

## İmidacloprid'e Maruz Bırakılan Sazan (*Cyprinus carpio*) Yavrularının Bazı Biyokimyasal Özelliklerindeki Değişimler

Mikail ÖZCAN<sup>1\*</sup>, Ünal İSPİR<sup>2</sup>, M. Enis YONAR<sup>3</sup>, Engin ŞEKER<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü, Kahramanmaraş, Türkiye.

<sup>2</sup>Malatya Turgut Özal Üniversitesi, Doğuşşehir Vahap Küçük MYO, Malatya, Türkiye

<sup>3</sup>Fırat Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Elazığ, Türkiye

<sup>4</sup>Munzur Üniversitesi, Su Ürünleri Fakültesi, Tunceli, Türkiye

\*Sorumlu Yazar: [mikailozcan@ksu.edu.tr](mailto:mikailozcan@ksu.edu.tr)

**Kısa Bildiri**

Geliş 07 Ağustos 2020; Kabul 17 Haziran 2021; Basım 01 Eylül 2021.

**Alıntılama:** Özcan, M., İspir, Ü., Yonar, M. E., & Şeker, E. (2021). İmidacloprid'e maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularının bazı biyokimyasal özelliklerindeki değişimler. *Acta Aquatica Turcica*, 17(3), 440-444. <https://doi.org/10.22392/actaquatr.729034>

### Özet

Bu çalışmada imidacloprid'in sazan yavrularının bazı biyokimyasal parametrelerine olan toksik etkisinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Araştırmada ortalama ağırlığı  $0,34 \pm 0,03$  g ve  $2,97 \pm 0,21$  cm boyunda olan sazan yavruları kullanıldı. Balıklar, imidacloprid'in 2,8 ve 5,6 mg/L konsantrasyonuna 4 ve 7 gün için maruz bırakıldı. Süre sonunda balıkların tüm vücutundaki lipit, protein ve glikojen içeriği belirlendi. Test gruplarında çalışma sonuna kadar ölüm gözlenmedi. İmidacloprid uygulanan balıklarda protein ve glikojen miktarlarında önemli derecede azalma ( $p < 0,05$ ) olduğu tespit edildi. Toplam lipit düzeyi, 7. gündə 5,6 mg/L imidacloprid uygulanan grupta yüksek olduğu görüldü. Ancak bu değerin kontrol grubundan istatistik olarak farklı olmadığı tespit edildi. Çalışmada elde edilen veriler, imidacloprid'in balıkların biyokimyasal parametrelerine toksik etki gösterdiğinin bir kanıtı olarak düşünülebilir.

**Anahtar Kelimeler:** Imidacloprid, *Cyprinus carpio*, glikojen, toplam protein, toplam lipit

### Changes in the Some Biochemical Constituents in Fry of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Exposed to Imidacloprid

#### Abstract

This study was conducted to investigate the possible toxic effects of imidacloprid biochemical parameters of carp. The fish (weight  $0,34 \pm 0,03$  g, total length  $2,97 \pm 0,21$  cm) were subjected to  $2,8$  and  $5,6$  mg L<sup>-1</sup> of Imidacloprid concentration for 4 and 7 days. Alterations were observed in glycogene, total protein, and total fat activities in the whole body of carp. No mortalities occurred in any group during the test. The glycogene and total protein levels in imidacloprid treated fishes were significantly ( $p < 0,05$ ) lower than the control in all the concentrations. Total fat levels were higher in imidacloprid treatment groups, which were not significantly different. This study was conducted to investigate the possible toxic effects of imidacloprid biochemical parameters of carp.

**Keywords:** Imidacloprid, carp, *Cyprinus carpio*, glycogene, total protein, fat

### GİRİŞ

Son yarım asırlık süre içerisinde özellikle modern tarımsal uygulamalarda çeşitli hastalık ve zararlılara karşı kimyasal ilaçların kullanılmaktadır. Bu ilaçlar pratik, kolay ve etkili bir yöntem olduğu için kullanımı sürekli olarak artmaktadır (Göktürk, 2007; Tiryaki vd., 2010; Gül, 2017). İstenmeyen organizmaları yok etmek için zirai mücadelede kullanılan pestisitler suda, atmosferde ve toprakta birikerek çevre kirliliğine neden olmaktadır (İnce ve Bekbölet, 1991; MacMahon, 1994).

Pestisitler tüm canlılarda özellikle insanlar da kronik ve akut zehirlenmelere, enzim faaliyetlerinde bozulmalara, sinir sisteminde tahribata, hücre membran yapısında değişimlere neden olmaktadır (Çakır ve Yamanel, 2005). Bu tür kimyasalların bilinçsiz ve aşırı kullanımı zararlı populasyonlarında bağılık mekanizmasının gelişmesine veya çevreye faydalı birçok türün yokmasına neden olmaktadır (Yıldız vd., 2005). Bunlara ilaveten üremeye ilgili bozukluklar, enzim aktivitesi üzerindeki değişiklikler, beslenme alışkanlıklarını ve beslenme ile ilgili anormallilikler, davranışlarında ve algılamada eksiklik gibi birtakım değişikler görülmektedir (Kitchin, 1984).

Neonikotinoid bileşenler sınıfında olan Imidacloprid bir pestisittir (El-Gendy vd., 2010). Dünya üzerinde insektisit olarak hızla artan bir kullanımına sahiptir (Liu vd., 2010). Toprak içerisinde birikim etkisi ve hareket etme özelliğine sahip olup, 48-190 gün arasında yarılanma ömrüleri vardır (Andaç, 2015). Yarılanma ömrü suyun 5,7 ve 9 pH'da 31 günden daha fazladır. İmidacloprid balıklarda toksit etkisi diğer canlılara göre kısmen düşüktür. Arılar, toprak böcekleri, beyaz sinekler, termitler gibi emicilerin kontrolü amacıyla İmidacloprid tohum, toprakta ve ağaç yapraklarında kullanılır (Buckingham vd., 1997).

İmidacloprid bir nörotoksin olup asetilkolin reseptörlerini bloke etme özelliğine sahiptir. Sucul ekosistemlere tarım arazilerinde akan sularla kontamine olarak kirletmektedir (Morrissey vd., 2015; Bonmatin vd., 2015; Karahan vd., 2017).

İmidacloprid ile yapılan akut ve kronik çalışmalar, bu pestisitin hayvan dokularında oksidatif ve biyokimyasal yolları etkileyebileceğini ve önemli zararlı etkileri olduğunu göstermiştir (Tomizawa ve Casida, 2005). Ancak, imidacloprid'in balıklardaki etkisi araştırılmış ve tam olarak ortaya konulamamıştır (Rajput vd., 2012; Desai ve Parikh 2013; Iturburu vd., 2017). İmidacloprid'in, sazan yavrularında lipit, protein ve glikojen düzeyine etkisi hakkında yayınlanmış herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Bu çalışmada imidacloprid'in sazan yavrularının bazı biyokimyasal parametrelerine etkisi araştırılmıştır.

## MATERİAL ve YÖNTEM

### Balık ve deneyel plan

Sazan, *Cyprinus carpio*, (ortalama ağırlığı  $0,34 \pm 0,03$  g), Devlet Su İşleri 9. Bölge Müdürlüğü Keban Balık Üretimi Şube Müdürlüğü'nden temin edildi. Ortam şartlarına adaptasyonlarının sağlanması için 2 hafta beklenilmiştir. Cam akvaryumlara konan balıklara bir hava pompası vasıtasiyla sürekli olarak hava verilmiştir. Balıklar ticari bir balık yemi (% 40 protein, % 11 yağ, % 10,1 ham kül, % 1,3 ham selüloz, % 2,4 kalsiyum, % 1,5 fosfor, % 0,3 sodyum içeren 0,6 NM granül yavru yemi) ile günlük olarak beslenmiştir. Çözünmüş oksijen, sıcaklık, pH, amonyum ve nitrit düzeyleri çalışma boyunca kontrol edilerek kabul edilebilir değerler arasında olması sağlanmıştır.

Balıklar her grupta 25 balık olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Birinci gruba, kontrol grubu olarak herhangi bir işlem yapılmamıştır. Diğer iki gruba ise sırasıyla 2,8 ve 5,6 mg/L imidacloprid (Tyor ve Harkrishan 2016) ilave edilmiştir. Balıklar 96 saat ve 168 saat (7 gün) (OECD, 2019) için bu konsantrasyonlara maruz bırakılmıştır. Deney iki tekerrür olacak şekilde yapılmıştır. Her grupta 25 balık olmak üzere toplamda 150 balık kullanılmıştır. Deney süresi sonrasında balıklar anestezik bir madde (50 mg/L, benzokain) (Hseu ve vd., 1998) ile anestezi yapılmış ve tüm vücut alüminyum folyolar içinde  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de biyokimyasal işlemler yapılanca kadar muhafaza edilmiştir. Balık kullanımı ve deneyel protokol KSÜZİRHADYEK Hayvan Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Protokol no: 2017/01).

### Biyokimyasal testler

Toplam protein tayini Plummer (1971)'e göre %10 trikloroasetik asitile homojenize edilen tüm vücut dokusu gerekli işlemler yapıldıktan sonra Folin-phenolreagent kullanarak Lowry vd. (1951)'nın bildirdiği metoda göre gerçekleştirilmiştir.

Tüm vücut lipit düzeyi Folch vd. (1957)'nın bildirdiği kloroform: metanol teknigine göre yapılmıştır.

Glikojen düzeyi ise Nicholas vd. (1956)'na göre antron kullanarak bir UV-Vis spektrofotometre kullanarak 620 nm'de glukoz standardına karşı tespit edilmiştir.

### İstatistik analiz

Gruplar arası farklılıklar ortaya koymak için parametrik testler kullanılmıştır. Duncan testi ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile ortalama değerler arasındaki farklılıklar karşılaştırılmıştır. Çalışma gruplarına ait verilerin ortalama ve standart hatası (Ortalama $\pm$ S.Hata) belirlenmiştir.

## BULGULAR

Kontrol ve deneyel imidacloprid uygulanan gruplardaki balıklarda herhangi bir fiziksel deformasyon, beslenme ve yüzme davranışlarında değişim ve ölüm kaydedilmemiştir.

İmidacloprid uygulanan sazan yavrularının tüm vücut dokusunda toplam protein aktivitesinde, doza bağlı olarak önemli derecede azalma ( $p<0,05$ ) olduğu tespit edildi (Tablo 1 ve Tablo 2). Toplam

protein düzeyi her iki deneysel grupta uygulamanın 4. gününde kontrol grubuna göre hafif bir azalma göstermişken 7. günde bu azalmanın istatistikî olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Toplam lipit düzeyinde ise istatistikî bir değişimin olmadığı ortaya konulmuştur ( $p>0,05$ ) (Tablo1 ve Tablo 2).

İmidacloprid'in 5,6 mg/L'lik dozunun uygulandığı grupta glikojen içeriğinin, özellikle uygulamanın 7. gününde kontrol ve diğer imidaclorpid grubuna göre önemli derecede bir azalmanın ( $p<0,05$ ) olduğu tespit edilmiştir (Tablo1 ve Tablo 2).

**Tablo 1.** Sazan yavrularının toplam protein, lipit ve glikojen içeriğine 4. gün imidaclorpid dozlarının etkisi

	4. gün		
	Kontrol	2,8 mg/L	5,6 mg/L
<b>Protein (mg/g)</b>	5,92±0,13 <sup>a</sup>	5,78±0,14 <sup>a</sup>	4,71±0,12 <sup>b</sup>
<b>Lipid (mg/g)</b>	0,79±0,12	0,74±0,11	0,81±0,14
<b>Glikojen (µg/g)</b>	3,73±0,3	3,70±0,5	2,70±0,4

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hatası; <sup>a,b,c</sup>: Gruplar arasındaki fark

**Tablo 2.** Sazan yavrularının toplam protein, lipit ve glikojen içeriğine 7. gün imidaclorpid dozlarının etkisi

	7. gün		
	Kontrol	2,8 mg/L	5,6 mg/L
<b>Protein (mg/g)</b>	5,88±0,11 <sup>a</sup>	4,89±0,08 <sup>b</sup>	4,01±0,11 <sup>c</sup>
<b>Lipid (mg/g)</b>	0,82±0,11	0,77±0,12	0,78±0,12
<b>Glikojen (µg/g)</b>	3,71±0,4 <sup>a</sup>	3,43±0,4 <sup>ab</sup>	2,49±0,3 <sup>b</sup>

X±SH: Aritmetik ortalama; ±: Standart hatası; <sup>a,b,c</sup>: Gruplar arasındaki fark

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada; İmidacloprid'in 2,8 ve 5,6 mg/L konsantrasyonuna 4 ve 7 gün süre ile maruz bırakılan sazan (*Cyprinus carpio*) yavrularının bazı biyokimyasal parametrelerine olan toksik etkisi araştırılmıştır. Toplam protein (mg/mL), lipit (mg/g) ve glikojen (µg/g) değerleri incelenmiştir.

Inyang vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada İmidacloprid'e maruz bırakıldığı *Heterobranchus bidorsalis*'in bazı metabolitler (albümin ve toplam protein) ve elektrolitler (Na +, K +, Ca2 +) üzerindeki etkisini araştırılmıştır. Otuz beş yetişkin *Heterobranchus bidorsalis* (ortalama uzunluk, 22,43 ± 2,42cm; ortalama ağırlık, 166,70 ± 0,33 g), 14 gün boyunca 0,28, 0,42 ve 0,56 mg/L imidaclorpid konsantrasyonlarına maruz bırakmıştır. Toplam protein 0,00 mg/L'de 5,00 µg/L, 0,28 mg/L'de 10,25 µg/L, 0,42 mg/L'de 20,50 µg/L ve 0,56 mg/l'de 33,50µgl-1 olarak ölçmüştür. Kontrol grubuna göre deney gruplarının karaciğerde önemli derecede toplam protein artmıştır ( $p<0,05$ ). Bu çalışmada ise İmidacloprid uygulanan sazan yavrularının tüm vücut dokusunda toplam protein aktivitesinde, konsantrasyona bağlı olarak önemli derecede azalma ( $p<0,05$ ) olduğu tespit edildi. Toplam protein düzeyi her iki deneysel grupta uygulamanın 4. gününde kontrol grubuna göre hafif bir azalma göstermişken 7. günde bu azalmanın istatistikî olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Bu çalışmada ise, toplam protein seviyelerinde görülen azalmanın nedeni, serbest radikallerin proteinlerin tiyol gruplarına bağlanması ve protein yapısında farklı konfigürasyonlar gelişirmesi olabilir (Kayhan vd., 2017).

Lipitler balıklardaki başlıca enerji deposu ve mobilizasyonu yüksek enerji taleplerinin olduğunu gösterir (Fernández-Vega vd., 2015). Bu çalışmada, Toplam lipit düzeyi 4. günde 0,79±0,12 (kontrol), 0,74±0,11 (2,8 mg/L), 0,81±0,14 (5,6 mg/L); 7. günde 0,82±0,11 (kontrol), 0,77±0,12 (2,8 mg/L), 0,78±0,12 (5,6 mg/L) olarak ölçülmüştür. Toplam lipit düzeyinde ise istatistikî bir değişimin olmadığı ortaya konulmuştur ( $p>0,05$ ). Yüksek hidrofobik özellikteki toksik maddeler lipit dokusu tarafından hapsedildikleri için ilgili reseptörlerle etkileşime giremezler ve organizmaya herhangi bir zarar vermeden uzun süreler boyunca vücutta kalabilirler (Landrum ve Fisher 1999).

Bu çalışmada, glikojen düzeyi 4. günde 3,73±0,3 (kontrol), 3,70±0,5 (2,8 mg/L), 2,70±0,4 (5,6 mg/L); 7. günde 3,71±0,4 (kontrol), 3,43±0,4 (2,8 mg/L), 2,49±0,3 (5,6 mg/L) olarak ölçülmüştür. İmidacloprid'in 5,6 mg/L'lik dozunun uygulandığı grupta glikojen içeriğinin, özellikle uygulamanın 7. gününde kontrol ve diğer imidaclorpid grubuna göre önemli derecede bir azalmanın ( $p<0,05$ ) olduğu tespit edildi. Bu, İmidacloprid'e maruz kalan balıkların genel bir cevabı gibi görünmektedir

(Hori vd., 2006; Abdel-Hameid, 2007). Bu glikojen düşüşü Imidacloprid'in neden olduğu enerji harcamalarının bir göstergesi olabilir (Kayış ve Emre, 2012).

Bu çalışma iki farklı konsantrasyondaki imidacloprid'in, farklı zaman periyodunda sazanların yavrularının tüm vücutunda protein, lipit ve glikojen aktivitelerinde olumsuz bir etki oluşturduğunu göstermiştir. Düşük konsantrasyonda olmaya da yüksek konsantrasyonda imidacloprid ile karşı karşıya kalan sazan yavrularında özellikle 7. günde biyokimyasal parametrelerde olumsuz etkiler gözlenmiş olması bu maddenin balıklarda toksik etki oluşturabileceğini göstermektedir. Fakat bu ifadenin doğruluğunu tam olarak ortaya konabilmesi için bu madde ile balıkların yüksek dozarda muamele edilmesi ve uzun süre gözlenmesi gerekmektedir.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma IV. International Multidisciplinary Congress of Eurasia (IMCOFE) 23-25 Ağustos 2017, Roma-İtalya'dan sözlü sunum olarak sunuldu.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Hameid, N.A.H. (2007). Physiological and histopathological alterations induced by phenol exposure in *Oreochromis aureus juveniles*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 7: 131-138.
- Andaç, Z. (2015). İmidacloprid uygulamasının misir kültür formlarında yaprak anatomisi parametrelerine etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 58s.
- Bonmatin, J. M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreutzweiser, D.P., Krupke, C., & Noome, D.A. (2015). Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (1), 35-67.
- Buckingham, S., Lapiède, B., Corronc, H., & Sattelle, F. (1997). Imidacloprid Actions on Insect Neuronal Acetylcholine Receptors. *The Journal of Experimental Biology*, 200: 2685-2692.
- Çakır, Ş., & Yamanel, Ş. (2005). Böceklerde insektisidlere direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi. 6 (1), 21-29.
- Desai, B., & Parikh, P., (2013). Biochemical Alterations on Exposure of Imidacloprid and Curzate on Fresh Water Fish *Oreochromis Mossambicus* and *Labeo Rohita*. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 7, 2: 87-91.
- El-Gendy, K.S., Aly, N.M., Mahmoud, F.H., Kenawy, A., & El-Sebae, A.K.H. (2010). The Role of vitamin c as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 215-221. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.10.003>
- Fernández-Vega, C., Sancho, E., & Ferrando, M.D. (2015). Energy reserves mobilization in the yellow eel as herbicide exposure effect. *Chemosphere*, 135: 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.032>
- Folch, J., Lees, M., & Stanley, G.H.S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1):497-50.
- Göktürk, F.A. (2007). Pestisit endüstrisi atıksularının fenton prosesi ile arıtımı. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 84s.
- Gül, H. (2017). Türkiye'de kullanılan zirai ilaçların sağlığa etkileri. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Sağlık Yönetimi Anabilim Dalı. Tezsiz Yüksek Lisans Dönem Projesi. 50s.
- Hori, T.S.F., Avilez, I.M., Inoue, L.K., & Moraes, G. (2006). Metabolical changes induced by chronic phenol exposure in matrixxā *Brycon amazonicus* (teleostei: characidae) juveniles. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part C: Toxicology*, 143:67-72. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2005.12.004>
- Hseu J, Yeh S, Chu Y, Ting Y (1998) Comparison of efficacy of five anesthetics in Goldlined sea bream, *Sparus sabra*. *Acta Zoologica Taiwanica* 9 (1): 35-41.
- Inyang, I.R., Izah S.C., & Ntaka, C.M. (2018). Effect of imidacloprid on total protein, albumin and electrolytes in *Heterobranchus bidorsalis*. *Environmental Analysis Ecology Studies*, 4(5) 424-427.
- Iturburu, F.G., Zömisch, M., Panzeri, A.M., Crupkin, A.C., Contardo-Jara, V., Pflugmacher, S., & Menone, M.L. (2017) Uptake, distribution in different tissues and genotoxicity of imidacloprid in the freshwater fish *Australoheros facetus*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 36:699–708.
- İnce, N., & Bekbölet, M. (1991). Türkiye'de pestisit tüketimine ilişkin kirlenme öncelikleri, Türkiye'de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri sempozyumu I, 551-570.
- Karahan, A., Şahpaz, F., Kutlu, M.A., & Karaca, İ. (2017). Effects Of Thiamethoxam On *Vespa Germanica* (F.) (Hymenoptera: Vespidae). *International Journal Of Agriculture, Environment and Food Sciences*, 1(1), 49-55.
- Kayhan, F.E., Kaymak, G., Akbulut, C., & Yön Ertuğ N.D. (2017). 2,4-D (Diklorofenoksiasetik Asit)'in Zebra balığı (*Danio rerio* Hamilton, 1822) solungaçlarında antioksidan enzimler ve lipid peroksidasyon seviyesi

- üzerine akut etkilerinin belirlenmesi. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18(2): 143-148. <https://doi.org/10.23902/trkjnat.294722>
- Kayıs, T., & Emre I. (2012). Ağır Metal Stresinin *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae)'nin Protein ve Glikojen Sentezine Etkileri. *Ekoloji* 21, 83, 61-67. <https://doi.org/10.5053/ekoloji.2012.837>
- Kitchin, K.T. (1984). An enzymatic approach to biotransformation. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 6: 303-310.
- Landrum, P.F., & Fisher S.W. (1999). Influence of lipids on the bioaccumulation and trophic transfer of organic contaminants in aquatic organisms. In: Arts MT, Wainman BC, eds. *Lipids in Freshwater Ecosystems*. New York: Springer; p.203-234.
- Liu, G.Y., Miao,W., & Ju, X.L. (2010). Mechanisms of Imidacloprid Resistance in *Nilaparvata lugens* by Molecular Modelling. *Chinese Chemical Letters*, 21:492-495. <https://doi.org/10.1016/j.ccl.2009.12.017>
- Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., & Randall, R.J. (1951). Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.
- MacMahon, B. (1994). Pesticide residues and breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 86:572-573.
- Morrissey, C. A., Mineau, P., Devries, J. H., Sánchez-Bayo, F. Liess, M., Cavallaro, M. C., & Liber, K. (2015). Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review, *Environment International*, 74: 291–303. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.10.024>
- Nicholas, V., Carroll, R., Longley, W., & Joseph, H.R. (1956). The determination of glycogen in liver and muscle by use of anthron reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 220: 583-593.
- OECD, (2019). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals Section 2: Effects on Biotic Systems Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Testing, Paris, France.
- Plummer, D.T. (1971). "An Introduction to practical biochemistry". McGraw-Hill Ltd., Maidenhead, England, 153p.
- Rajput, V., & Singh, S. K. (2012). Comparative toxicity of Butachlor, Imidacloprid and Sodium fluoride on protein profile of the walking cat fish *Clarias batrachus*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2, 121–124.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., & Horuz S. (2010). Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2): 154-169.
- Tomizawa, M., & Casida, J.E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Reviews in Pharmacology and Toxicology* 45:247-268.
- Tyor, A.K., & Harkrishan, K. (2016). Effects of imidacloprid on viability and hatchability of embryos of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 4(4):385-389.
- Yıldız, M., Gürkan, M., Turgut, C., Kaya, Ü., & Ünal, G. (2005). Tarımsal savaşında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, 2.