

TEBUKONAZOL (FUNGUSİT) UYGULANAN *Cyprinus carpio* (L. 1758)'DA SERUM TOTAL ANTİOKSİDAN, OKSİDAN ve SİALİK ASİT DÜZEYLERİNİN İNCELENMESİ

İnan Kaya^{*1}, Muhitdin Yılmaz², Evren Koç³, Hacı Ahmet Deveci⁴, Yusuf Ersan², Mahmut Karapehlivan⁵

¹ Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars Türkiye

² Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kars Türkiye

³ Kafkas Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Kars Türkiye

⁴ Kafkas Üniversitesi, Atatürk Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Kars Türkiye

⁵ Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars Türkiye

Received: 09.09.2013 / Accepted: 21.04.2014 / Published online: 29.06.2014

Öz:

Bu çalışmada, bir fungusit olarak kullanılan tebukonazol'un *Cyprinus carpio* (L., 1758)'da serum total antioksidan (TAS), oksidan (TOS) ve sialik asit (TSA) düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Balıkların 15 gün süre ile laboratuvar ortamına adaptasyonları sağlandıktan sonra, her grupta 6 adet balık bulunan 3 grup oluşturuldu. Grup I'de bulunan balıklar normal su ortamında, grup II ve III ise sırasıyla 2 ve 3 mg/L tebukonazol eklenen tanklarda 14 gün süre ile bekletildi. Balıklardan kan örnekleri alındı ve serumları ayrıldı. Daha sonra, TAS, TOS ve TSA düzeyleri analiz edildi. Serum TAS düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla tebukonazol uygulanan gruplarda azalırken, TOS ve TSA bakımından artışlar olduğu saptandı. Sonuç olarak, tebukonazol uygulamalarının *Cyprinus carpio*'nun serum TAS, TOS ve TSA düzeyleri üzerinde önemli değişiklikler meydana getirdiği tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: *Cyprinus carpio*, Tebukonazol, Oksidan/Antioksidan, Sialik Asit

* Correspondence to:

İnan KAYA, Kafkas Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 36100, Kars-TÜRKİYE

E-mail: inankaya@hotmail.com

Abstract: Investigation of The Serum Total Antioxidant, Oxidant and Sialic Acid Levels of *Cyprinus carpio* (L. 1758) Treated With Tebuconazole (Fungicide)

In the present study was aimed to investigate effects on the levels of serum total antioxidant (TAS), oxidant (TOS) and sialic acid (TSA) in *Cyprinus carpio* (L., 1758) of tebuconazole used as a fungicide. The fishes were kept in tanks for 15 days in terms of adaptation. After, it was formed three groups each containing 6 fishes. Group II and III were placed into separate tanks containing respectively 2 and 3 mg/L tebuconazole and also group I was placed into normal water for 14 days. It were taken the blood samples from fishes and analyzed the levels of serum TAS, TOS and TSA. Even though the serum TAS levels of Tebuconazole-treated groups were lower compared the control group, in terms of TOS and TSA levels was determined the increases. In conclusion, it was determined that tebuconazole treatments caused important changes on the levels of serum TAS, TOS and TSA in carps.

Keywords: *Cyprinus carpio*, Tebuconazole, Oxidant/Antioxidant, Sialic Acid

Giriş

Pestisitler zararlı organizmaları yok etmek üzere üretilmiş olup, diğer canlı organizmalar için potansiyel bir tehlike olarak önem taşımaktadır. Su ortamlarına ya uygulama sırasında ya da tarım ve orman sahalarındaki pestisit uygulaması sonrası yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama suları ile taşınmaları sonucu geçmekte ve ortamdaki diğer organizmaları etkileyebilmektedir (Stegeman vd., 1991; Lloyd, 1992; Selvi, 2004).

Azoller grubuna dahil olan tebukonazol çeltik alanlarında mantar tehdidine karşı bir fungusit olarak kullanılmaktadır. Sistemik etkili olan tebukonazol ayrıca mantar bünyesinde bulunan ergosterol sentezini önlemekte ve sucul ortamda uzun süre içerisinde organizmalar üzerinde toksik etkilere sebep olabilmektedir (Bayer Crop Science Limited, 2005). Çevresel kirleticilerden kaynaklanan reaktif oksijen türleri (ROT) sucul canlıların hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere sebep olup, biyokimyasal parametrelerde de değişiklikler meydana getirebilmektedir (Parvez ve Raisuddin, 2005; Gönenç, 2006). Oksidatif stres varlığında balıkların yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi içermelerinden dolayı doku ve hücre membranlarının kolay bir şekilde okside olabileceği belirtilmektedir (Mendes, 2009).

Antioksidan savunma sisteminin en önemli özelliği, sistemin tüm bileşenlerinin reaktif oksijen türlerine karşı bir sinerji oluşturacak şekilde görev almasıdır (Chaudiere ve Ferrari-Illiou, 1999). Bu nedenle tüm antioksidanlar canlıda homeostazisin sağlanmasında yaşamsal öneme sahiptirler (Doyotte vd., 1997). Kanda oksidan ve antioksidanların bir kısmının bir arada etki etmesi

sonucu her birinin tek başına oluşturduğundan daha fazla oksidan ve antioksidan etki ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle total oksidan/antioksidan dengenin belirlenmesi için oksidan ve antioksidanların tek tek ölçümünün yapılması yerine TOS ve TAS ölçümünün daha yararlı olabileceği bildirilmektedir (Erel, 2004; Erel, 2005). N-asetil nöraminik asitin türevleri olan sialik asitler (SA) ise polisakkaritlerin, glikoproteinlerin ve mukoproteinlerin oligosakkarit yan zincirinin terminal karbonhidrat kalıntıları olarak makromolekül ve reseptörlerin yapısında bulunmaktadır (Schauer, 1982; Varki ve Varki, 2007). Metabolizmada aksaklıklara sebep olan faktörler hem serbest hem de bağlı SA seviyelerinin toplamı olarak ifade edilen serum total sialik asit (TSA) düzeylerini önemli oranda artırmaktadır (Schauer, 1982; Erdil vd., 2001).

Cyprinidae ailesine ait *Cyprinus carpio* (L., 1758) erken gelişme, yüksek uyum yeteneği, yemi iyi değerlendirme ve lezzetli olmalarına bağlı olarak ekonomik öneme sahip bir tatlı su balığıdır. Bu sebeplerden dolayı *Cyprinus carpio*, Türkiye'nin birçok gölünde olduğu gibi Ardahan Çıldır Gölü'nde avlanan balıklar arasında ilk sıradadır (Geldiay ve Balık, 1996). Ancak, *Cyprinus carpio*, tarım ve hayvancılık faaliyetlerinde kullanılan pestisidlerin tehdidi altında kalabilir. Bu çalışmada, tarımda fungusit olarak kullanılan tebukonazolün *Cyprinus carpio*'nun serum total antioksidan (TAS), oksidan (TOS) ve sialik asit (TSA) düzeyleri üzerinde etkisinin araştırılması amaçlandı.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada Çıldır Gölü'nden yakalanan 24 adet *Cyprinus carpio* kullanıldı. Balıklar laboratuvar ortamında 300'er L'lik su tanklarında 15 gün süreyle ortam koşullarına adaptasyonları sağlandıktan sonra her grupta 8 adet balık bulunan 3 grup oluşturuldu. Grup I'de bulunan balıklar normal su ortamında, grup II ve III ise sırasıyla 2 ve 3 mg/L tebukonazol (Folicur EW 250) eklenen tanklarda 7.4 pH'ya sahip su ortamlarında 14 gün süre ile bekletildi. Deneysel uygulamalar esnasında yaşam ortamlarına tebukonazol eklemesi yapılan balıkların besin alımında azalma ve hareketlerinde yavaşlama olduğu tespit edilirken, herhangi bir grupta balık ölümü ile karşılaşmamıştır. Çalışma süresi sonunda balıklardan kan örnekleri alındı. Serum TAS ve TOS düzeylerinin analizi ticari kitlerin (Gaziantep, Türkiye) kullanıldığı metotlara göre spektrofotometrik olarak yapıldı (Erel, 2004; Erel, 2005). Serum TSA analizi ise Sydow (1985)'un belirtmiş olduğu metoda göre spektrofotometrik olarak analiz edildi.

Elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri istatistik paket (IBM SPSS version 20.0 for Windows) programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasında anlamlı ilişki olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile belirlendi. İstatistiksel olarak farklılıkların hangi gruplar arasında olduğunu belirlemek için çoklu karşılaştırma (*post hoc*) testlerinden Tukey testi kullanıldı. Sonuçlar; ortalama $\pm$ standart sapma ($X \pm SD$) olarak kaydedildi.

Bulgular ve Tartışma

Yaşam ortamlarına 2 ve 3 mg/L tebukonazol eklenen balıklar ile tebukonazol ilavesi yapılmayan kontrol grubu balıklardan 14 gün sonra alınan kan örneklerinde oluşan biyokimyasal değişimler Tablo 1'de gösterildi. Serum TOS ve TSA düzeylerinde kontrol grubuna göre grup II ve grup III'de istatistiksel olarak önemli ölçüde ($P < 0.01$) artış meydana geldiği saptanırken, TAS düzeylerinin istatistiksel olarak önemli ölçüde ($P < 0.01$) daha düşük düzeyde olduğu tespit edildi.

Tablo 1. Tebukonazol uygulaması yapılan ve yapılmayan *Cyprinus carpio*'da serum TAS, TOS ve TSA düzeyleri.

Table 1. The levels of serum TAS, TOS and TSA in *Cyprinus carpio* with/without tebuconazole treatment.

Parametreler (n=6)	Kontrol	Tebukonazol (2 mg/L)	Tebukonazol (3 mg/L)
TAS (mmol Trolox eq/L)	0.29 $\pm$ 0.05 ^a	0.26 $\pm$ 0.05 ^a	0.19 $\pm$ 0.06 ^b
TOS (μ mol H ₂ O ₂ eq/L)	1.95 $\pm$ 0.10 ^a	2.45 $\pm$ 0.08 ^{a,b}	3.07 $\pm$ 0.12 ^b
TSA (mg/dl)	45.24 $\pm$ 4.18 ^a	65.71 $\pm$ 9.65 ^b	73.72 $\pm$ 10.21 ^b

^{a, b} Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ($P < 0.01$)

^{a, b} Values with different letter indicates significant differences ($P < 0.001$)

Tarım ilaçları tüm abiyotik ortamı özellikle de su ve toprağı kirletmektedir. Yeraltı sularının ve diğer su kaynaklarının bu yolla kirlenmesi, sucul organizmalar için potansiyel bir tehdit oluşturmaktadır (Selvi, 2004). Sucul organizmalar içerisinde balıklar, son yıllarda su ortamlarındaki toksisitenin belirlenmesinde indikatör organizmalar olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte bazı genotoksik ajanların ve tarım kimyasallarının insanlar üzerindeki olası etkilerinin tahmininde de detoksifikasyon mekanizmalarının benzerlikleri nedeniyle test organizması olarak yine balıklar kullanılabilmektedir (Stegeman vd., 1991). Ayrıca, sucul canlılar insanların alternatif besin kaynaklarının önemli bir bölümünü oluşturduğundan balıklarda meydana gelebilecek toksik etkilerle ilgilenilmektedir (Al-Sabti, 1992).

Tarım alanında funguslara karşı yaygın bir şekilde kullanılan tebukonazol'un balıklarda total oksidan/antioksidan denge ve TSA düzeyleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, uygun ölçüde pestisit kullanımı ve çevresel kirliliğinin en az seviyeye düşürülmesi bakımından önemlidir. Pestisitlerin akuatik organizmalara toksik etkileri üzerine çok sayıda çalışma olmasına rağmen, bir fungusit olarak kullanılan tebukonazol'un balıklarda total oksidan/antioksidan denge ve TSA düzeylerine etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlanamamaktadır.

Vücutta üretilen reaktif oksijen türlerinin miktarı ya da oranı, lipid peroksidasyonun başlatılması ve vücudun oksidan/antioksidan dengesinin bozulması doğal veya sentetik pestisitlerin aşırı kullanımı nedeniyle artış göstermektedir (Livingstone, 2001; Mohammad vd., 2004). Tebukonazol uygulanarak *Rhamdia quelen*'de yapılan bir çalışmada kontrol grubuna göre karaciğer dokusu lipid peroksidasyonunun arttığı bildirilmektedir (Ferreira vd., 2010). Çalışmamızda, farklı tebukonazol konsantrasyonuna maruz bırakılan *Cyprinus carpio*'da TOS düzeylerinin arttığı tespit edildi. Artan TOS düzeyinin antioksidan savunma sisteminin yetersiz kalması sonucu lipid peroksidasyonu da artırabileceği düşünülürse bulgularımız Ferreira vd. (2010) tarafından sağlanan veriler ile uyumluluk göstermektedir. Antioksidan moleküller, endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirmektedirler. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır (Halliwell, 1995). Li vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, gökkuşağı alabalıkları (*O. mykiss*) farklı sürelerde (7,

20 ve 30 gün) ve subletal konsantrasyonlarda (0.2, 50 ve 500 µg/l) propiconazol adı verilen fungusite maruz bırakılmıştır. Araştırmada, 7 günlük uygulamada antioksidan savunma sisteminin propiconazol'un toksik etkisine adaptasyonla cevap verdiği, 20 ve 30 günlük sürelerde ise lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türleri gibi oksidatif stres göstergelerinde artış ile katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzim aktivitelerinde inhibisyonların meydana geldiği rapor edilmektedir (Li vd., 2010). Yaptığımız çalışmada ise, 14 gün süre ile 2 ve 3 mg/L'lık tebukonazol konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Cyprinus carpio*'da TAS düzeylerinin azaldığı saptandı. Bu bulgularımıza göre, artan tebukonazol konsantrasyonuna bağlı olarak TOS düzeylerinde meydana gelen artma ve TAS düzeylerinde meydana gelen azalmaların, organizmada antioksidan savunma sistemi elemanlarının yetersiz kalması ve oksidatif strese bağlı olabileceği düşüncesi akla gelmektedir.

Sialik asitlerin canlı organizmalarda damar sisteminden temelde O₂'nin uzaklaştırılmasından sorumlu olan antioksidatif bir görev yaptığı ileri sürülmektedir (Henricks vd., 1982; Kumagai, 2009). Henricks vd. (1982) tarafından nötrofillerde SA'lerin uzaklaştırılması durumunda damar sistemindeki O₂ üretiminin arttığı kaydedilmektedir (Henricks vd., 1982). Oksidatif stresin, sialidaz aktivasyonu veya indüksiyonu olmaksızın hücre yüzeyindeki oligosakkaridlerden SA salıverilmesini başlatabileceği de bildirilmektedir (Eguchi vd., 2005). *Capoeta capoeta*'da yapılan çalışmada bir pestisit olarak kullanılan glifosatın da TSA düzeylerini önemli derecede arttırdığı kaydedilmiştir (Kaya vd., 2012). Bu çalışmada, farklı tebukonazol konsantrasyonuna maruz bırakılan *Cyprinus carpio*'da TSA düzeylerinin arttığı belirlendi. Buna göre, artan tebukonazol konsantrasyonuna bağlı olarak TSA düzeylerinde meydana gelen artışların nedeninin oksidatif stresin hücre yüzeyindeki oligosakkaridlerden SA'lerin salıverilmesinden kaynaklanabileceği düşüncesini taşımaktayız.

Sonuç

Sonuç olarak, bulundukları ortama 2 ve 3 mg/L tebukonazol eklenen *Cyprinus carpio*'ların serum TAS, TOS ve TSA düzeylerinde önemli değişiklikler olduğu tespit edildi. Bir fungusit olarak tebukonazol kullanımının olası biyokimyasal etkilerinin araştırıldığı bu çalışma, hem çevresel zararın azaltılması hem de besin değerinin artırılması yönünde daha ileri çalışmalara

önemli bir kaynak sağlayacaktır. Ayrıca, bu çalışmada saptanan serum TSA düzeylerindeki artıştan dolayı tebukonazol'un sucül organizmalarında kısa bir sürede doku hasarı oluşturabilecek kadar tehlikeli bir fungusit olabileceği kanaatini taşımaktayız.

Kaynaklar

- Al-Sabti, K., (1992). Monitoring the genotoxicity of radiocontaminants in Swedish lakes by fish micronuclei, *Cytobios*, **70**: 101-106.
- Bayer Crop Science Limited, (2005). Environmental information sheet folicur® MAPP number 11278. CPA Guidance Notes version 3.©EIS. http://www.bayercropscience.co.uk/assets/Uploads/Folicur_EIS.pdf (Erişim Tarihi: 01.09.2013).
- Chaudiere, J., Ferrai-Iliou, R., (1999). Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanism, *Food and Chemical Toxicology*, **37**: 949- 962.
- doi: [10.1016/S0278-6915\(99\)00090-3](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00090-3)
- Doyotte, A., Cossu, C., Jacquin, M.C., Babuth, M., Vaseural, P., (1997). Antioxidant enzymes, glutathione and lipid peroxidation as relevant biomarkers of experimental or field exposure in the gills and the digestive gland of the freshwater bivalve unio tumidus, *Aquatic Toxicology*, **39**: 93-110.
- doi: [10.1016/S0166-445X\(97\)00024-6](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(97)00024-6)
- Eguchi, H., Ikeda, Y., Ookawara, T., Koyota, S., Fujiwara, N., Honke, K., Wang, P.G., Taniguchi, N., Suzuki, K., (2005). Modification of oligosaccharides by reactive oxygen species decreases sialyl lewis x-mediated cell adhesion. *Glycobiology*, **15**: 1094-1101.
- doi: [10.1093/glycob/cwj003](https://doi.org/10.1093/glycob/cwj003)
- Erdil, A., Tüzün, A., Yönm, A., Erbil, M.K., (2001). Serum sialic acid concentrations in patients with non-insulindependent diabetes mellitus and its relation with retinopathy, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, **21**: 349-354.
- Erel, Ö., (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable abts radical cation, *Clinical Biochemistry*, **37**: 277-285.
- doi: [10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2003.11.015)
- Erel, Ö., (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38**: 1103-1111.
- doi: [10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008](https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2005.08.008)
- Ferreira, D., Costa da Motta, A., Kreutz, L.C., Toni, C., Loro, V.L., Barcellos, L.J.G., (2010). Assesment of oxidative stress in *Rhamdia quelen* exposed to agrichemicals. *Chemosphere*, **79**: 914-921.
- doi: [10.1016/j.chemosphere.2010.03.024](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.024)
- Geldiay, R., Balık, S., (1996). Türkiye tatlısu balıkları. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No: 46 Ders Kitabı Dizisi No: 16, s.357-362, Bornova/İzmir.
- Gönenc, A., Özkan, Y., Torun, M., Şimşek, B., (2001). Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients, *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, **26**: 141-144.
- doi: [10.1046/j.1365-2710.2001.00334.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.2001.00334.x)
- Halliwell, B., (1995). Antioxidant characterization. Methodology and mechanism, *Biochemical Pharmacology*, **49**: 1341-1348.
- doi: [10.1016/0006-2952\(95\)00088-H](https://doi.org/10.1016/0006-2952(95)00088-H)
- Henricks, P.A., van Erne-van der Tol, M.E., Verhoef, J., (1982). Partial removal of sialic acid enhances phagocytosis and the generation of superoxide and chemiluminescence by polymorphonuclear leukocytes, *The Journal of Immunology*, **129**: 745-750.
- Kaya, İ., Karapehlivan, M., Yılmaz, M., Ersan, Y., Koç, E., (2012). Investigation of effects on plasma nitric oxide, malondialdehyde and total sialic acid levels of glyphosate in Kars Creek transcaucasian barb (*Capoeta capoeta* [Guldenstaedti, 1773]) in Turkey, *Fresenius Environmental Bulletin*, **21**: 123-126.
- Kumagai, R., Lu, X., Kassab, G.S., (2009). Role of glycocalyx in flow-induced production of nitric oxide and reactive oxygen species, *Free Radical Biology and Medicine*, **47**: 600-607.
- doi: [10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.034](https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.05.034)
- Li, Z., Zlabeka, V., Grabica, R., Lia, P., Machovaa, J., Veliseka, J., Randak, T., (2010). Effects of exposure to sublethal propiconazole on the antioxidant defense system and Na⁺- K⁺-ATPase activity in brain of

rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Aquatic Toxicology*, **98**: 297-303.

doi: [10.1016/j.aquatox.2010.02.017](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.02.017)

Livingstone, D.R., (2001). Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms, *Marine Pollution Bulletin*, **42**: 656-666.

doi: [10.1016/S0025-326X\(01\)00060-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(01)00060-1)

Lloyd, R., (1992). Pollution and freshwater fish. A Buckland Foundation Book, Fishing News Books, Cornwall.

Mendes, R., Cardoso, C., Pestana, C., (2009). Measurement of malondialdehyde in fish: A comparison study between HPLC methods and the traditional spectrophotometric test, *Food Chemistry*, **112**: 1038-1045.

doi: [10.1016/j.foodchem.2008.06.052](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.052)

Mohammad, A., Akram, R., Shahin, S., Sherkoupeh, N., Ali, R., (2004). Pesticides and oxidative stress: a review, *Medical Science Monitor*, **10**: 141-147.

Parvez, S., Raisuddin, S., (2005). Protein carbonyls: novel biomarkers of exposure to oxidative stress-inducing pesticides in freshwater fish *Channa punctata* (Bloch), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **20**: 112-117.

doi: [10.1016/j.etap.2004.11.002](https://doi.org/10.1016/j.etap.2004.11.002)

Schauer, R., (1982). Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids, *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, **40**: 131-234.

doi: [10.1016/S0065-2318\(08\)60109-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2318(08)60109-2)

Selvi, M., Sarıkaya, R., Erkoç, F., (2004). Acute behavioral changes in the guppy (*Poecilia reticulata*) exposed to temephos, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, **17**: 15-19.

Stegeman, J.J., Lech, J.J., (1991). Cytochrome P-450 Monooxygenase systems in aquatic species. carcinogen metabolism and biomarkers for carcinogen and pollutant exposure, *Environmental Health Perspectives*, **90**: 101-109.

doi: [10.2307/3430851](https://doi.org/10.2307/3430851)

Sydow, G., (1985). A simplified quick method for determination of sialic acid in serum, *Biomedica Biochimica Acta*, **44**: 1721-1723.

Varki, N.M., Varki, A., (2007). Diversity in cell surface sialic acid presentations: implications for biology and disease, *Laboratory Investigation*, **87**: 851-857.

doi: [10.1038/labinvest.3700656](https://doi.org/10.1038/labinvest.3700656)