

Biyopestisit Emamektin Benzoat'ın *Oreochromis niloticus*'un Dokularında Toksik Etkilerinin Asetilkolinesteraz Enzim Aktivitesiyle Belirlenmesi ^{1*}

Özge TEMİZ^{1*} Ferit KARGIN¹

¹Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sarıçam, Adana.

*  <https://orcid.org/0000-0003-0668-5744>,  <https://orcid.org/0000-0003-4315-5689>

Received date: 19.02.2019

Accepted date: 29.03.2019

Atf yapmak için: Temiz, Ö. & Kargin, F. (2019). Biyopestisit emamektin benzoat'ın *Oreochromis niloticus*'un dokularında toksik etkilerinin asetilkolinesteraz enzim aktivitesiyle belirlenmesi. *Anadolu Çev. ve Hay. Dergisi*, 4(1), 34-38. Doi: <https://doi.org/10.35229/jaes.529216>

How to cite: Temiz, O. & Kargin, F. (2019). Determination of toxic effects of biopesticide emamectin benzoate in the tissues of *Oreochromis niloticus* by acetylcholinesterase enzyme activity. *J. Anatolian Env. and Anim. Sciences*, 4(1), 34-38. Doi: <https://doi.org/10.35229/jaes.529216>

Öz: Bu çalışmada emamektin benzoat'ın *Oreochromis niloticus*'da AChE aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Balıklar 110 ve 220 µg/L emamektin benzoat'ın etkisine 96 saat ve 14 günlük sürelerle bırakılarak beyin, karaciğer ve böbrek dokularında asetilkolinesteraz (AChE) aktiviteleri belirlenmiştir.

Emamektin benzoat'a maruz bırakılan *O. niloticus*'un beyin, karaciğer ve böbrek dokularında asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi kontrol değerleriyle ile karşılaştırıldığında önemli değişiklikler belirlenmiştir. Emamektin benzoat'a maruz bırakılan *O. niloticus*'un beyin, karaciğer ve böbrek dokularında AChE aktivitesi kontrol değerleriyle ile karşılaştırıldığında tüm sürelerde azaldığı belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Emamektin benzoat, *Oreochromis niloticus*, asetilkolinesteraz, AChE, toksisite

Determination of Toxic Effects of Biopesticide Emamectin Benzoate in the Tissues of *Oreochromis niloticus* by Acetylcholinesterase Enzyme Activity

Abstract: In this study, the effects of emamectin benzoate on the AChE activity in *Oreochromis niloticus* were investigated. Fishes were exposed to 110 and 220 µg / L of emamectin benzoate for 96 hours and 14 days to determine acetylcholinesterase (AChE) activities in brain, liver and kidney tissues.

They were significant changes in acetylcholinesterase (AChE) activities in brain, liver and kidney tissues of *O. niloticus* exposed to emamectin benzoate compared to controls. AChE activity in brain, liver and kidney tissues of *O. niloticus*, was reduced in all periods when compared to control values.

Keywords: Emamectin benzoate, *Oreochromis niloticus*, acetylcholinesterase, AChE, toxicity.

GİRİŞ

Endüstriyel ve tarımsal aktiviteler akuatik ortamdaki kontaminantların artışında en önemli rolü oynamaktadır. Bu yüzden bu kontaminantların toksik etkileri; suyun kalitesinin bozulmasına ve insan sağlığında olumsuz etkilere neden olmaktadır. Sayısız kontaminant kaynaklarından biri de pestisitlerdir. Pestisitler toksik kimyasalların geniş bir gurubundan sorumludurlar ve zararlıların kontrolünde geniş bir kullanım alanına sahiptirler (Kavitha & Rao, 2007). Tarımda verim ve kaliteli ürün alımı için kullanılan pestisitler, toksik bileşiklerin büyük sınıflarından biri olarak dikkati çekmektedir (Matos vd., 2007). Son yıllarda pestisitlerin kontrolsüz kullanımı ekosistem işlevlerinde bozulmalara ve toksisiteye neden olmuştur.

Tarımsal ve endüstride kullanılan pestisitlerin aşırı derecede üretilmesi bu alanlarda pestisitlerin kullanımını arttırmış ve sonuçta akuatik ortamın yüksek derecede kontaminasyonuna neden olmuştur. Tarımsal faaliyetler sonucunda yüzeysel suların akışlarıyla ve yeraltı drenajı ile temiz su kaynaklarına pestisitlerin kontaminasyonu olmaktadır (Tavakol, 2007).

Pestisitler, sentetik olarak üretildiği gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilmektedir. Emamektin benzoat, orijinali semi-sentetik avermectinlerin *Streptomyces* cinsinin *Streptomyces avermitilis* üyesi tarafından toprakta fermentasyonu sonucu üretilmektedir (Roberts & Hutson, 1999). Emamektin benzoat (EMB; [(4''R)-4-deoxy-4''-(methylamino) avermectin B₁ benzoate]) insektisitlerin kontrolü için geliştirilmiş bir makrosiklik laktondur (Mushtaq vd., 1996). Nematod ve arthropodlarda avermectinler sinapslar ve kas hücrelerinde spesifik glutamat kaplı anyon kanallarını açar ve bunun sonucunda klor iyonlarının girişi artar (Roberts & Hutson, 1998). Bu hücreyi hiperpolarize eder nöromusküler son plakanın eşik değerinin ötesinde depolarizasyonu önler (Davies & Rodger, 2000). Emamektin benzoat nörotoksik özelliklere sahiptir ve eklem bacaklılarda alındıktan sonra çok etkilidirler (Roberts & Hutson, 1998).

Asetilkolinesteraz (AChE; EC 3.1.1.7), çeşitli balıklarda çevresel kirleticilerin önemli bir biyomarkırır (De la Torre vd., 2000; Moraes vd., 2011; Richetti vd., 2011). AChE, asetilkolinin, sinaptik boşluktaki kolin ve asetata hidrolizini katalize eden bir enzimdir. AChE nörotransmitter asetilkolinin inaktivasyonundan sorumlu bir enzimdir (Matsuda vd., 2005; Tan vd., 2007; El Hassani vd., 2008). Asetilkolinin (ACh) düzeylerinin korunmasında sorumlu reaksiyon, iki kolinesteraz (ChE): asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE; EC 3.1.1.8) tarafından katalize edilmektedir (Richetti vd., 2011).

Bu çalışmada, emamektin benzoat'ın *O. niloticus*'un beyin, karaciğer ve böbrek dokularında Asetilkolinesteraz (AChE) enzim aktivitesi üzerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Deney hayvanı olan *Oreochromis niloticus* balıkları Çukurova Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi yetiştirme havuzlarından alınmıştır. Laboratuvara getirilen deney hayvanları dinlendirilmiş musluk suyu içeren ve merkezi sistemle havalandırılan cam akvaryumlarda (40x120x40cm) içerisinde laboratuvar koşullarına 2 hafta uyumları sağlanmıştır. Suyun özellikleri: sıcaklık 20.5±0.68°C, çözülmüş oksijen 6.51±0.55 mg/L, alkalinite 238±2.64 mg/L CaCO₃, toplam sertlik 256±9.68 mg/L CaCO₃, pH 7.61±0.3. Laboratuvar sıcaklığı 21±1 °C de tutulmuş ve 12 saat aydınlatma periyodu uygulanmıştır.

O. niloticus'da emamektin benzoat'ın 96 saatlik LC₅₀ değerinin belirlenmesi OECD No. 203 rehberiyle (OECD, 1992), semi-statik sistem kullanılarak yürütülmüştür. 10 farklı nominal konsantrasyon uygulanmıştır ve kontrol akvaryumuna göre 24, 48, 72 ve 96 saat göz önüne alınarak ölüm oranları kaydedilmiştir. 96 saat LC₅₀ değerinin belirlenmesi probit analiz metodu ile yapılmıştır (Finney, 1971).

Deneylerde 40x40x40 cm boyutlarında 3 cam akvaryum kullanılmıştır. Akvaryumların her birine 45L su içerisine 8 adet balık toplamda 24 adet balık kullanılmıştır. 3 akvaryumdan birincisi kontrol, ikincisi emamektin benzoat'ın LC₅₀ değerinin ¼'ü (220 µg/L) ve üçüncü akvaryum ise emamektin benzoat'ın 1/8 'i (110 µg/L) etkisine 96 saat ve 14 günlük sürelerle bırakılmıştır. Denemeler süresinde sudaki toksikant derişimindeki değişimleri en aza indirmek üzere 24 saatte bir değiştirilmiştir. Uygulanan toksikant derişimleri günlük olarak stok çözelti şeklinde hazırlanıp her gün aynı saatte uygulama yapılmıştır. Yerel Etik Kurul ilkelerine uygun bir şekilde araştırma yapılmıştır.

96 saat ve 14 gün süre sonunda her uygulama ve derişimden 4 balık çıkarılarak beyin, karaciğer ve böbrek dokuları buz üzerinde disekte edilerek ve serum fizyolojik (%0.59 NaCl) ile yıkayıp temizlenerek tartılıp örnekler biyokimyasal analizlere kadar -80 °C'de saklanmıştır. Biyokimyasal analizlerde kullanılan; beyin, karaciğer ve böbrek dokuları 2.5 mM ATP içeren PBS (fosfatla tamponlanmış tuz çözeltisi) tamponunda 1/10 ağırlık/hacim (w/v) oranında homojenizatörde buz içerisinde 5 dakika homojenize edilmiş ve homojenat +4°C'de 16000 xg'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatantlarda protein miktarı ile AChE enzim aktiviteleri belirlenmiştir.

Bradford Yöntemi ile Protein Tayini: Bradford yöntemi, aminoasitlerin Coomassie brilliant blue G-250 boyasına bağlanmasıyla mavi renkli kompleks oluşması esasına dayanır. Renk alan çözeltinin absorbanansı 595 nm'de ölçülür (Bradford, 1976).

Asetilkolinesteraz Yöntemi: Asetilkolinin asetat ile tiyokoline parçalanmasını, asetilkolinesteraz enzimi katalizler. Tiyokolinin, DTNB ile tepkimesi sonucunda oluşan 5-tiyo-2-nitrobenzoik asidin oluşturduğu sarı renkli bileşiğin 412 nm dalga boyunda ölçülmesi temeline dayanmaktadır (Ellman vd., 1961).

İstatiksel Analiz: Deneylemlerden elde edilen verilerin istatistik analizleri SPSS 22.0 programında “One-way ANOVA Duncan test, Student t test ve probit analizi” kullanılarak $p<0.05$ önem derecesinde belirlenmiştir.

BULGULAR

***O. niloticus*'da emamektin benzoat'ın Akut Toksikite Değeri:** Akut toksisite deneylerinde emamektin benzoat etkisinde 10 adet balık, 10 farklı nominal konsantrasyonların (200, 250, 350, 400, 500, 600, 800, 900, 1000, 1100 $\mu\text{g/L}$) etkisinde morfolojik olarak deride koyulaşması, dengesiz yüzmeye, hareketsiz kalma ve hızlı hareket etme gözlenmiş, 96 saat sonunda sırasıyla uygulanan konsantrasyonlarda sırayla % (0, 0, 10, 20, 20, 30, 40, 50, 60, 70) balık ölümü gerçekleşmiştir. Konsantrasyonlarda her akvaryumda bulunan 10 balık ve ölen balık sayısı kullanılarak probit analizi yöntemi ile %95 güven aralığında *O. niloticus*'da emamektin benzoat 96 saat LC_{50} değeri 880,058 $\mu\text{g/L}$ olarak bulunmuştur (Tablo 1).

45.233-193.661

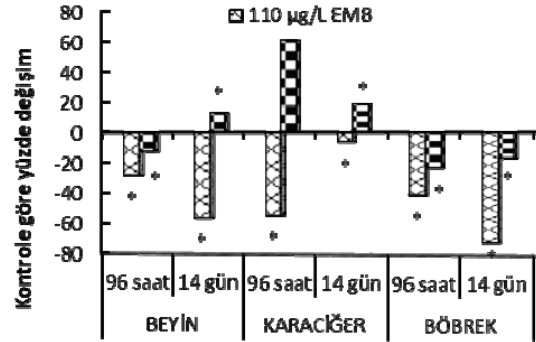
Tablo 1. *O. niloticus*'da 96 saat süreyle denenen emamektin benzoat konsantrasyonlarının probit analizi ile değerlendirilmesi.

Lethal Konsantrasyon ($\mu\text{g/L}$)	Maruz Bırakılan Derişim ($\mu\text{g/L}$)	Güven Aralığı (%95)
LC_{10}	87	45.233-193.661
LC_{30}	293	206.209-325.38
LC_{50}	880	714.14-992.34
LC_{70}	1087	938.87-1386.97

O. niloticus'da 96 saat ve 14 gün sürelerde beyin, karaciğer ve böbrek dokusu AChE aktivitesi üzerine emamektin benzoat derişime ve zamana bağlı etkileri Çizelge 2, 3 ve 4'de verilmiştir. Beyin, karaciğer ve böbrek AChE aktivitesinde 96 saat ve 14 gün süreleri sonunda denenen tüm ortam derişimlerinde kontrole göre önemli bir azalma belirlenmiş ve bu azalmanın denenen tüm ortam derişimlerinin etkisinde istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Şekil 1; Tablo 2, 3, 4; $p<0.05$). 96 saatlik süre sonunda emamektin benzoat düşük ortam derişiminde karaciğer ve böbrek kontrole grubuna göre AChE aktivitesi sırasıyla %54 ve %40 düzeyinde bir azalmanın olduğu belirlenmiştir.

O. niloticus'un belirli bir dokusunda AChE aktivitesi üzerine emamektin benzoat süreye bağlı etkileri Çizelge 2, 3 ve 4'de verilmiştir. Beyin AChE aktivitesi tüm ortam derişimlerinde süreye bağlı olarak istatistiksel olarak önemli bir azalma göstermiştir ($p<0.05$). Karaciğer AChE aktivitesinde süreye bağlı olarak emamektin benzoat tüm ortam derişimlerinde bir artış gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). 96 saate oranla 14 günlük süre sonunda karaciğer AChE aktivitesi emamektin benzoat derişimleri etkisinde sırasıyla %89 ve %21 düzeyinde bir artış olmuştur. Böbrek AChE aktivitesinde süreye bağlı olarak emamektin benzoat

düşük derişimi etkisinde %117 bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 1. *O. niloticus*'da beyin, karaciğer ve böbrek dokularında EMB'nin AChE ($\mu\text{M/dk/mg}$ protein) aktivitesi üzerine etkileri
*: Kontrole göre istatistiksel ayrımı göstermektedir ($p<0.05$)

Tablo 2. *O. niloticus*'da 96 saat ve 14 gün sürelerde emamektin benzoat etkisinde beyin dokusu AChE enzim aktivitesi ($\mu\text{M/dk/mg}$ protein).

Konsantrasyon	Beyin	
	96 saat	14. gün
Kontrol grubu	0.077 \pm 0.001ax	0.071 \pm 0.001ax
110 $\mu\text{g/L}$ EMB	0.055 \pm 0.003bx	0.014 \pm 0.001by
220 $\mu\text{g/L}$ EMB	0.048 \pm 0.002cx	0.035 \pm 0.000cy

a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayrımı, x ve y harfleri ise bir grubun farklı süreleri arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ($N=6$). $X \pm Sx$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata.

Tablo 3. *O. niloticus*'da 96 saat ve 14 gün sürelerde emamektin benzoat etkisinde karaciğer dokusu AChE enzim aktivitesi ($\mu\text{M/dk/mg}$ protein).

Konsantrasyon	Karaciğer	
	96 saat	14. gün
Kontrol grubu	0.085 \pm 0.002ax	0.084 \pm 0.001ax
110 $\mu\text{g/L}$ EMB	0.039 \pm 0.003bx	0.072 \pm 0.001by
220 $\mu\text{g/L}$ EMB	0.061 \pm 0.001cx	0.075 \pm 0.002cy

a, b ve c harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayrımı, x ve y harfleri ise bir grubun farklı süreleri arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ($N=6$). $X \pm Sx$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata.

Tablo 4. *O. niloticus*'da 96 saat ve 14 gün sürelerde emamektin benzoat etkisinde böbrek dokusu AChE enzim aktivitesi ($\mu\text{M/dk/mg}$ protein).

Konsantrasyon	Böbrek	
	96 saat	14. gün
Kontrol grubu	0.005 \pm 0.000ax	0.004 \pm 0.000ax
110 $\mu\text{g/L}$ EMB	0.003 \pm 0.000bx	0.001 \pm 0.000by
220 $\mu\text{g/L}$ EMB	0.002 \pm 0.000bx	0.001 \pm 0.000bx

a ve b harfleri aynı süre içerisinde gruplar arasındaki ayrımı, x ve y harfleri ise bir grubun farklı süreleri arasındaki ayrımı belirtmek amacıyla kullanılmıştır. Farklı harflerle gösterilen veriler arasında $p<0.05$ düzeyinde istatistiksel ayrım bulunmaktadır ($N=4$). $X \pm Sx$: Aritmetik ortalama \pm Standart hata.

TARTIŞMA ve SONUÇ

AChE kolinerjik sinir sisteminde önemli rol oynamakta ve bu sistem insektisitlerin inhibisyonunu için hedef bölge konumundadır. AChE aktivitesi çeşitli pestisitlere maruz kalan bir organizmanın değerlendirilmesinde ortak bir biyomarkırdır (Rakotondravelo vd., 2006). Balıklarda AChE inhibisyonu asetilkolinin düzeylerindeki artışın sonucu olmakta ve organizmaların yüzmeye ve beslenme yeteneğini etkilemesi nedeniyle tehlikeli olabilmektedir (Banaee vd., 2011). AChE, pestisitlerin etkisinde toksisiteye bağlı olarak biyoindikator olarak kullanılmaktadır, bununla birlikte etki düzeyleri ve toksisite arasındaki ilişki, organizmanın büyüklüğüne, çevre şartlarına ve tür gibi değişken faktörler nedeniyle değişebilmektedir (Wang vd., 2015).

Çalışmamızda *O. niloticus*'un böbrek ve beyin dokusu AChE aktivitesi emamektin benzoat subakut derişim ve etki süreleri boyunca azalma göstermiştir.

Malathion, triazophos ve carbamat gibi insektisitlerin etkisinde *C. carpio*'da 96 saatlik etki süresinde AChE aktivitesi azalmıştır. Bu pestisitlerin ikili karışımlarının etkisinde beyin AChE aktivitesi değişiklik göstermiştir. Araştırmacılar bu insektisitlerin AChE aktif bölgelerine bağlanarak, nörotransmitterlerin bağlanmasını engellediklerini belirtmişlerdir (Wang vd., 2015). Organofosfatlı pestisit chlorpyrifos'un subletal etkisine 4 gün süreyle bırakılan *Fundulus parvipinnis* beyin ve kas dokusu AChE aktivitesi azalmıştır. Buda pestisit subletal dozlarda nörotoksositeye neden olduğunu göstermektedir (Renick vd., 2016). Thiobencarb etkisine bırakılan *A. anguilla*'da beyin, solungaç ve kas dokusu AChE aktivitesindeki azalma sırasıyla %20, 46 ve 70 düzeyinde gerçekleşmiştir. Araştırmacılar AChE aktivitesinin beyin ve kas dokusunda azalması bu dokularda sinir iletiminde olumsuz etkilere neden olduğunu bildirmişlerdir (Fernandez-Vega vd., 2002). Kavitha & Rao, (2007) Organofosfatlı pestisit monocrotophos'un etkisine bıraktıkları *Gambusia affinis* balıklarında beyin dokusu AChE aktivitesinin azaldığını ve bu azalmanın balıklarda hareket aktivitesinde bozukluklar oluşturduğunu bildirmişlerdir. Herbisit clamazone ve propanil etkisine bırakılan *Leporinus obtusidens*'de beyin ve kas dokusunda AChE aktivitesi kontrole göre azalmıştır. AChE aktivitesindeki bu azalma clamazone etkisinde beyin ve kas dokusunda sırasıyla %56 ve 56 düzeyinde, propanilde ise %30 ve 60 düzeyinde olduğu belirtilmiştir (Moraes vd., 2009).

TEŞEKKÜR

Bu Çalışma Ç.Ü. Araştırma Projeleri Birimi ve TÜBİTAK 2211-C Yurtiçi Öncelikli Alanlara Yönelik Doktora Burs Programı Tarafından Desteklenmiştir. Proje No: FDK-2015-4517.

KAYNAKLAR

- Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein-dye binding. *Anal Biochem*, **72**, 248-254.
- Davies, I. & Rodger, G. (2000).** A review of the use of ivermectin as a treatment for sea lice [*Lepeophtheirus salmonis* (Krøyer) and *Caligus elongatus* (Nordmann)] infestation in farmed Atlantic salmon *Salmo salar* L. *Aquaculture Res*, **31**, 869-883.
- De La Torre, F.R., Salibian, A. & Ferrari, L., (2000).** Biomarkers assessment in juvenile *Cyprinus carpio* exposed to waterborne cadmium. *Environmental Pollution*, **109**, 277-282.
- El Hassani, A.K., Dacher, M., Gary, V., Lambin, M., Gauthier, M. & Armengaud, C. (2008).** Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behaviour of the honeybee (*Apis mellifera*). *Arch Environ Contam Toxicol*, **54**, 653-61.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colourmetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, **7**, 88-95.
- Fernández-Vega, C., Sancho, E., Ferrando, M.D. & Andreu, E. (2002).** Thiobencarb-induced changes in acetylcholinesterase activity of the fish *Anguilla anguilla*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **72**, 55-63.
- Finney, D.J. (1971).** *Probit Analysis*: 3d Ed. Cambridge University Press.
- Huber, A., Bach, M. & Frede, H.G. (2000).** Pollution of surface waters with pesticides in Germany: modelling non-point source inputs. *Agriculture, ecosystems & environment*, **80**(3), 191-204.
- 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.
- Matos, P., Fontainhas-Fernandes, A., Peixoto, F., Carrola, J. & Rocha, E. (2007).** Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl pest. *Biochem. Physiol*, **89**, 73-80.
- Matsuda, K., Shimomura, M., Ihara, M., Akamatsu, M. & Sattelle, D.B. (2005).** Neonicotinoids show selective and diverse actions on their nicotinic receptor targets: electrophysiology, molecular biology, and receptor modelling studies. *Biosci Biotechnol Biochem*, **69**, 1442-52.

- Moraes, B.S., Clasen, B., Loro, V.L., Pretto, A., Toni, C., Avila, L.A., Marchesan, E., Machado, S.L.O., Zanella, R. & Reimche, G.B. (2011).** Toxicological response of *Cyprinus carpio* after exposure to a commercial herbicide containing imazethapyr and imazapic. *Ecotoxicol Environ Safe*, **74**, 328-335.
- Moraes, B.S., Loro, V.L., Pretto, A., da Fonseca, M.B., Menezes, C., Marchesan, E. & de Avila, L.A. (2009).** Toxicological and metabolic parameters of the teleost fish (*Leporinus obtusidens*) in response to commercial herbicides containing clomazone and propanil. *Pesticide biochemistry and physiology*, **95**(2), 57-62.
- Mushtaq, M., Feely, W.F., Syintsakos, L.R. & Wislocki, P.G. (1996).** Immobility of emamectin benzoate in soils. *J Agric Food Chem*, **44**, 940- 944.
- OECD test, (1992).** NO: 203: Fish. Acute toxicity test.
- Rakotondravelo, M.L., Anderson, T.D., Charlton, R.E. & Zhu, K.Y. (2006).** Sublethal effects of three pesticides on activities of selected target and detoxification enzymes in the aquatic midge, *Chironomus tentans* (Diptera: Chironomidae). *Archives of environmental contamination and toxicology*, **51**(3), 360.
- Renick, V.C., Weinersmith, K., Vidal-Dorsch, D.E. & Anderson, T.W. (2016).** Effects of a pesticide and a parasite on neurological, endocrine, and behavioural responses of an estuarine fish. *Aquatic Toxicology*, **170**, 335-343.
- Richetti, S.K., Rosemberg, D.B., Ventura-Lima, J., Monserrat, J.M., Bogo, M.R., & Bonan, C.D. (2011).** Acetylcholinesterase activity and antioxidant capacity of a zebrafish brain is altered by heavy metal exposure. *Neurotoxicology*, **32**(1), 116-122.
- Roberts, T.R. & Hutson, D.H. (1999).** *Metabolic Pathways of Agrochemicals*. The Royal Society of Chemistry, UK, 871p.
- Tan, J., Galligan, J.J. & Hollingworth, R.M. (2007).** Agonist actions of neonicotinoids on nicotinic acetylcholine receptors expressed by cockroach neurons. *Neurotoxicology*, **28**, 829-42.
- Tavakol, M. (2007).** *Environmental impact assessment of diazinon in rice fields (a Case Study on Amol Township Rice Fields)*, M.Sc. thesis, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, 1-95pp.
- Wang, Y., Chen, C., Zhao, X., Wang, Q. & Qian, Y. (2015).** Assessing joint toxicity of four organophosphate and carbamate insecticides in common carp (*Cyprinus carpio*) using acetylcholinesterase activity as an endpoint. *Pesticide biochemistry and physiology*, **122**, 81-85.

***Corresponding author's:**

Özge TEMİZ

Çukurova Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Sarıçam, Adana, Türkiye.

E-mail: temizozge@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0668-5744>