


Klorpirifosa Maruz Kalan *Capoeta umbla*' nın Beyin Dokusunda Antioksidan Yanıtı

Mehmet Reşit TAYSI*¹ 

¹Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, 12000, Bingöl

*Sorumlu Yazar: mrtaysi@yahoo.com

Geliş Tarihi: 10.09.2024 Düzeltme Geliş Tarihi: 26.09.2024 Kabul Tarihi: 26.09.2024

ÖZ

Klorpirifosun su ekosistemleri üzerindeki toksik etkileri üzerine yapılan bu çalışmada, *Capoeta umbla* türü balıkları model organizma olarak kullanılmıştır. Balıklara farklı konsantrasyonlarda (55-110 µg/L) ve sürede (24 ve 96 saat) klorpirifos uygulanarak, beyin dokusunda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyesi ve antioksidan savunma sisteminin önemli enzimlerinden olan katalaz (CAT) ve glutatyon redüktaz (GR) aktiviteleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, klorpirifosun balıklarda oksidatif stresi tetikleyerek hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu artırdığını ve antioksidan savunma sistemini baskıladığını göstermiştir. Bu durum, klorpirifosun su ekosistemlerindeki canlılar üzerindeki olumsuz etkilerini ve çevresel riskini vurgulamaktadır.

Anahtar kelimeler: Klorpirifos, *Capoeta umbla*, katalaz, antioksidan.

Antioxidant Response in Brain Tissue of *Capoeta umbla* Exposed to Chlorpyrifos

ABSTRACT

In this study on the toxic effects of chlorpyrifos on aquatic ecosystems, *Capoeta umbla* fish were used as a model organism. By applying chlorpyrifos to fish at different concentrations (55-110 µg/L) and durations (24 and 96 hours), malondialdehyde (MDA) levels, an indicator of lipid peroxidation in brain tissue, and catalase (CAT) and glutathione reductase (GR) activities, which are important enzymes of the antioxidant defense system, were determined. The results obtained showed that chlorpyrifos triggered oxidative stress in fish, increased lipid peroxidation in cell membranes, and suppressed the antioxidant defense system. This situation emphasizes the negative effects of chlorpyrifos on living organisms in aquatic ecosystems and its environmental risk.

Key words: Chlorpyrifos, *Capoeta umbla*, catalase, antioxidant.

GİRİŞ

Birçok tatlı su ekosistemi, herbisitler ve böcek ilaçları gibi her yerde bulunan ve bölgesel ve küresel olarak yayılabilen endüstriyel, evsel ve tarımsal kimyasallarla kirlenmiştir (Jin ve ark., 2010). Klorpirifos [(O, O-dietil O-(3,5,6-trikloro-2-piridinil) fosforotioat)] ise tarımsal ve evsel zararlıları kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan organofosfatlı bir pestisitlerdir. Pestisitler, tarım arazilerinin drenajı, rüzgar sürüklenmesi ve hatta kasıtlı püskürtme yoluyla su ekosistemlerine ve balık çiftliklerine girebilir (Dar ve ark., 2022; Saha ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2021). Klorpirifos suda nispeten kararlı bir bileşik olmasına rağmen, suyun fiziksel ve kimyasal koşullarının, ultraviyole ışınlarının ve mikroorganizmaların aktivitesinin etkisiyle 8-53 gün sonra parçalanabilmektedir (Lu ve ark., 2006). Klorpirifosun balıklar için oldukça zehirli olduğu ve bunun solungaçlar, deri ve sindirim sistemi yoluyla hızla emilebildiği bildirilmiştir (Hatami ve ark., 2019). Doğal su ortamlarının kimyasal bileşimindeki değişiklikler tatlı su faunasını, özellikle balıkları etkileyebilir. İnsanların balık tüketmesi nedeniyle, pestisitlerin balıklar üzerindeki etkileri, pestisitlerin insan sağlığına olan olumsuz etkilerinin

değerlendirilmesinde önemli bir öneme sahiptir (Begum ve Vijayaraghan, 1996). Son çalışmalar, balıklardaki pestisit toksisitesinin reaktif oksijen türlerinin (ROS) artan üretimiyle ilişkili olabileceğini ve bunun da oksidatif hasara yol açabileceğini göstermiştir. ROS' lar elektron taşıma zinciri, enzimler ve redoks döngüsünün ürünleridir ve üretimleri ksenobiyotikler tarafından artırılabilir. Oksidatif stres, ROS' lar hücrel savunmaları alt üst ettiğinde ve proteinlere, zarlara ve DNA'ya zarar verdiğinde ortaya çıkar. Oksidatif stres, pro-antioksidan dengesinin bozulması olarak tanımlanır ve potansiyel hasara yol açar (Oruc ve ark., 2004; Trasande ve ark., 2011). Son yıllarda, hem çevresel kaliteyi hem de organizmaların adaptasyonunu izlemek için bir araç olarak biyobelirteçlerin kullanımına giderek daha fazla vurgu yapılmaktadır. Oksidatif savunma sistemi, oksiradikal aracılı yanıtların biyokimyasal biyobelirteç olarak kullanılma potansiyeli nedeniyle kapsamlı bir şekilde çalışmıştır (Kelly ve ark., 1998; Van der Oost ve ark., 2003). Tüm organizmalarda ROS 'ların detoksifikasyonu için ana antioksidatif enzimler, katalaz (CAT) ve glutatyon redüktaz (GR)' dır. Bu enzimlerin oksiradikallerle reaksiyonları balıklarda incelenmiştir (Avcı ve ark., 2005). Balık dokusunda bulunan antioksidan enzimler (örneğin, katalaz, glutatyon redüktaz) ve lipid peroksidasyon ürünleri (malondialdehit) gibi biyokimyasal parametreler, pestisitlere maruziyetin bir sonucu olarak ortaya çıkan oksidatif stresi değerlendirmek için potansiyel biyobelirteçler olarak kabul edilmektedir (Ahmad ve ark., 2000; Almeida ve ark., 1997; Kelly ve ark., 1998). Bu biyobelirteçlerin ölçülmesi, su ekosistemlerindeki pestisit kirliliğinin etkilerini belirlemek, risk değerlendirmesi yapmak ve uygun önlemleri almak açısından büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, farklı su ortamlarında yaşayan farklı balık türlerinde pestisitlere maruziyetin antioksidan sistem üzerindeki etkilerinden birine katkı yapmak amacıyla yapılan bu çalışmada klorpirifosa maruz kalan *Capoeta umbla*'nın beyindeki antioksidan yanıtı (MDA) seviyesi ve antioksidan savunma sisteminin önemli enzimlerinden olan CAT ve GR aktiviteleri ile belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmanın amacı, seçilmiş oksidatif stres parametreleri kullanılarak, klorpirifos' un subletal maruziyetinin *Capoeta umbla* balıkları üzerindeki olumsuz etkilerini değerlendirmektir.

MATERYAL ve METOT

Capoeta umbla balıkları (92.7-121.4 gr) Murat Nehri'nden (Bingöl) yakalanarak, Bingöl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Su Ürünleri Bölümü, Su Ürünleri Yetiştiriciliği Laboratuvarına getirilmiştir. Laboratuvarında 600 L'lik fiberglas tanklara aktarılmıştır. 21 gün boyunca balıklar sürekli akan musluk suyunda dinlendirilmiştir. Çalışmada balıklar ağırlıklarının %2'si kadar ticari yemle günde 2 kez beslenmiştir. Suyun çözünmüş oksijen değeri, pH değeri, sıcaklık, alkanite ve toplam sertlik (CaCO₃) değerleri sırasıyla, 8.02 ± 1.04 mg/L, 8 ± 0.3, 15 ± 4 °C, 137 ± 9 mg/L ve 151 ± 34 mg/L olarak tespit edilmiştir. LC₅₀ değerini belirlemek için klorpirifos, 60 L'lik tanklarda 200, 300, 400, 500 ve 1000 µg/L kullanılmıştır. 96 saatlik LC₅₀ değeri bilgisayar programı SPSS 20.0 ile hesaplanmıştır. Daha sonra LC₅₀ değerinin %12.5 ve %25'lik miktarı (55 ve 110 µg/L) balıklara 24 ve 96 saat uygulanmıştır. Deneme üç tekerrürlü olarak yapılmıştır. Bu uygulamalar sırasında herhangi bir balık ölümü gerçekleşmemiştir.

CAT aktivitesi, 1 M Tris-HCl, 5 mM EDTA (pH 8.0), 10 mM H₂O₂ ve H₂O karışımını içeren Beutler, (1984) yöntemine göre belirlendi. MDA içeriği, 95 °C'de tiyobarbiturik asitle aerobik koşullarda (pH 3.4) inkübasyondan sonra ölçüldü. Bu reaksiyonlarla oluşan pembe renk, spektrofotometrik olarak 532 nm dalga boyunda ölçüldü (Ohkawa ve ark., 1979). Spesifik aktivite, miligram protein başına aktivite birimi olarak tanımlandı. Protein içeriği, standart olarak sığır serum albümini kullanılarak Lowry ve ark., (1951) tarafından belirlenen yöntemle göre belirlendi. GR aktivitesi ise Beutler, (1984) yöntemine göre belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler SPSS 20.0 yazılımı ile gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama ± ortalama standart hatası olarak ifade edilmiştir. Konsantrasyon ve zamanın farklı deney grupları üzerindeki etkisini değerlendirmek için tek yönlü ANOVA kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlar ve farklı zaman aralıkları için kontrol ve tedavi grupları arasındaki farkların anlamlılığını incelemek için Tukey testi yapılmıştır. Farklar p ≤ 0.05' te anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR ve TARTIŞMA

Klorpirifos' a maruz bırakılan *Capoeta umbla* balıklarının beyin dokularındaki (n=10) antioksidan enzim aktivitesi ve MDA içeriği çizelge 1, 2 ve 3' de özetlenmiştir. 24 ve 96 saat maruziyetin sonunda, beyin dokularındaki CAT ve GR aktivitesi, kontrol grubuyla kıyaslandığında klorpirifos' un artan konsantrasyonu azalırken, buna karşılık, MDA içeriği ise artan konsantrasyon nedeniyle artış göstermiştir.

Çizelge 1. CAT (U mg⁻¹ protein) aktivitesindeki değişim

Gruplar (µg/L)	Zaman (saat)	
	24	96
Kontrol	2.89 ± 0.36 ^a	3.11 ± 0.27 ^a
55	2.65 ± 0.33 ^a	2.31 ± 0.21 ^b
110	1.96 ± 0.19 ^b	1.21 ± 0.17 ^b

*Aynı sütünde farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.05).

Çizelge 2. GR (U mg⁻¹ protein) aktivitesindeki değişim

Gruplar (µg/L)	Zaman (saat)	
	24	96
Kontrol	36.58 ± 0.33 ^a	37.06 ± 0.41 ^a
55	35.04 ± 0.53 ^a	38.4 ± 0.53 ^a
110	28.11 ± 0.34 ^b	25.36 ± 0.39 ^b

*Aynı sütünde farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.05).

Çizelge 3. MDA (nmol mg⁻¹ protein) seviyesindeki değişim

Gruplar (µg/L)	Zaman (saat)	
	24	96
Kontrol	2.96 ± 0.29 ^a	3.14 ± 0.21 ^a
55	3.47 ± 0.31 ^b	3.81 ± 0.33 ^b
110	3.85 ± 0.36 ^b	4.33 ± 0.36 ^b

*Aynı sütünde farklı harfleri taşıyan ortalama değerler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (P<0.05).

Çalışmanın elde edilen sonuçlara göre antioksidan savunmalar reaktif oksijen türlerini temizleyebildi ve dokulardaki oksidatif hasarın artmasını önleyebildi. Klorpirifos maruziyetini takiben lipid peroksidasyonundaki artış, lipid peroksidasyonuna yol açan çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu artıran ROS' ların indüksiyonuna atfedilebilir (Liu ve ark., 2008; Valavanidis ve ark., 2006). Yüksek klorpirifos konsantrasyonlu tedavi gruplarında, ikincil bir lipid peroksidasyon ürünü olan MDA içeriği, kontrol balıklarına kıyasla fazla artmıştır; bu da tedavi edilen balıklarda büyük miktarda lipid peroksidasyonun meydana geldiğini göstermektedir. Diğer türlerde de benzer sonuçlar bildirilmiştir. Örneğin klorpirifos maruziyeti sazan balığının karaciğer dokusunda MDA içeriğinde önemli bir artışa neden olduğu raporlanmıştır (Jin ve ark., 2010). Bu çalışmada klorpirifos maruziyetinin Capoeta umbla balığının beyin dokusunda lipid peroksidasyonunu artırdığı, bunun da uygulanan konsantrasyonlarda klorpirifos' un peroksidatif doku hasarını artırdığı göstermektedir.

Lipid peroksidasyonu, pestisitlerin neden olduğu hücre zarı hasarının ilk adımı olup, hücresel bileşenlerdeki oksidatif hasarın değerli bir göstergesi olarak kabul edilir (Monteiro ve ark., 2000). Yapılan çalışmalar (Oruç, 2010) klorpirifos' un balık türlerinde MDA seviyelerini tetiklemediği bildirilmiştir. Bu sonuç çalışmamızın sonuçlarıyla çakışmaktadır. Bu farklılığın, klorpirifos konsantrasyonundaki farklılıklardan, maruz kalma süresinden veya balık türü ve büyüklüğünden kaynaklanabileceği gibi, esas olarak konsantrasyona ve maruz kalma süresine göre değişiklik göstermektedir.

Birçok organizmanın, aktive edilmiş ROS' ların zararlı etkilerine karşı kendilerini korumak için benzersiz sistemleri vardır. Bu çalışmada, beyindeki CAT ve GR aktiviteleri klorpirifos maruziyetinden sonra azaldı. Diğer organizmalar gibi balıklar da sistemlerindeki yüksek ROS seviyeleriyle, süperoksit anyonlarını H₂O₂'ye ve ardından H₂O ve O₂'ye dönüştüren GR ve CAT gibi koruyucu ROS temizleyici enzimlerle mücadele edebilir (Kirici, 2021; Kirici ve ark., 2017; Kırıcı ve ark., 2020; Kirici, Demir, ve ark., 2016; Kırıcı ve ark., 2017; Kırıcı ve ark., 2021; Kirici, Kirici, ve ark., 2016; Kirici, Kirici, ve ark., 2017; Kirici ve ark., 2019). Bu nedenle, klorpirifos maruziyetinin neden olduğu bu enzimlerin aktivitesindeki bir azalmanın, ROS' ların hücreden atılmasına katkıda bulunması mümkündür.

Balık türlerinde pestisit kaynaklı inhibisyon ve CAT aktivitesinde indüksiyon çalışılmıştır. Furadanın adaptif bir yanıt olarak CAT aktivitesinde bir artışa neden olduğu bildirilmiştir (Alves ve ark., 2002). Başka bir çalışmada (Hai ve ark., 1997) Diklorvosun *Ictalurus nebulosus*' ta CAT aktivitesini konsantrasyona bağlı olarak artırdığı ortaya konmuştur. Buna karşın *Heteropneustes fossilis*' te monokrotofos uygulaması CAT aktivitesinde azalmaya neden olmuştur (Thomas ve Murthy, 1976). Farklı bir çalışmada (Sayeed ve ark., 2003) ise deltametrim maruziyeti *Channa punctatus*' un karaciğer, böbrek ve solungaç dokularında CAT aktivitesinde önemli bir azalmaya neden olduğu raporlanmıştır. Monokrotofosa maruz bırakılan *Gambusia affinis* balıklarında CAT, SOD ve GR antioksidan enzim aktivitesinde önemli bir indüksiyon görüldüğü ve 16. günde kademeli olarak kontrol seviyelerine geri döndüğü raporlanan çalışma da (Kavitha ve Rao, 2007) literatürde mevcut. Antioksidan

enzimlerin önemli bir özelliği, kirlenici kaynaklı strese önemli bir adaptasyon olabilecek oksidatif stres koşulları altında indüklebilirlikleridir (Li ve ark., 2007).

SONUÇ ve ÖNERİLER

Balıklar, su ekosistemlerindeki pestisit kirliliğinin etkilerini değerlendirmek için kullanılan önemli bir model organizmadır. Balık dokularındaki antioksidan sistemdeki değişiklikler ve lipid peroksidasyon seviyeleri, pestisitlerin neden olduğu oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkan biyokimyasal değişiklikleri yansıtmaktadır. Bu biyobelirteçler, pestisitlerin sucul organizmalar üzerindeki toksik etkilerini anlamak ve bu etkileri azaltmak için gerekli önlemleri almak açısından önemli bilgiler sağlamaktadır. Bu nedenle, bu parametreler, su ekosistemlerinin sağlığını değerlendirmek ve pestisitlerin çevresel riskini belirlemek için önemli bir araç olarak kullanılmaktadır. Ancak, farklı balık türleri, yaşları ve maruz kaldıkları pestisit türlerine bağlı olarak antioksidan sistemlerinin yanıtı farklılık gösterebileceğinden, bu konuda daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

YAZAR ORCID NUMARALARI

Mehmet Reşit TAYSI  <https://orcid.org/0000-0002-1072-4059>

KAYNAKLAR

- Ahmad, I., Hamid, T., Fatima, M., Chand, H. S., Jain, S. K., Athar, M., Raisuddin, S. 2000. Induction of hepatic antioxidants in freshwater catfish (*Channa punctatus* Bloch) is a biomarker of paper mill effluent exposure. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1523(1): 37-48.
- Almeida, M., Fanini, F., Davino, S., Aznar, A., Koch, O., Barros, S. d. M. 1997. Pro-and anti-oxidant parameters in rat liver after short term exposure to hexachlorobenzene. *Human & experimental toxicology*, 16(5): 257-261.
- Alves, S. R., Severino, P. c. C., Ibbotson, D. P., da Silva, A. Z., Lopes, F. R., Sáenz, L. A., Bainy, A. C. 2002. Effects of furadan in the brown mussel *Perna perna* and in the mangrove oyster *Crassostrea rhizophorae*. *Marine Environmental Research*, 54(3-5): 241-245.
- Avci, A., Kaçmaz, M., Durak, İ. 2005. Peroxidation in muscle and liver tissues from fish in a contaminated river due to a petroleum refinery industry. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(1): 101-105.
- Begum, G., Vijayaraghan, S. 1996. Alterations in protein metabolism of muscle tissue in the fish *Clarias batrachus* (Linn) by commercial grade dimethoate.
- Beutler, E. 1984. A manual of biochemical methods. Red cell metabolism: 77-78.
- Dar, O. I., Aslam, R., Pan, D., Sharma, S., Andotra, M., Kaur, A., Jia, A.-Q., Faggio, C. 2022. Source, bioaccumulation, degradability and toxicity of triclosan in aquatic environments: A review. *Environmental Technology & Innovation*, 25: 102122.
- Hai, D. Q., Varga, S. I., Matkovic, B. 1997. Organophosphate effects on antioxidant system of carp (*Cyprinus carpio*) and catfish (*Ictalurus nebulosus*). *Comparative Biochemistry and Physiology - C Pharmacology Toxicology and Endocrinology*, 117(1): 83-88.
- Hatami, M., Banaee, M., Haghi, B. N. 2019. Sub-lethal toxicity of chlorpyrifos alone and in combination with polyethylene glycol to common carp (*Cyprinus carpio*). *Chemosphere*, 219: 981-988.
- Jin, Y., Chen, R., Liu, W., Fu, Z. 2010. Effect of endocrine disrupting chemicals on the transcription of genes related to the innate immune system in the early developmental stage of zebrafish (*Danio rerio*). *Fish & Shellfish Immunology*, 28(5-6): 854-861.
- Jin, Y., Zhang, X., Shu, L., Chen, L., Sun, L., Qian, H., Liu, W., Fu, Z. 2010. Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*). *Chemosphere*, 78(7): 846-852.
- Kavitha, P., Rao, J. V. 2007. Oxidative stress and locomotor behaviour response as biomarkers for assessing recovery status of mosquito fish, *Gambusia affinis* after lethal effect of an organophosphate pesticide, monocrotophos. *Pesticide biochemistry and physiology*, 87(2): 182-188.
- Kelly, K., Havrilla, C. M., Brady, T. C., Abramo, K. H., Levin, E. D. 1998. Oxidative stress in toxicology: established mammalian and emerging piscine model systems. *Environmental health perspectives*, 106(7): 375-384.
- Kirici, M. 2021. Toxicological Effects of Metal Ions and Some Pesticides on Carbonic Anhydrase Activity Purified from Bighead Carp (*Hypophthalmichthys Nobilis*) Gill Tissue. *Carpathian Journal of Earth and Environmental Sciences*, 16(1): 59-65.
- Kirici, M., Atamanalp, M., Kirici, M., Beydemir, S. 2017. In vitro effects of some metal ions on glutathione reductase in the gills and liver of *Capoeta trutta*. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 8(1): 66-70.

- Kirici, M., Atamanalp, M., Kirici, M., Beydemir, Ş. 2020. Purification of glucose 6-phosphate dehydrogenase from Capoeta umbla gill and liver tissues and inhibition effects of some metal ions on enzyme activity. *Marine Science and Technology Bulletin*, 9(2): 92-101.
- Kirici, M., Demir, Y., Beydemir, S., Atamanalp, M. 2016. The Effect of Al(3+) and Hg(2+) on Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase from Capoeta Umbla Kidney. *Applied Ecology and Environmental Research*, 14(2): 253-264.
- Kirici, M., Kirici, M., Atamanalp, M. 2017. In vitro Inhibition Effects of Some Metal Ions on Glutathione Reductase Purified from Capoeta trutta Kidney. *Aquaculture Studies*, 17: 385-394.
- Kirici, M., Kirici, M., Atamanalp, M., Beydemir, Ş. 2021. Purification of glutathione reductase from some tissues of Capoeta umbla and the inhibitory effects of some metal ions on enzyme activity. *Marine Science and Technology Bulletin*, 10(2): 193-200.
- Kirici, M., Kirici, M., Beydemir, S., Atamanalp, M. 2016. Purification of Carbonic Anhydrase from Capoeta umbla (Heckel, 1843) Gills and Toxicological Effects of Some Metals on Enzyme Activity. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 16(1): 169-175.
- Kirici, M., Kirici, M., Beydemir, S., Bulbul, M. 2017. Purification of Glucose 6-Phosphate Dehydrogenase from Gilthead Sea Bream (Sparus Aurata) Gill and Liver Tissues and Inhibition Effects of Some Metal Ions on Enzyme Activity. *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(12): 7074-7082.
- Kirici, M., Nedzvetsky, V. S., Agca, C. A., Gasso, V. Y. 2019. Sublethal doses of copper sulphate initiate deregulation of glial cytoskeleton, NF-kappa B and PARP expression in Capoeta umbla brain tissue. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 10(1): 103-110.
- Li, F., Ji, L., Luo, Y., Oh, K. 2007. Hydroxyl radical generation and oxidative stress in Carassius auratus liver as affected by 2, 4, 6-trichlorophenol. *Chemosphere*, 67(1): 13-19.
- Liu, Y., Wang, J., Wei, Y., Zhang, H., Xu, M., Dai, J. 2008. Induction of time-dependent oxidative stress and related transcriptional effects of perfluorododecanoic acid in zebrafish liver. *Aquatic Toxicology*, 89(4): 242-250.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265-275.
- Lu, J., Wu, L., Newman, J., Faber, B., Gan, J. 2006. Degradation of pesticides in nursery recycling pond waters. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(7): 2658-2663.
- Monteiro, P., Reis-Henriques, M., Coimbra, J. 2000. Plasma steroid levels in female flounder (Platichthys flesus) after chronic dietary exposure to single polycyclic aromatic hydrocarbons. *Marine Environmental Research*, 49(5): 453-467.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2): 351-358.
- Oruc, E. O., Sevgiler, Y., Uner, N. 2004. Tissue-specific oxidative stress responses in fish exposed to 2, 4-D and azinphosmethyl. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 137(1): 43-51.
- Oruç, E. Ö. 2010. Oxidative stress, steroid hormone concentrations and acetylcholinesterase activity in Oreochromis niloticus exposed to chlorpyrifos. *Pesticide biochemistry and physiology*, 96(3): 160-166.
- Saha, S., Chukwuka, A. V., Mukherjee, D., Patnaik, L., Nayak, S., Dhara, K., Saha, N. C., Faggio, C. 2021. Chronic effects of Diazinon® exposures using integrated biomarker responses in freshwater walking catfish, Clarias batrachus. *Applied Sciences*, 11(22): 10902.
- Sayeed, I., Parvez, S., Pandey, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin, S. 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, Channa punctatus Bloch. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56(2): 295-301.
- Sharma, S., Dar, O. I., Singh, K., Kaur, A., Faggio, C. 2021. Triclosan elicited biochemical and transcriptomic alterations in Labeo rohita larvae. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 88: 103748.
- Thomas, P., Murthy, T. 1976. Studies on the impact of a few organic pesticides on certain fish enzymes.
- Trasande, L., Massey, R. I., DiGangi, J., Geiser, K., Olanipekun, A. I., Gallagher, L. 2011. How developing nations can protect children from hazardous chemical exposures while sustaining economic growth. *Health Affairs*, 30(12): 2400-2409.
- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., Scoullou, 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.