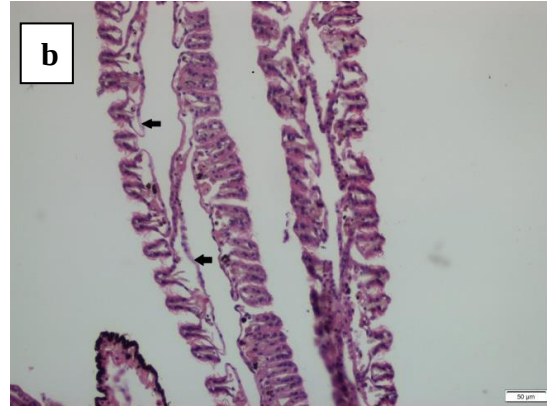
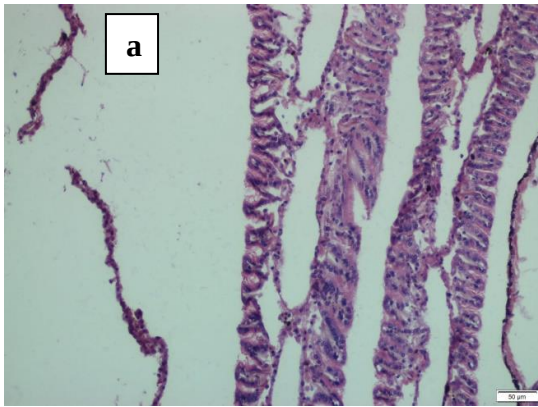
kontrol grubu bireyleri, Şekil 3.7f’de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş ve malathion etken maddesinin LC_{50} değerine 1/20 oranla 96 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 3.7g’de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş ve malathion etken maddesinin LC_{50} değerine 1/10 oranla 96 saat süreyle maruz bırakılmış bireyler, Şekil 8h’de probiyotikle 21 gün muamele edilmiş ve malathion etken maddesinin LC_{50} değerine 1/5 oranla 96 saat süreyle maruz bırakılmış bireylere ait histopatolojik sonuçlar gösterilmiştir.

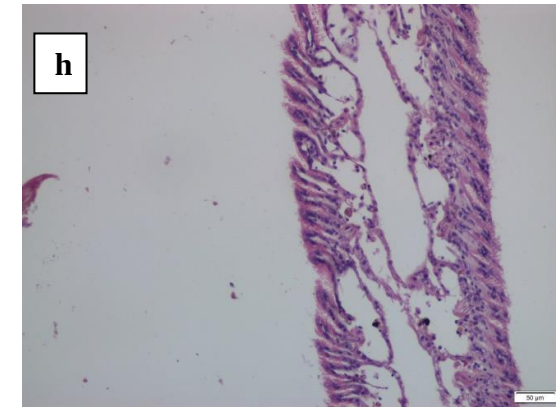
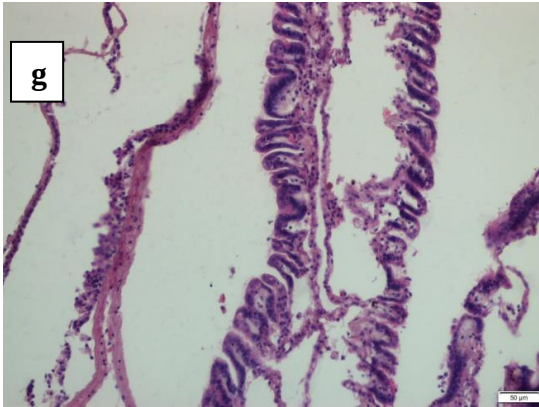
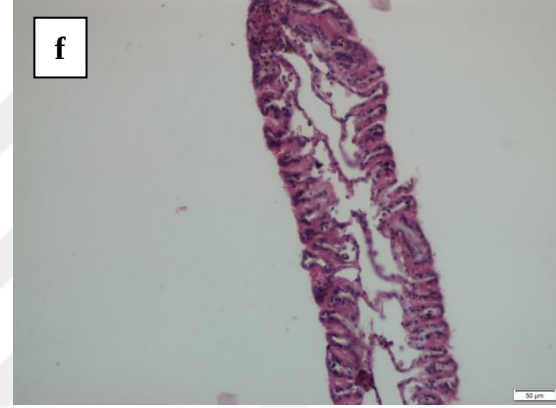
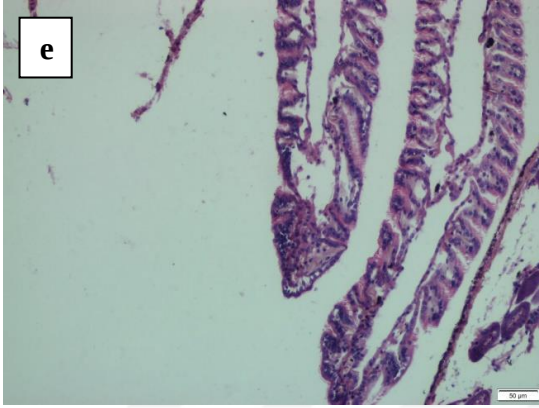
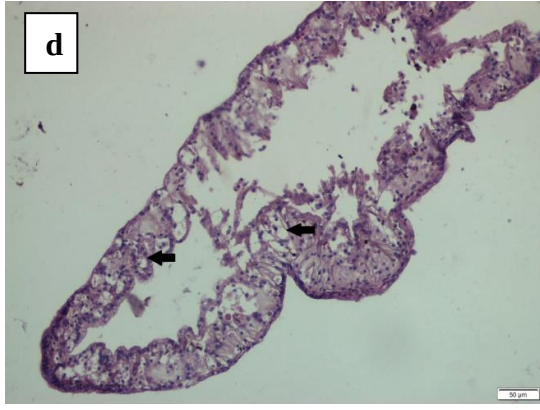
Kontrol grupları (Şekil 3.7a ve Şekil 3.78e)’na ait solungaç dokularında normal görünüm belirlenmiştir.

Malathion etken maddeli pestisitinin LC_{50} değerine 1/20 oranla sublethal konsantrasyonuna doğrudan maruz bırakılan gruplarda hafif düzeyde (Şekil 3.7b), aynı grubun probiyotik ile muamele edilen bireylerine ait dokularda normale yakın histopatolojik görünüm belirlenmiştir (Şekil 3.78f).

Malathion etken maddeli pestisitinin LC_{50} değerine 1/10 oranla sublethal konsantrasyonuna doğrudan maruz bırakılan gruplarda orta düzeyde (Şekil 3.7c) histopatolojik hasar gözlenirken, aynı grubun probiyotik ile muamele edilen bireylerine ait dokularda azalmış histopatolojik değişiklikler belirlenmiştir (Şekil 3.7g).

Malathion etken maddeli pestisitinin LC_{50} değerine 1/5 oranla sublethal konsantrasyonuna doğrudan maruz bırakılan gruplarda şiddetli düzeyde (Şekil 3.7d) histopatolojik hasar gözlenirken, aynı grubun probiyotik ile muamele edilen bireylerine ait dokularda azalmış histopatolojik değişiklikler belirlenmiştir (Şekil 3.7h).





Şekil 3.7. Doğrudan ve probiyotikle muamele edilerek malathiona 96 saat süreyle maruz bırakılan *D. polymorpha*'da histopatolojik yanıtlar

4. TARTIŞMA

Herhangi bir maddenin çevreye salınımı, söz konusu maddenin ekosistemdeki besin zinciri gibi döngüler ile biyolojik sistemler ve organizmalar üzerinde doğrudan ya da dolaylı olarak etki yapması ile gerçekleşmektedir. Oluşan bu etkinin seviyesi, olumlu veya olumsuzluk derecesinin bilinmesi, sürdürülebilir çevre için çok önemli faktörlerden biridir. Ekosistem üzerinde antropojen kaynaklı çevresel bozulmanın, insanın ekosistemi kullanması ile tezat teşkil edebilmesi sebebiyle insan aktivitelerinin doğal ekosistemleri etkileyip etkilemediğinin belirlenmesi gerekir. Günümüzde çevreye verilen kimyasalların oluşturduğu veya oluşturacağı etkilerin belirlenmesi ve olası çözüm yollarının bulunması amacıyla çeşitli çevresel izleme çalışmaları yapılmaktadır (Kaymak, 2017).

Tarım ve hayvancılıktaki verimi arttırmak amacıyla son yıllarda pestisit kullanımında artış görülmektedir. Pestisitlerin çok düşük düzeyleri dahi, hedef dışı karasal ve sucul canlılara zarar verdiği bilinmektedir. Birçok araştırmacı tarafından pestisitlerin hedef dışı organizmalar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Köprücü ve Aydın, (2004) deltamethrin pestisitinin; Aydın ve Köprücü, (2005) diazinon pestisitinin; Aydın ve ark., (2005) cypermethrin pestisitinin *Cyprinus carpio* embriyo ve larvasında akut toksisitesini tespit etmişlerdir. Ural ve Köprücü, (2006) *Silurus glanis* yavrularına dichlorvos pestisitinin akut toksisitesini incelemişlerdir. Farklı balık türlerinde gerçekleştirilen çalışmalar neticesinde, uygulama konsantrasyonlarında ölüm veya yaşamları arasında olumsuz etkilenmesi açısından tam bir benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Çimen, (2011) *Daphnia magna* (su piresi) yavrularında 24, 48, 72 saatlik olarak Aroclor 1242 (PCB 1242)'nin akut toksitesi üzerine araştırmada bulunmuştur. Çalışma süresince *D. magna* yavruları beslenmeyerek, deney ortamı sabit tutulup, ortam havalandırması yapılmamıştır. Beş farklı konsantrasyona Aroclor 1242 (PCB 1242)'nin *D. magna* yavruları 72 saat süre ile üç tekerrürlü olarak maruz bırakılmıştır. 1,2 µg/l, 1,4 µg/l, 1,6 µg/l, 1,8 µg/l ve 2,0 µg/l konsantrasyonlarında çalışılmıştır. Çalışılan kimyasalın yavru davranışları ve ölüm oranları incelenmiştir. *D. magna* yavrularındaki Aroclor 1242'nin 72 saatlik akut toksite belirtileri olarak, yüzmede azalma, karapaks deformu ve ölüm olduğu bildirilmiştir. Cold ve Forbes, (2004) Piretroid pestisit maruz bırakılan *G. pulex*'in yaşama oranı ve üremesi üzerine etkisini araştırdığı çalışmada *G. pulex* bireylerinin yaşam süresini ve üremelerini etkilediğini bildirmişlerdir. Yordanova ve ark., (2009) *Daphnia magna* için 24 saatlik LC₅₀ değerini 0,3 µg/l, 48 saatlik EC₅₀ değerini 0,8 µg/l olarak belirtmişlerdir.

Demirci, (2018) organik ksenobiyotik olan neonikotinoit pestisitlerden asetamiprit ve imidakloprit'in *G. kischineffensis* üzerine akut toksik etkisini araştırmak için, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerlerini belirlemiştir. Konsantrasyon aralığında; asetamiprit için LC₅₀ değeri 72 ve 96 saat olarak 1,687 ve 0,517 µg/l; imdakloprit için 48, 72 ve 96 saatteki LC₅₀ değeri 9764,4, 4546,7 ve 1560,9 µg/l olarak belirlendiği bildirilmiştir. Tatar ve ark., (2019) Kongo kırmızısına maruz bırakılan *G. pulex*'teki bazı biyokimyasal yanıtların belirlenmesini amaçladıkları çalışmalarında kongo kırmızısının sublethal konsantrasyonlarını belirlemek için *G. pulex*'te LC₅₀ değerini hesaplamışlardır. şahinkuşu, (2018) malathion içerikli insektisitinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Gammarus pulex* (L., 1758) üzerindeki 24 saatlik akut toksisitesini (LC₅₀) belirlediği çalışmada, LC₅₀ değerleri ortalama 1,58 ± 0,56 mg/l, alt seviye değeri 0,47 ± 0,17 mg/l, üst seviye değeri ise 5,46 ± 2,18 mg/l olarak tespit etmiştir. Serdar ve ark., (2021a) ticari insektisit olan Beta-Cyfluthrin (β-CF)'nin *D. polymorpha*'daki bazı biyokimyasal yanıtlarını araştırmışlar ve β-CF'nin *D. polymorpha* üzerindeki 96 saatlik LC₅₀ değerini 0,51 mg/L olarak belirlemişlerdir. Serdar ve ark., (2021b) *D. polymorpha* üzerinde gadolinyumun biyokimyasal etkilerinin araştırılmasında uygulama konsantrasyonlarını saptamak için söz konusu materyalin *D. polymorpha* üzerindeki LC₅₀ değerlerini belirlemişlerdir.

Akut toksisite testleri organizmaların toksik etki seviyelerinin ve canlılardaki öldürücü konsantrasyonun belirlenmesi için gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışmada da *D. polymorpha* bireyleri malathion etken maddeli pestisitinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılarak LC₅₀ değeri belirlenmiştir. Yukarıda verilen literatür bilgisine benzer şekilde hedef dışı sucul bir organizma olan *D. polymorpha*'da, düşük sayılabilecek konsantrasyonlardaki malathion pestisitinin akut toksik etki yaptığı saptanmıştır. Elde edilen bulgular *D. polymorpha*'nın malathion etken maddeli pestisite maruz kalması yönüyle literatür bilgisiyle benzerlik göstermektedir.

Biyobelirteç, herhangi bir ksenobiyotiğe maruz kalan organizma üzerindeki bu maddelere canlının biyolojik/biyokimyasal tepkimedeki değişiminin belirlenmesi olarak da tanımlanabilir (Van Der Oost ve ark., 2003). Oksidatif stres, artan ROT üretimi veya ROT çıkaran proteinlerin seviyesindeki azalma nedeniyle oluşur (Lin ve Yen, 1999). Reaktif oksijen türleri, çeşitli enzimatik reaksiyonlar ve kimyasal işlemlerle üretilir (Lin ve ark., 2015). ROT üretiminin ana kaynağı NADPH (NOX) oksidaz kompleksidir (Rahman ve ark., 2006).

TBARS/MDA göstergesi olarak da tanımlanan lipid peroksidasyonu, hücre zar yapısına zarar vererek, iyon geçirgenliğinde artışa, membran akışkanlığında azalışa neden olur. ROT'a bağlı hasar belirleme çalışmalarında araştırmacıların başvurduğu konulardan bir tanesi de lipid peroksidasyonudur. Reaktif oksijen türlerinin etki edebileceği fosfolipidler membranlarda en fazla yer alan hedeflerdir. Özellikle poliansatüre yağ asidi (PUFA) grupları ROT tepkimelerine oldukça duyarlıdır (De Zwart ve ark., 1999; Piner, 2009). Biyolojik organizmalarda serbest ve bağlı şekillerde bulunan MDA, lipid peroksidasyonunun bir belirteci olarak MDA tayini en fazla kullanılan bir yöntemdir (Özden, 2006).

Temel olarak MDA seviyelerindeki artış oksidatif stresin arttığına ve hücrelerin lipid peroksidasyonlarının yükseldiğine bir işaret olarak gösterilmektedir (Yagi, 1984). Sulardaki farklı kirleticiler arasındaki çoklu etkileşimler, öngörülemeyen sonuçlara neden olabilir (Gnatyshyna ve ark., 2019). Sucul organizmaların ksenobiyotiklere maruziyeti sonucu oksidatif stres belirteci olan Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) seviyelerinin belirlendiği birçok bilimsel çalışma mevcuttur.

Politakis ve ark. (2018), süresi geçmiş ticari ilaçların *Mytilus galloprovincialis*'in hemositleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Evsel atık niteliğindeki süresi geçmiş her iki ilacın *M. galloprovincialis* üzerinde MDA düzeylerinde artışa sebebiyet verdiğini bildirmişlerdir. Baskın (2019), sucul ekosistemin önemli bir bileşeni olan *M. galloprovincialis* örneklerinin, silisyum dioksit (SiO_2) nanopartikülüne maruziyetinin olası toksik ve histopatolojik etkilerinin ortaya konulduğu bir çalışma yürütmüştür. Gnatyshyna ve ark. (2019), yaptıkları çalışmada iki yaygın ksenobiyotik, titanyum oksit nanoparçacıkları (TiO_2) ve bisfenol A'nın (BPA) tatlı su midyesi üzerindeki birleşik etkisini değerlendirmişlerdir. Uygulama konsantrasyonlarındaki her tür maruziyetin belirli bir oksidatif stres tepkisi ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Alişer (2020), yaptığı çalışmada farklı üç Cd konsantrasyonlarına maruz bıraktıkları *D. polymorpha*'da kontrole kıyasla Cd'a maruz bırakılan gruplarda TBARS seviyelerinde istatistiksel açıdan önemli artışlar belirlemiştir. Serdar ve ark. (2021a), Beta-Cyfluthrin maruz bıraktıkları *D. polymorpha*'da oksidatif stresini araştırmışlardır. Artan pestisit konsantrasyonu ile TBARS değerlerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Ergüven ve ark. (2022), yaptıkları çalışmada metomil içeren pestisitte giderim ve doğrudan maruziyette *D. polymorpha*'da uygulama konsantrasyonlarının TBARS seviyelerini arttırdığını bildirmişlerdir. Ketenalp (2022) yaptığı çalışmada, Lambda-Cyhalothrin pestisitinin subletal konsantrasyonlarına artan

sıcaklıkta maruz bıraktıkları *D. polymorpha*'da uygulama konsantrasyonlarının MDA seviyelerinde artışa sebebiyet verdiğini rapor etmiştir. Yapılan bu çalışmada da malathion etken maddeli pestisit kirleticisine maruz bırakılan *D. polymorpha*'da artan konsantrasyon ve süre ile TBARS seviyesinde artış gözlemlenmiştir. Yürütülen bu çalışma verileri literatürdeki verilerle kıyaslandığında, zebra midyenin herhangi bir pestisit kirleticisine maruz kalması halinde oksidatif stres belirteci olan TBARS seviyesinde artışa sebebiyet verdiği belirlenmiştir. Çalışma bu yönüyle literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Organizmalardaki hücre tepkimeleri oksidatif strese karşı enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar oksidatif strese karşı önemli bir biyolojik savunma görevi yapar. Enzimatik olmayan bir antioksidan olarak ifade edilen GSH, hücre içi tepkime dengesinin korunmasında ve oksidatif strese tepkide önemli bir rol oynayan parametrelerden biridir (Pena-Llopis ve ark., 2003). Çok önemli bir antioksidan olan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle tepkimeye girerek hücreleri oksidatif hasara karşı koruma sağlar (Akkuş, 1995).

Gnatyshyna ve ark. (2019), yaptıkları çalışmada iki yaygın ksenobiyotik, titanyum oksit nanoparçacıkları (TiO_2) ve bisfenol A'nın (BPA) tatlı su midyesi (*U. tumidus*) üzerindeki birleşik etkisini değerlendirmişlerdir. TiO_2 'nin ROT, GSH konsantrasyonunu iki katına çıkardığını bildirmişlerdir. Serdar ve ark. (2021a), Beta-Cyfluthrine maruz bıraktıkları *D. polymorpha*'da oksidatif stresi araştırmışlar ve artan pestisit konsantrasyonu ile kıyasla kontrol grubu GSH seviyesinde istatistiksel açıdan anlamlı farkın olduğunu bildirmişlerdir. Alisher (2020), yaptıkları çalışmada Cd ağır metale maruz bıraktıkları *D. polymorpha*'da kontrole kıyasla Cd'a maruz bırakılan gruplarda GSH seviyelerinde istatistiksel açıdan önemli artışlar belirlemiştir. GSH seviyeleri doku antioksidanı olarak mücadele esnasında düşmesi beklenirken artış göstermiştir. Bunun sebebinin süreye ve organizmaya bağlı olabileceğini bildirmişlerdir. Batmaz (2019), *U. mancus euriccus* türüyle yaptığı çalışmada GSH'ın 96. saatte arttığını bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada da, malathion kirleticisinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan zebra midyede, düşük GSH seviyesinin, GSH'ın sentezinin az oluşundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Glutasyon, serbest radikal artışına ve lipid peroksidasyon oluşmasına bağlı olarak meydana gelen ürünlerle kolayca reaksiyona girerek metabolizma için zararlı olan bu ürünlerin ortamdaki uzaklaştırılması için görev alan güçlü bir antioksidandır. Kontrole kıyasla artan GSH oksidatif stresle başa çıkma potansiyelini gösterdiği düşünülmektedir. Glutasyon

düzeylerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalarda GSH düzeylerinde eksilmeler (Meister ve Anderson, 1983; Yagi, 1984), GSH ve onu metabolize edici antioksidan enzimler, reaktif oksijen türevlerinin sebep olduğu hücresel zarar karşısında savunma oluşturur (Avellini ve ark., 1993; Kurata ve ark., 1993) ve antioksidatif koruma fonksiyonundan dolayı GSH tüketildiği varsayılmaktadır.

Sucul organizmalarda ksenobiyotiklerin süperoksit anyonu, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve singlet oksijen gibi hücre ve dokularda ciddi patolojik durumlara neden olan ROT'lerini sebep olduğu birçok bilimsel çalışma ile belirlenmiştir (Wilhelm Filho ve ark., 2001). Son yıllardaki ekotoksikolojik çalışmalar, bu nedenle sucul organizmalardaki çeşitli kirleticilerin neden olduğu oksidatif stres toksisitesinin araştırılması üzerine yoğunlaşmıştır. Genel olarak antioksidanlar adı verilen bu savunma mekanizması sucul organizmaların hayatta kalması ve sağlıklı yaşam sürmeleri için hücrelerde önemli görevler üstlenmiştir. Bu savunma sistemi enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Enzimatik antioksidanlar arasında CAT, SOD, GP_x, GST ve GR enzimleri önemli bir yer tutmaktadır (Bozat, 2017). Antioksidan enzim aktivitelerinin değerlendirilmesi organizmalardaki oksidatif durum hakkında yararlı bilgiler sağladığından bu enzimler oksidatif stresin biyobelirteçleri olarak tanımlanmaktadır (Kohen ve Nyska, 2002). Çevresel kirleticilerin sucul organizmaların dokularındaki antioksidan enzim aktivitelerinde önemli değişimlere (azalış ve/veya artışlara) sebep olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Xiong ve ark. 2011, Abdel-Khalek ve ark., 2015, Afifi ve ark., 2016, Fırat, 2016, Tutuş, 2016; Ergüven ve ark., 2022; Ketenalp, 2022).

Organizmalarda, fagositik süreç esnasında süperoksit anyonu (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (·OH) gibi reaktif oksijen türlerinin üretimi meydana gelir ve bunlar oldukça mikrobisidaldir. Antioksidan enziminin, hücreleri ROT kaynaklı hasardan etkili bir şekilde koruduğu bilinmektedir (Messaoudi ve ark., 2009). SOD, CAT ve gluGPx balıklarda yaygın olarak bulunan antioksidan enzimlerdir (Di Giulio ve ark., 1993; Karabulut ve Gülay, 2016; Pak, 2019). Hidrojen peroksit daha sonra katalaz ya da glutatyon peroksidaz (GPx ile moleküler oksijen ve suya dönüştürülerek ortamdan uzaklaştırılır.

Bir metalloenzim grubu olan SOD, aerobik organizmalarda süperoksit radikallerinin toksik etkilerine karşı birincil savunmadır ve süperoksit radikallerinin antioksidan sistemde önemli bir rol oynayan H₂O₂ ve O₂'ye dönüşümünü katalize eder

(Kappus, 1985; Kohen ve Nyska, 2002). Hem saha hem de laboratuvar çalışmalarında organik veya metalik kirletici maddelere maruz kalan organizmalarda SOD ve CAT aktivitelerinde çeşitli tepkiler gözlenmiştir. Bu enzimlerin kirletici maddeye, konsantrasyona, türe veya maruz kalma yoluna bağlı olarak metaller tarafından indüklendiği veya inhibe edildiği gösterilmiştir (Roméo ve ark., 2000; Atlı ve ark., 2006).

Alişer (2020), zebra midyenin kadmiyuma karşı bazı biyokimyasal tepkilerini araştırdığı çalışmada SOD enzim aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla Cd ağır metal uygulama gruplarında inhibe olduğunu tespit etmiştir. Serdar (2021), yaptığı çalışmada zebra midyeyi cyfluthrin etken maddeli pestisite maruz bırakmış, bazı antioksidan seviyelerini araştırmıştır. Cyfluthrin pestisitinin zebra midyede SOD enzim aktivitesinin kontrole kıyasla arttığını bildirmişlerdir. Gomes ve ark. (2011), CuO-NP'ne maruz bıraktıkları akdeniz midyesinde SOD enzim aktivitesinin kontrole kıyasla CuO-NP uygulama gruplarında arttığını bildirmişlerdir. Gnatyshyna ve ark. (2019), yaptıkları çalışmada iki yaygın ksenobiyotik, titanyum oksit nanoparçacıkları (TiO₂) ve bisfenol A (BPA)'nın *U. tumidus* üzerindeki birleşik etkisini değerlendirmişlerdir. TiO₂'nin SOD enzim aktivitesinde istatistiksel anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığını bildirmişlerdir. Erguven ve ark. (2022), yaptıkları çalışmada metomil içeren pestisitte giderim ve doğrudan maruziyette zebra midyede uygulama konsantrasyonlarının kontrole kıyasla SOD aktivitelerinde anlamlı farkların oluştuğunu bildirmişlerdir. Ketenalp (2022), yaptığı çalışmada Lambda-Cyhalothrin pestisitinin subletal konsantrasyonlarına artan sıcaklıkta maruz bıraktıkları zebra midyede uygulama konsantrasyonlarının kontrol grubuna kıyasla inhibe olduğunu rapor etmiştir. Yapılan bu çalışmada malathion kirleticisine maruz bırakılan zebra midyede kontrole kıyasla farklı maruziyet süresi ve konsantrasyonlarda SOD aktivitesinin istatistiksel açıdan anlamlı bir değişiklik içerdiği tespit edilmiş bu yönüyle literatürdeki çalışmalarla paralellik gösterdiği belirlenmiştir.

Hidrojen peroksit, bir radikal olmamasıyla birlikte, biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile tepkimeye girmemesine rağmen, Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde fenton reaksiyonu ile en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali (OH[•]) oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır (Cheung ve ark., 2001; Karabulut ve Gülay, 2016; Pak, 2019). Bu fonksiyonu nedeniyle ortamdan elimine edilmesi gerekmektedir. H₂O₂'nin hücre içinde yıkımını temin eden enzimlerden biri katalaz enzimidir. Katalaz enzimi H₂O₂'den kaynaklı oksidatif hasarı yok eden kuvvetli bir antioksidandır (Kuru, 2007; Pak, 2019).

Çoğu organizmada, reaktif oksijen türlerinin detoksifikasyonunda (SOD, CAT) yer alan ana enzimler sucul organizma dokularında bol miktarda bulunur (Ishibe ve ark., 2008). CAT enzimi çoğu organizmada olduğu gibi sucul organizmalarda da antioksidan mekanizmada detoksifikasyon enzimi görevi görerek, H_2O_2 'yi moleküler oksijen ve suya dönüştürür. Böylece SOD ve CAT enzimleri oksidatif toksisiteye karşı savunma sisteminin ilk adımını oluştururlar (Asagba ve ark., 2008). Bundan dolayı SOD ve CAT aktivitelerinde eşzamanlı bir yanıt beklenir ve birbirleriyle tanımlı olarak hareket ederler (Cao ve ark., 2012). CAT konsantrasyonlarındaki değişiklikler, hücrelerin antioksidan savunma sisteminin aktivasyonundan kaynaklanabilir. Katalaz konsantrasyonundaki bir artış, kirleticinin olumsuz etkilerini nötralize etme girişiminde hücrenin bir tepkisi olarak yorumlanabilir (Wu ve ark., 2016). Hücrelerin karşılaştığı stres seviyelerinin belirli türlere ve stres etkeninin konsantrasyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (Shao ve ark., 2008); bazı durumlarda, CAT maruz kalma konsantrasyonuna göre artabilir (Li ve ark., 2006) veya yanıt kapasitesi aşılsa azalabilmektedir (Tripathi ve ark., 2006).

Ruiz ve ark. (2015), CuO-NP'ne kısa sürede maruz bıraktıkları akdeniz midyelerinde kontrol grubuna kıyasla CAT enzim aktivitelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Ertürk ve Gürkan (2021), gamma aleminyum oksit nanopartikülüne maruz bıraktıkları akdeniz midyelerinde CAT enzim aktivitesinin kontrole kıyasla değişmediğini bildirmişlerdir. Canlı ve Canlı (2021), *U. tigridis*'i Al_2O_3 , CuO, TiO_2 'e maruz bırakmışlardır. Kontrole kıyasla kirleticilere maruz kalan *U. tigridis*' te CAT enzim aktivitesinde azalmanın olduğunu bildirmişlerdir. Serdar, (2021) yaptığı çalışmada zebra midyeyi cyfluthrin etken maddeli pestisite maruz bırakmış bazı antioksidan seviyelerini araştırmıştır. Cyfluthrin pestisitinin *D. polymorpha*'da CAT enzim aktivitesi, kontrole kıyasla stres altındaki organizmalar tarafından inhibe edildiğini bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada da malathion kirleticisine maruz bırakılan *D. polymorpha*'da kontrole kıyasla farklı maruziyet süresi ve konsatrasyonlarda CAT aktivitesinin istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde arttığı tespit edilmiştir.

GPx enzimi 84000 dalton molekül ağırlığında olup her bir molekül başına 4 atom selenyum içerir. GPx hidrojen peroksidi glutatyon varlığında suya katalizler. GPx enzimi H_2O_2 ve lipid peroksidasyonunda zincir kırıcı etkiyi katalizler. GPx enzimi reaksiyon sırasında indirgenmiş GSH elektron alıcısı olarak kullanır ve oluşan okside glutatyon (GSSG) NADPH bağımlı GSH-Rd enzimi tarafından rejenere edilir (Ak ve ark., 1994; Yanbeyi, 1999).

GPx, sucul organizmaların antioksidan savunma sisteminde yer alır. Serbest radikalleri ve diğer ROT uzaklaştırmada, serbest radikal temizlemeyi hızlandırmada ve lipid peroksidasyonunun oluşumunu azaltmada önemli bir rol oynar (Hussain ve ark., 2003; Piner, 2009).

Ruiz ve ark. (2015), CuO-NP'ne kısa sürede maruz bıraktıkları *Mytilus galloprovincialis* midyelerinde kontrol grubuna kıyasla GPx enzim aktivitelerinde artış olduğunu bildirmişlerdir. Gomes ve ark. (2011), CuO-NP'ne maruz bıraktıkları *Mytilus galloprovincialis*'te GPx enzim aktivitesinin kontrole kıyasla CuO-NP uygulama gruplarında arttığını bildirmişlerdir. Serdar (2021), yaptığı çalışmada zebra midye (*D. polymorpha*)'yi cyfluthrin etken maddeli pestisite maruz bırakarak, bazı antioksidan seviyelerini araştırmıştır. Cyfluthrin pestisitinin *D. polymorpha*'da GPx enzim aktivitesi, kontrole kıyasla stres altındaki organizmalar tarafından inhibe edildiğini bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada ise malathion kirleticisine maruz bırakılan *D. polymorpha*'da kontrole kıyasla farklı maruziyet süresi ve konsantrasyonlarda GPx aktivitesinin inhibe edildiği tespit edilmiştir.

Probiyotikler, belirli bir kısmı besin değerlerinin ötesinde faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalardır (Ringø ve ark., 2018). Bu bakterilerin özelliklerinden biri, sindirim sisteminin sağlam ortamında hayatta kalabilme, sindirim sisteminin uygun bölgesine yerleşebilme, tutunma ve kolonizasyon yeteneğidir (Li ve ark., 2019). Bağırsak yolunda kolonizasyon üzerine, konak fizyolojisini etkileyebilecek çeşitli metabolitler üreteceklerdir (Van Doan ve ark., 2020). Bu metabolitlerin, farklı balık ve kabuklu su ürünleri türlerinde hastalık direncinin yanı sıra bağışıklık tepkisini de modüle edebildiği bildirilmiştir (Hoseinifar ve ark., 2020). Ayrıca probiyotikler, rekabetçi dışlama yoluyla patojenleri ortadan kaldırabilir (Ringø ve ark., 2018). Su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinde ciddi hastalıkları önlemek için çevre dostu bir çözüm olarak probiyotiklerin kullanımı son yıllarda çarpıcı bir şekilde artmıştır (Irianto ve Austin, 2002; Verschuere ve ark., 2000; Wang ve ark., 2015). Çok sayıda çalışma, probiyotiklerin balıkların büyüme performansını, yem kullanımını ve bağışıklık tepkilerini iyileştirme yeteneğini göstermiştir (Akrami ve ark., 2013; Verschuere ve ark., 2000).

Probiyotiklerin ROT üretiminde yer alan ve oksidatif metabolizmada önemli rol oynayan (Trinder ve ark., 2015), Siklo-oksijenaz (COX) ekspresyonunu azaltabildiği (Hussain ve ark., 2003; Brzozowski ve ark., 2006), sitokrom P450 (CYP) enzimlerinin ekspresyonunu azalttığı (Trinder ve ark., 2015; Salem ve ark., 2018) bildirilmiştir.

Oksidatif stresin yanı sıra antioksidan enzimlerin işlevi göz önüne alındığında, probiyotiklerin antioksidan enzim aktivitesi üzerindeki olası etkilerini aydınlatmak için çeşitli araştırmalar yapılmıştır (Hoseinifar ve ark., 2020). Anti-hastalık yeteneği genellikle balıkların immünolojik yanıtında probiyotikler için bir seçim kriteri olarak kullanılmıştır.

Zang ve ark. (2017), yaptıkları çalışmada, *L. delbrueckii* ve *A. hydrophila* probiyotikleri ile besledikleri balıklarda, enfeksiyona karşı dirençlerinin arttığını bildirmişlerdir. Wang ve ark. (2019), probiyotik uyguladıkları Atlantik somonunun büyüme performansı, yem kullanımı, bağışıklık tepkisi ve antioksidan kapasitesi üzerinde önemli ($p<0.05$) etkilere sahip olduğunu ve ölüm oranının önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Gobi ve ark. (2018), *Oreochromis mossambicus*'ta serum ve mukustaki büyüme performansı, bağışıklık parametreleri ve antioksidan enzim aktiviteleri ve ayrıca *Aeromonas hydrophila*'ya karşı direnç üzerinde değerlendirmişlerdir. Balıklara 4 hafta boyunca probiyotik içeren diyetin nihai ağırlık, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranı, toplam protein, alkalın fosfataz, miyeloperoksidaz, lizozim, reaktif bağışıklık parametreleri açısından büyüme performanslarını, serum ve mukustaki ROT'ları, reaktif nitrojen türleri (RNS) ile SOD ve GPx antioksidan biyobelirteç parametreleri ile değerlendirmişlerdir. Probiyotiklerle beslenen balıkların nihai ağırlık, spesifik büyüme oranı, yem dönüşüm oranının önemli ($p<0.05$) ölçüde iyileştiğini bildirmişlerdir. Alkalın fosfataz, miyeloperoksidaz, lizozim, reaktif bağışıklık parametrelerinin mukustaki aktiviteleri probiyotik ile beslenen balıklarda anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca serumdaki TP, ROT, RNS, SOD ve GPx, probiyotik takviyeli beslenen balıklarda anlamlı ($p<0.05$) olarak daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Lee ve ark. (2013), *Anguilla japonica*'da *Lactobacillus pentosus* PL11'in diyet uygulamasının büyüme performansı, bağışıklık ve antioksidan sistemler üzerindeki etkinliğini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmada, CAT ve SOD aktivite seviyelerinde önemli bir artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Liu ve ark. (2017), sucul ortamından izole edilen *Bacillus subtilis* HAINUP40'ın probiyotik özellikleri diyet uygulamasıyla *Oreochromis niloticus* büyüme performansı, bağırsak probiyotik iyileşmesi, sindirim enzim aktiviteleri, doğuştan gelen bağışıklık ve hastalık direnci üzerindeki etkileri değerlendirmişlerdir. Toplam antioksidan kapasitesi (T-AOC) ve serum süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin önemli ($p<0.05$) ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Liu ve ark. (2014), beyaz karides üzerinde *B. subtilis*'in oral uygulamasının SOD aktivitesini önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir. Benzer şekilde, Dawood ve ark. (2016), yaptıkları

çalışmada çipuranın *Lactobacillus rhamnosus* takviyesi ile beslenmesi, Zhang ve ark. (2013), çipuranın *Bacillus licheniformis* takviyeli beslenmesi ile önemli ölçüde daha yüksek SOD aktivitesinin olduğu rapor edilmiştir. Reyes-Becerril ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada, *Debaryomyces hansenii* takviyeli besleme ile *Leopard grouper*'ın bağışıklık tepkisi ve enfeksiyona karşı dirençleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Antioksidan enzim (SOD ve CAT) aktivitesinin balıklarda önemli ($p<0.05$) ölçüde arttığını bildirmişlerdir. Reyes-Becerril ve ark. (2011), yaptıkları başka bir çalışmada, canlı maya *Debaryomyces hansenii* strain CBS 8339'un leopar orfoz *Mycteroperca rosacea*'da bağışıklık ve antioksidan sistemler üzerindeki etkinliğini belirlemişlerdir. Süperoksit dismutaz ve katalaz (CAT) aktiviteleri maya takviyesi ile besledikleri balık gruplarında önemli ölçüde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Tovar-Ramírez ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada, *Dicentrarchus labrax*'a *Debaryomyces hansenii* katkılı besleme yaparak enzimatik/antioksidan durumu üzerindeki etkisini belirlemişlerdir. *D. hansenii* ile beslenen grup, kontrole kıyasla daha yüksek büyüme ve daha düşük GPx ve SOD aktivitelerine sahip olduklarını bildirmişlerdir. Fernández-Díaz ve ark. (2006), SOD, CAT ve GPX'in, mikrokapsüllü bir diyetle kıyasla, *Solea senegalensis* larvaları artemia ile beslendiğinde beslenme ve yaşa bağımlı olarak tepki gösterdiğini öne sürmüşlerdir. Kalaimani ve ark. (2008), *Lates calkariifer* larvalarında *Artemia nauplii* yem konsantrasyonunun 25 dph'de 15'ten arttığında CAT aktivitesinin arttığını gözlemlemiştir. Yi ve ark. (2018), *B. velezensis* JW'nin probiyotik potansiyelini deneysel ve genomik analiz yaklaşımlarıyla değerlendirdiği çalışmada glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesini önemli ölçüde arttırdığını bildirmişlerdir. Benzer sonuçları Rahimnejad ve ark. (2018), kaya balıklarında (*Sebastes schlegeli*), Zhang ve ark. (2017), *Cyprinus carpio*'da rapor etmişlerdir.

Probiyotikler, fagositik aktiviteyi artırabilir ve makrofajlar tarafından reaktif oksijen metabolitlerinin üretimini artırabilir, ardından CAT aktivitesinin artan bir stimülasyonu takip edebilir (Panigrahi ve ark., 2004; Reyes-Becerril ve ark., 2008). Yapılan bu çalışmada, probiyotik ile muamele edilen gruplarda probiyotik uygulanmayan gruplara kıyasla biyobelirteçler olan SOD, CAT, GPx aktivitelerinde ve MDA ile GSH seviyelerinde istatistiksel açıdan anlamlı farklar tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen veriler literatürdeki çalışmalara paralellik göstermektedir.

Sucul organizmalarda herhangi bir ksenobiyotik histopatolojik hasarı üzerine birçok çalışma yapılmıştır.

Midye örneklerinde dokulardaki histopatolojik değişiklikler dört aşamalı yarı kantitatif bir değerlendirmeye

- 0; normal görünüm,
 - 1; hafif değişiklikler,
 - 2; orta değişiklikler,
 - 3; şiddetli değişiklikler
- göre skorlanmıştır.

Bulut (2010), yaptığı çalışmada, Gökkuşığı alabalıklarına 0,5 ve 3,0 mg/L bakır sülfat uygulamış, çalışmanın histopatolojik verilerine göre; karaciğerde sinuzoidal boşluklar, venalarda konjesyon, damarlarda hasar ve hepatositlerde dejenerasyon olduğunu bildirmişlerdir. Bakır sülfatın en düşük dozunun uygulandığı grupta kas dokularında dejenerasyon görülmüş, solungaç lamellalarında, pilar ve epitel hücrelerde dejenerasyon, interlamellar alanlarda lenfoid ve mononükleer hücre infiltrasyonu, nekroz ve dökülmelerden dolayı lamellaların bütünlüğünü kaybettiğini gözlemlemiştir. Saed (2020), yaptığı çalışmada, piriproksifen, imazamoks ve himeksazolün pestisitlerinin subletal konsantrasyonlarına 96 saat boyunca maruz bıraktıkları gökkuşığı alabalıklarında pestisitlere maruz bırakılan balıkların solungaç, karaciğer, böbrek ve dalak dokularında lezyonlar tespit etmişlerdir. Korkmaz (2013), yaptığı çalışmada, organofosfatlı (OP) pestisitlerden diazinonun iki farklı derişimine maruz bıraktıkları pullu sazanlarda histopatolojik değişiklikleri incelemiş, histopatolojik muayenede, karaciğer dokusunda safra kanalları ve sinuzoidlerde dilatasyon, konjesyon, lenfosit infiltrasyonu, nekrozlar ve pigment birikimlerinin varlığı saptamıştır. Testis dokularında dejenerasyonlar, konjesyon ve fibrosizasyon rastlamıştır. Ovaryum dokularında ise oositler arasında adezyonlar ve oositlerin sitoplazmalarında nekrozlar olduğunu saptamıştır. Gergit (2016), yaptığı çalışmada, etken maddesi linuron olan herbisitinin gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'nın karaciğer ve solungaç dokuları üzerindeki histopatolojik verilerinde karaciğer dokularında dejeneratif ve nekrotik değişiklikler görülürken, solungaç dokularında ise hücresel infiltrasyonlar ve dejeneratif değişiklikler gözlemlendiğini bildirmiştir. Boran (2009), yaptığı çalışmada maneb ve karbarilin pestisitlerine maruz bıraktığı gökkuşığı alabalıklarının histopatolojik değerlendirmesinde, solungaç lamellerinde ödem oluşumuna, lamellerden epitelyumların ayrılmasına, lamellerin birleşmesine, epitel hücrelerinin şişmesine ve epitel hücre nekrozlarına neden olduğunu bildirmiştir. Ayrıca balıkların karaciğer, dalak ve böbrek dokularında sıvı birikimi, dalak ve böbrekteki melanomakrofaj

merkezlerinde artış ve bu organların bazı kısımlarında nekrotik odaklar tespit ettiklerini bildirmiştir. Yapılan bu çalışmada da, malathion kirleticisinin letal konsantrasyonlarına oranla subletal uygulama konsantrasyonlarına doğrudan ve dolaylı olarak maruz bırakılan *D. polymorpha* organizmasında artan kirletici konsantrasyon miktarına paralel şekilde solungaç, sindirim bezi, testis dokularında histopatolojik hasar olduğu tespit edilmiştir. Probiyotik uygulanan grupların probiyotik uygulanmayan gruplara kıyasla histopatolojik hasarlarının daha düşük seviyede olduğu sonucu ile probiyotiğin bağışıklık sistemini güçlendirdiğini söyleyebiliriz.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kimyasal analizlere göre, biyobelirteç kullanılarak yapılan biyoizleme çalışmalarının, çevresel kirlilik kaynaklarının, ortamda bulunması ve ortam ile etkileşiminin etki potansiyeli hakkında bilgi verdiği görülmüştür.

Pestisitler, evsel ve endüstriyel atıklar vasıtasıyla tarım alanlarının çevresinde bulunan göl, akarsu, deniz gibi su kaynaklarına gerek doğrudan, gerekse toprağın yıkanması ve yağış suları gibi çeşitli yollarla taşınarak sularda kirlilik oluşturmaktadır. Çoğu pestisit gibi, malathion da hedef dışı organizmalara, sucul çevreye ve orada yaşayan canlılara istenmeyen olumsuz etkiler oluşturabilmektedir.

Hedef dışı organizmalardaki olumsuz etkiyi azaltmak için pestisit kullanımı yerine biyolojik mücadeleye önem verilmeli, probiyotik içerikli mikrobiyal gübre kullanımı yaygınlaştırılmalıdır..

İyi tarım uygulamaları ile kontrollü tarım yapılarak tarımsal zararlıların en aza indirgenmesi hedeflenmelidir. Hasat sürelerine dikkat edilerek, çiftçilerin birlikte ve bilinçli hareket etmeleri ile sucul çevre başta olmak üzere ekolojik hassasiyet oluşturulmalıdır.

Tarımsal üreticilere gerekli eğitimlerin verilerek, doğru ve yeterli uygulama yapmaları sağlanmalı ve pestisit kullanımı minimal düzeye indirgenip, hedef organizmaya uygulamaları sağlanmalıdır. Doz/konsantrasyon aşımından kaçınılmalıdır. Böylece pestisit kirliliğinin çevreye ve sulara karışması azaltılmış olacaktır.

Özellikle su kaynaklarına yakın alanda kullanılan malathion içerikli pestisitler başta olmak üzere her türlü zirai kimyasal uygulamalarında doğa dostu, kimyasal içeriği minimum olan ürünler tercih edilmelidir.

Pestisit içerikli kullanılmayan materyaller ile pestisitlerin ambalajları çevreye bırakılmamalıdır.

Sucul canlıların yaşadığı ya da özellikle yetiştiriciliğinin yapıldığı ortamlara kirletici girişi olma durumları göz önünde bulundurularak, olası olumsuz etkilerin en aza indirmek amacıyla probiyotik takviyesi yapılması fayda sağlayacaktır.

Probiyotiklerin sucul canlılar üzerindeki iyileştirici ve organizmalarda refah artırıcı etkisi üzerinde daha fazla çalışmalara yer verilerek, kullanımının yaygınlaşması sağlanmalıdır. Böylece yetiştiriciliği yapılan önemli türlerde hastalık durumunda kullanılan antibiyotik uygulamaları azalmış olacaktır.

6. KAYNAKLAR

- Abdel-Khalek, A.A., Kadry, M., Hamed, A., Marie, M. A.,** 2015. Ecotoxicological impacts of zinc metal in comparison to its nanoparticles in Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. *The Journal of Basic Applied Zoology*, 72:113-125.
- Afifi, M., Saddick, S., Zinada, O.A.A.,** 2016. Toxicity of silver nanoparticles on the brain of *Oreochromis niloticus* and *Tilapia zillii*. *Saudi journal of biological sciences*, 23(6):754-760.
- Ai, Q., Xu, H., Mai, K., Xu, W., Wang, J., Zhang, W.,** 2011. Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker *Larimichthys Crocea*. *Aquaculture*, 317:155-161.
- Ak, H., Dingiloğlu, T., Habif, N.,** 1994. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci*, 26:11-15.
- Akçanal Ödün, N., Serdar, O.,** 2022. Zebra midye (*Dreissena polymorpha*)'de malathionun akut toksisitesi (LC₅₀)'nin Belirlenmesi. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 7(3):269-273.
- Akkuş, İ.,** 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, Konya, 95s.
- Akrami, R., Iri, Y., Rostami, H.K., Mansour, M.R.,** 2013. Effect of dietary supplementation of fructooligosaccharide (FOS) on growth performance, survival, lactobacillus bacterial population and hemato-immunological parameters of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) juvenile. *Fish Shellfish Immunol*, 35:1235-1239.
- Alak, G., Atamanalp, M.,** 2012. Su ürünleri yetiştiriciliğinde probiyotik ve prebiyotik kullanımı. *Yüzüncü Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 22(1):62-68.
- Alak, G., Sönmez, A.Y., Hisar, O.,** 2011. Bazı pestisitlerin balıkların antioksidan enzim aktiviteleri üzerine etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 42:91-93.
- Alişer, A.B.,** 2020. Zebra Midyesi *Dreissena polymorpha*'nin kadmiyuma karşı bazı biyokimyasal yanıtları. *Yüksek Lisans Tezi* Munzur Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tunceli, 48s.
- Altıkat, A., Turan, T., Ekmekyapar Torun, F., Bingül, Z.,** 2013. Türkiye'de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2):87-92.
- Asagba, S.O., Eriyamremu, G.E., Igberaese, M.E.,** 2008. Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effect on selected issues of the catfish *Clarias gariepinus*. *Fish Phys. Biochem*, 34:61-69. doi:0.1007/s10695-007-9147-4.

- Atamanalp, M.,** 2000. Bir sentetik pretroit insektisitinin (Cypermethrin) subletal dozlarının gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)'na makroskopik, histopatolojik, hematolojik ve biyokimyasal etkisi. *Doktora Tezi*, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 131s.
- Atlı, G., Alptekin, O., Tükel, S., Canlı, M.,** 2006. Response of catalase activity to Ag^+ , Cd^{2+} , Cr^{6+} , Cu^{2+} and Zn^{2+} in five tissues of freshwater fish *Oreochromis niloticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 143:218-234.
- Avellini, L., Spaterna, A., Rebold, G.P., Gaiti, A.,** 1993. Defense mechanism against free radical-induced damage in sheep, cattle and dog erythrocytes. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 106:391-394.
- Aydın, A.N.,** 2018. Cyflutrin, dimethoate insektisitlerinin *Gammarus pulex* (L., 1758) üzerine letal konsantrasyonlarının (LC) belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Munzur Üniversitesi, Tunceli, 19s
- Aydın, R., Köprücü, K.,** 2005. Acute toxicity of diazinon on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82:220-225.
- Aydın, R., Köprücü, K., Dörücü, M., Köprücü, S.Ş., Pala, M.,** 2005. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae. *Aquaculture International*, 13(5):451-458.
- Balcázar, J.L., Blas, I., Zarzuela, I.R., Cunningham, D., Vendrell, D., Muzquiz, J.L.,** 2006. The role of probiotics in aquaculture. *Veterinary Mikrobiol*, 114:173-186.
- Bakal, N.H.,** 2010. Malathion İnsektisitinin *Poecilia reticulata* (Peters, 1859) Üzerindeki Akut Toksik Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*. Gazi Üniversitesi, Ankara, 56s.
- Baskın, F.S.,** 2019. Silisyum Dioksit Nanopartiküllerinin, Akdeniz Midyesi *Mytilus galloprovincialis* Lamarck, (1819) Dokuları Üzerindeki Toksik Etkilerinin Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi* Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, 64s.
- Batmaz, G.,** 2019. Zinc pyrithione'un iki tür tatlı su bivalvi üzerine ekotoksikolojik etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*. Gazi Üniversitesi, Ankara, 73s.
- Binelli, A., Della Torre, C., Magni, S., Parolini, M.,** 2015. Does zebra mussel *Dreissena polymorpha* represent the freshwater counterpart of *Mytilus* in ecotoxicological studies? A critical review. *Environmental pollution*, 196:386-403.
- Boran, H.,** 2009. Maneb ve karbaril aktif maddelerini içeren pestisitlerin gökkuşığı alabalıkları *Oncorhynchus mykiss* üzerine olan histopatolojik etkilerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Karadeniz Teknik Üniversitesi/Fen Bilimleri Enstitüsü. Trabzon 64s.
- Bozat, R.C.,** 2017. Nanopartiküler Titanyum Dioksitinin *Oreochromis niloticus*'un Solungaç Doku Enzimatik Antioksidanlarına Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Adıyaman Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman, 67s.

- Brooks, S., Lyons, B., Goodsir, F., Bignell, J., Thain, J.,** 2009. Biomarker responses in mussels, an integrated approach to biological effects measurements. *Journal of toxicology and environmental health*, 72(3-4):196-208.
- Brzozowski, T., Konturek, P.C., Mierzwa, M., Drozdowicz, D., Bielanski, W., Kwiecien, S., Konturek, S. J., Stachura, J., Pawlik, W.W., Hahn, E.G.,** 2006. Effect of probiotics and triple eradication therapy on the cyclooxygenase (COX)-2 expression, apoptosis, and functional gastric mucosal impairment in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils. *Helicobact*, 11(1):10-20.
- Bulut, C.,** 2010. Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ve formaldehit (CH_2O)'in gökkuşağı alabalıklarında *Oncorhynchus mykiss* histopatolojik ve hematolojik etkilerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Su ürünleri Yetiştiriciliği Anabilim Dalı, Isparta 127s.
- Cabello, F.C.,** 2006. Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. *Environmental Microbiology*, 8:1137-1144.
- Canlı, E.G., Canlı, M.,** 2021. Antioxidant system biomarkers of freshwater mussel (*Unio tigris*) respond to nanoparticle (Al_2O_3 , CuO , TiO_2) exposures. *Biomarkers*, 26(1):1-27.
- Cao, L., Huang, W., Shan, X., Ye, Z. Dou, S.,** 2012. Tissue-specific accumulation of cadmium and its effects on antioxidative responses in Japanese flounder juveniles. *Environ. Toxicol. Pharmacol*, 33:16-25.
- Cheung, C.C.C., Zheng, G.J., Li, A.M.Y., Richardson, B.J. Lam, P.K.S.,** 2001. Relationship between tissue concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and antioxidative responses of marine mussels, *Perna perna*. *Aquat Toxicol*, 52(3-4):189-203.
- Cold, A., Forbes V.E.,** 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquatic Toxicology*, 67(3):287-299.
- Correi, A.D., Livingstone, D.R., Costa, M.H.,** 2002. Effects of water-borne copper on metallothionein and lipid peroxidation in the marine amphipod *Gammarus locusta*. *Marine environmental res*, 54(3-5):357-360.
- Cross, M.L.,** 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 34:245-253.
- Çimen D.,** 2011. Aroclor1242'nin *Daphnia magna* starus, 1820 (Su Piresi) Üzerine 72 saatlik Akut Toksikite Etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi, İzmir, 44s.
- Dawood, M.A., Koshio, S., Ishikawa, M., El-Sabagh, M., Esteban, M.A., Zaineldin, A.I.,** 2016. Probiotics as an environment-friendly approach to enhance red sea bream, *Pagrus major* growth, immune response and oxidative status. *Fish Shellfish Immunology*, 57:170-178.

- De Zwart, L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur, J.N.M., Vermeulen, N.P.E., 1999.** Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 26:202-226.
- Demirci, Ö., 2018.** İmidakloprit ve Asetamiprit'in *Gammarus kischineffensis* (Amphipoda: Crustacea) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Değerlendirilmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3):85-92.
- Di Giulio, R.T., Habig, C., Gallagher, E.P., 1993.** Effects of Black Rock Harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish. *Aquatic Toxicology*, 26(1-2):1-22.
- Didinen, B.I., Küçükkara, R., Özkök, R., Erol, R., Diler, Ö., Gülle, İ., Koca, S.B., Koca, H.U., Dullu, A., Ekici, S., 2008.** Probiyotik uygulamalarının *Astacus leptodactylus* yavrularının büyüme ve yasama oranı üzerine etkisi. *Tübitak Proje No: 1060353*, 9(1):1-68.
- Doğan, F.N., Karpuzcu, M.E., 2019.** Türkiye'de tarım kaynaklı pestisit kirliliğinin durumu ve alternatif kontrol tedbirlerinin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 25:734-747.
- DPT, 2008.** Gübre ve tarım ilaçları; Devlet Planlama Teşkilatı 2711. 9. Kimya Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu 20-23, Ankara, Türkiye.
- DSİ, 2012.** Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü. *Zebra Midye İle Mücadelede Filtrasyon ve Boya Denemeleri Sonuç Raporu*, Ankara, Türkiye.
- Ergüven, G.Ö., Serdar, O., Tanyol, M., Cıkcıkoglu Yildirim, N., Yildirim, N., Durmus, B., 2022.** The Bioremediation Capacity of *Sphingomonas melonis* for Methomyl Contaminated Soil Media: RSM Optimization and Biochemical Assessment by *Dreissena polymorpha*. *Chemistry Select*, 7:1-27.
- Ertürk G.S., Gürkan, M., 2021.** Toxicity of gamma aluminium oxide nanoparticles in the Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis*: histopathological alterations and antioxidant responses in the gill and digestive gland. *Biomarkers*, 26(3):248-259.
- European Commission, 2001.** European Commission Health & Consumer Protection Directorate-General. *Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the criteria for assessing the safety of micro-organisms resistant to antibiotics of human clinical and veterinary importance*, Brussel, Belgium.
- Falfushynska, H., Gnatyshyna, L., Yurchak, I., Sokolova, I., Stoliar, O., 2015.** The effects of zinc nanooxide on cellular stress responses of the freshwater mussels *Unio tumidus* are modulated by elevated temperature and organic pollutants. *Aquatic toxicology*, 162:82-93.
- Fernández-Díaz, C., Kopecka, J., Cañavate, J.P., Sarasquete, C., Solé, M., 2006.** Variations on development and stress defences in *Solea senegalensis* larvae fed on live and microencapsulated diets. *Aquaculture*, 251:573-584

- Firat, Ö.**, 2016. Cıva, cıva-selenyum ve cıva-zeolit karışımlarına bırakılan *Oreochromis niloticus*'ta cıvanın, dokulardaki birikimi ve GSH ile ilişkili enzim aktivitelerine etkisi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, *Doktora Tezi*, Adana, 101s.
- Fuller R.**, 1989. Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol*, 66:365-378.
- Ganguly, S., Paul, I., Mukhopadhyay, S.K.**, 2010. Application and effectiveness of immunostimulants, probiotics, and prebiotics in aquaculture: a review. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 62(3):130-138.
- Gergit A.**, 2016. Linuron'un Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) solungaç ve karaciğer dokuları üzerinde histopatolojik ve biyokimyasal etkilerinin araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi*, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 74s.
- Gnatyshyna, L., Falfushynska, H., Horyn, O., Khoma, V., Martinyuk, V., Mishchuk, O., Stoliar, O.**, 2019. Biochemical responses of freshwater mussel *Unio tumidus* to titanium oxide nanoparticles, Bisphenol A, and their combination. *Ecotoxicology*, 28(8):923-937.
- Gobi, N., Vaseeharan, B., Chen, J.C., Rekha, R., Vijayakumar, S., Anjugam, M., Iswarya, A.**, 2018. Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Dabhl improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish, shellfish immunology*, 74:501-508.
- Gomes, T., Pinheiro, J.P., Cancio, I., Pereira, C.G., Cardoso, C., Bebianno, M.J.**, 2011. Effects of copper nanoparticles exposure in the mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Environmental science technology*, 45(21):9356-9362.
- Greenfield, B.K., Teh, S.J., Ross, J.R., Hunt, J., Zhang, G., Davis, J.A., Teh, F.C.**, 2008. Contaminant concentrations and histopathological effects in Sacramento splittail *Pogonichthys macrolepidotus*, *Archives of environmental contamination and toxicology*, 55(2):270-281.
- Gündüz, T., Çukur, A.**, 1984. Hazar Gölü ağır metal kirlenmesi. *Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinin Su Kaynakları ve Sorunları Sempozyumu*, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, Haziran 11-15.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.**, 2015. Free radicals in biology and medicine, *Oxford University Press*, USA, 944p.
- Hernández-García, C.I., Martínez-Jerónimo, F.**, 2020. Multistressor negative effects on an experimental phytoplankton community. The case of glyphosate and one toxigenic cyanobacterium on Chlorophycean microalgae. *The Science of the total environment*, 717:137-186.
- Hoseinifar, S.H., Yousefi, S., Van Doan, H., Ashouri, G., Gioacchini, G., Maradonna, F., Carnevali, O.**, 2020. Oxidative stress and antioxidant defense in fish: the implications of probiotic, prebiotic, and synbiotics. *Reviews in Fisheries Science Aquaculture*, 29(2):198-217.
- Hussain, T., Gupta, S., Mukhtar, H.**, 2003. Cyclooxygenase-2 and prostate carcinogenesis. *Cancer Lett*, 191(2):125-135.

- Hussain, S., Shkker J.R, Willam., Ah, S.F.,** 1996. Role of metallothionein and other antioxidants in scavenging superoxide radicals and their possible role in neuroprotection. *Neurochemistry international*, 29(2):145-152.
- Irianto, A., Austin, B.,** 2002. Probiotics in aquaculture. *J. Fish Dis.* 25:633-642.
- Ishibe, K., Osatomi, K., Hara, K., Kanai, K., Yamaguchi, K., Oda, T.,** 2008. Comparison of the responses of peritoneal macrophages from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* against high virulent and low virulent strains of *Edwardsiella tarda*. *Fish & shellfish immunology*, 24(2):243-251.
- Kalaimani, K., Chakravarthy, N., Shanmugham, R., Thirunavukkarasu, A.R., Alavandi, S.V., Santiago, T.C.,** 2008. Anti-oxidant status in embryonic, post-hatch and larval stages of Asian seabass *Lates calcarifer*. *Fish Physiol. Biochem*, 34:151-158.
- Kappus, H.,** 1985. Lipid peroxidation: mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. *Oxidative stress*, 273, 273-310.
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş.,** 2016. Antioksidanlar. *MAE Vet Fakültesi Dergisi*, 1(1):65-76.
- Kaymak, G.,** 2017. Sapanca Gölü'nde ağır metal birikiminin balık dokularında biyokimyasal ve histopatolojik incelenmesi. *Doktora Tezi*. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Sakarya, 178s.
- Ketenalp, Z.,** 2022. Lambda-Cyhalothrin etken maddeli insektisit farklı sıcaklıklarda *Dreissena polymorpha*'da bazı biyokimyasal etkisinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*. Munzur Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tunceli, 102s.
- Khan, M.I., Khisroon, M., Khan, A., Gulfam, N., Siraj, M., Zaidi, F., Ahmadullah, Abidullah, Fatima, S.H., Noreen, S., Hamidullah, Shah, Z.A., Qadir, F.,** 2018. Bioaccumulation of heavy metals in water, sediments, and tissues and their histopathological effects on *Anodonta cygnea* (Linea, 1876) in Kabul River, Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *BioMed research international*, 1910274.
- Kinzelbach, R.,** 1992. The main features of the phylogeny and dispersal of the zebra mussel *Dreissena polymorpha* the zebra mussel *Dreissena polymorpha*, 4:5-17.
- Kohen, R., Nyska, A.,** 2002. Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicologic Pathology*, 30(6):620-650.
- Korkmaz, C.,** 2013. Pullu sazan *Cyprinus carpio*, L., 1758'da diazinon'un cinsiyet steroidleri ve vitellojenin düzeyleri üzerine etkileri ve histopatolojisi *Yüksek Lisans Tezi*, Mersin Üniversitesi, Mersin, 81s.
- Köprücü K., Aydın R.,** 2004. The toxic effects of pyrethroid deltamethrin on the common carp (*Cyprinus carpio* L.) embryos and larvae, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 80:47-53.

- Kurata, M., Suzuki, M., Agar, N.S.,** 1993. Antioxidant system and erythrocyte life span in mammals. *Comp. Biochem. Physiol. B*, 106:477-487.
- Kurath, G.,** 2008. Biotechnology and DNA vaccines for aquatic animals. *Revue Scientifique et Technique*, 27:175-196.
- Kuru, H.İ.,** 2007. Arseniğin insan ve bazı canlılarda oksidatif enzimler üzerine etkileri. *Yüksek Lisans Tezi*, Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya, 93s.
- Lee, J.S., Cheng, H., Damte, D., Lee, S.J., Kim, J.C., Rhee, M.H., Park, S.C.,** 2013. Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus pentosus* PL11 on the growth performance, immune and antioxidant systems of Japanese eel *Anguilla japonica* challenged with *Edwardsiella tarda*. *Fish & shellfish immunology*, 34(3):756-761.
- Leite, C., Coppola, F., Monteiro, R., Russo, T., Polese, G., Lourenço, M., Silva, M., Ferreira, P., Soares, A., Freitas, R., Pereira, E.,** 2020. Biochemical and histopathological impacts of rutile and anatase (TiO₂ forms) in *Mytilus galloprovincialis*. *The Science of the total environment*, 719(134886):1-16.
- Li, M., Hu, C., Zhu, Q., Chen, L., Kong, Z., Liu, Z.,** 2006. Copper and zinc induction of lipid peroxidation and effects on antioxidant enzyme activities in the microalga *Pavlovaviridis* (Prymnesiophyceae). *Chemosphere*, 62:565-572.
- Liu, H., Li, Z., Tan, B., Lao, Y., Duan, Z., Sun, W., Dong, X.,** 2014. Isolation of a putative probiotic strain S12 and its effect on growth performance, non-specific immunity and disease-resistance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & shellfish immunology*, 41(2):300-307.
- Liu, H., Wang, S., Cai, Y., Guo, X., Cao, Z., Zhang, Y., Zhou, Y.,** 2017. Dietary administration of *Bacillus subtilis* HAINUP40 enhances growth, digestive enzyme activities, innate immune responses and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & shellfish immunology*, 60:326-333.
- Li, X., Ringø, E., Hoseinifar, S.H., Lauzon, H., Birkbeck, H., Yang, D.,** 2019. Adherence and colonisation of microorganisms in the fish gastrointestinal tract. *Rev Aquacult.* 11(3):603-618.
- Lin, M.Y., Yen, C.L.,** 1999. Antioxidative ability of lactic acid bacteria. *J Agric Food Chem*, 47(4):1460-1466.
- Lin, C.C., Yang, C.C., Wang, C.Y., Tseng, H.C., Pan, C.S., Hsiao, L.D., Yang, C.M.,** 2015. NADPH oxidase/ROS-dependent VCAM-1 induction on TNF- α -challenged human cardiac. Hoseinifar S.H. et al. Fibroblasts enhances monocyte adhesion. *Front Pharmacol*, 6:310 doi:10.3389/fphar.2015.00310
- Livingstone, D.R.,** 2003. Oxidative stress in aquatic organisms in relation to pollution and aquaculture. *Revue de Medecine Veterinaire*, 154(6):427-430.
- Lushchak, V.I.,** 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic toxicology*, 101(1):13-30.

- Meister, A., Anderson, M.E.,** 1983. Glutathione. *Ann. Rev. Biochem*, 52:711-760.
- Messaoudi, I., Barhoumi, S., Saïd, K., Kerken, A.,** 2009. Study on the sensitivity to cadmium of marine fish *Salaria basilisca* (Pisces: Blennidae). *Journal of Environmental Sciences*, 21(11):1620-1624.
- Mohapatra, S., Chakraborty, T., Kumar, V., DeBoeck, G., Mohanta, K.N.,** 2013. Aquaculture and stress management: a review of probiotic intervention. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97(3):405-430.
- Morelli, L., Zonenschain, D., Callegari, M.L., Grossi, E., Maisano, F., Fusillo, M.,** 2003. Assessment of a new synbiotic preparation in healthy volunteers: survival, persistence of probiotic strains and its effect on the indigenous flora. *Nutrition Journal*, 2:11-16.
- Nishida, Y.,** 2011. The chemical process of oxidative stress by copper (II) and iron (III) ions in several neurodegenerative disorders. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, 142(4):375-384.
- Oruç, E.O., Sevgiler, Y. Üner, N.,** 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2,4-D and azinphosmethyl. *Comparativ Biochemistry Physiology*, 137:43-51.
- Özden, S.,** 2006. Bazı pestisidlerin oksidatif stres oluşturma potansiyellerinin ve antioksidan sistemler üzerine etkilerinin sıçanlarda araştırılması, *Doktora Tezi*, İstanbul Üniversitesi, İstanbul. 174s.
- Pak, F.,** 2019. Farklı konsantrasyonlarda kadmiyum ve bakır iyonlarına maruz bırakılan sarıağız balığının *Argyrosomus regius* bazı dokularındaki antioksidant Enzim aktivitelerinin incelenmesi, *Doktora Tezi*, Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Isparta. 148s.
- Panigrahi, A., Azad, I.S.,** 2007. Microbial intervention for better fish health in aquaculture the Indian scenario. *Fish Physiology and Biochemistry*, 33:429-444
- Panigrahi, A., Kiron, V., Kobayashi, T., Puangkaew, J., Satoh, S., Sugita, H.,** 2004. Immune responses in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* induced by a potential probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136. *Vet. Immunol. Immunop*, 102:379-388.
- Parker, R.B.,** 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition Health*, 29:4-8.
- Pena-Llopis, S., Pena, J.B., Sancho, E., Fernandez-Vega, C., Ferrando, M.D.,** 2001. Glutathione-dependent resistance of the European eel *Anguilla anguilla* to the herbicide molinate. *Chemosphere*, 45(4-5):671-681.
- Pena-Llopis, S., Ferrando, M.D. ve Pena, J.B.,** 2003. Fish tolerance to organophosphate induced oxidative stress is dependent on the glutathione metabolism and enhanced by N-acetylcysteine. *Aquatic Toxicology*, 65:337-360.

- Piner, P.,** 2009. Lambda-Cyhalothrinin *Oreochromis niloticus*'da karaciğerde pipeonil bütosit modülatörlüğünde oksidatif stres potansiyelinin belirlenmesi, stres proteinleri ve apoptozis üzerine etkileri. *Doktora Tezi*, Çukurova Üniversitesi, Adana, 102s.
- Pinto, J., Costa, M., Leite, C., Borges, C., Coppola, F., Henriques, B., Monteiro, R., Russo, T., Di Cosmo, A., Soares, A., Polese, G., Pereira, E., Freitas, R.,** 2019. Ecotoxicological effects of lanthanum in *Mytilus galloprovincialis* biochemical and histopathological impacts. *Aquatic toxicology*, 211:181-192.
- Poleksic, V., Lenhardt, M., Jaric, I., Djordjevic, D., Gacic, Z., Cvijanovic, G., Raskovic, B.,** 2010. Liver, gills, and skin histopathology and heavy metal content of the Danube sterlet *Acipenser ruthenus* Linnaeus 1758. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 29(3):515-521.
- Politakis, N., Belavgeni, A., Efthimiou, I., Charalampous, N., Kourkouta, C., Dailianis, S.,** 2018. The impact of expired commercial drugs on non-target marine species: A case study with the use of a battery of biomarkers in hemocytes of mussels. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148:160-168.
- Rahman, I., Biswas, S. K., Kode, A.,** 2006. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. *Eur J. Pharmacol*, 533(1-3):222-239.
- Rahimnejad, S., Guardiola, F.A., Leclercq, E., Esteban, M.Á., Castex, M., Sotoudeh, E., Lee, S.M.,** 2018. Effects of dietary supplementation with *Pediococcus acidilactici* MA18/5M, *galactooligosaccharide* and their synbiotic on growth, innate immunity and disease resistance of rockfish *Sebastes schlegeli*. *Aquaculture*, 482:36-44.
- Ramakrishnan C.M., Haniffa M.A., Manohar M., Dhanaraj M., Arockiaraj A.J., Seetharaman S., Arunsingh, S.V.,** 2008. Effects of probiotics and spirulina on survival and growth of juvenile common carp *Cyprinus carpio*. *Isr. J. Aquac.Bamidgeh*, 60(2):128-133.
- Reyes-Becerril, M., Tovar-Ramírez, D., Ascencio-Valle, F., Civera-Cerecedo, R., Gracia-López, V., Barbosa-Solomieu, V.,** 2008. Effects of dietary live yeast *Debaryomyces hansenii* on the immune and antioxidant system in juvenile leopard grouper *Mycteroperca rosacea* exposed to stress. *Aquaculture*, 280(1-4):39-44.
- Reyes-Becerril, M., Tovar-Ramírez, D., Ascencio-Valle, F., Civera-Cerecedo, R., Gracia-Lopez, V., Barbosa-Solomieu, V., Esteban, M.A.,** 2011. Effects of dietary supplementation with probiotic live yeast *Debaryomyces hansenii* on the immune and antioxidant systems of leopard grouper *Mycteroperca rosacea* infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquac Res*, 42(11):1676-1686.
- Ringø, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Van Doan, H., Beck, B.R., Song, S.K.,** 2018. Lactic Acid Bacteria in Finfish-An Update. *Frontiers in Microbiology*, 9(1818):1-37.

- Roméo, M., Bennani, N., Gnassia-Barelli, M., Lafaurie, M. Girard, J.P., 2000.** Cadmium and copper display different responses towards oxidative stress in the kidney of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Aquatic Toxicology*, 48(2-3):185-194.
- Ross, M.H, Reith, E.J, Romrell, L.J. 1989.** Histology: a text and atlas. 2nd ed. Williams and Wilkins: Baltimore, USA., ISBN-13: 9780683073683, 783s.
- Ruiz, P., Katsumiti, A., Nieto, J.A., Bori, J., Jimeno-Romero, A., Reip, P., Cajaraville, M.P., 2015.** Short-term effects on antioxidant enzymes and long-term genotoxic and carcinogenic potential of CuO nanoparticles compared to bulk CuO and ionic copper in mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Marine environmental research*, 111:107-120.
- Saed, M.A.R., 2020.** Bazı pestisitlerin gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss*) biyokimyasal, histopatolojik ve genotoksik etkilerinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Kastamonu Üniversitesi, Kastamonu, 70s.
- Salem, R., El-Habashi, N., Fadl, S.E., Sakr, O.A., Elbially, Z.I., 2018.** Effect of probiotic supplement on aflatoxicosis and gene expression in the liver of broiler chicken. *Environ Toxicol Pharmacol*, 60:118-127.
- Saygi, Ş., 2003.** Deneysel toksikolojide toksisite testleri ve test sonuçlarının önemi. *Gülhane Tıp Dergisi (GTD) Gülhane Medical Journal, (GMJ)*, 291s.
- Sayım, F., Akyurtlaklı, N., 1999.** Malathion (organik fosforlu insektisit)'un 25. evre *Rana ridibunda* (Amphibia: Anura) larvaları üzerindeki akut toksisitesi. *Su Ürünleri Dergisi*, 16(1-2):19-29.
- Serdar O., 2019.** The effect of dimethoate pesticide on some biochemical biomarkers in *Gammarus pulex*. *Environmental science and pollution research international*, 26(21):21905-21914.
- Serdar, O., 2021.** Determination of the Effect of Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel *Dreissena polymorpha* by Some Antioxidant Enzyme Activities. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 6(1):77-83.
- Serdar, O., Aydın, R., Söylemez, H., 2021a.** Effect of Beta-Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 7(3):462-471.
- Serdar, O., Yıldırım, N., Tatar, Ş., Yıldırım, N.C., 2021b.** Gadolinyumun Tatlı Su Omurgasız *Dreissena polymorpha* Üzerindeki Biyokimyasal Etkileri. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 7(2):229-236.
- Serdar, O., Yildirim, N.C., Tatar, S., Yildirim, N., Ogedey, A., 2018.** Antioxidant biomarkers in *Gammarus pulex* to evaluate the efficiency of electrocoagulation process in landfill leachate treatment. *Environmental science and pollution research international*, 25(13):12538-12544.
- Shao X.P., Liu, W.B., Lu, K.L., Xu, W.N., Zhang, W.W., Wang, Y., Zhu, J., 2012.** Effects of tribasic copper chloride on growth copper status antioxidant activities

immune responses and intestinal micro flora of blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) fed practical diets. *Aquaculture*, 338(341):154-159.

Slaninova, A., Smutna, M., Modra, H., Svobodova, Z., 2009. Reviews Oxidative stress in fish induced by pesticides, *Neuroendocrinology Letters*, 30(1):2.

Söylemez, H., Serdar, O., Aydın, R., 2021. Effect of Beta-Cyfluthrin Pesticide on Zebra Mussel *Dreissena polymorpha*. *International Journal of Pure and Applied Sciences*, 7(3):462-471.

Şahinkuşu, F., 2018. Malathion insektisitinin *Gammarus pulex* (L., 1758) üzerine akut toksisitesinin belirlenmesi. *Yüksek Lisans Tezi*, Munzur Üniversitesi, Tunceli, 23s.

Tatar, Ş., Serdar, O., Yıldırım, N.C., 2019. Kongo kırmızısına maruz bırakılan tatlı su *Amphipodu Gammarus pulex*'in Antioksidan ve detoksifikasyon sistemindeki değişiklikler. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(2):76-81.

Tatar, Ş., Türkmenoğlu, Y., 2020. Investigation of antioxidant responses in *Gammarus pulex* exposed to Bisphenol a. *Environmental science and pollution research international*, 27(11):12237-12241.

Tiryaki, O., 2016. Türkiye’de yapılan pestisit kalıntı analiz ve çalışmaları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 32(1):72-82.

Tovar-Ramírez, D., Mazurais, D., Gatesoupe, J.F., Quazuguel, P., Cahu, C.L., Zambonino-Infante, J.L., 2010. Dietary probiotic live yeast modulates antioxidant enzyme activities and gene expression of sea bass *Dicentrarchus labrax* larvae. *Aquaculture*, 300(1-4):142-147.

Trinder, M., Bisanz, J., Burton, J., Reid G., 2015. Probiotic *lactobacilli*: a potential prophylactic treatment for reducing pesticide absorption in humans and wildlife. *Benef Microbes*, 6(6):841-847.

Tripathi, B.N., Mehta Anshu Amar, S.K., Gaur, J.P., 2006. Oxidative stress in *Scenedesmus* sp. during short- and long-term exposure to Cu²⁺ and Zn²⁺. *Chemosphere*, 62(4):538-544.

Tutus, R., 2016. *Oreochromis niloticus*’ un karaciğer dokusundaki antioksidan sistemler ve lipid peroksidasyonu üzerine chlorpyrifos, emamectin benzoate ve abamectin türü pestisitlerin etkileri. *Yüksek Lisans Tezi.*, Adıyaman Üniversitesi, Adıyaman, 88s.

Uluturhan, E., Darılmaz, E., Kontas, A., Bilgin, M., Alyuruk, H., Altay, O., Sevgi, S., 2019. Seasonal variations of multi-biomarker responses to metals and pesticides pollution in *M. galloprovincialis* and *T. decussatus* from Homa Lagoon, Eastern Aegean Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 141:176-186.

Ural, M.S., Koprucu, S.S. 2006. Acute toxicity of dichlorvos on fingerling European catfish, *Silurus glanis*. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 76(5):871-876.

- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullos, M.,** 2006. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicology and environmental safety*, 64(2):178-189.
- Van der Oost, R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.,** 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental toxicology and pharmacology*, 13(2):57-149.
- Van Doan, H., Hoseinifar S.H., Ringø, E., Esteban, M.A., Dadar, M., Dawood, M.A. O., Faggio, C.,** 2020. Host-associated probiotics: a key factor in sustainable aquaculture. *Rev Fish Sci Aquac*, 28(1):16-42.
- Verschuere, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstraete, W.,** 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiol. Mol. Biol R*, 64:655-671.
- Wang, C., Liu, Y., Sun, G., Li, X., Liu, Z.,** 2019. Growth, immune response, antioxidant capability, and disease resistance of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) fed *Bacillus velezensis* V4 and *Rhodotorula mucilaginosa* compound. *Aquacult*, 500:65-74.
- Wang, J., Zhao, L., Liu, J., Wang, H., Xiao, S.,** 2015. Effect of potential probiotic *Rhodotorula benthica* D30 on the growth performance, digestive enzyme activity and immunity in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Fish Shellfish Immunol*, 43:330-336.
- WHO/FAO.,** 2001. Food and Agriculture Organization, World Health Organization. *Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria*, United Nations.
- Wilhelm Filho, D., Torres, M.A., Tribess, T.B., Pedrosa, R.C., Soares, C.H.L.,** 2001. Influence of season and pollution on the antioxidant defenses of the cichlid fish acará (*Geophagus brasiliensis*). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 34:719-726.
- Wu, R S., Siu, W.H., Shin, P.K.,** 2005. Induction, adaptation and recovery of biological responses: implications for environmental monitoring. *Marine Pollution Bulletin*, 51(8-12):623-634.
- Wu, L., Qiu, Z., Zhou, Y., Du, Y., Liu, C., Ye, J., Hu, X.,** 2016. Physiological effects of the herbicide glyphosate on the *Cyanobacterium Microcystis aeruginosa*. *Aquat. Toxicol*, 178:72-79.
- Xiong, D., Fang, T., Yu, L., Sima, X. Zhu, W.,** 2011. Effects of nano-scale TiO₂, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: Acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of the Total Environment*, 409:1444-1452.
- Yagi, K.,** 1984. Assay for plasma lipid peroxidase. *Methods in Enzymology*, 109:328-331.
- Yanbeyi, S.,** 1999. Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, *Doktora Tezi*, Samsun, 88s.

- Yancheva, V., Velcheva, I., Stoyanova, S., Georgieva, E.,** 2016. Histological biomarkers in fish as a tool in ecological risk assessment and monitoring programs a review. *Applied ecology and environmental research*, 14(1):47-75.
- Yıldırım, N.C., Tanyol, M., Yıldırım, N., Serdar, O., Tatar, S.,** 2018. Biochemical responses of *Gammarus pulex* to malachite green solutions decolorized by *Coriolus versicolor* as a biosorbent under batch adsorption conditions optimized with response surface methodology. *Ecotoxicology and environmental safety*, 156:41-47.
- Yi, Y., Zhang, Z., Zhao, F., Liu, H., Yu, L., Zha, J., Wang, G.,** 2018. Probiotic potential of *Bacillus velezensis* JW: antimicrobial activity against fish pathogenic bacteria and immune enhancement effects on *Carassius auratus*. *Fish shellfish immunology*, 78:322-330.
- Yordanova, V., Stoyanova, T., Traykov, I., Boyanovsky, B.,** 2009. Toxicological Effects of Fastac Insecticide (Alpha-Cypermethrin) to *Daphnia Magna* and *Gammarus pulex*. *Biotechnology Biotechnological Equipment*, 23(1):393-395.
- Yousefian, M. Amiri, M.S.,** 2009. A review of the use of prebiotic in aquaculture for fish and shrimp. *African Journal of Biotechnology*, 8:7313-7318.
- Zhang, C.N., Li, X.F., Xu, W.N., Jiang, G.Z., Lu, K.L., Wang, L.N., Liu, W.B.,** 2013. Combined effects of dietary *fructooligosaccharide* and *Bacillus licheniformis* on innate immunity, antioxidant capability and disease resistance of triangular bream *Megalobrama terminalis*. *Fish shellfish immunology*, 35(5):1380-1386.
- Zhang, C.N., Zhang, J.L., Guan, W.C., Zhang, X.F., Guan, S.H., Zeng, Q.H., Cui, W.,** 2017. Effects of *Lactobacillus delbrueckii* on immune response, disease resistance against *Aeromonas hydrophila*, antioxidant capability and growth performance of *Cyprinus carpio* Huanghe var. *Fish Shellfish Immunology*, 68:84-91.