

Sulfoxaflor'a Maruz Kalan Zebra Balığı Embriyo ve Larvalarında Gelişimsel Süreçler ve Davranış Üzerine Etkiler

Mine KÖKTÜRK^{1*} , Ekrem SULUKAN² 

¹Iğdır Üniversitesi, Uygulamalı Bilimler Fakültesi, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü, Iğdır

²Atatürk Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Su Ürünleri Mühendisliği Bölümü, Erzurum

*Sorumlu Yazar: mine.kokturk@igdir.edu.tr

Geliş Tarihi: 11.12.2022 Düzeltme Geliş Tarihi: 23.12.2022 Kabul Tarihi: 27.12.2022

ÖZ

Bu çalışmada sulfoxaflor (SFX) insektisitinin zebra balığı embriyo ve larvalarında gelişimsel toksisitesi ve davranış üzerine etkileri araştırıldı. Zebra balığı embriyo-larvalarına 96 saat boyunca farklı dozlarda (1, 10 ve 50 ppm) sulfoxaflor maruz bırakılmış ve hayatta kalma oranı, koryondan çıkış oranı ve morfolojik değişiklikler gibi gelişimsel toksite göstergesi olan parametreler incelendi. Ayrıca zebra balığı larvalarında 96. saatte davranış üzerine sulfoxaflor'un etkileri locomotor aktivite (toplam mesafe ve hız) ile belirlendi. Sonuçlar, SFX maruziyetinin embriyo koryondan çıkışında gecikmeye ve özellikle 50 ppm uygulama grubunda embriyo-larvalarda ölümlerinde önemli bir artışa yol açtığı belirlendi. SFX doza bağlı olarak farklı malformasyonlara (perikardiyal ödem, besin kesesi ödemi, omurga ve kuyruk deformasyonu, küçük göz oluşumu) neden olduğu gözlemlendi. SFX maruziyeti 96. saatte davranış testinde 50 ppm uygulama grubunda toplam mesafe ve hızın önemli oranda artarak larvalarda hiperaktiviteye sebep olduğu görüldü. Bu çalışma, sulfoxaflorun suda yaşayan organizmalar üzerindeki potansiyel toksik etkilerini değerlendirmek için veri sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Zebra balığı, Sulfoxaflor, davranış, malformasyon.

Effects on Developmental Processes and Behavior in Zebrafish Embryos and Larvae Exposed to Sulfoxaflor

ABSTRACT

In this study, the developmental toxicity and behavioral effects of sulfoxaflor (SFX) insecticide in zebrafish embryos and larvae were investigated. Zebrafish embryo-larvae were exposed to different doses of sulfoxaflor (1, 10, and 50 ppm) for 96 hours, and parameters indicative of developmental toxicity such as survival rate, chorion exit rate, and morphological changes were examined. In addition, the effects of sulfoxaflor on the behavior of zebrafish larvae at the 96th hour were determined by locomotor activity (total distance and speed). Results showed that SFX exposure caused a delay in embryo chorion exit and a significant increase in embryo larvae mortality, especially in the 50 ppm administration group. It was observed that SFX caused different malformations (pericardial edema, yolk sac edema, and spine and tail deformation, small eye formation) depending on the dose. In the behavioral test at 96th hour of SFX exposure, it was observed that the total distance and speed increased significantly in the 50 ppm application group, causing hyperactivity in the larvae. This study will provide data to evaluate the potential toxic effects of sulfoxaflor on aquatic organisms.

Key words: Zebrafish, Sulfoxaflor, behavior, malformation.

GİRİŞ

Sentetik insektisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkisi, giderek artan bir küresel sorundur (Pan ve ark., 2017). Neonikotinoid insektisitler, küresel böcek ilacı pazarının %25'ini oluşturmakta ve kullanımları dünya çapında artmaktadır (Borsuah ve ark., 2020). Neonikotinoid insektisitler, böcek sinir sistemini etkiler ve merkezi sinir sisteminde sinaptik iletimde önemli rol oynayan nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR'ler) bloke ederek ölümlere neden olur (Jeschke ve ark., 2011). Neonikotinoid insektisitlerin kimyasal yapıları suda yüksek oranda çözünür olduklarını ve topraktan akış ve sızıntı yolu ile sucul ekosistemlere ulaşarak hedef olmayan sucul canlılarda toksisiteye neden olabilir (Hladik ve ark., 2014; Duchet ve ark., 2022). Sulfoxaflor (SFX), böceklerde nAChR'ler üzerine etki eden bir mekanizma ile görev yapan sülfoksimin grubu içeren dördüncü nesil neonikotinoid insektisittir (Ellis-Hutchings ve ark., 2014). SFX, sülfoksimin grubu içerdiğinden, diğer neonikotinoidlerle karşılaştırıldığında benzersiz bir yapı-aktivite ilişkisine sahip insektisittir ve böceklerin nAChR'lerinde diğer neonikotinoidler ile aynı iken farklı canlılarda nAChR'lerle etkileşime girerken diğer neonikotinoidlerden farklı etkileri olduğu görülmüştür (Zhu ve ark., 2011).

Sulfoxaflorların arı, karınca, solucan ve fare gibi birçok canlıda yüksek toksik etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Pan ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2020; Piner Benli ve ark., 2021c; Cheng ve ark., 2023). Sulfoxaflor insektisitinin sucul canlılardaki toksik etkilerini ortaya koyan çalışmalarda olmakla birlikte yine de bu çalışmalar sulfoxaflor insektisitinin sucul canlılardaki etkilerinin daha detaylı anlaşılabilmesi için yeterli olmadığını düşündürmektedir (Damasceno ve ark., 2021; Gauthier ve Mabury, 2021; Liu ve ark., 2021; Piner Benli ve Çelik, 2021a, b; Deng ve ark., 2022). Sulfoxaflor, zebra balığının (*Danio rerio*) solungaçlarında oksidatif strese ve glutasyon (GSH) ile ilgili antioksidanların aktivasyonuna neden olmuştur (Piner Benli ve Çelik, 2021a). Akut sulfoxaflor maruziyeti sonrası zebra balığının beyin ve kas dokularında asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesinin arttığı görülmüş ve bu sonuçlar sulfoxaflorun sucul canlılar için nöroaktif bileşik olarak kabul edilebileceğini göstermiştir (Piner Benli ve Çelik, 2021b). Benzer şekilde rac-sulfoxaflor insektisitleri zebra balıklarına 96 saat maruz bırakıldığında AChE enziminde inhibisyona neden olduğu bildirilmiştir (Deng ve ark., 2022). Farklı sucul canlılarda sulfoxaflor toksik etkilerine bakıldığında; yengeçlerde (*Carcinus maenas*) sülfoksafloor konsantrasyonlarındaki artışla birlikte daha düşük detoksifikasyon kapasitesi (GSH: glutasyon-s-transferaz enziminde azalma), lipid peroksidasyonu seviyelerinde artış ve davranış üzerinde olumsuz etkileri (daha yüksek hareketlilik ve daha az yem alımı) olduğu görülmüştür (Damasceno ve ark., 2021). Sucul ekosistemlerde besin zinciri için önemli bir organizma ve bioindikatör olan *Daphnia magna* 7 gün sulfoxaflora maruz bırakıldığında canlıda oksidatif strese (süperoksit dismutaz and glutasyon-s-transferaz enzim aktivitelerinde azalma) neden olduğu belirlenmiştir (Sevgiler ve Atli, 2022).

Bu çalışmada seçilen zebra balığı (*Danio rerio*) embriyo ve larvaları, gelişimsel toksisite ve ekotoksikolojik çalışmalarda en yaygın kullanılan model organizmalardandır (Dhasmana ve ark., 2021; da Silva Brito ve ark., 2022; Köktürk ve ark., 2022). Bu model canlıının sıklıkla kullanılmasının nedenleri embriyonik dönemde optik şeffaflık, yüksek doğurganlık oranı, kısa embriyonik periyoda sahip olması ve dış döllenme göstermesi ve insan genomu ile %70 oranda homolog gene sahip olmalarıdır (Howe ve ark., 2013; Bootorabi ve ark., 2017; Lai ve ark., 2021). Zebra balığı embriyo ve larvaları, özellikle insektisit ve herbisitlerin, toksik etkilerinin hızlı ve kolay belirlenmesine olanak sağlamaktadır (Lee ve ark., 2021; Wang ve ark., 2022; Sulukan ve ark., 2023).

Sulfoxaflor için hedef olmayan sucul canlıların embriyonik gelişimi üzerine etkilerini belirleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda sulfoxaflor'un zebra balığı embriyo ve larvalarında gelişimsel süreçlere etkilerinin ve sinir sistemini etkilediği bilinen bu insektisitinin davranış üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

MATERYAL ve METOT

Kimyasallar

Breaker™ 240 SC adlı ticari olarak satın alınan sulfoxaflor (SFX) Türkiye'deki bir distribütör şirketten temin edilmiştir (Dow Agro Sciences, İstanbul, Türkiye). Bu insektisitinin 1 litresinde 240 g SFX aktif maddesi içermektedir. Diğer kullanılan tüm kimyasallar Merck ve Sigma-Aldrich firmalarından satın alındı.

Model Organizma: Zebrafish Besleme ve Bakım

Denememizde kullandığımız embriyoların alındığı yetişkin zebra balıklarının Ataları Oregon Eyalet Üniversitesi'nden (ABD) temin edilmiş yabani tip AB genotipli zebra balıkları (*Danio rerio*) olup Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Akuatik Biyoteknoloji Laboratuvarında kontrollü koşullar altında tutulmaktadır. Bu birimdeki zebra balığı yetişkinleri 10 saat karanlık, 14 saat ışık fotoperiyodunda tutulmaktadır. Günlük iki kez artemina ve pul yem ile beslenen bu canlılar 28±1 °C sıcaklıkta bakılmaktadır (Sulukan ve ark., 2023). Çalışmamızda embriyo elde etmek için çalışmadan bir gün önce son yapılan

yemlemeden 1 saat sonra yetişkin dişi ve erkekler yumurtlatma kaplarına aralarında bir bariyer yerleştirilerek koyuldu. Sabah saatlerinde zebra balığı sistem ışıkları açıldığı anda yumurtlatma kapları arasındaki bariyer kaldırıldı ve yumurtlama başladı. Yumurtalara alınarak E3 solüsyonu (embriyo besin ortamı: 5 mM NaCl, 0.17 mM KCl, 0.33 mM CaCl₂, 0.33 mM MgSO₄, %0.01 methylene blue) içerisinde deneme başlatılana kadar tutuldu (Westerfield, 2007). Çalışmamız 96. saatte sonlandırıldı ve 120 saatten küçük zebra balığı larvaları kullanılışı için bu çalışmada herhangi bir etik izin gerektirmez (Direktif 86/609/EEC ve AB Direktifi, 2010/63/EU).

Sulfoxaflo Maruziyeti

Çalışmamızda kullanılmak üzere embriyolar stereomikroskop (Zeiss, Discovery V12) altında incelenerek sağlıklı ve döllenmiş embriyolar alınarak denemelerde kullanıldı. Deneme fertilizasyondan sonraki 4. saatte başlatılarak 96 saat boyunca devam ettirildi. Her grup için 35 embriyo kullanılmış olup deneme 3 kez tekrarlandı. Zebra balığı embriyo ve larvaları 96 saat süreyle 1, 10 ve 50 ppm sulfoxaflo'ya maruz bırakıldı. SFX dozları daha önce yapılan çalışmaların sonuçlarına göre belirlendi (Piner Benli ve Çelik, 2021b). Dozlar 1000 ppm olarak hazırlanan SFX stok solüsyonundan seyreltilerek hazırlandı. Stok solüsyonu saf su ile seyreltilen dozlar ise E3 solüsyonu ile hazırlandı. Çalışma petri kaplarında yapılmış olup tüm solüsyonlar 24 saatte bir (yarı-statik) değiştirildi. Çalışma 28 °C sıcaklıkta sürdürüldü.

Hayatta Kalma Oranı, Koryondan Çıkış Başarısı ve Morfolojik Değişimler

Zebra balığı embriyo ve larvaları üzerinde SFX toksisitesini değerlendirmek için embriyo ve larva hayatta kalma oranı belirlemek için 24-96. saatler arasında ölümler kaydedildi. Embriyoların koryondan çıkış başarıları hesaplamak için 48-96. saatler arasında yumurtadan çıkan larvalar kaydedildi. Morfolojik değişiklikler ise tüm deneme boyunca (24-96. saat aralığı) günlük olarak mikroskop altında incelendi ve malformasyonlu embriyo ve larvalar fotoğraflandı (Köktürk, 2022).

Larva Lokomotor Davranış Testi

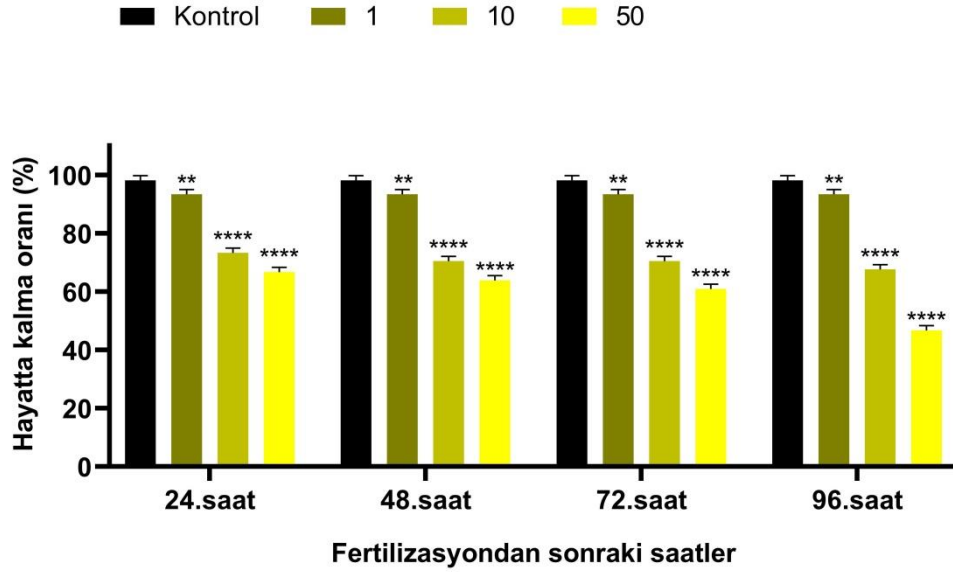
Larvaların lokomotor aktivite analizini yapmak için, her gruptan rastgele seçilen 16 adet (2 tekrarlı) 96 hpf larva kullanıldı. Larvalar, kuyucuk başına bir larva olacak şekilde 1 ml saf su ile 48 oyuklu hücre kültürü plağına yerleştirildi. Plak hazırlandıktan sonra, sıcaklık kontrol ünitesi ile sıcaklığı 28.5 °C'ye ayarlanan DanioVision (Noldus) gözlem odasına yerleştirilerek larvaların hareketi 50 dakika süre boyunca kaydedildi. Sonrasında her bir larvanın 50 dakikalık kayıt süresi boyunca kat ettiği toplam mesafe ve ortalama hızları EthoVision (Noldus) yazılımı kullanılarak analiz edildi (Kiziltan ve ark., 2022).

İstatistik Analizler

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler, tekli ve çoklu-ANOVA varyans analizi ve ardından Tukey testi ile değerlendirildi. İstatistiksel analizler GraphPad Prism 8 programı kullanılarak yapıldı.

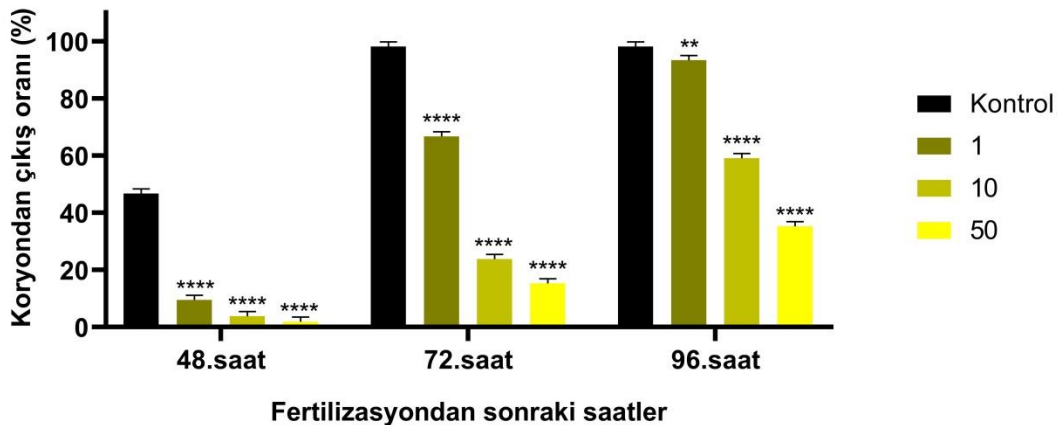
BULGULAR ve TARTIŞMA

SFX maruziyeti sonrası zebra balığı embriyo ve larvalarda hayatta kalma oranı kontrole kıyasla doza bağlı olarak anlamlı bir azalma göstermiştir (Şekil 1). Özellikle 50 ppm SFX uygulama grubunda 96. saatte larvaların hayatta kalma oranının düştüğü (%46.7) görülmüştür (Şekil 1). Yetişkin zebra balıklarında Piner Benli ve Çelik (2021b) yapmış oldukları çalışmada SFX maruziyetinin hayatta kalma oranının çalışmamıza benzer şekilde azalttığı belirlemiştir. Sudaki daha küçük canlılarda SFX öldürücü etkisine bakıldığında ise Daphna magna'da 10 µg⁻¹ gibi yüksek konsantrasyonlarda ölüm oranlarının arttığı rapor edilmiştir (Hoffman, 2020). Su ortamındaki farklı türler, SFX gibi insektisitlere karşı büyüklüklerine göre değişen hassasiyetler göstermiş olması SFX insektisitinin su içinde en düşük konsantrasyonlarda dahi bulunmasının ekotoksikolojik etkilerinin önemli olabileceğini ve düzenleyici yönergeler oluşturulurken bu durumun göz önünde bulundurulması gerekmektedir (Gauthier ve Mabury, 2021).



Şekil 1. Zebra balığı embriyo ve larvaları SFX maruziyetinden sonraki 24, 48, 72 ve 96. saatlerdeki hayatta kalma oranı. Veriler ortalama±S.D. olarak ifade edilmiştir (****p<0.0001 ve **p<0.01).

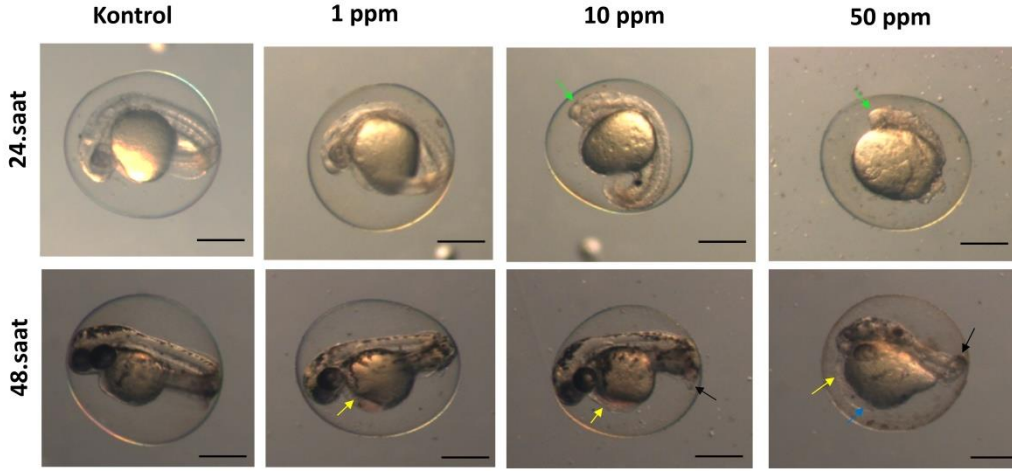
Zebra balığı embriyoların koryondan çıkış oranları üzerine SFX insektisitinin etkilerini gösteren bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak neonicotinoid insektisit grubunda bulunan thiamethoxam gibi insektisitlerin zebra balığı embriyolarında larva çıkış oranının etkilendiği bildirilmiştir (Victoria ve ark., 2022). Çalışmamızda kontrol ile karşılaştırıldığında SFX uygulama gruplarında (1, 10 ve 50 ppm) 48, 72 ve 96. saatlerde koryondan çıkışın geciktiği görülmüştür (Şekil 2). Koryondan çıkış oranı 96. saatte kontrol ve 1 ppm uygulama gruplarında %90 üzerinde iken 10 ve 50 ppm dozlarında sırasıyla %59.0 ve %35.2 olarak tespit edilmiştir. Bazı insektisitlerin embriyolardaki koryondan çıkışı sağlayan enzimleri inhibe ederek larva çıkışını geciktirdiği bilinmektedir (Pamanji ve ark., 2016; Rahman ve ark., 2020). Ayrıca koryonların gözenek kanallarının toksik maddeler tarafından tıkanması, buradaki enzimlerin yapısını bozarak işlevini etkileyebilir ve bu durum embriyoların gelişimini olumsuz etkileyen oksijen yetersizliğine neden olabilir (Tingjun ve Zhenping, 2002).



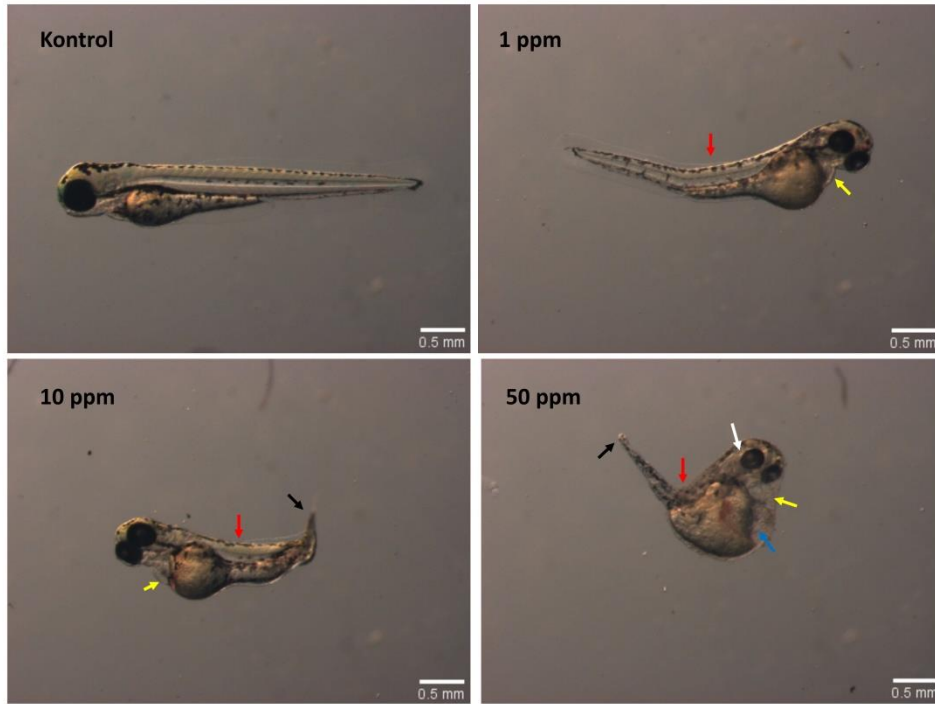
Şekil 2. Zebra balığı embriyo ve larvaları SFX maruziyetinden sonraki 48-96. saatler arasında koryondan çıkış oranı. Veriler ortalama±S.D. olarak ifade edilmiştir (****p<0.0001 ve **p<0.01).

Zebra balığı embriyo ve larvalarında SFX etkisi ile çeşitli malformasyonlar (baş bölgesinde gelişimsel anormallik, perikardiyal ödem, besin kesesi ödemi, omurga ve kuyruk deformasyonu, küçük göz oluşumu) meydana geldiği çalışmamızda belirlenmiştir (Şekil 3, 4, 5). Bu malformasyon oranları kontrol ile karşılaştırıldığında tüm uygulama gruplarında anlamlı farklılık olduğu görülmüştür (Şekil 6). En yüksek malformasyon oranı %45 olarak 50 ppm uygulama grubunda tespit edilmiştir. Benzer şekilde farklı insektisit

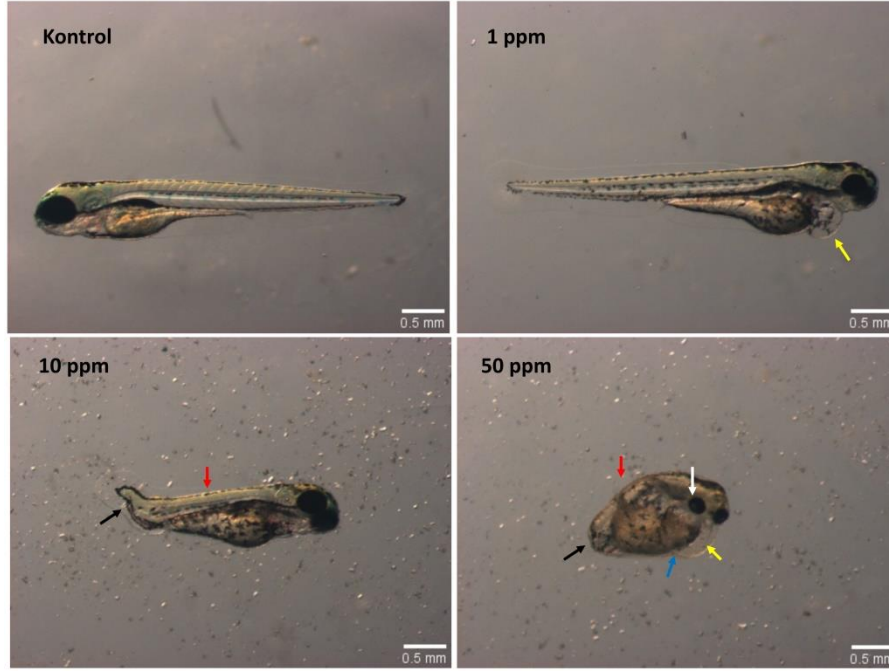
türlerine maruz kalan zebra balığı embriyolarında perikardiyal ödem, omurga deformasyonları ve besin kesesi ödemleri olduğu bildirilmiştir (Kuder ve Gundala, 2018; Park ve ark., 2021).



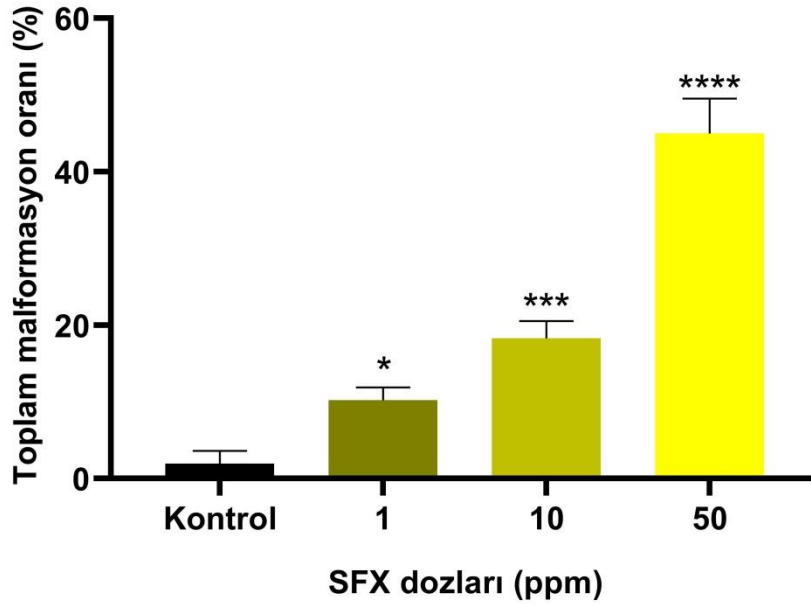
Şekil 3. SFX maruziyeti sonrası 24 ve 48. saatlerdeki morfolojik değişimler. Yeşil ok: baş bölgesi gelişimsel anormallik, siyah ok: kuyruk deformasyonu, sarı ok: perikardiyal ödem, mavi ok: besin kesesi ödemi. Bar: 0.5 mm.



Şekil 4. SFX maruziyeti sonrası 72. saatteki morfolojik değişimler. Sarı ok: perikardiyal ödem, siyah ok: kuyruk deformasyonu, mavi ok: besin kesesi ödemi, kırmızı ok: omurga deformasyonu, beyaz ok: küçük göz oluşumu.



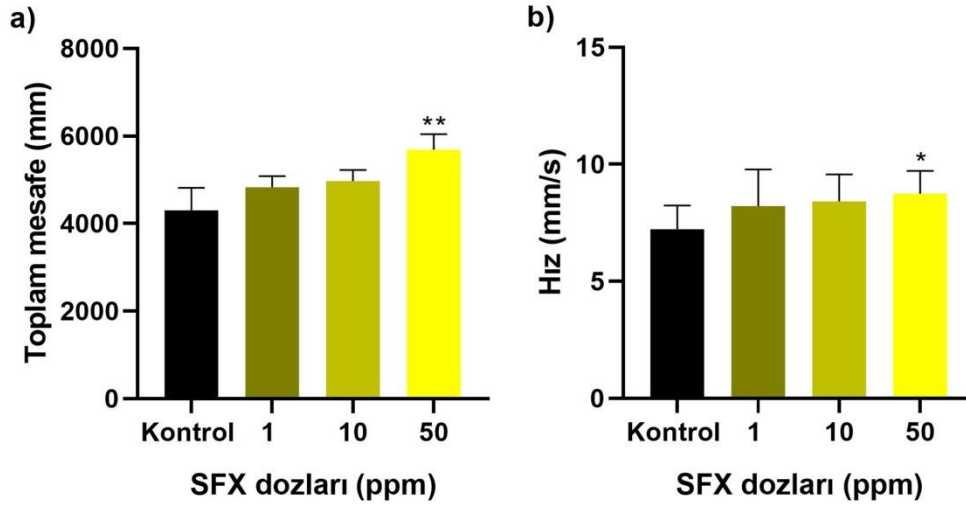
Şekil 5. SFX maruziyeti sonrası 96. saatteki morfolojik değişimler. Sarı ok: perikardiyal ödem, siyah ok: kuyruk deformasyonu, mavi ok: besin kesesi ödemi, kırmızı ok: omurga deformasyonu, beyaz ok: küçük göz oluşumu.



Şekil 6. Zebra balığı embriyo ve larvalarında SFX maruziyeti sonrası toplam malformasyon oranları. Veriler ortalama±S.D. olarak ifade edilmiştir (****p<0.0001, ***p<0.001, ve *p<0.05).

SFX maruziyeti sonrasında zebra balığı larvalarının lokomotor aktiviteleri analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, kontrole göre kıyaslandığında 1 ve 10 ppm SFX gruplarında anlamlı bir değişim gözlenmezken, en yüksek uygulama grubu olan 50 ppm SFX grubunda toplam mesafe ve hızın önemli oranda artarak larvalarda hiperaktiviteye sebep olduğu görülmüştür (Şekil 7). Neonikotinoid insektisitlerin (imidakloprid ve tiyametoksam) larvalardaki lokomotor aktiviteyi önemli ölçüde etkilediği bilinmektedir (Zhang ve ark., 2021). Neonikotinoid insektisitlerin davranış üzerine bu etkilerinin nedeni nikotinik asetilkolin reseptörü ve hafıza oluşumuyla ilgili genleri etkilemesi olarak gösterilmiştir (Christen ve ark., 2016). Yüksek konsantrasyon kirleticilerin beyinde, AChE aktivitesini arttırdığı ve bu artışın daha yüksek derecede hiperaktiviteye neden

olduğu belirlenmiştir (Joseph ve ark., 2022). SFX insektisitinin larvalarda hiperaktiviteyi arttırması bu insektisitinin nörotoksik etkisinin olabileceğini düşündürmüştür.



Şekil 7. Zebra balığı larvalarının lokomotor aktivite analizlerinden toplam mesafe (a) ve hızın (b) gruplar arasındaki karşılaştırması. Veriler ortalama±S.D. olarak ifade edilmiştir. (n = 16, deneme 2 kez tekrarlanmıştır) (**p<0.01 ve *p<0.05).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamız SFX insektisitinin zebra balığı embriyo ve larvalarda ciddi gelişimsel toksisiteye ve hiperaktiviteye neden olduğu görülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları, SFX insektisiti hedef olmayan sucul canlılarda ekotoksikolojik riskinin yüksek olduğunu ortaya koyduğu için bu insektisitinin sucul canlılardaki potansiyel toksik etkilerinin farklı analizler ile daha detaylı incelenmesi gerektiği düşünülmektedir.

Teşekkür: Bu çalışmamızda zebra balığı embriyo ve larvaları ile deney yapma imkanı sağlayan Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Sucul Biyoteknoloji Laboratuvarı'na teşekkür ederiz.

Çıkar Çatışması Beyanı: Makale yazarları aralarında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Araştırmacıların Katkı Oranı Beyan Özeti: Yazarlar makaleye eşit oranda katkı sağlamış olduklarını beyan ederler.

YAZAR ORCID NUMARALARI

Mine KÖKTÜRK <https://orcid.org/0000-0003-4722-256X>

Ekrem SULUKAN <https://orcid.org/0000-0002-4414-9873>

KAYNAKLAR

- Bootorabi, F., Manouchehri, H., Changizi, R., Barker, H., Palazzo, E., Saltari, A., Parikka M., Pincelli, C. ve Aspatwar, A. 2017. Zebrafish as a model organism for the development of drugs for skin cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(7), 1550.
- Borsuah, J. F., Messer, T. L., Snow, D. D., Comfort, S. D. ve Mittelstet, A. R. 2020. Literature review: Global neonicotinoid insecticide occurrence in aquatic environments. *Water*, 12(12), 3388.
- Cheng, S., Dai, P., Li, R., Chen, Z., Liang, P., Xie, X., Zhen, C. ve Gao, X. 2023. The sulfoximine insecticide sulfoxaflor exposure reduces the survival status and disrupts the intestinal metabolism of the honeybee *Apis mellifera*. *Journal of Hazardous Materials*, 442, 130109.
- Christen, V., Mittner, F. ve Fent, K. 2016. Molecular effects of neonicotinoids in honey bees (*Apis mellifera*). *Environmental Science & Technology*, 50(7), 4071-4081.

- da Silva Brito, R., Pereira, A. C., Farias, D. ve Rocha, T. L. 2022. Transgenic zebrafish (*Danio rerio*) as an emerging model system in ecotoxicology and toxicology: Historical review, recent advances, and trends. *Science of The Total Environment*, 157665.
- Damasceno, J. M., Rato, L. D., Simões, T., Morão, I. F., Meireles, G., Novais, S. C. ve Lemos, M. F. 2021. Exposure to the insecticide sulfoxaflor affects behaviour and biomarkers responses of *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda). *Biology*, 10(12), 1234.
- Deng, Y., Wang, R., Song, B., Yang, Y., Hu, D., Xiao, X., Chen, X. ve Lu, P. 2022. Enantioselective bioaccumulation and toxicity of rac-sulfoxaflor in zebrafish (*Danio rerio*). *Science of The Total Environment*, 817, 153007.
- Dhasmana, D., Veerapathiran, S., Azbazdar, Y., Nelanthala, A. V. S., Teh, C., Ozhan, G. ve Wohland, T. 2021. Wnt3 is lipidated at conserved cysteine and serine residues in zebrafish neural tissue. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, 1296.
- Duchet, C., Mitchell, C. J., McIntyre, J. K. ve Stark, J. D. 2022. Chronic toxicity of three formulations of neonicotinoid insecticides and their mixture on two daphniid species: *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia*. *Aquatic Toxicology*, 106351.
- Ellis-Hutchings, R. G., Rasoulpour, R. J., Terry, C., Carney, E. W. ve Billington, R. 2014. Human relevance framework evaluation of a novel rat developmental toxicity mode of action induced by sulfoxaflor. *Critical Reviews in Toxicology*, 44(sup2), 45-62.
- Gauthier, J. R. ve Mabury, S. A. 2021. The Sulfoximine Insecticide Sulfoxaflor and Its Photodegrade Demonstrate Acute Toxicity to the Nontarget Invertebrate Species *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(8), 2156-2164.
- Hladik, M. L., Kolpin, D. W. ve Kuivila, K. M. 2014. Widespread occurrence of neonicotinoid insecticides in streams in a high corn and soybean producing region, USA. *Environmental Pollution*, 193, 189-196.
- Hoffman, M. M. 2020. Assessing the sublethal impacts of sulfoxaflor on the physiology and behavior of *Daphnia magna*. Bachelor of Science, University of Mary Washington
- Howe, K., Clark, M. D., Torroja, C. F., Torrance, J., Berthelot, C., Muffato, M., ...ve Teucke, M. 2013. The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature*, 496(7446), 498-503.
- Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M. ve Elbert, A. 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 2897-2908.
- Joseph, T. P., Zhou, F., Sai, L. Y., Chen, H., Lin, S. L. ve Schachner, M. 2022. Duloxetine ameliorates valproic acid-induced hyperactivity, anxiety-like behavior, and social interaction deficits in zebrafish. *Autism Research*, 15(1), 27-41.
- Kiziltan, T., Baran, A., Kankaynar, M., Şenol, O., Sulukan, E., Yildirim, S. ve Ceyhun, S. B. 2022. Effects of the food colorant carmoisine on zebrafish embryos at a wide range of concentrations. *Archives of Toxicology*, 96(4), 1089-1099.
- Köktürk, M. 2022. In vivo toxicity assessment of Remazol Gelb–GR (RG-GR) textile dye in zebrafish embryos/larvae (*Danio rerio*): Teratogenic effects, biochemical changes, immunohistochemical changes. *Science of The Total Environment*, 852, 158473.
- Köktürk, M., Yildirim, S., Yiğit, A., Ozhan, G., Bolat, İ., Alma, M. H., Menges, N., Alak, G. ve Atamanalp, M. 2022. What is the eco-toxicological level and effects of graphene oxide-boramic acid (GO-ED-BA NP)? In vivo study on Zebrafish embryo/larvae. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(5), 108443.
- Kuder, R. S. ve Gundala, H. P. 2018. Developmental toxicity of deltamethrin and 3-phenoxybenzoic acid in embryo–larval stages of zebrafish (*Danio rerio*). *Toxicology Mechanisms and Methods*, 28(6), 415-422.
- Lai, K. P., Gong, Z. ve Tse, W. K. F. 2021. Zebrafish as the toxicant screening model: Transgenic and omics approaches. *Aquatic Toxicology*, 234, 105813.
- Lee, H., Ko, E., Shin, S., Choi, M. ve Kim, K. T. 2021. Differential mitochondrial dysregulation by exposure to individual organochlorine pesticides (OCPs) and their mixture in zebrafish embryos. *Environmental Pollution*, 277, 115904.
- Liu, P., Wu, F., Li, H., & You, J. (2021). The neonicotinoid alternative sulfoxaflor causes chronic toxicity and impairs mitochondrial energy production in *Chironomus kiinensis*. *Aquatic Toxicology*, 235, 105822.
- Pamanji, R., Yashwanth, B. ve Rao, J. V. 2016. Profenofos induced biochemical alterations and in silico modelling of hatching enzyme, ZHE1 in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 45, 123-131.
- Pan, F., Lu, Y. ve Wang, L. 2017. Toxicity and sublethal effects of sulfoxaflor on the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 139, 377-383.
- Park, J., Kim, C., Jeon, H. J., Kim, K., Kim, M. J., Moon, J. K. ve Lee, S. E. 2021. Developmental toxicity of 3-phenoxybenzoic acid (3-PBA) and endosulfan sulfate derived from insecticidal active ingredients:

- Abnormal heart formation by 3-PBA in zebrafish embryos. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 224, 112689.
- Piner Benli, P. ve Çelik, M. 2021a. Glutathione and its dependent enzymes' modulatory responses to neonicotinoid insecticide sulfoxaflor induced oxidative damage in zebrafish in vivo. *Science Progress*, 104(2), 00368504211028361.
- Piner Benli, P. ve Çelik, M. 2021b. In vivo effects of neonicotinoid-sulfoximine insecticide sulfoxaflor on acetylcholinesterase activity in the tissues of zebrafish (*Danio rerio*). *Toxics*, 9(4), 73.
- Piner Benli, P., Kaya, M. ve Dağlıoğlu, Y. K. 2021c. Fucoïdan Protects against Acute Sulfoxaflor-Induced Hematological/Biochemical Alterations and Oxidative Stress in Male Mice. *Pharmaceuticals*, 15(1), 16.
- Rahman, M. S., Islam, S. M., Haque, A. ve Shahjahan, M. 2020. Toxicity of the organophosphate insecticide sumithion to embryo and larvae of zebrafish. *Toxicology reports*, 7, 317-323.
- Sevgiler, Y. ve Atli, G. 2022. Sulfoxaflor, Zn²⁺ and their combinations disrupt the antioxidant and osmoregulatory (Ca²⁺-ATPase) system in *Daphnia magna*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 73, 127035.
- Sulukan, E., Baran, A., Kankaynar, M., Kızıltan, T., Bolat, İ., Yıldırım, S., Akgül Ceyhun, H. ve Ceyhun, S. B. 2023. Global warming and glyphosate toxicity (II): Offspring zebrafish modelling with behavioral, morphological and immunohistochemical approaches. *Science of The Total Environment*, 856, 158903.
- Tingjun, F. ve Zhenping, S. 2002. Advances and prospect in fish hatching enzyme research. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1, 48-56.
- Victoria, S., Hein, M., Harrahy, E., ve King-Heiden, T. C. 2022. Potency matters: Impacts of embryonic exposure to nAChR agonists thiamethoxam and nicotine on hatching success, growth, and neurobehavior in larval zebrafish. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 1-16.
- Wang, S., Han, X., Yu, T., Liu, Y., Zhang, H., Mao, H., Hu, C. ve Xu, X. 2022. Isoprocarb causes neurotoxicity of zebrafish embryos through oxidative stress-induced apoptosis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 242, 113870.
- Westerfield, M. 2007. *The Zebrafish Book: a Guide for the Laboratory Use of Zebrafish (Danio rerio)*, fifth ed. University of Oregon Press, Eugene, OR. Chapters 1-4.
- Zhang, J. G., Ma, D. D., Xiong, Q., Qiu, S. Q., Huang, G. Y., Shi, W. J. ve Ying, G. G. 2021. Imidacloprid and thiamethoxam affect synaptic transmission in zebrafish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 227, 112917.
- Zhang, X., Wang, X., Liu, Y., Fang, K. ve Liu, T. 2020. The toxic effects of sulfoxaflor induced in earthworms (*Eisenia fetida*) under effective concentrations. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(5), 1740.
- Zhu, Y., Loso, M. R., Watson, G. B., Sparks, T. C., Rogers, R. B., Huang, J. X., Gerwick, B.C., Babcock, J. M., Kelley, D., Hegde, V. B., Nugent, B. M., Renga, J. M., Denholm, L., Gorman, K., DeBoer, G. J., Hasler, J., Meade, T. ve Thomas, J. D. 2011. Discovery and characterization of sulfoxaflor, a novel insecticide targeting sap-feeding pests. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(7), 2950-2957.