

Etken Maddesi Pimetrozin Olan Greensun İnsektisitinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Yıldırım Durmuş

Etken Maddesi Pimetrozin Olan Greensun İsektisitinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Yıldırım Durmuş



Published by

Özgür Yayın-Dağıtım Co. Ltd.

Certificate Number: 45503

📍 15 Temmuz Mah. 148136. Sk. No: 9 Şehitkamil/Gaziantep

☎ +90.850 260 09 97

📞 +90.532 289 82 15

🌐 www.ozgurayinlari.com

✉ info@ozgurayinlari.com

Etken Maddesi Pimetrozin Olan Greensun İnsektisitinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Yıldırım Durmuş

Language: Turkish

Publication Date: 2025

Cover design by Mehmet Çakır

Cover design and image licensed under CC BY-NC 4.0

Print and digital versions typeset by Çizgi Medya Co. Ltd.

ISBN (PDF): 978-625-5646-71-2

DOI: <https://doi.org/10.58830/ozgur.pub819>



This work is licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0). To view a copy of this license, visit <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>
This license allows for copying any part of the work for personal use, not commercial use, providing author attribution is clearly stated.

Suggested citation:

Yıldırım Durmuş, Z. (2025). *Etken Maddesi Pimetrozin Olan Greensun İnsektisitinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi*. Özgür Publications.

DOI: <https://doi.org/10.58830/ozgur.pub819>. License: CC-BY-NC 4.0

The full text of this book has been peer-reviewed to ensure high academic standards. For full review policies, see <https://www.ozgurayinlari.com/>



İçindekiler

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	v
1. Giriş	1
Tarım	2
Tarımsal İlaçlama	3
Pestisitlerin Tanımı	3
Pestisitlerin Tarihçesi	5
Pestisitlerin Dünyadaki Kullanımı	6
Pestisitlerin Türkiye'deki Kullanımı	7
Türkiye'de Pestisitlerin Kullanımı Ve Zehirlenmeler	8
Pestisitlerin Zararları	8
Pestisitlerin Sınıflandırılması	14
Genetik Toksikoloji	33
2. Önceki Çalışmalar	43
3. Materyal ve Metod	63
Materyal	63
Metod	70
4. Bulgular ve Tartışma	83
Sonuç ve Öneriler	93
Kaynaklar	97

Simgeler ve Kısaltmalar Dizini

AB	: Avrupa Birliği
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AcE	: Asetilkolin estera
BHC	: Benzen heksaklorür
BrdU	: 5-Bromo-2-deoksiüridin
CBMN	: Cytokinesis Block Micronucleus
CHO	: Chinese Hamster Ovary
Cl	: Klorür
CYP	: α -sipermetrin
Cyt-B	: Sitokalsin-B
DDE	: Dikloro difenil dikloroetilen
DDT	: Dikloro difenil trikloroethan
DFP	: Diizopropil fluorofosfat
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNOC	: 2,4- dinitro-6-metil fenol
ETU	: Etilen tiyöüre
EUROGAP	: Avrupa Tarım Uygulamaları
HCB	: Hekzoklorobenzen
HCCH	: Hekzaklorosikloheksan
HCH	: Hekzakloroheksan
IARC	: Uluslararası Kanseri Araştırma Kuruluđu
IMI	: İmidokloprid
IPM	: Pest kontrol servisi
K	: Potasyum
KA	: Kromozomal anormallik
KKD	: Kardeş Kromatid Deđiđimi
LCT	: 11-siyalotrin
M.Ö	: Milattan Önce
MMC	: Mitomisin-C
MN	: Mikronükleus
MSS	: Merkezi sinir sistemi
Na	: Sodyum

NaCl	: Sodyum klorür
OF	: Organofosfat bileşikleri
PCE	: Polikromatik Eritrosit
PCP	: Pentaklorofenol
PSS	: Periferik sinir sistemi
SCGE	: Single Cell Gel Electrophoresis
SSC	: Salin sodyum sitrat
TCDD	: 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin
TEPP	: Tetraetil pirofosfat
TFT	: Triflorotimidin
TMTD	: Tetrametilthiuram disülfür
UV	: Ultraviyole
XPRT	: Xantin Guanin Fosforibozil Transferaz
α -HCH	: Alfa heksaklorosikloheksan
γ -HCH	: Gama heksaklorosikloheksan
DP	: Toz ilaçlar
WP	: Islanabilir ilaçlar
SP	: Suda çözülen ilaçlar
DS	: Kuru tohum ilaçları
GR	: Granüller
TB	: Tabletler
EC	: Emülsiyon konsantre ilaçlar
SC	: Akıcı konsantre ilaçlar
gs	: Yağlar
UL	: ULV ilaçlar
AE	: Aerosoller
TK	: Timidin Kinaz
GGT	: Glutamil transferaz
FISH	: Floresan in situ hibridizasyon
DEL	: Deltametrin
ISO	: İzoproturon
MTT	: (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,2,5-diphenyltetrazolium bromide)
PKE/NKE	: Polikromatik eritrosit/ Normokromatik eritrosit
PHR	: Forat
DDVP	: Diklorvos
ADI	: Acceptable daily intake
MRL	: Maximum residue limits
USEPA	: United States Environmental Protection Agency
WO	: Wipe-out
KOG	: K-O Gard
CWB	: Kutworm bait
SB	: Snail ban
CPX	: Koopeks
TKF	: Triklorfan

1. Giriş

Günümüzde teknolojinin gelişmesi beraberinde çevre kirliliğini de getirdiğinden dolayı canlılar bu durumdan olumsuz bir biçimde etkilenmektedir. Canlıların çoğu yaşamları süresince doğada doğal ya da yapay kimyasal maddelerle karşı karşıya gelmektedir. Bu kimyasalların birçoğunun ya belirli metabolik aktivasyonlardan sonra ya da doğrudan doğruya DNA ile etkileşerek mutasyona ve kansere yol açtıkları hemen herkes tarafından bilinmektedir. Ayrıca pestisitlerin kullanılması bir yandan tarımsal üretimi artırırken diğer yandan, pestisitlerin bilimsel denetimden yoksun, geliştiği güzel ve aşırı dozda kullanılmaları sonucunda çevredeki kalıntıları çoğalmakta ve bu maddeler canlıları olumsuz yönde etkilemektedir.

Pestisitler tarım alanlarına uygulanırken genellikle hiçbir koruyucu önlem alınmadığı için, insanlar tarım ilaçlarının akut ve kronik toksik etkisiyle doğrudan karşı karşıya kalmaktadırlar. Dünyada her yıl kayıt altına alınabilen yaklaşık 3 milyon akut pestisit zehirlenmesi ve 220.000 ölüm olmakta ve bu ölümlerin % 99'u az gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir (Delen ve ark., 1995; Kaya, 2005). Ayrıca birden çok kimyasal maddenin karışımı ile hazırlanan pestisit karışımlarından dolayı, insanlar sadece bir pestisite değil birden çok pestisit çeşidine aynı anda maruz kalmakta ve bu nedenle oluşabilecek hasar miktarı da artabilmektedir (Demsia ve ark., 2007).

Biyolojik etkileri tam olarak açıklanamayan ve çevremizde mevcut bulunan ve insan yaşamında önemli yerleri olan birçok sentetik ve doğal maddelerin kullanılmadan yani insanlarla temasa geçmeden önce oluşabilecek genetik etkileri açısından kontrol edilmeleri büyük bir önem taşımaktadır. Özellikle uzun zaman, yoğun bir şekilde kullanılan pestisitler gibi maddelerin kontrolü

daha önemli ve kaçınılmaz bir görev haline gelmektedir. Bu nedenle insektisit ve diğer kimyasalların genetik potansiyellerini değerlendirebilmek için bazı *in vitro* test sistemleri geliştirilmiştir. Kısa zamanlı testler diye bilinen bu testlerle insektisitlerin belirli genetik sistemlerde belirli sonuçlar verip vermedikleri araştırılarak ve elde edilen sonuçlarla maddelerin genotoksik potansiyelleri arasında ilişkiler kurulmaktadır.

Pestisitlerin insanlarda belirli miktarlarda toksik olmaları nedeniyle savaşında çalışan herkesin bunların kullanımı sırasında meydana gelebilecek potansiyel zarardan sakınmaları gerekir. İnsanların pestisitlere maruz kalması mesleki zehirlenmeler veya kaza ile meydana gelebilmektedir. Pestisit zehirlenmelerinin en büyük bölümünden insektisitler sorumludurlar. En ciddi ve tehlikeli pestisit zehirlenmeleri organofosfat ve karbamat insektisitlerinden kaynaklanmaktadır. Bu maddeler gereğinden fazla kullanıldıkları için sebze ve meyvelerin üzerinde oldukça yüksek miktarlarda kalmakta ve bu kalıntılar da insan sağlığını tehdit etmektedir. Çalışmamızda etken maddesi Pimetrozin olan diğer insektisit grubuna giren ve Piridin azomethines ailesine ait bir insektisit genetik potansiyelini araştırdık. Pimetrozin etken maddeli olan insektisit karpuz, domates, şeftali ve turunçgillerde yaprak biti ile mücadelede, patlıcanda ise beyaz sinek mücadelesinde kullanılmakta olan ve faydalı birçok haşereye zarar vermeyen seçici bir insektisittir. Çalışmada pimetrozin etken maddesini tercih etmemimizin amacı günlük yaşamda çok fazla tüketilen sebze meyveler için beyaz sinek ve yaprak biti mücadelesinde bu kimyasalın bilinçsizce yüksek miktarda kullanılmasının söz konusu olduğu durumlarda veya yeteri kadar yıkanmayan sebze ve meyvelerin üzerinde kalıntılarının birikmesi sonucu insan sağlığı için genotoksik risk oluşturup oluşturmadığını test etmektir.

Yaptığımız literatür çalışması sonucunda pimetrozin etken maddesinin insan lenfositlerindeki genotoksik etkisinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada; farklı konsantrasyonlar ve muamele süreleri için pimetrozinin insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimine (KKD), sayısal ve yapısal kromozomal anormalliklere (KA) ve mikronükleus (MN) oluşumuna etkisi incelenerek, pimetrozinin genotoksik aktiviteye sahip olup olmadığı araştırılmıştır.

1.1. Tarım

Tarımın geçmişi ilk tarımsal ürünlerin elde edilmesinden günümüze kadar yaklaşık 10 000 yıl öncesine dayanmakla beraber toplumların etkileşimi sonucu tüm dünyaya yayılmıştır. Tarımcılığın gelişmesi insanların göçebe yaşam tarzlarını bırakarak toplu yaşama geçmelerine bu durum

da günümüzdeki devletlerin oluşmasına neden olmuştur. Tarım başlıca hayvancılık diğeri ise bitkisel tarım olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Bunlardan biri olan hayvancılıkta büyükbaş ve küçükbaş gibi birçok farklı hayvan yetiştirilmekte olup bu hayvanların eti, sütü, postu, gübresi gibi birçok özelliğinden faydalanılmaktadır. Bitkisel tarımda ise toprağa, iklim şartlarına bağlı olmak üzere birçok değişik ürün elde edilebilir.

İnsanların yüzyıllar boyu süregelen çevresini egemenliği altına alma isteğiyle inanılmaz durumlara ulaşan ürün alma, yaşama standardı, yerleşme vb. konulardan ötürü, çevre üzerindeki etkisi geometrik olarak artmış, kendi varlığını tehlikeye düşürür duruma gelmiştir. İnsan nüfusunun artmasına bağlı olarak besin sıkıntısı çekme problemi de doğmuştur. Gelişen dünyanın asıl önemli sıkıntısı olan besin sorunu da tarımla ancak çözülebilmektedir. Bu nedenle tarımda birim alandan daha çok ve kaliteli ürün alabilmek ancak teknolojinin de yardımıyla elverişli arazilerin en iyi şekilde kullanılmasıyla mümkün olabilmektedir. Bitkisel tarımdan en iyi verimi alabilmek için öncelikle gübreleme, tohum ıslahı, aşılama gibi yöntemler başta olmak üzere birçok değişik yola başvurulmaktadır. Tarımsal verimin bu gibi yöntemlerle artışı sağlanmasına rağmen çeşitli hastalıklar ve haşereler de bu verimin azalmasına neden olmaktadır. İşte bu yüzden değişik tipte kimyasal ilaçlar kullanılarak hastalık ve haşerlerle mücadele edilmektedir (Avcı, 2013).

1.2. Tarımsal İlaçlama

Zirai tarım için önemli olan ve büyük problem teşkil eden olaylardan dış etkenler arasında ürün kalitesinin düşmesi ve verimliliğin azalmasını gösterebiliriz. Bu olumsuzluklar bazen yabani bir ot, bir böcek türü, bir kemirgen, bazen de bir parazit olabilmektedir. Bu gibi istenmeyen etkenlerden kurtulmak için çeşitli kimyasallar kullanılmaktadır. Genel olarak pestisitler; tarım ürünlerinin daha kaliteli ve verimli olmasını sağlamak için istenmeyen böcek, kemirgen, bitki, yosun gibi diğer zararlıların önlenmesi ve sınırlandırılması için kullanılan kimyasallar olup (Crites ve ark., 1995) bunların başlıcaları; insektisit (böcek öldürücü), herbisit (yabani ot öldürücü), fungusit (küf öldürücü), rodentisit (kemirgen öldürücü) olmak üzere birçok türü vardır.

1.3. Pestisitlerin Tanımı

Bitkilerde, hastalık, zararlı ve yabancı ot yüzünden oluşabilecek zararları engellemek üretimi ve verimi artırmak için “pestisit” adı verilen kimyasallar kullanılmaktadır (Sezer, 2002; Helvacı, 2003). Bitkisel üretimde verimi arttıran; yüksek verimli ve kaliteli tohum seçimi, uygun ve zamanında toprak işleme, uygun gübreleme ve sulama gibi tüm metotlar uygulanmış olsa dahi;

kaliteli ve bol mahsul almak için hastalık etmeni, zararlılar ve yabancı otlar ile de etkili bir şekilde mücadele yapılmalıdır. İşte verimli ve kaliteli mahsul almanın birçok yolları olmasına rağmen en yaygın kullanılan yöntem pestisit uygulanmasıdır. Zararlılara karşı mücadelede kullanılan bu kimyasalların, hem daha ekonomik olması hem de çevre sağlığına etkisinin en düşük düzeyde olması için kullanılmadan önce katı veya sıvı bazı yardımcı maddelerle karıştırılabilir hale getirilir. Bu fiziksel karışıma “formulasyon”, içinde belli yüzde de bulunan kimyasal maddeye de “etkili/aktif madde” denilmektedir. Bu formulasyon içinde etkili madde (belli düzeyde), yardımcı maddeler, emülgatörler ve dolgu maddeler bulunmaktadır. Bir formulasyonda olması gereken özellikler; etkin olmalı, biyolojik yönden aktif olmalı, üreticiler (kullananlar), tüketiciler ve üçüncü şahıslar için güvenilir olmalı, kararlı bir yapıda olmalı, besi hayvanları ve yaban hayatına zararlı olmamalı, çevre için zararlı olmamalıdır (Bulut ve Tamer, 1996).

Pestisitlerde aranılan en önemli kriter, hedeflenen zararlıya karşı seçici olması ve sadece hedeflenen zararlıya karşı toksisite göstermesi istenilmekle birlikte ortamda bulunan mevcut olan diğer canlılar için ise en az düzeyde toksite göstermesi beklenilmektedir. Fakat sağlık yönünden “tam güvenli” bir pestisit yoktur ve her pestisit belirli düzeyde toksisitesi vardır (Barış, 2007). Bir pestisit etkinliği, pestisite karşı o organizmanın duyarlılığının azalmasıyla düşmektedir. İstenilen seviyede ki etkinliği elde etmek için başlangıçta devamlı doz yükseltilmesi yöntemine başvurulması nedeniyle artan dozlara paralel olarak doğada ki pestisit miktarı da artmaktadır. Doğada kimyasal kirlenmeye neden olan bu pestisitler, insan sağlığını canlılarda besin zinciri veya doğrudan kontaminasyon aracılığı ile tehdit etmektedir (Ekebaş ve ark., 2000). Organizma direncinin pestisitlere karşı artması, çevre kirliliğinin de artması anlamına gelmektedir ki bu direnç ise adaptasyon ve dayanıklılık olmak üzere iki şekilde oluşur; Adaptasyon, organizmanın bir kimyasal maddeye duyarlılığının azalmasına rağmen, genetik materyalinde herhangi bir değişime uğramamasıdır. Ancak dayanıklılıkta ise bazen geri dönüşümü olmayabilecek şekilde genetik materyalde değişime yol açmasıdır. Buna rağmen adaptasyonda, kullanılan kimyasalın (pestisit) kullanımının ortadan kalkmasıyla organizma eski duyarlılığına geri dönebilir. Pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz bir şekilde kullanımı, organizmanın direncinin daha hızlı ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Delen ve Tosun, 1996). Tarımsal savaşında patojen organizmaları yok etmek için kullanılan pestisitler doğada birikerek çevre kirliliğine yol açmakta, bununla birlikte tüm canlılarda insanlar da dâhil akut ve kronik zehirlenmelere, sinir sisteminde hasarlara, enzim faaliyetlerinde bozulmalara, hücre membran yapısında ise değişimlere sebebiyet vermektedir (Çakır ve Yamanel, 2005; Kaya, 2005; Akçan, 2008).

Ayrıca bu tür kimyasalların arzu edilen dozun üstünde ve bilinçsiz kullanımı, yok edilmesi istenilen organizmaların yanı sıra yararlı olan birçok türün de yok olmasına veya zararlı popülasyonlarında bağışıklık mekanizmasının gelişmesine sebep olmaktadır (Şekeroğlu, 2010).

1.4. Pestisitlerin Tarihçesi

İnsanlar, gıda kaynağı olarak kullanılan bitkileri tarih boyunca omurgalı, omurgasız hayvanlardan ve birçok zararlı mikroorganizmalardan koruma için mücadele etmişlerdir. İnsanoğlu sınırlı sayıda kaynakların olmasına karşın ihtiyaçların sınırsız olması nedeniyle önemi giderek artan tarım ürünlerinin üretilmesi ve korunması aşamalarında birtakım arayışlar içerisine girmiştir. Kimi zaman bilinçli arayışlar neticesinde, kimi zaman tesadüfi olarak elde ettikleri kimyasallar ile tarım ürünlerine zarar verecek canlılara karşı korunması için çaba sarfetmişlerdir. Günümüze kadar, bu amaç için pestisit diye adlandırılan kimyasal maddeler kullanılmış ve kullanılmaktadır. Kükürt ve arsenik' in pestisit olarak kullanılan ilk maddeler olduğu düşünülmektedir. M.Ö. 1500 yıllarına ait papirüste arı, bit ve pirelere karşı pestisit hazırlandığına ve kullanıldığına dair kayıtlar bulunmuştur. Çinliler tarafından M.Ö. 1000 yıllarında ise fuminant olarak kullanılan sülfürün, Avrupa'da ise 1800'lü yıllarda fungusit olarak kullanıldığı, günümüzde de halen önemli bir pestisit olarak kullanıldığı bilinmektedir. XVI. yüzyılda, Çinliler tarafından hazırlanan arsenik içeren bileşikler, Japonlar' ın hazırladığı karışımlar, daha sonra da tütün yapraklarından elde edilen sıvı, ayrıca bakır sülfat, kireç gibi maddeler de pestisit olarak kullanılmıştır (Klassen ve ark., 2001; Dağlıoğlu, 2004; Ündeğer, 2001).

Zararlı böceklerle mücadelede 1940'lara kadar kullanılan doğal bileşikler, kararsız olmaları ve üretim maliyetinin fazla olmasından dolayı yerini yapay bileşiklere bırakmıştır (Uslu ve Türkman, 1987). Almanya'da Schrader önderliğinde, bir grup kimyager tarafından, bir kısım organik insektisit sentezlenmiş, toksik olduğu anlaşılan bu kimyasallar sonrasında II. Dünya Savaşı'nda, Naziler tarafından kimyasal silah olarak kullanılmıştır. Savaş koşullarının ortadan kalkması organik yapıdaki pestisitlerin silah endüstrisinden sivil endüstriye kaymasına yol açmış ve bu pestisitlerin üretimi ve kullanımı, II. Dünya Savaşı'ndan sonra da büyük ölçüde artmış ve yaygınlaşmıştır. (Klassen ve ark., 2001; Dağlıoğlu, 2004). Pestisitler ileriki yıllarda ise şehir yaşamında da kullanılmaya başlanmış, kamp alanlarında sinek ve sivrisinek ile mücadelede, çeşitli böceklerin uzaklaştırılmasında, çim alanlarındaki yabancı ot ve zararlı hayvanların kontrolünde, fare ve sıçanların öldürülmesinde, evcil hayvanlar için pire tozu olarak, yüzme havuzlarındaki alglerin kontrolünde, kullanılmaya başlanmıştır (Sezer, 2002; Helvacı,

2003). Kullanım yerlerinin artmasıyla birlikte, başlangıçta sadece koruyucu etkileri olduğu düşünülen pestisitlerin yararlı yönlerinin yanı sıra bazı zararlarının da ortaya çıkmasına yol açmıştır. Ürünleri korumaya yönelik olarak kullanılan pestisitlerin farkında olmadan ortaya çıkardığı zararlı etkiler önemli çevre sorunlarına da yol açtığı tespit edilmiştir.

1.5. Pestisitlerin Dünyadaki Kullanımı

İnsanoğlunun gereksinimlerindeki çeşitlilik artmasıyla beraber, kimyasal madde üretim miktarı da bu gereksinimleri karşılamaya yönelik artmaktadır. Kimyasal madde üretim değeri 1930’lu yıllarda 1 milyon ton iken, 2000’li yıllara gelindiğinde 400 milyon tona ulaşmıştır. Bu dönem boyunca dünya nüfusu 4 kat artarken kimyasal madde üretiminin hızlı bir geometrik artış göstererek 400 kata ulaşması düşündürücüdür. Bu artışın sebepleri arasında teknolojik gelişim, tarım alanları genişlemesi ve ekolojik dengede bozulmalar gibi etmenler gösterilebilir. Pestisit grubu, bu kimyasal maddelerin yaklaşık 5 milyon tonunu oluşturmaktadır. Bu pestisit grubunun başında %36’lık oranla yabancı otları yok etmek için kullanılan herbisitler oluşturmakta olup bunun %25’lik kısmını insektisit, %10’luk kısmını fungisit ve kalan %29’luk kısmını ise diğer pestisit grupları oluşturmaktadır (Delen ve ark., 2005). Dünya genelinde pestisitlerin bölgelere göre kullanım alanları şu şekilde dağılım göstermektedir; %30 Kuzey Amerika, %25 Batı Avrupa, %16 Asya, %13 Latin Amerika, %12 Japonya, %2 Doğu Avrupa, %2 Afrika. Kullanım alanlarının bölgelere dağılımından da anlaşılacağı üzere pestisitlerin %80 gibi büyük bir oranı gelişmiş ülkelerde kullanılmaktadır. Ancak çevreye verilen zararların en aza indirilmesi açısından gelişmiş ülkelerde başta A.B.D. olmak üzere, “düşük risk potansiyeline sahip pestisitler” ya da “doğa dostu pestisitler” kullanılmaya başlanılmıştır. Bu amaçla, ruhsatlandırma kolaylığı ve kullanım teşvikleri geniş ölçüde uygulamaya geçilmiştir (EPA, 1999 a,b).

Tüm gelişmiş ülkeler tarafından, özellikle Avrupa Birliği (AB) ülkeleri olmak üzere sağlık ve çevre açısından zararlı olabilecek kimyasal ürünlere karşı şu gibi önlemler alınmıştır: AB ülkeleri Tarım Ürünleri Çalışma Grubu, Avrupa Tarım Uygulamaları (EUROGAP) Protokolünü yürürlüğe koymuşlar ve bu protokol ile de satışa sunulan ürünlerin kullanımı sonunda herhangi bir zararı olmayacağı yönünde garanti ve güvence sağlama yoluna gitmişlerdir (Anonim, 2004). Dünya üzerindeki ülkelerde değişiklik içermekle birlikte çevresel zararları en aza indirmeyi amaçlayan teşvik ve önlemler uygulanmıştır. Örneğin, gelişmiş ülkeler alternatif üretim olanaklarına sahip olduğundan dolayı ürün çeşitliliğine gidebilirken, gelişmekte olan ülkelerde bu sürecin daha yavaş işlemesi, uygulamaya geçirilecek önlem ve tedbirlerin

gecikmeli olarak hayata geçirilmesine yol açmaktadır (Delen ve Tosun, 1996).

Çizelge 1.1. Dünyada Pestisit Tüketimi

Kıtalar ve bölgeler Pestisit tüketimi	(bin ton)	%
Avrupa	800	32
A.B.D.	500	20
Kanada	100	4
Diğer Endüstrileşmiş Ülkeler	500	20
Gelişmekte Olan Asya Ülkeleri	300	12
Latin Amerika Ülkeleri	200	8

1.6. Pestisitlerin Türkiye’deki Kullanımı

Türkiye ekonomisinin toplam üretim değeri içerisinde tarım sektörünün yeri oldukça önemlidir. Elde edilen tarım ürünlerinin, bir kısmı doğrudan tüketime sunulurken diğer bir kısmı ise tarıma yönelik sanayi alanları için girdi oluşturmaktadır. Tarımsal üretim bu şekilde iki yönlü bir etkiye sahip olduğu için, toplam ekilebilir alanın ihtiyaç doğrultusunda yeterli olmaması nedeniyle mevcut üretim alanlarında verimlilik artışı ile tatmin edilmeye çalışılmaktadır. Ancak bu durum kısıtlı üretim alanları içerisinde verimliliğe dayalı bir üretim yapısının oluşturulması ve üretim aşamasında ise ürüne zarar veren her türlü etkilerden arındırılmasıyla mümkün olmaktadır.

Tarım ürünlerinden iyi derecede kaliteli ürün elde edebilmek için zararlı mücadelesinde pestisitler kullanılmaktadır. Bundan dolayı toplam 2215 tarımsal ilaca 2002–2008 döneminde ruhsat verilmiştir. Aynı dönemde devir edilen ilaç ruhsatı 565 iken 163 ilaç ruhsatı ise iptal edilmiştir. Ülkemizde dönem sonu itibariyle ruhsatlı aktif madde miktarı ise 406’dır. 2003–2004 yılları için tarımsal ilaç ithalatının toplam kimyasal madde ithalatına oranı yaklaşık on binde 2 iken, bu oran 2005 yılında on binde 6’ya yükselmiştir (Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü İstatistik Verileri, www.kkgm.gov.tr, 2008). Pestisit teknik madde ve formülasyonu için 1960–1997 yılları arasında işletme izni alan tesis sayısı 68, ithalatçı firma sayısı ise 81’dir (Gedikli, 2001). Tarımsal üretim yapısı içinde gerek ruhsat sayısındaki artış gerekse üretim ve ithalat yapan firma sayısındaki artış, verimliliği artırması için uygulanan yöntemlerde pestisit kullanımındaki artışı göstermektedir (Sulak ve ark., 2012).

2002 yılı tüketimi temel alındığında, ABD’de veya AB’de kullanımı yasaklanmış, azaltılmış ya da geri çekilmiş pestisitlerin, ülkemiz pestisit tüketimindeki paylarının %6,47 olduğu görülmektedir. Yine ülkemizde

halen ruhsatlı pestisitlerden biri olan ascfatin, AB’de 2003’de kullanımları durdurulmuştur (Delen ve ark., 2005). Ayrıca meposfolan insektisit de 01 Ocak 2009 tarihinden beri imalatı ve ithalatı yasaklanan aktif maddelerin arasında bulunmaktadır. Avrupa Birliğinde’ de “Out” olan ancak ülkemizde ruhsatlı bulunan 135 bitki koruma ürünü aktif maddelerinden böylece 75 adedi yasaklanmış ve 2009 yılı sonunda 6 aktif 7 madde, 2010 yılı sonunda ise geriye kalan 54 aktif madde de yasaklanmıştır (<http://www.zmo.org.tr/genel>, 2008).

Çizelge 1.2. Türkiye’de pestisit tüketimi (kg/lt) (Sulak ve ark. 2012)

Yıllar	İnsektisit	Fungusit	Herbisit	Akarisit	Rodentisit	Diğer	Toplam
2004	-	-	-	-	-	-	41.223.053
2005	-	-	-	-	-	-	43.362.67
2006	7.628.215	19.899.724	6.955.585	901.999	2.877	9.987.399	45.375.79
2007	21.045.632	16.706.631	6.668.653	966.488	50.925	3.277.315	48.715.64
2008	9.250.719	17.862.861	6.176.508	737.123	351.095	5.613.346	39.991.61
2009	9.913.897	17.395.950	5.960.852	1.532.728	77.610	2.302.300	37.183.37
2010	7.175.831	17.545.584	7.451.591	1.039.739	147.404	5.343.714	38.703.82
2011	6.119.933	18.123.614	7.406.602	1.061.609	421.426	6.977.775	40.110.98

1.7. Türkiye’de Pestisitlerin Kullanımı Ve Zehirlenmeler

Yurdumuzda, pestisitlerin en önemli uygulama alanı “tarımsal savaş ilaçları” olarak kullanımıdır. Türkiye tarımında 1957’de tüm kültür bitkilerinde hastalık, zararlı ve yabancı otlar yüzünden oluşabilecek kayıpları engellemek için her türlü araştırma ve uygulamayı yapmakla görevli “Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Müdürlüğü” kurulmuştur. Ülkemizin ihtiyacı olan Tarım İlaçlarını, bunlarla ilgili üretimi, ruhsatlandırma gibi düzenlenmeleri de ilgili komitelerle bu kuruluş yürütmektedir. Ülkemizde halen tarımsal amaçla ruhsatlı olan 346 pestisit aktif maddesi içeren 1483 formülasyon vardır. Bu aktif maddelerin büyük bir kısmı insektisit, herbisit ve fungusitler’ den oluşmaktadır.

1.8. Pestisitlerin Zararları

Pestisitlerin, kullanılmaları ile hem ekonomik açıdan hem de sağlık bakımından sağladıkları yararları yadsınamaz derecede çoktur. Buna rağmen yanlış kullanılmaları ve diğer nedenlerle gittikçe önem kazanan zararları da olmaktadır.

1.8.1. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerine Akut ve Kronik Etkileri

Pestisitlerin akut etkileri irritasyondan, dermatite, sistemik emilime bağlı olarak ölüme kadar değişmektedir. Belirtiler nonspesifiktir, gastroenterit, soğuk algınlığı, nezle vb. hastalıklarla karıştırılabilir. Toksisitesi çok yüksek olan paratyon ve metamidofos kimyasalları mesleki nedenli ölümlerin büyük çoğunluğuna yol açmaktadır. Tarımsal kesimde çalışan işçiler diğer endüstriyel sektörlerde çalışanlara göre daha yüksek risk altındadır. Diğer akut etkiler: Solunum ve kardiyovasküler sistem hastalığı olanlar pestisit etkilenimine daha duyarlıdır. Astımı veya şiddetli alerjisi olanlar da daha yüksek tepki düzeyine sahiptir.

Pestisitlere uzun süre maruz kalınması sonucunda görülen kronik etkiler daha önceden meydana gelen herhangi bir sağlık etkisi söz konusu olmaksızın ortaya çıkabilir. Birçok pestisit işçisi hayat boyu sürekli düşük doza maruz kalma sonucu kronik etkilenim altında olabilir. Kronik etkiler kanser, doğum defektleri, nörotoksite, nörodavranışsal bozukluklar, nörofizyolojik değişiklikler, üreme ve fertilité üzerindeki etkiler olarak sıralanabilir (Tarım Köy İşleri İl Müdürlüğü, 1995).

Çizelge 1.3. Türkiye'de insanlarda pestisitlerden meydana gelen zehirlenmeler (adet)

Yıllar	Hatalı Kullanım	İhmal	İntihar	Toplam	Ölüm
1984	174	200	4	378	26
1985	112	330	7	449	24
1986	347	1100	36	1483	99
1987	400	594	54	1048	44
1988	354	1106	85	1545	65
Toplam	1387	3330	186	4903	258
%	28,28	67,91	3,79		5,26

• Mesleki Olmayan Zehirlenmeler:

Çeşitli nedenlerle pestisitler akut ve kronik zehirlenmelere yol açabilir. Bu zehirlenmeler pestisitlerin kasıtlı veya kasıtsız yanlış kullanımları sonucu görülebildiği gibi üretimleri, uygulamaları, depolanmaları, taşınmaları sırasında da görülebilir. Pestisitlerin uygulama talimatına uymama, evlerde kullanılmaları ile meydana gelen kazaren zehirlenmeler, rastgele atılan bitmiş ambalaj kutuları veya tamamen yanlış bir kullanımı nedeni ile olabilir. Örneğin; Ağustos 1979 yılında Ödemiş'te zeytinyağ şişesi ile Folidol (paratyon etken maddesi) şişesini birarada bulunduran yaşlı bir kadının,

yanlışlıkla Folidol ile kızarttığı böreği yiyen 16 kişi zehirlenmiş ve bu zehirlenenlerden altısı ölmüştür.

Bazı ülkelerde önemli zehirlenmelerin nedenlerinden biri de pestisitlerin evlerde amacı dışında, vücut bitlerine karşı kullanılmaları olabilmektedir. Özellikle 1945’li yıllarda toz halindeki DDT yaygın olarak rastlanan bitlenmeye karşı, yatak, yorgan, iç çamaşırları ve saç diplerine serpilirdi. DDT toz halinde iken insan vücudundan hemen hemen hiç absorbe olmadığı için bu şekilde insanlar için toksik değildir, ancak bit gibi kitin tabakası içeren böceklerle toksik etki göstererek yok eder. DDT’nin yerini zamanla organik fosfat esteri yapısında ki insektisitler almıştır. Kırsal bölgelerde, bilinçsiz kişilerce DDT yerine bitlerle mücadelede insektisitleri kullanma alışkanlığı da devam etmiştir. Bunun neticesinde de ölümle sonuçlanan zehirlenme olaylarına rastlanmaktadır. Organik fosforlu insektisitler, DDT’den farklı olarak, ciltten absorbe olabilmeleri ve DDT’ye göre daha toksik olmalarından dolayı zehirlenen kişilerin kurtulma şansını azaltmaktadır. Örneğin ülkemizde Kars’ın Damal köyünde 1973’de, Folidol 3-605’i saç ve elbise temizliğinde kullanan 37 kişinin ölümü, benzeri şekilde İran’da vücut bitiyle mücadelede paration kullanarak zehirlenen 17 kişiden 15’inin ölümü gibi sonuçlara yol açmıştır. Üzerinde pestisit kalıntısı içeren besinlerin tüketilmesi ile akut ve kronik zehirlenmeler meydana gelebilir: Pestisit uygulanmasından sonra bekleme süresine dikkat edilmeden yenilen sebze ve meyvelerde ve gerekli yıkama işlemi yapılmadan yenilen besinlerde zehirlenmeler gözlenmektedir. Buna örnek olarak; 1963 yılında Bursa’da Folidol E ile ilaçlanan şeftaliyi yiyen 32 kişiden 7 sinin ölümü, yine Ağustos 1979’da Ödemiş’te Folidol ile ilaçlanmış karpuz yiyen 7 kişinin zehirlenmesi gösterilebilir. Türkiye’de 1950’li yıllarda Güney Doğu Anadolu Bölgesi’nde rastlanan ve bütün dünyanın ilgisini çeken epidemik olayı pestisit kalıntısı içeren besinlerin yenmesi ile oluşan kronik zehirlenmeler için örnek gösterilebilir. Ve yine 1956’da Diyarbakır ve yöresinde bir fungusit olan heksaklorobenzenle (HCB) ilaçlanmış tohumluk buğdayı yiyen halkta epidemik zehirlenme görülmüştür. 1955-1958 yılları arasında, Diyarbakır ve yöresinde (Diyarbakır, Mardin, Urfa) yaşayan 3000’in üstünde kişiye “karayara hastalığı” gözlemlenmiştir. Bu epidemide dikkati çeken başlıca belirtiler şunlardır: Deride koyulaşma, idrar renginin koyu kahverengiden siyaha kadar değişmesi. Önce etiyolojik bir faktör olarak düşünülen ve en çok çocuklarda (4-14 yaş grubu) ve erkeklerde görülen bu porfirianın nedeninin daha sonraları, halkın Tarım Kuruluşu tarafından dağıtılan HCB’le ilaçlanmış tohumluk buğdaydan yapılan ekmelekleri yiyerek zehirlenmelerinden kaynaklı olduğu anlaşılmıştır. Bu zehirlenme olayının %10’u ölümle sonuçlanmıştır. Aynı zamanda pestisitler kasıtlı öldürme ve

intihar amacı ile de kullanılabilmektedir. Özellikle bunlardan organik fosfat esteri yapısında olan insektisitler bu amaçla tercih edilmektedir. Pestisitler için yeterli denetimi olmayan ülkelerde zehirlenme ve ölüm olayları daha fazla görülmektedir. Örneğin Sri Lanka gibi intiharın çok olduğu ülkelerde, pestisitlerle zehirlenme sonucu ölümlerin %97'sinin, Kolombiya'da ise %57'sinin intihar şeklinde olduğu bilinmektedir.

- **Mesleki maruziyet ve zehirlenmeler:**

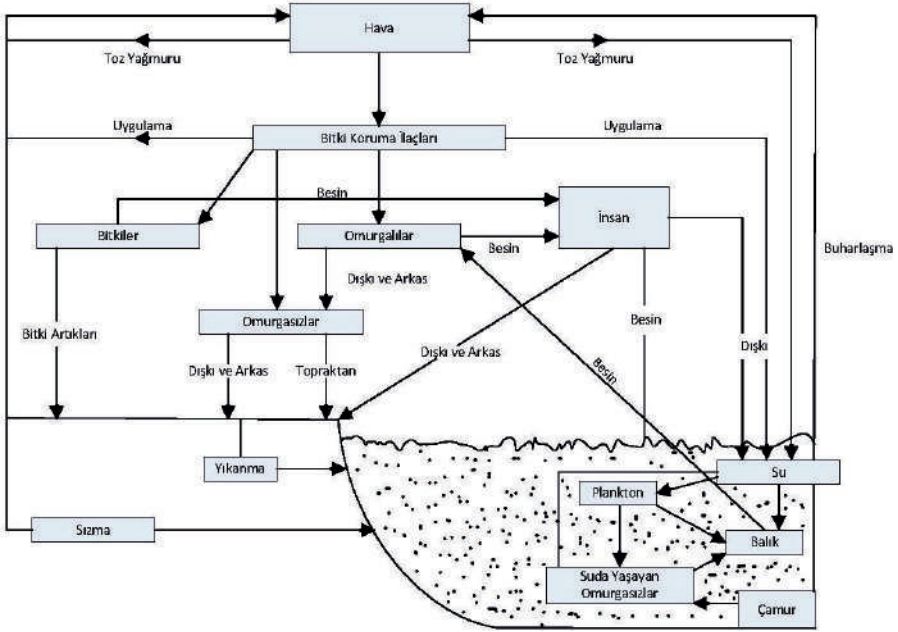
Pestisitlerle oluşan mesleki zehirlenmeler için çalıştığı bir bölgede 8268 pestisit zehirlenmesi ve pestisitlerle zehirlenenlerin bazılarında ise ölümler gözlenmiştir. Endüstri kazası sonucunda oluşan pestisit zehirlenmeleri sadece işleri nedeni ile maruz kalanları kapsamamakta, ayrıca civarda yaşayanları da etkilemektedir. Örneğin 1984 yılında Hindistan'da karbamat grubu pestisit üreten bir fabrikada, metil izosiyanatın depolandığı tanktan kaza sonucu kimyasalın sızması ile çok toksik olan bu maddeye o bölgede maruz kalan 2500 kişinin ölümüne neden olmuştur.

- **Kanser:** Son zamanlarda yapılan epidemiolojik araştırmalar, mesleki ve çevresel olarak pestisitlere maruz kalan kişilerin kansere yakalanma riskinde artış olduğunu göstermektedir. Non Hodgkin lenfoma, lösemi, multiple myeloma, karaciğer kanseri, testis kanseri, sterilite, beyin kanseri, akciğer kanseri riskinde istatistiksel olarak önemli risk artışının söz konusu olduğu belirlenmiştir.
- **Doğum defektleri:** Gebeliğin ilk üç ayında pestisitlerle mesleki olarak karşılaşma sorunun büyümesine neden olur. Çünkü pestisit embriyotoksitesi veya fetotoksitesi olabilir.
- **Nörotoksikite:** Bazı organofosfat pestisitler uzun ve geniş çaplı lifleri tutan gecikmiş nöropatiye neden olabilir. Demiyelinizasyona (sinir liflerinin etrafını saran myelin tabakasının kaybı) bağlı olarak kas zayıflığı, üst ekstremitelere göre daha şiddetli olarak etkilenen alt ekstremitelerin felciyle sonuçlanabilir. Başlangıç genellikle akut etkilenimden 2-4 hafta sonra olmaktadır.
- **Nörodavranışsal bozukluklar:** Eski çalışanların birçoğu organofosfor pestisitlerin ağır mental ve psikolojik değişikliklere neden olduğunu göstermektedir. Mental hastalar üzerinde yapılan bir deneyde çok küçük miktarda pestisit verilmesi psikoz semptomlarında ağır alevlenmelere neden olmuştur. Bununla ilgili olarak pestisit uygulayıcıları ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda ağır psikolojik bozuklukların görüldüğü saptanmıştır. Zehirlenen kişilerde bellek, psikolojik durum ve düşünme yeteneğinde önemli azalmaların olduğu görülmüştür.

1.8.2. Pestisitlerin Çevre Üzerine Etkileri

Devamlı artan nüfus artışına ve gelişen dünyaya karşın besinlerin daha verimli olabilmesinde pestisitlerin önemi büyüktür. Ancak bu kimyasalların yoğun ve bilinçsizce kullanılması ekosisteme aynı düzeyde zarar verdiği bilinmektedir. Ekosistemde ki besin piramidinin her basamağındaki toksik etki birikerek artmaktadır. Besin piramidinin en alt basamağı olan bitkilerdeki toksik etki ile üst basamaklardaki insanlara ulaşan toksik etki eş değerdir. Pestisit kullanımı sonucunda meydana gelecek sorunlar şu şekildedir:

- Bilinçsizce uygulanan pestisit çevre kirliliğine neden olmaktadır.
- Pestisitlerin kontrolsüz kullanımı hedef mekanizmaya zarar vermeme-sinin yanı sıra yok edilmesi istenilen organizmanın direnç kazanma-sına neden olmakta ve sonuç olarak uygulama başarısız olmaktadır.
- Ayrıca pestisitlerin aşırı kullanılması hedef olan organizmalarla birlik-te faydalı organizmaları da yok etmekte, böylece doğal denge bozul-makta hatta yeni salgın/istilalar başlamaktadır.
- Pestisitlerin uygulama esnasında ya da depolama ve taşınmasında kaza ile saçılması sonucu gıdaların kontamine olmasına neden olmaktadır.
- Uygulamadan sonra oluşan pestisit atıklarının rastgele atılmasıyla pes-tisit uygulandığı bölgede kimyasallar hava, toprak ve suya karışmakta bunlar aracılığıyla da diğer canlılara bulaşmakta ve dönüşüme uğra-maktadır (Sulak ve ark., 2012) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Pestisitlerin ekosistem içerisindeki döngüsü

Pestisitlerin sadece uygulanan dozunun %0,015- %6'lık kısmı hedef organizmaya ulaşırken geri kalanı ekosisteme karışmaktadır. Bunun sonucunda bazı pestisitler hedef olmayan organizmalar üzerinde zarar vermezken bazıları kanserojenik olabilmekte, sinir sistemleri üzerinde hasara yol açabilmekte hatta genler de mutasyona kadar varabilecek olumsuzluklara neden olmaktadır. Aşırı miktarda pestisit kullanımı da yine hedef olmayan yararlı organizmalara etki etmekte ve böylelikle ekolojik denge bozulmaktadır.

1.8.3. Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkisi

İnsektisitlerin birçoğu spesifik olmadıkları için yalnızca hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer canlıları da etkilerler. Zararlı etkilerin şiddeti, insektisit ve formülasyonun çeşidine, uygulanış şekline ve tarımsal arazinin tipi gibi faktörlerle doğru orantılıdır. İnsektisitlerin yaygın olarak gözlemlenen yan etkileri şunlardır:

- Hem omurgasızlar gibi hedef olmayan organizmalarda hem de arılar, kuşlar ve balıklar gibi organizmalarda ölümlere,
- Balık, kuş ve diğer organizmalarda ise üreme potansiyelinin azalmasına,

- Hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşmasından dolayı insanlara hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolsüzce artışının olmasına,
- Ekosistemin yapısının ve türlerinin sayılarının değişmesi gibi uzun sürede gerçekleşen etkiler.

1.9. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Tarım alanları ve ürünlerine böceklerin yanı sıra çok sayıda diğer canlıların da zararlı etkileri vardır. Bu durum pestisitlerin farklı alt dallarının ortaya çıkmasına neden olmuştur. Yani pestisitler etki ettikleri canlı türüne göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bu anlamda pestisit kelimesi genel bir kavram olup herbisit, fungusit, rodentisit, insektisit, akarisit vb. şeklinde adlandırılan kimyasalların tümünü kapsar. Pestisitler etki ettikleri canlı türüne göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar; (Güler ve Çobanoğlu, 1997)

Çizelge 1.4. Hedef organizmaya göre pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisit Türü	Etkilediği Canlı Grubu
İnsektisitler	Böcekler
Akarisitler	Akarlar
Nematisit	Nematodlar
Mollussisit	Yumuşakçalar
Rodentisit	Kemirgenler
Avisit	Kuşları
Afisit	Yaprakbitleri
Fungusit	Mantarlar
Bakterisit	Bakteriler
Herbisit	Otlar
Algisit	Algler

Ayrıca pestisitler genel sınıflandırmasının yanı sıra canlıları etki etme biçimine göre de sınıflandırılmaktadır. Aşağıdaki paragrafta bu sınıflandırılmanın örnekleri verilmektedir.

- **Etkilediği canlının biyolojik dönemine göre;**
 - Larvisit (larva öldüren)
 - Ovisit (yumurta öldüren)
 - Erginleri öldüren
- **Zararlılara etki yollarına göre;**

Pestisitlerin zararlı organizmaya giriş yollarına göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır:

- Mide zehirleri: Zararlı organizmanın vücuduna oral yolla alınıp sindirim sisteminde zehirlenmelere yol açan pestisitlerdir.
- Kontakt zehirleri: Bitki yüzeyine püskürtüldüklerinde zararlıların ilaılanmış yüzeyde gezinmeleri sırasında deriden nüfuz ederek ya da stigmolar kıllar, tüyler vasıtası ile vücut içine girerek etkili olan pestisitlerdir.
- Solunum zehirleri: Gaz haline gelerek stigmolardan veya diğer solunum organlarından vücut içine giren pestisitlerdir. Daha çok kapalı yerlerde kullanılırlar.

• **Toksik özelliklerine göre:**

Etkilediği canlılarda meydana getirdiği zehirlenmeler esas alınarak yapılan bu sınıflandırma bilimsel bir sınıflandırmadır.

- Fiziksel zehirler
- Protoplazma zehirleri
- Sinir sistemi zehirleri
- Solunum zehirleri
- Antikouagulantlar

• **Kullanma tekniğine göre**

Öncüer, 1993 tarafından yapılan bu sınıflandırmada pestisitlerin kullanma şekli göz önünde tutulur.

- Doğrudan kullanılanlar
- Su veya bir başka çözücü ile seyreltilerek kullanılanlar

• **Formülasyonlarına göre:**

Pestisitlerin formülasyon şekilleri esas alınarak Öncüer, 1993 tarafından yapılan sınıflandırma şeklidir.

- Toz ilaçlar (DP)
- Islanabilir ilaçlar (WP)
- Suda çözölen ilaçlar (SP)
- Kuru tohum ilaçları (DS)
- Granöller (GR)

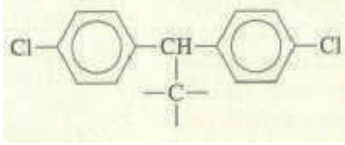
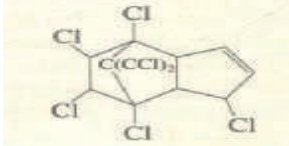
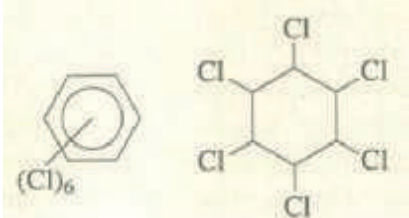
- Peletler
- Tabletler (TB)
- Emülsiyon konsantre ilaçlar (EC)
- Akıcı konsantre ilaçlar (SC)
- Yaglar(gs)
- ULV ilaçlar (UL)
- Aerosoller (AE)

1.9.1. İnektisitler

Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan en yaygın olan inektisitler, Organoklorinler (Organik Klorlular), Piretroidler, Karbamatlar ve Organofosfatlar (Organik Fosforular) olarak gruplandırılabilir (Ishaaya, 2000). İnektisitlerin hepsi nörotoksikandır ve bundan dolayı hedef organizmaların sinir sistemlerine toksik etki gösterirler. Böceklerin merkezi sinir sistemleri (MSS) de, periferik sinir sistemleri (PSS) de memelilerinkine benzemekle beraber çok gelişmiştir. O yüzden bütün türlerde inektisitlerin toksik etki mekanizmaları ve hedefledikleri organlar aynıdır. Ancak bu toksik etki pestisitlere maruziyet süresi ve düzeyi, biyotransformasyon hızı, absorpsiyon yoluna bağlı olarak değişmektedir. Sinir sisteminde organik klorlular, piretroidler gibi inektisitler sodyum (Na), potasyum (K), klorür (Cl) iyonlarının membran iletimine etki ederek veya spesifik enzimleri inhibe ederek; organik fosforular, karbamatlar gibi inektisitler de veya sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek etkilerini gösterirler (Vural, 2005). İnektisitler, kimyasal yapılarına göre organik ve anorganik yapıda olanlar olmak üzere sınıflandırılabilirler: Organik yapıda olanlar; Klorluhidrokarbonlar, organik fosfat esterleri, N-karbamat türevleri gibi ve anorganik yapıda olanlar ise kalsiyum arsenat gibidir. Aynı zamanda sentetik (DDT, organik fosfatlar gibi) ve bitkisel (nikotin, piretrum, toksafen gibi) kaynaklı olmak üzere de ayrılabilirler.

1.9.1.1. Klorluhidrokarbon Yapısındaki İnsektisitler

Çizelge 1.5. Organoklorlu pestisitlerin yapısal sınıflandırılması

Diklorodifeniletan		Dikofol Perthan Metoksiklor Metiloklor
Siklodien		Aldrin, Dieldrin Heptaklor Klordan Endosülfan
Klorlu Benzen Sikloheksan		HCB, HCH Lindan (□ -BHC)

Klorluhidrokarbon yapısına sahip olan (organoklorlu) insektisitler, aromatik veya alifatik bileşiklerdir. Bu insektisitler, kimyasal yapılarına göre 3 sınıfta toplanırlar;

- **Diklorodifeniletan yapısında (DDT, metoksiklor gibi);**
- **Klorlu siklodien yapısında (aldrin, dieldrin gibi);**
- **Klorlu benzen (BHC gibi) ve sikloheksan yapısında olanlar.**

Tarım ve ormancılıkta yaygın olarak kullanılan insektisitlerden biri de organoklorlu insektisitlerdir. Ancak doğada uzun müddet bozulmamaları, çözünmelerinin lipid de olmaları, biyo dönüşümlerinin ve biyolojik parçalanmalarının yavaş olmasından dolayı birçok çevre canlılarında biyomagnifikasyona uğrayarak olumsuz etki gösterirler. Bundan ötürü pelikan, şahin, kartal gibi yırtıcı kuşlarda bu kimyasallar birikerek östrojenik aktiviteyi arttırdığından, yuvalanma süreleri azalmaktadır. Steroid metabolizmasının yapısını bozarak, kalsiyum noksanlığına ve bu şekilde kuş yumurtalarının kabuklarının incelmelerinden ötürü yavruların ölümüne yol açarlar ve bundan dolayı yırtıcı kuşların nesillerinin azalması sorunuyla karşı karşıya gelinmektedir. Denizel organizmalarda da birikimler gözlemlenilmektedir. Böylelikle Diklorodifeniletan yapısında olan insektisitler vahşi hayvan topluluğunun (kuşlarda) çoğalmamasına

neden olurlar. Diğer yandan organik klorlu insektisitler besin zinciri ile insana taşınarak bu kimyasallar ve metabolitleri yağ dokusunda toplanırlar. Bu yüzden organik klorlu insektisitlerin Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da (Türkiye dahil) kullanımları yasaklanmış veya azaltılmıştır. DDT kullanımı, 1972'de Amerika'da yasaklanmıştır. Türkiye'de klorlu hidrokarbon pestisit etken maddelerinden sadece DDT, BHC (Benzen heksaklorür veya heksaklorosikloheksan: HCCH), endosulfan, heptaklor ve toksafenin 1982'den sonra kısıtlı kullanımına izin verilmiştir. Diğer klorlu hidrokarbon pestisitlerin endosulfan ve toksafen hariç 1985 yılından sonra kullanımı yasaklanmıştır.

• DDT

Klorluhidrokarbon yapısındaki sentezi yapılan ilk insektisit, DDT'dir. İlk kez 1847'de sentezlenmiştir ancak biyolojik aktivitesi (insektisit özelliği) 1936'da gösterilmiştir. DDT'nin toksik etkisi kitin tabakası içeren böceklerde görülür. Böylelikle hayvanlarda görülen bit ve pireleri öldürdüğü üzere, domates güvesine, patatese zarar veren kolarado böceğine ve elma çiçeğindeki hortumlu böceklerle karşı da etkilidir. DDT'nin böceklerde sinir sistemini felç ettiğini bunu da kitin tabakasından kolaylıkla geçebilme özelliğinden anlaşılmıştır. Örneğin yeşil sinekler, kitin tabakası içermeyen için DDT'den etkilenmemektedirler. İnsanlar üzerinde DDT'nin az oranda akut toksik etkisi vardır. DDT, deri yoluyla hemen hemen hiç absorbe olmaz iken, toz halinde iken sindirim yolundan çok az absorbe olur. Ancak deri yolu ile absorpsiyon hızlanması için alkol, kerozen (alifatik hidrokarbon karışımı), sıvı yağ gibi lipid çözücüler içinde uygulanmalıdır. Ayrıca bu yağlı çözeltileri sindirim kanalından da kolaylıkla absorbe olur. Akut zehirlenmenin insanlarda (70 kg insan için) minimum 1 gram olduğu ve fatal (öldürücü) dozun ise 30 gram olduğu düşünülmektedir. Kronik toksisite yönünden DDT önemlidir. Organizmada emilimden sonra, başlıca yağ oranı yüksek dokularda (karaciğer, böbrekler, sinir sistemi, adipoz doku) birikir. DDT'nin sistemik etki yeri motor sinir korteksi ile duyu ve motor sinir lifleridir. Yüksek dozlarda maruz kalındığında DDT'nin karaciğer nekrozu yaptığı; düşük dozlarda ise karaciğer büyümesine neden olduğu gözlemlenmiştir. DDT tozları gaz halinde organizmaya alındığında akciğerlerde tahriş edici etkiye yol açmakta iken karaciğerde daha önemli tahribatlara neden olur (Çizelge 1.6)

Çizelge 1.6. Değişik ülkelerde insan yağ dokusunda ölçülmüş ortalama pp'DDE ve pp'DDT kalıntı düzeyler (mg/kg ayrıştırılmış yağ bazında)

Ülke	Yıl	pp'DDE	pp'DDT	DDE/ DDT	Referans
İspanya	1991	3.93	0.40	10.70	Gomez-Catalan ve ark., 1995
Hindistan	88-89	0.71	0.88	0.81	Nair ve ark., 1992
Kenya	1992	3.26	2.49	1.31	Kanja ve ark., 1992
Meksika	1991	10.00	4.02	2.49	Waliszewski ve ark., 1996
Almanya	1990	0.44	0.09	4.69	Teufel ve ark., 1990
Polonya	89-92	5.75	0.54	10.70	Ludwicki ve Goralezyk., 1994
İran	91-92	2.45	0.19	12.89	Burgaz ve ark., 1995
Türkiye	95-96	1.83	0.09	20.82	Mevcut çalışma

• Aldrin, Dieldrin, Endrin, Heptaklor

Zehirlenme şekli DDT'ye benzemekle birlikte sinir zehirleridir. Absorbsiyonu deri yoluyla olabilmektedir. İnsektisitlerden klorlu siklodienin biyotransformasyonları son derece yavaştır. Bu metabolitlerin de absorbsiyonu ancak lipid de çözünürse olmaktadır. Kronik zehirlenme olduğunda esas etkilerini karaciğerde gösterirler. Ayrıca klorlu siklodien insektisitlerinin tamamı karaciğer mikrozomal enzimlerini indüklerler. Bu insektisit gruplarından dieldrin, düzenli bir şekilde deney hayvanlarına besinle verildiğinde tümör oluşumuna neden olduğu gözlemlenmiştir. Uluslararası Kanseri Araştırma Kuruluşu (IARC, 1999) tarafından yapılan araştırmalara göre, dieldrin, farelerde hepatokarsinogen olarak değerlendirilmiştir. Klordan ve aldrin gibi diğer insektisitler için yeterli araştırmaların olmadığından dolayı çalışmaların devam ettirilmesi görüşü vardır. Aldrin ve dieldrinin de DDT'yle aynı şekilde hayvanlarda hormonal dengeyi bozarak üremeyi azalttıkları gösterilmiştir.

1.9.1.2. Karbamat Grubu İnsektisitler

Pestisitlerin karbamat grubu olanı, karbomik asidin organik esterleri veya tuzlarıdır. hipotetik Karbomik asit üzerindeki bazı gruplar üzerinden esterleşme yapılı. Organofosfatlara bazı özellikleri ile benzeyen karbamatlar, iki yönüyle de onlardan farklılık göstermektedirler. Farklılık gösterdiği özelliklerden ilki, organofosfatlı insektisitlerde asetil kolinesteraz enzimi ile kompleks oluşturabilen grup bazik pH'lı olmaz iken karbamatlarda ki grup bazik özellikte bir azot grubu taşımaktadır. Böylelikle iyonize olabilecekleri için böceklerin kutikulasına ve sinirlerin kılıfına geçiş yetenekleri ciddi oranda azalma göstermektedir. Farklılıklardan ikinci önemli olanı ise, kolinesteraz inhibisyonu esasına dayanan etkilerinin hızlı şekilde geri dönüşümlü olmasıdır

(Yavuz ve Şanlı, 1999). Organik fosforlu insektisitler gibi, karbamat grubu insektisitler de asetil kolinesterozin inhibitörleridir. Kolinerjik sinirlerde, asetilkolinesterazi inhibe ederek muskorinik ve nikotinik stimulyasyona yol açarlar. Karbamat insektisitlerinin toksik etkisi kısa sürelidir bunun nedeni ise asetilkolinesteroz inhibisyonunun kendiliğinden ve hızlı şekilde geri döndürme etkisidir (Johnson, 1970; Lima ve ark., 2005; Taylor ve ark., 1997).

1.9.1.3. Piretroit Grubu İnsektisitler

Piretroit grubundaki insektisitler ilk defa 1880'li yıllarda *Piretrum* cinsine ait bazı bitkilerin çiçeklerinin öğütülmesi ile elde edilen *piratrum* ekstratındaki *pirethrin* maddesinin insektisit olarak kullanılmasıyla başlanmıştır (Ünal ve Gürkan, 2001). Sentetik piretroidlerden olan alletrin ve siklettrin ilk defa 1949'da sentezlenmişlerdir. İlk kez sentezlenen bu ürünler insektisit aktiviteleri doğal olanlara göre daha düşük ve ışığa dayanıksız olduğundan çalışmalara devam edilmiştir (Vural, 2005). 1970'lerden bu yana hem tarımsal hem de kentsel alanlarda zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan piretroitler bir sentetik insektisit sınıfıdır. Krizantem (*Chrysanthemum cinerariifolium*) içeren insektisidal özütünden elde edilen toz olan *piretrumlar*; *piretrum* özellikteki kimyasallar ise *piretrinler*dir ve sentetik kimyasallardan olan *piretroitler* de; kimyasal yapısı ve toksisite mekanizması *piretrum*lara benzemektedir. 6 tane *piretrin* esterinin karışımından ise *piretrum* oluşmaktadır. Bu esterler ise şunlardır; *piretrin I* ve *II*, *sinerin I* ve *II* ve *yasmoli I* ve *II*'dir (Soderlund ve ark., 2002).

Antik Çin ve İran'da insektisit potansiyelleri keşfedilmiş olan insektisitler *piretrinler*dir. *Piretrumlar*, güneş ışığında ve suda kolay bir şekilde hidroliz ve fotolize uğradığı için kendiliğinden parçalanır ve hızlı bir şekilde bozulur. Bundan dolayı sentetik eşdeğerleri olan *pyrethroidler* geliştirilmiştir. (Klaassen, 2001). Düşük dozlarda bile oldukça etkili olmalarına rağmen *piretroidlerin*, kuşlar ve memeliler için az toksik olduğu tahmin edilmektedir (Tuzmen ve ark., 2008). Ancak *piretroidlerin* son zamanlarda memeli mitokondrilerinde solunum zinciri enzimlerinin aktivitesini engellediği belirlenmiştir (El- Gohary ve ark., 1999). Doğal *piretrumların* insektisit olarak birçok avantajlarından bazıları şunlardır: geniş spektrumlu olmaları, memelilerde zehirliliklerinin ihmal edilebilir düzeyde olması ve doğal ortamda kısa sürede parçalanmalarıdır. Fakat doğal *piretroidlerin* birçok avantajları olmasına rağmen üretim maliyetinin yüksek olması, üretiminin sürekli olmasındaki zorluklar gibi kullanımını sınırlayan nedenler vardır. Piyasada pazarlanan tüm *piretroit* etkili maddeler yağda çözünür (lipofilik) olup, suda çözünürlükleri ve buharlaşma basınçları düşüktür. Sahip olduğu bu özelliklerinden dolayı klorlanmış hidrokarbonlar insektisit grubuna

benzemektedirler. Fakat ester bağlarının oksidasyonla oldukça kolay metabolize olmalarından veya hidroliz olmalarından dolayı buna benzer çevre sorunlarına neden olmazlar (Ünal ve Gürkan, 2001).

1.9.1.4. Organik Fosforlu İnsektisitler

Pestisitlerin önemli bir kısmını oluşturan organik fosforlu insektisitler aynı zamanda en çok kullanılan pestisit grubuna da girmektedir. Almanya’da, 1937’de ilk organik fosforlu insektisitler, bir grup kimyager tarafından sentezlenmiştir. Sentezlenen bu kimyasalın ve deneme ürünlerinin son derece toksik olduğu tesbit edildiğinden dolayı bu maddenin kullanımı II. Dünya Savaşında Nazilerin kontrolünde tutulmuştur. Bu kimyasalların bir bölümü kimyasal savaş silâhı olarak geliştirilmiştir. Hatta bunlardan tabun (etil N-dimetilfosforoamidosiyanidat) ve sarinin (izopropil metilfosfonoaflofidat) sentezleri gizli bilgi olarak saklanmıştır. Organik fosforlu “sinir gazı” adlı bu tip bileşiklerin memeliler için toksik özelliğe sahip olduğu ve aynı zamanda insektisit özelliğe de sahip olduğu anlaşılmış olan ve ilk önce bu amaçla TEPP (tetraetil pirofosfat) sentezlenmiştir (Echobichan, 1996). Organik fosfat yapısındaki insektisitlerin üretimi ve kullanımı bundan sonraki yıllarda daha da artmıştır. Tarımsal üretimde zararlılarla mücadelede en önemli gelişmeler II. Dünya Savaşı’ndan sonra organik fosforlu pestisitlerin üretiminde ve kullanımıyla olmuştur. Bu pestisitlerin uygulanması tarımın gelişmesi açısından ve verimde artış sağlamasından dolayı kullanıcılara pek çok avantaj sağlamıştır. Bu avantajları sağlamasından dolayı zararlılarla mücadelede organik fosforlu insektisitler üretilmeye ve kullanılmaya başlamış ve 1980’li yılların başından itibaren de kullanımı büyük ölçüde artış göstermiştir (Klassen ve ark., 2001; Dağlıoğlu, 2004; Vural, 2005). Fakat 1950’lerden sonra DDT’nin yerine parationun tercih edilmesiyle birlikte birçok fatal ve akut zehirlenme olayları bildirilmiştir.

Organik fosforlu pestisitlerin asetilkolin esterazı inhibe etmeleri doğrudan ya da “okso” şekline metabolize olduktan sonra aktivite kazanmasıyla meydana gelir. Bu etki böceklerde ölümlere neden olurken memelilerde temas edilen düzeye bağlı olmak üzere değişen şiddette zehirlenmelere ve ölümlere yol açabilmektedir. Aynı zamanda böcek ve memelilerin sinir uçlarında asetilkolin birikimine neden olurlar (Plestina, 1984; Lima ve ark., 2005; Echobichan, 1996; Marrs ve Dewhurts, 2000). Organofosfatlı pestisitlerin alkilleiyici ajanlar olduğu düşünülmektedir. Protein alkilenmesi aracılığıyla doğrudan ya da dolaylı olarak DNA bazlarının alkilenmesi DNA hasarına yol açmaktadır. Rahman ve ark., 2002, Wild, 1975 yapmış oldukları çalışmalar neticesinde organofosfatların fosforlu yapısının nükleofilik saldırılar için iyi bir substrat olduğunu tespit etmişler ve buna göre; DNA hasarının

göstergesi olan DNA fosforilasyonunun belirteci olduğunu göstermişlerdir (Wild, 1975).

- **Organik Fosforlu İsektisitlerin Etki Mekanizması**

“Kolinesteraz inhibitörleri” olarak toksik etkilerini gösteren insektisitler organik fosforlu insektisitlerdir.

Bu duruma göre iki çeşit organik fosforlu insektisit vardır.

- **Direkt etkililer**, metabolik aktivasyona ihtiyaç duymaksızın ve de ana madde olarak kolinesteraz inhibitörüdürler. Sinir gazlarından sarin, tabun, DFP; insektisitlerden TEPP yapısında olduklarından kolinesterazı doğrudan inhibe ederler.
- **İndirekt etkililer**, fosforiyoat yapısındadırlar, aktivite kazanmaları “okso” şekline dönüştükten sonra olmaktadır. Asetilkolin esterazı inhibe edebilmesi için örneğin; malation —> malaokson; Paration —> paraoksona metabolize olmaları gerekmektedir.

- **Organofosfatların Vücuda Giriş Yolları:**

Organofosfat (OF) bileşikler vücuda girebilmeleri alındıkları deri, mukoza, göz, gastrointestinal sistem ve solunum sistemi aracılığıyla hızlı bir şekilde olmaktadır. Solunum aracılığıyla vücuda giren OF zehirlenme belirtilerinin hızlıca belirmeye başlarlar. Absorbsiyon hızıyla doğru orantılı olarak zehirlenme belirtileri ortaya çıkmaktadır. Bundan dolayı zehirlenme belirtileri en geç ortaya çıktığı ortam dermal temas yoluyla alındıklarındadır. Organofosfat bileşiğinin emilim hızı formülasyonuna ve lipofilitesine bağlı olarak değişmektedir. Bireye bağlı bir şekilde bileşiklerin lipofilitesi de az çok değişerek etkilerin değişik derecede ortaya çıkmasında etkili olmaktadır. Bazı bileşikler yağda çözünmeye ihtiyaç duymayan ya da metabolik aktivasyon olmasını gerektirmeyen gruplardan birinde yer alıyorsa, bu bileşiklerde zehirlenmenin etkileri 12 saat içinde görülür. Vücuda giriş şekillerine göre dağılımları değişiklik gösteren OF'ler lipofilik özelliklerinden dolayı yağlı dokularda depolanmaya meyillidirler ve ayrıca karaciğer ve böbreklerde de birikirler. OF'ların vücuttan uzaklaştırılması yağlı dokularda biriktiği için zaman alır (Özkaya ve ark. 2013). Atılmaları için önce depolandıkları yağdan kana geçerler, sonra da ya doğrudan ya da büyük oranda metabolize edilerek uzaklaştırılırlar. OF bileşiklerinin lipofilik özelliğe sahip olmayanları hızlı bir şekilde metabolize olabildiği için dokular ve organlarda kalma süreleri azdır. Hızlıca metabolize olabilmek atılma yönünde de hızlandırır (United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria, 1986). Bu durum

toksikasyonlarının azalmasına katkıda bulunur. Ciltte mevcut olan tahrişler, kesikler veya yanıklar ilaç absorpsiyonunu hızlandırabilir. Bazı araştırmalara göre OF bileşiklerinin absorpsiyonunu etkileyen durumlar arasında cilt rengi ve güneşe fazla maruz kalınması etkilemektedir. Esmer tenli ve güneş ışığına fazla maruz kalmamış kişilerde emilim oranı daha yüksektir (Dökmeci, 2001). Bu olay deri damarların genişlemesi ya da derinin katmanlarının kaybı ile doğrudan ilişkilidir. Organik fosforlu insektisitlerin bazıları kana geçtiğinde doğrudan etkilerini gösterirken, bir kısmının metabolizma ile aktif hale dönüştürülmelidir. Bu duruma biyoaktivasyon denir. Organik fosforlu bileşiklerinin çoğunun etkinleştirilmesi için karaciğerde ki sitokrom P450 enzim sistemi gerekmektedir. Bu nedenle Asetilkolin esterağın (AcE) inhibisyonu sitokrom P450 enziminin aktivasyonundan sonra meydana gelir (İstanbuluoğlu ve ark., 2009). OF bileşiklerin metobolizmasında bu mikrozomal enzimlerin yanı sıra aynı zamanda çok çeşitli oksidazlar, hidrolazlar ve transferazlar aracılığı ile farklı metabolitler oluşmaktadır. Metabolizma reaksiyonlarına bağılı olarak daha toksik bileşikler ortaya çıkabilir ya da bileşik daha az toksik bir hale dönüştürölür. Metabolik reaksiyon sonunda yapıları değıştirilen OF'ler çoğunlukla idrar yoluyla atılırken, ter ve feçes yoluyla da atılım gerçekteşebilir (United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria, 1986). Organofosfat zehirlenmelerinde ölüm oranı hastanın öncelikle sağıık durumuna, alınan madde miktarına, hastaneye nakil süresine, beslenme durumuna, genetik yapısına ve dolaşım-solunum desteğıine bağılıdır. Zehirlenmelerde ortalama %3-25 arasında mortalite oranı değışmektedir (İstanbuluoğlu ve ark., 2009).

1.9.1.5. Diğjer Yeni İnsektit Grupları

Tarımda yeni grup insektisitlerin kullanımı 1990 sonları ile 2000 li yılların başlarında böcek kontrolü için kullanılmaya başlanmıştır. Bu yeni insektisitlerin eski insektisitlere göre birçok avantajı vardır.

Düşük memeli toksititesi, kısa yeniden girişlere ve hasat öncesi aralıklara yol açmakta ve bu durumda insektisitlerin böcek kontrol programına kolaylıkla dahil edilmesine izin vermektedir. Birçoğı daha çok seçici olduğı için ve doğağı düşmanlara karşı geniş spektrumlu organofosfatlar, karbamatlar, neonikotinoidler ve piretroid insektisitlere göre daha az zarar vermektedir. Örneğini; bunlar ikincil böceklerin (sekonder pestlere) salgınına daha az neden olmaktadır ki bu böceklerin kontrolü doğağı düşmanları tarafından sağlanmaktadır ve ayrıca bunlar geniş spektrumlu pestisitlerin neden olduğı böcek salgının kontrolünü sağlamak için kırıcı-sprey (clean-up) olarak da

kullanılabilirler. Bu insektisitlerin kullanımı Kaliforniya’ da Organofosfat ve Karbamat grubu insektitlerin kullanımını büyük oranda azaltmıştır. Bu grup insektisitlerin kullanımı 1990 sonlarında OF’lı ve Karbamatlı insektisit kullanımı sonucu özellikle pamuk, limon, ve taş meyvelerinde % 70’ lere kadar düşen üretim oranını önemli oranda etkilemiştir.

Bu yeni insektisitlerin aynı zamanda birçok dezavantajları da bulunmaktadır. Bu insektisitlerin aktivite alanları dar olduğundan dolayı genellikle tek bir ekimde tek bir pest grubunu kontrol etmektedirler. Yetiştiriciler, dönüm başına toplam uygulama sayılarının ve toplam böcek kontrol maliyetini arttıran ve ayrıca yetersiz bir kontrol özelliği taşıyan ek insektisitleri ikincil pestlere kullanma ihtiyacı duyabilirler.

Ek olarak, birçok yeni insektisitler kısa süreli residual aktiviteye sahip olduklarından ya da böceklerin sadece olgun olmayan evrelerinde etkili oldukları için geniş spektrumlu insektisitlerle karşılaştırıldıklarında bu insektisitlerin maliyetleri eski insektisitlerle karşılaştırıldıklarında önemli ölçüde daha pahalı oldukları görülmektedir.

Son yıllarda farklı kimyasal sınıflardan insektisitler, lepidopteran ve homopteran gruplarına dahil böcekler için kullanılmaya başlanılmıştır. Çünkü bu gruplarda ki birçok böceğin eski pestitislere karşı direnç gösterdiği gözlenmiştir.

- **Diafenthiuron**

Diafenthiuron, Syngenta tarafından geliştirilen yeni bir tiyoüre grubu olup özellikle keneler, beyazsinekler ve aphidler gibi emici böcekler üzerinde etkilidirler. Bu madde, güneş ışığında fitokimyasal olarak daha güçlü bir toksik madde olan karbodiimide dönüşmektedir. Karbodiimid kendisinin uygulanmasına binayen gelişen metabolik aktivasyonu engellemek için ATP(az) inhibitörü gibi davranmaktadır. Karbodiimid metaboliti, proteolipid ATP(az)’lara kovalent bağla bağlanır ve özellikle mitokondriyal solunumu inhibe eder.

- **İndoksakarb**

İndoksakarb sinir hücrelerine sodyum iyonu girişini engelleyerek hedef böcek zararlılarının felç olmasına ve ölümüne yol açar (Lapied ve ark., 2001). Bu maddenin oral yolla alımının ardından esterazlar böceklerce aktif hale getirilmektedir (Wing ve ark., 2000). Bu, zamana bağlı bir şekilde en yüksek sodyum akımlarını bastırır. Bu maddenin potansiyelinin, böcek nöron üzerindeki gücü sıçan ganglion nöronlarından en az yüz kat daha fazladır (Yuji ve Yoshiaki, 2003). Çeşitli emici böcek zararlıları, indoksakarbı lepidopteranlardan daha fazla biyoaktivite edebilirler (Wing ve ark., 2000).

İndoksakarb, çeşitli tarım sistemlerinde belirli homoptera ve koleopteraların yanı sıra lepidoptera zararlılarının çeşitleri üzerinde de etkiye sahiptir (Harder, 1997; Wing, 2000). Bu etkinlik, önemli böcek haşerelerine karşı örneğin *Heliothis* ve *Helicoverpa* türleri, *Spodoptera* sp., *Tricoplusia* sp., *Lygus* sp. *Empoasca* sp., Colorado patates böceği, *L. decemlineata* karşı gösterilmiştir (Harder, 1997; Hammes ve ark., 1998; Michaelides ve Irving, 1998; Sullivan ve ark., 1999; Wing, 2000). İndoksakarb, direnç yönetim programlarında yararlı bir rol oynamaktadır. Örneğin; piretroidler, organofosfatlar ve karbamatlar gibi mevcut insektisitler ile çapraz-direnci yoktur (Lapied ve ark., 2001). Bu madde, böyle *Orius* ve *Fitoseiulus* türleri gibi bazı önemli doğal düşmanlar üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir (Bostanian ve Akalach, 2006). Bu nedenle, böcek haşarat yönetimi programları için önemli bir katkı olarak kabul edilebilir.

• Fipronil

Fipronil, 1987 yılında Rhone Poulenc tarafından geliştirilen ve 1993 yılında piyasaya sürülen bir fenilpirazol insektisittir. Bu madde hem herbisidal hem de insektisidal aktivite göstermektedir (Yanase ve Andoh, 1989; Klis ve ark., 1991). Kompetitif bağlama gösteren bu bileşik, böceklerle ilişkin yüksek seçicilikle sonuçlanan, memelilerden daha ziyade böceklerde hedeflenen bölgeye yüksek afinitesi vardır (Grant ve ark., 1990; Cole ve ark., 1993; Hainzl ve Casida, 1996). Fipronil, Elmas sırtlı güve (*Plutella xylostella*), *Spodoptera* ve *Heliothis* türleri ve Colorado patates böceği gibi böceklerle ve ev haşerelerine karşı, termitler ve hamamböceği gibi, böcek türlerinin çeşitliliği üzerinde etki etmektedir (Grant ve ark., 1990; Hamon ve ark., 1996). Fipronil IPM programlarında önemli bir ekleme olarak kabul edilir.

• Spiromesifen

Spiromesifen, etkin bir şekilde beyaz sinekler ve akarlar karşı rolü olan spirodiklik tetronik asitlerin yeni sınıflarından olan bir insektisittir (Bretschneider ve ark., 2003; Nauen ve ark., 2003;2005, Nauen ve Konanz, 2005). Spiromesifen, bir lipid metabolizması enzimi, asetil-CoA karboksilaz'ın bir inhibitörü olarak hareket eder. Spiromesifen ile tedavi, total lipid de önemli bir azalmaya neden olmaktadır. Bu bileşik, son birkaç yıl içerisinde birçok ülkeye giriş yapmıştır ve neonikotinoid ve diafenthrin gibi diğer insektisitlerle birlikte beyaz sinek ve akar direnci düzenleme programlarında önemli bir bileşen haline gelmiştir. Klasik (organofosfat, karbamatlar, piretroidler ve endosülfan) ve biyodengeleyici insektisitler neonikotinoidler ve piriprosifen gibi çapraz direnç göstermediği gözlemlenmiştir ve buna

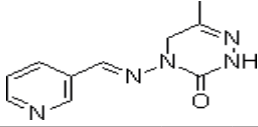
karşın birçok çalışmada, spiromesifenin akar ve beyaz sineklere karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Kontsedalov, 2008).

- **Pimetrozin**

Piridin grubunda yer alan Pimetrozin, Azotmethin piridin ailesine mensup bir inektisittir. Yeni bir Azotmethin Piridin inektisidi olan Pimetrozin, 4,5 – dihidro – 6 metil – 4 – [(3-piridinil metilen) amino]- 1,2,4-triazin-3(2H), emici böceklerde sinir sisteminin tükrük bezlerini etkilerler ve beslenmeyi durdurarak devamında açlık ve ölüme yol açarlar. Bu bileşik, bitlere, beyaz sineklere ve bitki zararlılarına karşı güçlü bir toksik etkiye sahiptir. Ve bu nedenle pamuk, tütün, meyve ve sebzelerde sorun olan bazı zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır. Güçlü toksik etkiye sahip olması, sistemik ve translaminar aktiviteyi etkiler ve püskürtülerek ya da yapraklara uygulanarak kullanılabilir. Pimetrozin' in biyokimyasal olarak etki mekanizması açıklanamamakla birlikte sinir kaslarına etki ettiği bilinmektedir. Fizyolojik açıdan zararlı böceğin stilusları ile sokup emmesini engellemektedir (EPA, 2000). Ayrıca dirençli virüslerin yol açtığı aphid transmitted hastalığının azaltılmasında etkilidir. Bazı durumlarda pimetrozinin çeşitli bitkilerdeki translokasyon ve penetrasyon oranlarından dolayı konukçu bitkileri pimetrozin potansiyeli üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Pimetrozinin beyaz sinekler üzerinde etkisine bakıldığında Bulgar fasülyesinde, pamuğa göre daha toksik etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Pimetrozin, diğer grup inektisitlerle çapraz direnç geliştirmedeği ve doğal düşmanları ya da çevrelerine karşı olumsuz bir etkiye neden olmadıklarından dolayı IPM programlarında potansiyel bir bileşen olarak aphid ve beyaz sineklerin kontrolü ve virüs transmisyonunu baskılayıcı olarak değerlendirilebilirler.

Sıcakkanlılar için orta derecede zehirli sınıfındadır. Toprakta kalıcı bir yapıya sahip olmayıp yer altı suyuna karışma oranı az, kuşlar, solucanlar ve balıklarda orta derece akut toksisiteye, memeliler ve arılarda ise düşük derecede akut toksisiteye sahiptir (Öncüler ve Durmuşoğlu, 2008).

Çizelge 1.7. Pimetrozin aktif maddesine ait bazı bilgiler

Pymetrozine Molekülü						
Fiziksel Durumu	Etkili madde renksiz ve kristal haldedir					
Kimyasal Formülü	C ₁₀ H ₁₁ N ₅ O					
CAS Numarası	123312-89-0					
IRAC	9B					
Akut oral LD ₅₀ (mg/kg)	5820					
ARfD (mg/kg)	0,1					
Dermal LD ₅₀ (mg/kg)	2000					
Zehirlilik Sınıfı	III					
MRL (mg/kg)	Ek 2/1: Turunçgillerde; 0,3 ppm, Patlıcan ve Domateste; 0,5 ppm					
PHI	Turunçgiller ve pamukta; 35, şeftalide; 28, Sebzelere; 3 gün					
Etki Şekli	Etkilediği türlerin beslenmesini engellemek suretiyle etkili olur					
Hedef Zararlılar	Domates, Pamuk ve Turunçgillerde; Yaprakbiti, Patlıcanda; Beyazsinek					
Karışabilirlik	Nötr reaksiyonlu birçok insektisit ve fungisit ile karıştırılabilir					
Zehirlilik (Akut)	Arı LD50 µg/arı	Balık LC50 mg/l	Kuş LD50 mg/kg	Solucan LD50mg/kg		
	117	100	2000	250		
Çevrede Kalıcılık	Suda çözünürlük	Log P	GUS	Toprakta DT50	Koc	Kf
	270	0,19	0,94	14	1510	-

1.9.2. Herbisitler

Önemi gittikçe artmakta olan herbisitler istenmeyen bitkiler ve yabancı otları yok etmek için kullanılan kimyasallardır. Herbisitler bitkilerdeki etkilerine göre seçici olmayan (nonselektif) ve selektif herbisitler olmak üzere iki gruba ayrılır. Bütün bitki türlerini etkileyen herbisitler seçici olmayan (nonselektif) belirli bitki türleri için toksik, diğerleri için zararlı olmayanlara ise selektif herbisitler denmektedir. Bitkilerdeki kullanma şekilleri ve etki yerine göre herbisitler üç alt grupta incelenmektedir:

- **Kontakt herbisitler:** Bu tip herbisitler bitkilerin yaprağı ve gövdesi ile temas ederek bitkiye zarar verirler. Örnek olarak bipiridil grubu herbisitler verilebilir.
- **Sistemik herbisitler:** Bitkinin yaprak ve kökü ile temas halinde olan bu herbisitler bitkinin damarları tarafından çok çabuk absorbe olur ve

vasküler sisteminde yayılarak bitkiye zarar verirler. Örneğin; Klorofenoksiasetik asit türevleri bu tip herbisit grubunda yer almaktadır. Bu herbisitler özellikle kuvvetli kök sistemine sahip olan yabancı otların mücadelesinde kullanılır.

- Bitkinin kök sistemini veya çimlenen tohumlarını etkileyen herbisitler

Toprakla muamele edilen herbisit buradaki istenmeyen bitki tohumlarını yok eder. Örnek olarak; arsenik asit, pentaklorofenol (PCP) verilebilir. Başlıca akut toksik etkileri kas sistemi ve merkezi sinir sistemi (MSS) üzerinde olan herbisitlerdir. 2,4-D'nin yüksek dozda kullanılması halinde özellikle hayvanlarda, karıncıkları etkilemekte bunun sonucunda da tamamen düzensiz kasılmalar oluşturmakta ve kısacası ölümcül bir ritim bozukluğuna sebep olmaktadır. Tek dozla muamele edildiğinde ise kısa bir süre içinde (1-2 saat) kaslarda zayıflık ve sertleşme, vücut hareketlerinde düzensizlik, havale ve koma görülür. İskelet kaslarında özellikle harabiyete yol açar. Bunun yanı sıra böbrek yetmezliği, karaciğer harabiyeti ve akciğerde ödem de oluşabilir. İnsanlarla hayvanlarda ki akut zehirlenme belirtileri birbirine benzemektedir. Kimyasalın 3-4 gramı semptomların gözlemlenmesi için kafidir. Herbistlerde görülen akut zehirlenmelerde ki mortalite oranı yüksektir. Meslek gereği deri ve solunum yolu ile 2,4-D'nin absorpsiyonu sonucunda sinir iltihapları görülmektedir. Ayrıca, bu herbisitlerin insanlara deri ile temas etmesi sonucu dermatite neden olur. 2,4,5-T üretiminde çalışanlarda rastlanan bu şiddetli dermatite "klorakne" denilmektedir. 2,4-D ve 2,4,5-T karışımı, 1962-1969 yılları arasında Güney Vietnam Savaşında, savaş aracı (askerlerin saklanması) engellemek için ormanlarda büyük odunumsu ve geniş yapraklı bitkileri yok ederek olarak kullanılmıştır. Bu bölge halkı yüksek dozda (kişi başına 75,7 mg) "Orange agent" olarak tanınan herbisit kullanılması nedeni ile, TCDD'ye maruz kalmıştır. Sonraları düşük ve sakat çocuk doğumlarının görülmesi halk arasında TCDD'ye bağlı değerlendirilmiştir. 1976 yılında İtalya'da Seveso'da, başka bir TCDD'ye maruz kalınması ile ilgili olayda ise, heksaklorofen üreten fabrikada kaza sonucu olmuştur. Üretimde kullanılan tetraklorobenzenin, 170°-180° C'de hidrolizi sırasında yüksek miktarda oluşan TCDD çevreye yayılarak halkın sağlığını tehlikeye sokmuştur. Bu kişilerde %12 oranında düşükler, deri lezyonları (klorakne), görülmekle birlikte başka sistemik etkiler gözlenmemiştir.

• Dinitrofenoller

Dinitrofenollerden kontakt herbisitler olarak, 2,4- dinitro-6-metil fenol (DNOC) kullanılır. İlk defa organik herbisit olarak DNOC kullanılmıştır. En eski sentetik yapılı bir insektisit olarak 1982 yılında Bayer Fabrikaları tarafından "Antinonin" ticari adı ile üretilmiş olmasına rağmen herbisit

olarak kullanılmaya başlanmıştır. Dinitrofenollerin insan, memeli hayvanlar gibi canlılara ve bazı özel türdeki arılara toksisiteyi yüksektir. Bu herbisitler oksidatif fosforilasyonu engelleyerek bazal metabolizmanın artmasına neden olurlar. Bunun neticesinde akut zehirlenmede yorgunluk, bulantı, mide bozukluğu, aşırı sıcaklık hissi, ciltte ateş basması, terleme, ateş, hızlı solunum, düzensiz ve yüksek nabız, siyanoz, kramp, bilinç kaybı ve akciğer ödemi görülür. Ayrıca dipiridilyum grubu ve heterosiklik herbistlerden de bahsetmek gerekir. Dipiridilyum grubu herbisitler (paraquat, diquat) insanda da serbest radikal reaksiyonlar yolu ile toksik etkisini gösterir. Paraquatın oluşturduğu süperoksit anyonları vasıtası ile hücre zarındaki lipid peroksidasyonunu indüklemektedir. Heterosiklik herbistler, etkin antitiroid maddelerdir. Kronik etkisi sonucunda guatr gözlenmektedir.

1.9.3. Fungusitler

Organik ve anorganik yapıdaki birçok fungusit mantarları yok ederek, ürünlerin bozulmasını engellemektedir. Cıvalı ve heksaklorobenzen (HCB) gibi fungusitlerin bazıları çok toksiktir ve bundan dolayı birçok yaygın zehirlenmeler görülmüştür. Çok kullanılan fungusitlere örnek olarak; cıvalı bileşikler, bakır bileşikler, ditiyokarbamatlar, tetrametilthiuram disülfür (thiram), HCB verilebilir. Cıvalı fungusitlerin uygulandığı besinler, yanlış kullanılmaları nedeni ile, birçok ölümlere ve nörolojik bozukluklara sebebiyet verdiğinden dolayı kullanımları 1970'li yıllarda yasaklanmıştır.

1.9.3.1. Ditiyokarbamatlar

Tarımda yaygın bir şekilde kullanılan fungusitlerden biri de ditiyokarbamat yapısındaki fungusitlerdir. Ditiyokarbamatlar, içerdikleri katyona göre şu şekilde adlandırılırlar: çinko tuzu ziram, demir tuzu ferbam adını alır. Ditiyokarbamatlarda metal katyonu çinko ise zineb, manganez ise maneb, sodyum ise nabam ismini alır. Uygulayıcılar ditiyokarbamatları ciddi semptomlar göstermeyen zararsız bileşikler olarak kabul ederler. Ancak tahriş edici etkileri vardır. Yüksek dozda maruz kalındığı takdirde hafif burun mukoza dokularının iltihaplanması sonucu oluşan rinit, faranjit, bronşit ve dermatit oluşabilir. Ayrıca formülasyonlarındaki kullanılan taşıyıcıların ve aktif bileşenlerinin bazı önemli etkileri olduğu belirlenmiştir. Örneğin zinebin ağız yoluyla veya deri ile absorpsiyonun G₆P-D eksikliği olan kişilerde akut hemolitik anemiye yol açtığı bilinmektedir. Diğer yandan bazı dimetilditiyokarbamatların nitrozlanarak kanserojenik nitrozaminlere dönüştükleri ve hayvanlarda ise teratojenik oldukları gösterilmiştir. Zineb (Zn tuzu) en önemli etilenbis ditiyokarbamatlardanır. Maneb, nabam ve zinebin hayvanlarda teratojenik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca

çevreye *in vivo* bozunmaları sırasında etilen tiyüüre (ETU) verirler ve besinler bu parçalanma ürünlerini kalıntı olarak içerirler. ETU kanserojenik, mutajenik, teratojenik ve ayrıca antitiroid etki gösterir. Fungusitin üretimi ve besindeki kalıntının pişirme sırasında da ETU'nun oluşabileceği gösterilmiştir. Maneb etilenbisthiuram ETU'ya dönüşürken karbon sülfür (CS_2) de oluşur. Genellikle düşük toksisiteye sahip olduğu düşünülen ditiyokarbamatların uygulanma esnasında havada yüksek konsantrasyonda CS_2 ve metil izosiyanat bulunabilir.

1.9.3.2. Tetrametilthiuram (*thiram*)

Tarım alanında fungusit, insektisit ve Japon Beetle'a (Japonya'da yaşayan bir cins böcek) karşı Tetrametilthiuram disülfür (Thiuram-D, TMTD) kullanılır. Uçucu bir yapısı olmayan TMTD, depolanması sırasında dayanıklı bir yapıya sahiptir. Ancak toz halinde iken hava ile karışımı patlayıcıdır. Mukoz membranlar yapılarında oldukça şiddetli tahriş edici etkiye sahip iken, derideki tahriş edici etkisi daha azdır. Toksikite emilimini hızlandıran sıvı ve katı yağlar, yağ çözücülerini mevcudiyetinde artar.

1.9.3.3. Pentaklorofenol

Odun koruyucusu olarak termit (beyaz karınca), ağustos böceği gibi kın kanatlı böcekler ve mantarlara karşı Pentaklorofenol (PCP) kullanılır. 1936'dan beri fungusit ve bakterisit yapıda olan PCP ve sodyum tuzu kullanılmaktadır. Tahriş edici bir yapıya sahip olan bu maddenin tozları özellikle gözde ve burunda tahriş yapar. Derideki absorpsiyonu önemli olup deri ile temasta dermatit yapar. Ancak en fazla sistemik toksik etkisi organlarda karaciğer ve böbrek üzerindedir. Deney hayvanlarında yapılan incelemelerde karaciğer mitokondrilerinde yapısal değişimlere yol açtığı gözlenmiştir. Ayrıca periferik sinirleri de etkiler. Aynen nitrofenolik herbisitlerde olduğu üzere dokularda oksidatif fosforilasyonu durdurarak bazal metabolizmayı hızlandırır. Son zamanlarda, 2, 4, 5-T'ye benzeyen maddeler ticari pentaklorofenolünde de, bulunmaktadır. Bu maddeler TCDD'de kadar olmamakla birlikte yine de çok toksik bileşiklerdir. Teknik PCP, karaciğer mikrozomal enzimlerini indükler, karaciğer büyümesi yapar. Bu etkiler, yan ürünlere bağlanmaktadır. Göl ve derelerin kirlenme riski PCP ve sodyum tuzunun çevrede kullanılmasıyla beraber artmaktadır. Özellikle bu maddelerin balıklarda birikimi zararlı olabilir. Japonya'da yabancı ot mücadelesinde sodyum tuzunun çeltik tarlalarında kullanılması, sulama suyu ile balıklar için zararlı miktarda PCP'nin göl ve nehirlerle geçmesine neden olduğu görülmüştür.

1.9.3.4. Hekzaklorobenzen (HCB)

1954'te fungusit olarak Hekzaklorobenzen (HCB) de kullanılmaya başlanmıştır. HCB aromatik klorlu hidrokarbon olup, %20-40 oranında karışım olarak hububat dezenfektanı içinde bulunur. Tohum dezenfektanları HCB'den başka, Lindan (HCH) veya cıvalı fungusitleri içeren karışımlar halinde uygulanır.

Klorluhidrokarbon yapısındaki diğer insektisitler gibi HCB'nin de biyokonsantrasyon faktörü yüksek ve dayanıklıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde bu kimyasal hem toksikolojik olduğu için hem de çevre yönünden ortaya çıkardığı sorunlar nedeni ile artık ticari üretimi yapılmamaktadır. HCB maruziyeti sonucu ölümlerin nedeni ise nörotoksik etkidir. Metabolizması yavaş olan HCB kronik toksisite yönünden de önemlidir. Çözünürlüğü lipid de olduğu için adipoz dokularda biyolojik birikime uğrar. Aynı dozlara devamlı maruz kalındığında, kasların istemsiz kasılması veya bazen denge bozukluğu, hareketleri kontrol edememe gibi nörolojik etkilerle saç dökülmesi, deride kaşınma ve soyulma görülür. Deney hayvanlarında yapılan bazı araştırmalarda kronik maruziyetin doza bağlı olarak karaciğer ve tiroide tümör oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir. Fare ve sıçanlarda teratojenik etkileri gösterilmiştir. 1955-1959 yılları arasında Türkiye'de Güneydoğu Anadolu Bölgesinde, %10 HCB içeren tohum dezenfektanının tohumluk buğdaylara uygulanmasına bağlı olarak heksaklorobenzenin insanlar üzerindeki toksik etkisi olduğu belirlenmiştir. Bu bölgede yaşayan yaklaşık 4000 kişide ilaçlanmış buğdaydan üretilen unu tüketmesi sonucunda önceleri nedeni belirlenemeyen yaygın bir hastalık (yetişkinlerde "kara yara" çocuklarda "pembe yara") görülmüştür. Şiddetli vakalarda akıntılı eklem iltihapları, el kemiklerinde osteoporosis gelişmiştir. Hastahaneye yatırılan hastaların %30'unun tiroid bezlerinde büyüme olmuştur. Zehirlenen çocukların %95'in de ölümle sonuçlanmıştır. Yapılan araştırmalarda, kişilerin semptomların ortaya çıkmasından önce birkaç ay süre ile oral yolla günde 50-100 mg HCB'ye maruz kaldıkları hesaplanmıştır. Hükümet, nedeni anlaşıldıktan sonra 1959 yılında HCB kullanımını yasaklamıştır. Bundan sonra yeni gelişmeler olaylar 1963 yılına kadar azalarak ortadan kalkmıştır.

1.9.4. Rodentisitler

Akut ve antikoagülant olmak üzere iki çeşit rodentisit vardır;

- **Akut rodentisitler;** Akut rodentisitlerin avantajı kısa zamanda etki etmeleridir. Fakat hedef dışı organizmalar için yüksek oranda zehirlidirler ve çok azının spesifik antidotu vardır. Ayrıca yem çekingen-

liği adı verilen ve kemirgenlerin yeniden yeme dönüşünü engelleyen olumsuz tesirleri mevcuttur.

- **Antikoagülant rodentisitler;** Antikoagülant rodentisitler karaciğerde Vitamin K sentezini durdurarak ölümlerle sonuçlanan iç kanamalara neden olurlar. Akut zehirlerle karşılaştırıldığında etkilerinin nisbeten yavaş meydana gelmesi, insan ve hedef dışı canlılarda kazara alınma durumlarında spesifik antidotu olan Vitamin K1 ile müdahale imkanı verdiğinden daha güvenlidirler. Antikoagülant rodentisitler Dünya Sağlık Teşkilatı tarafından 1. ve 2. Jenerasyon olarak sınıflandırılmıştır.

1.9.5. Fumigantlar ve Böcek Uzaklaştırıcılar

Kemiriciler, insektler ve nematodların kontrolünde kullanılan kimyasallar fumigantlardır. Fumigantların uygulama esnasında gaz oluşturmaları ve böylece en ulaşılmaz yerlere nüfuz ederek bu şekilde, normal pestisit uygulaması ile sonuç alınmayan yerlerde (hububat depolarında, fare yuvası, gemilerde) başarılı olmaktadır. Pest uzaklaştırıcılar deri üzerine lokal uygulanırlar. Siyanürler, karbon tetraklorür, naftalin, paradiklorobenzen, metil halojenürler, fosfürler, indalon, dietiltoluamid fumigant ve repellent olarak kullanılırlar. Genel olarak bu maddeler soluma ve ağız yoluyla çok toksiktirler. Ayrıca deri ile temasta da etki ederler. Repellentler (dimetilftalat, indalon gibi) daha az toksiktirler. Toprak fumigantlarında en toksik olanları siyanürler ve halojenlihidrokarbonlardır. Evde güvelere karşı kullanıldığı için naftalin ve paradiklorobenzen ise önemlidirler.

• Naftalin

Naftalin iki benzen halkasının birleşmesiyle oluşmuş bir aromatik hidrokarbondur. Beyaz kristal olup, oda sıcaklığında buharlaşır. Güvelere karşı güve toprakları veya levhaları, ayrıca deodoran pastaları şeklinde kullanılır. Naftalin toksisitesi, daha çok kazaren bebek ve çocuklarda kendini gösterir. Ağız yolu ile letal dozu 2 gramdır. Deri yolu ve solunum yolu ile absorpsiyona uğrayabilir. Bebeklerde şiddetli hemolitik anemi ve sarılığa neden olur. Naftalinlenmiş elbiseler, özellikle G₆P-D enzimi noksanlığı olan siyah ve etnik gruplarda toksisitesini gösterir. Naftalinin aktif metabolitleri olan A ve P naftol ile naftokinon hemolize neden olmaktadır. Hemoliz olayı hassas kişilerde (G₆P-D enzimi eksik olanlarda) 3-7 gün sonra ortaya çıkar. Eritrositlerin akut tahribi sonucunda görülen başlıca semptomlar ateş, solgunluk, laterji (uyku hastalığı), karın ağrısı, diyare şeklindedir.

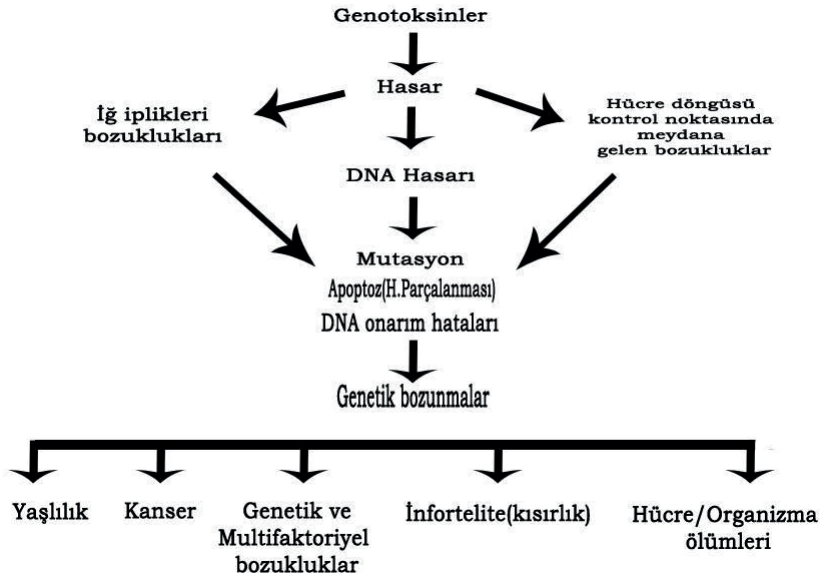
1.10. Genetik Toksikoloji

Sentetik ve doğal maddelerin çevrede sayılarının her geçen gün artması ve biyolojik olarak etkileri tam bilinmeyen bu kimyasalların kullanımlarının hızla artması ve kanser vakalarındaki artışlar, bu maddelerin karsinojenik ya da mutajenik potansiyelleri açısından test edilmeleri gereğini ortaya çıkarmıştır. Bundan dolayı kanser riskini saptayabilecek özelliğe sahip olan biyo göstergelere ihtiyaç duyulmuş ve genetik toksikolojinin önemi gittikçe artmıştır.

Toksikolojinin alt dallarından biri olan ve yeni bileşiklerin ve ilaçların toksikolojik yönden değerlendirilmesinde önemli bir yere sahip olan genetik toksikoloji, organizmanın olağan biyolojik işleyişi esnasında veya kimyasal, fiziksel ve biyolojik faktörlere bağlı olarak hücrelerin kromozom ve DNA moleküllerinde meydana gelen farklılıkları ele alan bir bilimdir (Üstün, 2007). Genetik toksisite; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında ortaya çıkan hasarları, DNA kırıkları, DNA eklentileri, gen mutasyonu, kromozom anormallliği, klastojenite ve anöploidi gibi olayları da içine alan genel bir kavramdır (Young, 2002; Zeiger, 2004; Üstün, 2007). Genotoksisite, kimyasalların biyolojik sistem ile etkileşimleri neticesinde genetik materyal üzerine ne gibi zararları olduğunu inceleyen bilim dalıdır. Genotoksik etki ise DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan genotoksik maddelerin DNA’da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması olarak tanımlanmaktadır (Zeiger, 2004; Şekeroğlu ve Şekeroğlu 2011).

Halen gerçekte doğrudan herhangi bir kimyasal maddenin, insanda genetik hasar oluşturabilme olasılığı gösterilmemiştir. Ancak günümüzde çevremizdeki birçok kimyasal maddenin çok az miktarlarının dahi kanseri veya mutasyonu tetikleyebileceği de belirtilmiştir (Vural, 2005; Mercangöz ve Tüylü, 2000). Bir kimyasalın karsinojenik potansiyelinin mutajenik kapasitesi ile doğru orantılı olduğu saptanmıştır. Son yıllarda, karsinojenik olan birçok maddenin mutajenik; aynı şekilde mutajenik olan birçok maddelerin de karsinojenik olduğu belirlenmiştir. Kimyasal maddelerin mutajenik etkileri ile karsinojenik potansiyelleri arasında kuvvetli ilişkinin olması nedeniyle bu maddelerin karsinojenik risklerinin araştırılması yapılırken endüstri kuruluşları tarafından mutajenezis testlerinin tarama testleri olarak kullanılması sonucunu doğurmuştur. Toksisite testlerinden alınan pozitif sonuçlar kimyasalın kanser oluşumuna yol açabileceğini göstermektedir. Mutajenite testlerine göre karsinojenlerin yaklaşık %90 kadarının aynı zamanda mutajenik olduğu, buna karşın tüm mutajenlerin de potansiyel karsinojen olabileceği bildirilmiştir. Özellikle memelilerde

in vivo mutasyona neden olabilen bileşiklerin potansiyel karsinojen olarak nitelendirilebileceği ortaya atılmıştır (Mavournin ve ark., 1990; Zeiger, 2004; Vural, 2005; Üstün, 2007).



Şekil 1. 2. Genotoksinlerin canlı üzerindeki etkisi ve sonuçları

Yapısal olarak kromozomlarda kromozom tipi ve kromatid tipi kırıklar olmak üzere iki çeşit kırık mevcuttur. Bir kimyasalın hücre döngüsünün hangi safhasında etkili olduğuna bağlı olarak ya kromozom tipi kırıklara ya da kromatid tipi kırıklara neden olmaktadır. Kromozom tipi kırıklara yol açan ajanlar mitoz bölünmenin G_0 ya da G_1 fazında, kromatid tipi kırıklara neden olanlar ise S ya da G_2 fazında etkilidirler.

Kromozom kırıkları, G_1 fazında sadece bir kromatid de bir kırık meydana getirir ve S fazı süresince devam ederse, metafazdan sonra her iki kromatid de kırık oluşur ve bu şekilde kromozom tipi kırık meydana gelir. Bu kırık tekrar biraraya gelmez ise, bir delesyonlu kromozom ve bir asentrik fragment meydana gelir. Kromozom kırılmasıyla beraber asentrik parçalar ya metafazda kaybolmakta ya da anafazda mikronükleusları oluşturmaktadır (Rooney ve Czepulkowski, 1992; Conner ve Smith, 1993).

1.10.1. Genotoksisite Testleri

Genotoksitite testleri başlıca kansere yakalanmaktan korunmada, UV ve irradyasyon gibi çevresel etkenlerin ve endüstride kullanılan kimyasalların etkisini araştırmada, piyasaya sürülmeden önce ilaçların toksik etkilerinin ve

güvenilirliğinin olup olmadığını araştırmada yaygın olarak kullanılmaktadır. 1970'lerden bu yana kullanılmakta olan genotoksisite testleri mutajenik ve genotoksik özelliğe sahip olan maddelerin karsinojenik potansiyellerini ölçebilmek için *in vivo* ve *in vitro* olarak geliştirilmiştir (Bedir ve ark., 2004). Genotoksisite testleri, çeşitli mekanizmalarla doğrudan veya dolaylı olarak genetik materyalde hasara yol açan bileşikler tespit etmek amacıyla geliştirilmiş *in vitro* ve *in vivo* testlerden oluşurlar (Zeiger, 2004; Üstün, 2007). Bileşiklerin genotoksik etkisinin belirlenmesinde tek bir testin yeterli olmadığı, bundan dolayı bileşiklerin mutajenik ya da genotoksik faaliyetlerini ortaya koymada bir dizi test sisteminin kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (Mortelmans ve Rupa, 2004; Üstün, 2007). Zararlı organizmalarla mücadele etmek için gerek tarımda gerekse günlük yaşamımızda kimyasallara başvurulmaktadır. Bu kimyasalların canlı genomunda mutasyonlara yol açıp açmadıklarının belirlenmesi, ancak kısa süreli genotoksisite testleri ile mümkün olabilmektedir. Günümüzde kısa süreli genotoksisite testleri olarak bilinen ve bir kimyasal maddenin genotoksik etkiye sahip olup olmadığının tespit edilmesinde kullanılan metodlar; Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) (Sister Chromatid Exchange=SCE), Kromozom Aberasyonu (KA) (Chromosome Aberration=CA) ve Mikronükleus (MN) testleridir (Parlak, 2007).

Genetik sistemlerin, mutajenitesi test edilmek istenen maddelerle reaksiyona girmesi sağlanarak, maddelerin karsinojenik/mutajenik potansiyelleri arasında ilişki kurulmasını sağlayan ve en yaygın olarak kullanılan *in vitro* ve *in vivo* mutajenite testleri; Kromozom anormallikleri (KA) testi, Mikronükleus (MN) testi, Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi, Ames testi, Comet testi ve Fare lenfoma testidir.

1.10.1.1. Kromozom Anormallikleri (KA) Testi

Test bileşikler tarafından indüklenen hem sayısal hem de yapısal kromozomal anormallikleri belirlemek amacıyla genellikle *in vivo* ve *in vitro* kromozom anormallikleri testleri kullanılmaktadır. *in vivo* testi, özellikle mutajenik hasarın tespit edilmesinde türe ve dokuya göre farklılık gösterebilen metabolizma, farmakokinetik ve DNA onarım mekanizmaları gibi faktörlerin araştırılmasına da imkan sağlamaktadır (Üstün, 2007). Memeli hücre kültürlerinde *in vitro* kromozom anormallikleri testi ile, genellikle rodent kemik iliği hücrelerinde kromozom anormallliği frekansı *in vivo* kromozom anormallikleri testi ile değerlendirilebilmektedir. DNA düzeyinde meydana gelen hasarlar kromozomal anormalliklerin ortaya çıkardığı bir sonuç olarak gözlemlenmektedir. Kromozom kırıkları DNA'daki onarılmamış çift zincir kırıklarından, yeni yapıya sahip kromozomlar ise

DNA'daki zincir kırıklarının hatalı onarılmasından dolayı ortaya çıkabilir. Genetik materyalde meydana gelen hasarlar giderilemediğinde; mutasyon, rekombinasyon, doku hasarı, yaşlanma ve kanser oluşabilmektedir. Bundan dolayı kromozom anormallikleri frekansının artışının, kanser riskinin de artmasını tetiklediği kabul edilebilir (Savage, 1993; Norppa ve ark., 2006; Kocaman, 2007). Hücrelerin mitoz bölünme geçirmesini sağlayan medyumlarda, Chinese Hamster fibroblast ve memeli periferik kan lenfosit gibi hücre kültürleri *in vitro* memeli KA testinde, 37°C'de çoğunlukla 72 saat süreyle inkübe edilir. İnkübasyonun belirli zamanlarında kültürlerdeki hücreler test bileşiği ile muamele edilir. Hedef doku olarak vaskülarizasyonu fazla ve hızlı sirkülasyona sahip hücre popülasyonu içeren rodentlerin kemik iliğinde ise *in vivo* kromozom anormallikleri testi kullanılmaktadır. Hayvanlara kullanılan test bileşiği istenilen doz ve sürelerde değişik yöntemlerle uygulanır. Hücre bölünmesini metafaz safhasında engelleyen bir tübülün polimerizasyon inhibitörü olan kolşisin uygulanması *in vitro* kromozom anormallikleri testinde kültürler hasat edilmeden genellikle 2 saat önce, *in vivo* da ise hayvanlar sakrifiye edilmeden yaklaşık 2-4 saat önce yapılmaktadır. Kültürü yapılan hücreler ve kemik iliği hücreleri hipotonik solüsyon ile muamele edildikten sonra, metanol-asetik asit karışımıyla fiks edilir ve lamaların üzerine damlatılarak preparatlar hazırlanır. Hazırlanan preparatlar boyanarak metafaz hücreleri mikroskop altında kromozomal anormallikleri yönünden incelenir (Ford ve Hamerton, 1956; Evans, 1984; Üstün, 2007).

1.10.1.2. Mikronükleus (MN) Testi

Hücrenin mitoz bölünmesi esnasında ortaya çıkan mikronükleuslar (MN), esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır. Sitogenetik hasarın belirlenmesinde kullanılan MN testinin yaygın kullanılan bir test olmasının nedenleri arasında kromozom analizine göre daha kolay uygulanabilmesi, daha çok sayıda hücre sayılması ve istatistiksel açıdan daha anlamlı sonuçlar elde edilmesi sayılabilmektedir (Naccarati ve ark., 2007). Mikronükleus, mutajenik etkiler nedeniyle hücre bölünmesi esnasında serbest kalan kromozom fragmentinin ya da kromozomların ortamda varlığını devam ettirmesidir. Sitoplazmada bir nükleoplazma ile sarılarak ana nükleusun yanında yer alan nükleer maddedir (Fenech ve Crott., 2002). Sonuç olarak, mitoz geçiren tüm bitki, hayvan ve insan hücrelerinde, fiziksel ve kimyasal ajanların meydana getirdiği genotoksik etkilerin belirlenmesinde, uzun zamandan beri uygulanan ve geliştirilen bir sitogenetik teknik olan MN testi güvenli olarak kullanılabilir (Fenech, 2000).

In vitro şartlarda MN test yöntemini, sitogenetik anormallikleri tespit etmede etkili bir yöntem yapan; değişik hücre tiplerinde yaygın uygulanabilirliği ve sayım kolaylığıdır. Ayrıca çok sayıda veri elde edilmesinden dolayı istatistiksel dayanağının güçlü olmasını sağlar (Fenech ve ark., 1999). MN test yönteminde kinetikor veya sentromeri belirleyen metodlar kullanarak; kromozom kırığı nedenli MN ile kromozom geri kalması nedenli MN' leri birbirinden ayırmanın kolay olduğu belirtilmiştir (Fenech ve ark., 1997).

MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde meydana getirdiği sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin dolaylı göstergesi olarak düşünülmektedir. Anöploidiyi tetikleyen ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iç iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına neden olarak; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna katkı sağlamaktadır. Hücrelerdeki MN sayısında artış saptanması somatik hücrelerdeki genomik kararsızlığın belirteci olarak gösterilebilir (Vanparys ve ark.,1990; Demirel ve Zamani, 2002). Mikronükleus indeksi, kemik iliği ve periferik kan eritrositlerinde, genotoksitite araştırmalarında tercih edilen standart sitogenetik testlerden biridir (Stopper ve Müler, 1997; Krishna ve Hayashi, 2000). Bitki hücrelerinde MN testi 1950'lerde kromozom hasarını tespit etmede, 1970'lerde hayvan hücrelerinde ve sonralarında ise kimyasal karsinogenleri kültüre edilmiş insan lenfositlerinde belirlemeye yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır (Schmid, 1975; Widel ve ark., 2001; Demirel ve Zamani, 2002). MN testi günümüzde ise genotoksik, sitotoksik ve karsinogenik ajanların hücre genomu ve viabilitesi üzerine etkilerinin analizinde başarılı bir şekilde kullanılmaktadır (Demirel ve Zamani, 2002).

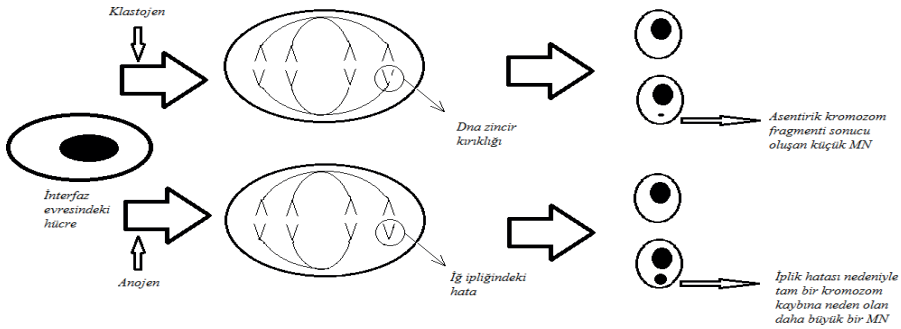
İlk defa Courtyman ve Heddle tarafından periferik kan lenfositlerinde mikronükleus sıklığının kromozom hasarlarının bir göstergesi olarak kullanılması önerilmiştir (Courtyman ve Heddle, 1976). Güvenilir bir biçimde kromozom düzeyinde ki DNA hasarlarını analiz edilmesini sağlayan MN yöntemi genotoksikoloji alanında çok yoğun olarak kullanılmaktadır (Fenech, 1993). Pekçok araştırmacı, MN analizi için lenfosit hücre kültürü ve direkt kemik iliği hücre kültürleri başta olmak üzere çeşitli teknikler kullanmışlardır. Fakat sonradan bu yöntem Fenech ve Morley tarafından geliştirilmiş ve Cytokinesis Block Micronucleus (CBMN) adı verilmiştir (Fenech ve Morley, 1985).

Sitokinezi-bloklama (Cytokinesis-Bloked) metodu bazı kinetik sorunların giderilmesini ve tekniğin uygulanmasındaki güvenilirliğin artmasını sağlamıştır. Bu metot, mitoz geçiren hücrelerde küf mantarlarının metabolitlerinden biri olan Sitokalsin-B (Cyt-B) ile sitokinezi durdurmayı

hedeflemektedir. Uygun konsantrasyonda lenfosit kültürlerine Cyt-B eklenmesiyle, sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş ancak çekirdek bölünmesini tamamlamış çift nükleuslu hücrelerde, mikronükleus bulunduran hücrelerin oranını saptayabilmektedir (Fenech ve Morley, 1985; Fenech ve Morley, 1986; Demirel ve Zamani, 2002). Geliştirilmiş bu yöntemle, interfaz hücrelerinin yalnızca mikronükleus olup olmadığı tespit edilerek, metafaz hücrelerindeki kromozom anormalliklerinden hem daha objektif bir şekilde değerlendirilebilmekte hem de daha hızlı sayılabilmektedir. Aynı zamanda bütün halde kromozom şeklinde mikronükleus oluşumuna neden olan ve kromozomal anormallik testleriyle çalışılması zor olan anöploidiyi indükleyici ajanlar bu analizle daha kolay bir şekilde belirlenebilmektedir (Lorge ve ark., 2007; Üstün, 2007).

Mikronükleus değerlendirilmesinde kullanılan kriterler şunlardır;

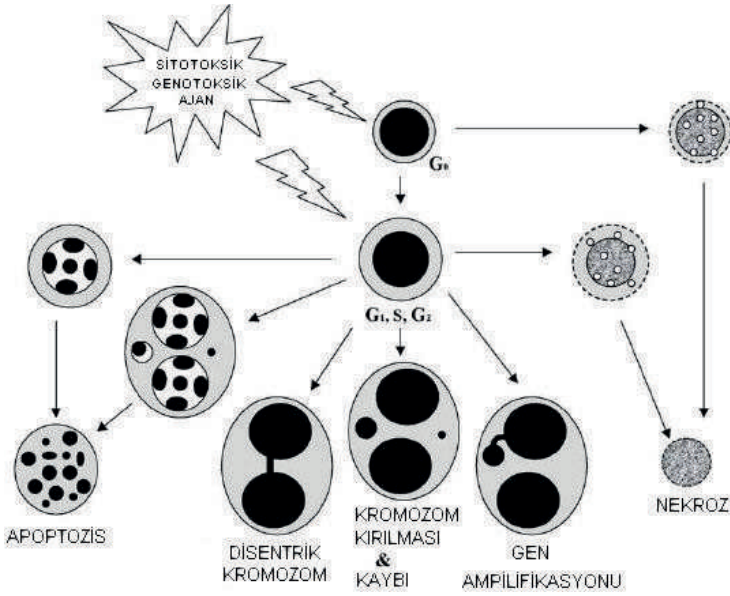
- MN çapları esas çekirdeğin 1/3 ile 1/16' sı arasında bir büyüklükte olmalı,
- Esas nükleus ile boya alma yoğunluğunun aynı olması,
- MN' ların esas çekirdeğe bağlı veya bitişik olmaması,
- Sitoplazması iyi gözlenen hücrelerde MN' lar sayılmalıdır,
- Doza bağlı olarak MN oluşumu olmalıdır,
- Nükleer olmayan partiküllerden farklı olarak ışığı yansıtmemelidir. Asıl çekirdekle aynı renkte gözlenmelidir (Almassy ve ark., 1987).



Şekil 1.3. Mikronükleus oluşumu

In vitro test sistemlerinden elde edilen mutajenik etkinin daha detaylı araştırılması için memeli *in vivo* mikronükleus testi ve bileşiğin *in vivo* metabolizması, farmakokinetiği ve DNA onarım süreçleri gibi faktörlerin

değerlendirilmesine imkan sağlamaktadır (Heddle, 1973; Schmid, 1975; Hayashi ve ark., 2000; Üstün, 2007).



Şekil 1.4. Sitotoksik ve genotoksik ajanların etkisiyle mikronükleus oluşumu, apoptozis ve nekroz (Fenech, 2006'dan)

In vivo mikronükleus testlerinde genellikle kemik iliğindeki veya kandaki PCE (Polikromatik Eritrosit)'lerdeki mikronükleus sıklığı tespit edilmektedir. Yetişkin kemiricilerde temel hematopoietik organ olan kemik iliğine, hematopoietik hücrelerin bölünmeleri esnasında kimyasal maddenin verilmesi, kromozom hasarına ya da mitoz bölünmenin engellenmesine neden olmaktadır (Lambert ve ark., 2005). Eritropoezis (eritrosit yapımı) aşamasında kemik iliğindeki eritroblastlar son mitozdan birkaç saat sonra polikromatik eritrositlere dönüşürken çekirdeklerini kaybederler ve bu sırada kromozomlarda meydana gelen hasar sitoplazmada mikronükleus oluşumuna yol açmaktadır. Tam olarak olgunlaşmamış (polikromatik) mikronükleus içeren eritrosit sayısındaki artış kromozomal hasarın veya anafaz gecikmesi sonucu ortaya çıkan sitogenetik hasarın bir belirticidir (Von Ledebur ve Schmid, 1973; MacGregor ve ark., 1987; Üstün, 2007). *in vivo* kemik iliği mikronükleus testlerinde çoğunlukla Cyt-B kullanılmaksızın PCE'lerdeki mikronükleus sıklığı saptanmaktadır. Fakat Uma Devi ve ark. (1998) tekrarlayan farklı dozlarda Cyt-B'yi fibrosarkom, B16, F1 melanom, C57 BL ve Ehrlich asit karsinomlu farelere enjekte ederek, sitokinezi bloklanmış

binükleat tümör hücrelerinde mikronükleus oranını tespit etmişlerdir. Genotoksik maddelere maruz kalan canlının eritrositlerinde meydana gelen mikronükleus haricinde gözlenen çekirdek anomalileri de vardır.

Bu çekirdek anomalilerini dört grupta toplayabiliriz. Hücrelerden iki nükleusu olanlar binükleid (çift çekirdekli) olarak isimlendirilir. Çekirdek membranından küçük çıkıntılar olup kromatin içeren çıkıntılar olarak gözlenenler blebbed nükleidler (tomurcuklu), tomurcuklu çekirdeklerden daha büyük çıkıntılara sahip ve loplu bir görüntü sergileyen nükleuslar lobbed nükleus (loplu) olarak tanımlanır. Nükleusun içeriye doğru girinti yaptığı ve vakuolleri olan nükleuslara notched nükleus (çentikli) adı verilir. Hücrelerdeki çekirdek anomalisi verileri tüm çekirdek anomalilerinin toplamına göre değerlendirilir (Çavas ve Könen, 2008). Çekirdek anomalileri gencl olarak genotoksik hasarın belirteçleri olarak düşünülmektedir. Bu nedenle rutin genotoksisite çalışmalarında MN testinin tamamlayıcısıdır (Özkan ve ark., 2009a).

1.10.1.3. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi

Kısa süreli mutajenite ve karsinojenite testlerinden biri olan kardeş kromatit testi, çevredeki atıkların etkisini araştırmak için geliştirilen bir testtir. Kardeş kromatit değişimleri, DNA çift zincir kırıklarının homolog rekombinasyon aracılığıyla tamir edilmesini gösteren kardeş kromatitlerin homolog lokusları arasında DNA replikasyon ürünlerinin değişimidir (Taylor ve ark., 1957; Latt ve ark., 1980; Wolff, 1980; Sonoda ve Wharton, 1999).

KKD analiz yönteminde, homolog kromozomlarda DNA parçalarının karşılıklı değişiminin gösterilmesi ancak hücre kültürlerine 5-bromo-2-deoksiüridin (BrdU) maddesinin eklenmesi yoluyla sağlanmaktadır. Bu analiz, *in vitro* ve *in vivo* şartlarda çeşitli ajanların mutajenik ve karsinojenik etkilerinin, deneysel çalışmalarda indikatör test olarak kromozom düzeyindeki araştırmaları açısından önemlidir. Bundan dolayı kimyasalların mutajenik ve karsinojenik etkilerini belirlemek için ideal bir metot olan KKD yönteminin kullanımına devam edilmektedir (Latt ve ark., 1980; Wolff, 1980; Kocaman, 2007).

1.10.1.4. Salmonella/Mikrozom Mutajenite (Ames) Testi

Salmonella/mikrozom mutajenite analizi, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında en yaygın olarak kullanılan, 1975 yılında Bruce Ames ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş ve diğer adı Ames testi olarak da bilinen, test parametreleri yönünden en iyi standardize edilmiş ve mutajen/

karsinojen etkisi en iyi bilinen kimyasallarla geçerliliği en fazla kabul edilmiş, kısa zamanlı bakteriyel test sistemlerinden biridir. (McCann ve ark., 1975; Mortelmans ve Zeiger, 2000; Özbek, 2006). Bakteriyel ters mutasyon testi, hızlı ve ucuz bir analiz olmanın yanı sıra uygulanabilirliği de kolay olan bir testtir. Bileşiklerin genotoksitesinin belirlenmesinde kullanılan bu test; özellikle insanlarda ve deney hayvanlarında tümör oluşumunda somatik hücrelerin tümör baskılayıcı genlerinde oluşan nokta mutasyonların tespit edilmesinde kullanılmaktadır (Üstün, 2007). Bu testin temelinde, histidin sentezleme yeteneklerini kaybetmiş (his⁻ = inkübasyonun belirli zamanlarında) test bileşiğine maruz bırakılan yapay mutasyonla oluşturulmuş olan *Salmonella typhimurium* vardır.

1.10.1.5. Komet Testi

DNA sarmal kırılmalarının tespiti için son yıllarda gelişen Komet tekniği, hassas, hızlı ve güvenilir bir yöntemdir. Komet tekniği aynı zamanda “Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE)” ya da “Mikrojel Elektroforez Tekniği” olarak da isimlendirilmektedir. Birçok memeli hücresinde çeşitli ajanların indüklediği DNA hasarı ve onarım bozukluğunun tesbitini amaçlayan *in vivo* ve *in vitro* araştırmalarda Komet yöntemi kullanılmaktadır. DNA kırıklarının tespiti prensibine dayanan Komet yöntemi, çeşitli DNA hasarının ve onarımının tespit edilmesinde, biyoizleme çalışmalarında ve genotoksikolojide geniş kullanım alanı bulmuştur. Bu test, özellikle direkt etkili genotoksinleri ilk etki bölgelerinde incelemek için önemlidir. Eğer bu yöntemde DNA kırık içeriyorsa, hasarlı DNA’lar çekirdekten dışarı doğru göç ederek kuyruklu yıldız görünümü verir. Bu görünümünden ötürü hasarlı hücreler Komet” olarak adlandırılmıştır (Östling ve Johanson, 1984; McKelvey-Martin ve ark., 1993; Fairbairn ve ark., 1995; Kevlekçi, 2008).

Komet yöntemine göre alkali pH’da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri gerekmektedir. Genellikle bu uygulama kan lökositleri, mesane, yanak, mide ve sperm hücrelerindeki DNA hasarını tespit etmek için kullanılmaktadır. Öncelikle tek hücreler veya çekirdekçikler agarozta yerleştirilir. Lizis ve alkali elektroforez tamponunda yürütme işlemlerini takriben boyanma işlemi floresan boya ile yapılan hücrelerin incelenmesi floresan mikroskop ile yapılır. DNA’lar zarar görmemiş ise taşınma esnasında komet (kuyruk) oluşturmazlar. Ancak DNA fragmentleri oluşmuşsa, bu fragmentler farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından dolayı elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü meydana getirirler. Komet tekniği hasarlı hücrelerde floresan boyanın baş taraftan kuyruğa geçişini yansıttığından dolayı, DNA hasarının kantitatif

olarak saptanmasında kuyruk moment, kuyruktaki DNA yüzdesi ve kuyruk uzunluğu önemli parametrelerdir (Östling ve Johanson, 1984; McKelvey-Martin ve ark., 1993; Singh ve ark., 1988; Albertini ve ark., 2000; Çelik, 2005).

1.10.1.6. Fare Lenfoma Testi

Fare lenfoma testi; farklı boyutlarda ortaya çıkan kromozomal bozukluklarının belirlenmesini sağlayan ve aynı zamanda L5178Y fare lenfoma hücrelerinin timidin kinaz (TK) lokusundaki veya insan lenfoblastoid TK6 hücrelerinin ya da Chinese hamster hücre serisinin (CHO, AS52 ve V79 hücrelerinin) hipoksantin guanin fosforibosil transferaz (HPRT) lokusundaki veya ksantin guanin fosforibosil transferaz (XPRT) lokusundaki gen mutasyonunu saptayan bir testtir. TK +/- ve TK -/- lokuslarında meydana gelen mutasyon sonucu timidin kinazdan mahrum olan mutant hücreler pirimidin analogu olan triflorotimidinin (TFT) sitostatik etkilerine karşı dirençlidirler. , hücresel metabolizmayı inhibe eden ve hücre bölünmesini durduran TFT'ye karşı timidin kinaza sahip olan hücreler duyarlıdır. TFT varlığında mutant hücreler çoğalır iken, normal hücreler çoğalamamaktadır. Metabolik aktivasyonlu veya aktivasyonsuz fare lenfoma hücre kültürü ortamına maruz bırakılan test bileşiği, uygulamayı takiben hücreler mutant seleksiyondan önce fenotipik ekspresyon amacıyla kültüre edilir. Test bileşiğine maruz kalan hücre kültüründen elde edilen ve sayısı bilinen hücreler mutant hücrelerin oranını saptamak amacıyla TFT içeren medyuma ekilir ve inkübasyon süresinden sonra koloniler sayılır. Mutant frekansını saptayabilmek için, TFT içeren medyumdaki mutant koloni sayısı hesaplanır. Test bileşiğinin nokta mutasyon veya kromozomal hasar oluşturduğuna dair bilgileri mutant kolonilerin büyüklüğü vermektedir. Küçük çapta mutant koloniler genellikle kromozomal bozukluklar sonucu oluşmaktadır ve gen mutasyonları sonucu ise büyük çapta mutant koloniler oluşmaktadır (FDA, 2006; Üstün, 2007).

2. Önceki Çalışmalar

- **İnsektisitlerle İlgili Yapılan *In vivo* ve *In vitro* Çalışmalar**

Behera ve Bhunya (1990) tarafından isoproturonun genotoksik etkilerini *in vivo* KA, MN ve sperm şekil anormallikleri test yöntemleri ile araştırıldığı çalışmada bu herbisidin KA ve sperm şekli anormallikleri testlerinde doza bağlı olarak pozitif sonuç verdiği, MN testinde ise sadece en yüksek dozda (200 mg/kg) etkili olduğunu saptamışlardır. Elde edilen verilere göre memeli *in vivo* test sisteminde isoproturonun genotoksik etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

Roloff ve arkadaşlarının (1992) insan lenfositlerinde Atrazin ve Linuron herbisitlerinin ayrı ayrı ve kombine uygulanmış şekilde test ettikleri çalışmalarında, bu kimyasalların ayrı ayrı verilen dozlarda çok az kromozom hasarına neden olduğu, kombine verilen dozlarda ise anlamlı düzeyde kromozom hasarını indüklediği saptanmıştır. Araştırmacılar faredeki etkilerini gözlemek üzere aynı şekilde verilen kimyasalların kemik iliği hücrelerinde tüm gruplarda kromozom hasarını indüklenmediğini fakat kültüre edilen dalak hücrelerinde tüm gruplarda hasarın gözlemlendiğini bildirmişlerdir.

Surrales ve arkadaşları (1995) piretroid insektisitlerinden sipermetrin, deltametrin, fenpropatrin, fenvalerat ve permetrinin hem izole edilmiş insan lenfositlerinde hem de tam kanda mikronukleusu indüklenme kapasitesini test etmişlerdir. Test edilen konsantrasyonlarda, nükleer bölünme indeksi (NBI) ve sitokinezi engelleyici proliferasyon indekslerine (CBPI) göre; 5 piretroidin doza bağlı olarak sitotoksik etkiyi indüklediğini, fenpropatrinin ise bunlardan en toksik olanı olduğunu gözlemlemişlerdir. MN sonuçlarına

göre; beş piretroit insektisitten permetrin ve fenvaleratın genotoksik aktivitesinin anlamlı olmadığını, sipermetrin, deltametrin ve fenpropatrinin ise zayıf genotoksik etkisi olduğunu saptamışlardır.

Titenko-Holland ve arkadaşları (1997) yaygın olarak kullanılan malatyonun sağık üzerine etkilerinin kaygıları arttırması nedeniyle biyolojik belirteç olarak hem *in vivo* hem de *in vitro* insan periferik lenfositlerinde mikronükleus oluşumuna etkisini belirlemeye çalışmışlardır. Tam kan ya da Ficoll izolasyonundan sonra kültüre edilmiş lenfositler, 5 ile 100 µg/ml malatyon dozlarıyla 48 saat muamele edilmiştir. Yüksek dozlar ile (75-100 µg/ml) muamele edilen lenfositlerde mikronükleuslu hücrelerde önemli düzeyde artış gözlenmiştir ($p < 0,001$). Sonuç olarak; malatyonun kromozom hasarına neden olma potansiyelinin düşük olduğunu ve bu dozların, profesyonel uygulayıcıların *in vivo* da kullandıkları dozlardan daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Malatyonun diğer pestisitlerle etkileşim olasılığının anlaşılması için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini öne sürmüşlerdir.

Villarini ve arkadaşları (1998) bu çalışmada deltametrinin genotoksitesini *in vitro* olarak DNA'ya hasar verebilme ve insan periferik lenfositlerinde KKD ve MN'yi indüklemeye özelliğini inceleyerek değerlendirmişlerdir. Sonuçlar, deltametrinin doz arttıkça kuyruk moment değerlerinin yükselmesiyle metabolik aktivasyon varlığında DNA hasarına neden olabildiğini göstermiştir. MN ve KKD frekanslarında ise; hem S9 mikslili hem de S9 mikssiz kontrol grubuna kıyasla deltametrin uygulanan hücrelerde istatistiksel olarak artış gözlenmemiştir.

Guadano ve arkadaşları (1998) yaptıkları çalışmada, metabolik aktivasyon sisteminin varlığında ve yokluğunda (S9 mikslili) insan lenfosit kültürlerinde, KKD, KA ve MN testleri ile rotenonun genotoksik aktivitesini araştırmışlardır. Elde edilen verilere göre, rotenonun, tüm konsantrasyonlarda KKD ve KA frekanslarında herhangi bir artışa yol açmadığını ancak binükleuslu mikronükleatlı (BNMN) hücrelerin frekanslarını arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bu kimyasalın hücre döngüsünde gecikmeye neden olduğunu ve S9 mikslili varlığında genotoksik aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Campana ve arkadaşları (1999) *Cheiridon interruptus interruptus*'ün eritrositlerinde mikronükleus testi kullanarak piretroit lambda-siyalotrinin genotoksitesini araştırmışlardır. Mikronükleus frekanslarını, bileşimlerin üç farklı konsantrasyonuna (0,05; 0,01; 0,001 µg/l) maruz bırakılan ve 9 farklı örnekleme

zamanında (24, 48, 72, 96 saat ve 8, 12, 15, 19, 23 gün) sakrifiye edilen balıklardan elde edilen kan preparatlarını incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre kullanılan deneysel modellerde piretroidin, genotoksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Farklı örnekleme zamanlarında mikronukleus frekanslarında gözlenen varyasyonları eritrosit değişimi ve kan hücre kinetikleriyle ilişkilendirmişlerdir.

Blasiak ve arkadaşları (1999) yaptıkları araştırmada malatyonun ve iki analogu olan izomalatyon ve malaksonun insan periferik lenfositlerinde komet testi ile DNA hasarına etkisini araştırmışlardır. Malatyon test edilen konsantrasyonlarda, komet kuyruk uzunluğunda önemli değişikliklere yol açmaz iken, malakson ve izomalatyon doza bağlı olarak DNA'da hasara neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuçlar, *in vitro* da, malakson ve izomalatyon içeren ve ticari ürün olarak kullanılan malatyonun, genotoksik madde olduğunu saptamışlardır.

Karabay ve arkadaşları (2001) bu çalışmada, organofosforlu bir insektisit olan metamidofos ve organoklorlu bir insektisit olan imidaklopridin, hedef olmayan türler üzerindeki tek tek ve kombine şekilde uygulandığında kromozomal ve enzimatik etkilerini incelemiş ve olası sinerjistik etkiyi belirlemek amacıyla kombine kullanımın, tek tek kullanıma göre etkisini karşılaştırmışlardır. Çalışmada, her bir insektisit için iki farklı konsantrasyonu (imidakloprid için 50 ve 100 ppm, metamidofos için 2,5 ve 5 ppm), imidakloprid+metamidofos kombinasyonu için 2,5 ve 5 ppm kullanılmıştır. Kombine insektisit kullanımının, tek tek kullanıma göre iç organlarda daha fazla oranda lezyon oluşturduğu belirlenmiştir. Uygulanan pestisit gruplarının yüksek konsantrasyonlarında kromozomal aberasyonlar daha fazla oranda gözlenmiştir. Tüm uygulama gruplarıyla kontrol grubu arasında ve uygulama gruplarının iki farklı dozu arasında kromozom aberasyonlu hücre oranı bakımından önemli farklılıklar belirlendiği halde, uygulanan pestisit sınıfları arasında önemli bir farklılık kaydedilmemiştir. Metamidofosun, karaciğer kolinesteraz enzim aktivitesini inhibe ettiği ve bu inhibisyonun doza bağlı olarak arttığı bu artışın özellikle yüksek konsantrasyonlarda kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu saptanmıştır. Kombine grupta da yine organofosforlu insektisit etkisinin baskın olduğu ve konsantrasyondaki artışla birlikte enzim inhibisyonunun yalnız metamidofos uygulanmış gruba göre daha fazla arttığı gözlemlemiştir.

Pastor ve arkadaşları (2001) Yunanistan, İspanya, Polonya ve Macaristan'da mesleki olarak pestisitlere maruz kalan bireylerde, pestisit kullanımı ile sitogenetik hasarlar arasındaki ilişkiyi belirlemek için, tarım

işçilerinin periferik lenfositlerinde ve ağız içi epitel hücrelerinde MN frekansını incelemişlerdir. Tarım işçilerinin yoğun olarak kullandığı pestisitler arasında akrinatriin, alfametrin, bifentrin, deltametrin, fenvalerat, lambda-sihalotrin, permetrin, tralometrin, asetamiprid, imidakloprid ve bakterisitler bulunmaktadır. Pestisitlere maruz kalan işçilerde lenfositlerin artışı ile olabilecek varyasyonları ise sitokinez bloklaya proliferasyon indeksi (CBPI) ile hesaplamışlardır. Tarım işçilerinde kontrole nazaran CBPI değerinde önemli bir azalma olduğunu, buna karşın lenfosit ve ağız içi epitel hücrelerinin MN frekansında kontrol grubuna göre önemli bir artış olmadığını gözlemlemişlerdir.

Giri ve arkadaşları (2002) farelerde KA ve KKD analizleri ile fenvaleratin genotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. İntaperitoneal uygulanan fenvalerat insektisitinin 20 mg/kg'lık dozda hem 24 saat ($P < 0,01$) hem de 48 saatlik ($P < 0,05$) muamele sürelerinde KA frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Fenvaleratin ne 5 ve 10 mg/kg'lık akut dozu ne de (5x4 mg/kg) sub-akut dozu herhangi bir önemli etkiyi indüklememişlerdir. Akut dozun üçünün de (5, 10 and 20 mg/kg) fare kemik iliği hücrelerinde KKD frekanslarında önemli bir artışa yol açtığını saptamışlardır ki bu durum önemli bir doz-etki ilişkisi ($r = 0,9541$, $p < 0,05$) olduğunu göstermektedir.

Grisolia (2002) MN tekniğini kullanarak deltametrinin genotoksik etkisini albino fareler üzerinde araştırmıştır. 24 saat arayla 8, 33 ve 90 mg/kg dozlarının iki defa verildiği farelerde sadece en yüksek konsantrasyonda (90 mg/kg) kemik iliği polikromatik eritrositlerinin MN frekansında artış olduğunu belirlemiştir.

Rahman ve arkadaşları (2002) iki organofosfor pestisitinin (kloroprifos ve asetat) ve siklofosfamidin (pozitif kontrol) Swiss albino erkek farelerin lökositlerinde *in vivo* genotoksik etkiyi indüklemeye yeteneklerini test etmişlerdir. Asetatın 12,25'ten 392,00 mg/kg'a ve kloroprifosun 0,28'den 8,96 mg/kg'a dozları oral yolla farelere uygulanmıştır. Analizleri tam kanda 24, 48, 72 ve 96 saat uygulama sürelerinin sonunda değerlendirmişlerdir. Kontrole nazaran her iki pestisit ile 24 saat muameleden sonra DNA hasarı, komet kuyruk uzunluğunun artışının istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir ($p < 0,05$). Komet kuyruk uzunluğunun doza bağlı bir artış göstermiş olduğunu bildirmişlerdir. 48 saatlik muameleden sonra, kuyruk uzunluğunda bir azalış olduğunu, 96 saatlik muamelede ise komet kuyruk uzunluğunun kontrol grubu ile aynı düzeye geldiğini saptamışlar ve bu durumda DNA hasarının onarıldığının bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir.

Giri ve arkadaşları (2003) sipermetrin ve karbosülfan pestisitlerinin fare kemik iliği hücrelerinde kardeş kromatid değişimi frekansına etkisini araştırmışlardır. Hem sipermetrinin hem de karbosülfanın KKD frekansında önemli bir artışa neden olduğunu gözlemişler ve karbosülfanın sipermetrine göre daha yüksek bir genetik alterasyona neden olma potansiyeline sahip olduğunu saptamışlardır.

Helvacı (2003) yaptığı çalışmada metidatyon insektisitinin *Allium cepa* kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme ve kromozomlar üzerine olan etkilerini incelemişlerdir. *Allium cepa* kök uçlarına 0,0, 7,5, 15, 30 ve 45 ppm'lik dozları 12, 24 ve 48 saat süre ile uygulamışlardır. Metidatyonun bütün doz ve uygulama sürelerinde mitotik indeksi kontrole göre önemli düzeyde azalttığını ve konsantrasyon ve uygulama süreleriyle doğru orantılı olarak toplam mitotik anormallikleri arttırdığını saptamışlardır. Bolognesi ve arkadaşları (2004) MN testi ve tam sentromerik prob kullanarak, floresan in situ hibridizasyon (FISH) analiziyle deltametrinde dahil olmak üzere çeşitli pestisitlere maruz kalan çiçek yetiştiricilerinin periferel lenfositlerini incelemişlerdir. Çiçek yetiştiricilerinde kullanılan pestisitlerin sayısı ve maruz kalma süresinin artmasıyla, MN frekansının kontrol grubuna göre arasındaki fark, artış göstermesine rağmen, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını belirlemişlerdir.

Zahran ve arkadaşları (2005) çalışmalarında erkek fare, hamile dişi ve embriyoları kullanmışlardır. Hayvanlara oral yolla (4 gün) günlük nuvakron pestisitinin üç farklı dozunu (0,25, 0,3 ve 0,65 mg/kg) uygulamışlardır. Uygulama sonrasında, bazı biyokimyasal parametrelerdeki (DNA, RNA, protein ve enzimler) değişimlerin saptanmasının yanı sıra somatik ve germ hücrelerinde mutasyon indüklenmesini değerlendirmişlerdir. Verilerine göre; çeşitli dozlara maruz kalan farelerin yüksek oranda sayısal ve yapısal kromozomal aberasyonlara sahip olduğunu saptamışlardır. Kimyasalın etkisinin doza bağlı olduğunu ve mitotik indeks oranını da doza bağlı olarak azalttığını ortaya koymuşlardır. Biyokimyasal parametrelerden gama glutamil transferaz (GGT) aktivitesi artarken, kolin esteraz aktivitesinin ve DNA, RNA ve doku proteinlerinin miktarının azaldığını saptamışlardır. Çalışma sonuçlarına göre; pestisit ve/veya bunun analoglarının kullanımının önlenmesini ya da en az düzeyde tedbirli bir şekilde kullanılması gerektiğini belirtmişlerdir.

Lima ve arkadaşları (2005) çalışmalarında kültüre edilmiş insan lenfositlerinde rotenon insektisitinin 1, 1,5 ve 2 $\mu\text{g/ml}$ dozlarını hücre döngüsünün G_1 , G_1/S , S ve G_2 fazlarına uygulamışlardır. Bu uygulama sonucunda 1 ve 1,5 $\mu\text{g/ml}$ dozlarının G_1 fazında poliploidi ve

endoredublikasyona neden olduğunu gözlemlemişlerdir. G_1/S fazında ise KA frekansını doza bağlı olarak arttırdığını ve bu kimyasalın S fazında uygulanması sonucunda ise kromozomal anormalliklerin önemli derecede artış gösterdiğini saptamışlardır. Ancak G_2 fazında KA frekansının önemli bir artış göstermediğini ve en fazla meydana gelen anormalliklerin ise gap ve kromatid kırıkları olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda rotenon inektisitinin hücre döngüsünün tüm safhalarında sitotoksik etkiye, G_1/S ve S fazlarında yapılan tüm uygulamalardan elde edilen verilere göre ise klastojenik etkiye neden olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarında; rotenonun, G_1 fazındaki hücrelerde poliploidi ve enderodublikasyona neden olmasından dolayı mitotik iğ iplikleri üzerinde de etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Demir (2005) bu çalışmada, metidatyon ve triyadimenol inektisitlerinin çeşitli dozlarıyla 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde mikronükleuslu binükleatların sayısında artış olduğunu gözlemlemiştir. Bu artışın, metidatyonun $3,75 \mu\text{g/ml}$ 'lik dozunda negatif kontrole kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı olmamasına rağmen, diğer dozlarda önemli olduğunu belirlemiştir. Triyadimenolün ise kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, bütün dozlarının önemli düzeyde MN'yi indüklediğini ve MN sayısının doz artışına bağlı olarak arttığını gözlemlemiştir. Çalışmaya göre, metidatyon ve triyadimenol inektisitlerinin kültüre edilmiş insan lenfositlerinde klastojenik ve anojenik etkiye neden olduğunu bildirmiştir.

Ündeğer ve Başaran (2005) yaptıkları çalışmada, yaygın olarak kullanılan organofosfatlı inektisitlerden; dimetoat ve metil paratyon; karbamatlı inektisitlerden de; propoksür ve pirimikarbin, piretiroidlerden ise; sipermetrin ve permetrinin insan periferik lenfositlerinde komet testi uygulayarak genotoksik potansiyelini araştırmışlardır. Dimetoat uygulanan tüm dozlarda (10, 50, 100 ve $200 \mu\text{g/ml}$) kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğunun önemli düzeyde ve doza bağlı olarak artırmış olduğunu gözlemlemişlerdir. Metil paratyonun ise 10, 50 ve $200 \mu\text{g/ml}$ 'lik dozlarda kuyruk uzunluğunda, 100 ve $200 \mu\text{g/ml}$ 'lik dozlarda ise kuyruk yoğunluğunda artışa neden olduğunu saptamışlardır. Kuyruk yoğunluğundaki artış ile doz arasında doğru orantılı bir korelasyon olduğunu belirlemişlerdir. Diğer taraftan kullanılan konsantrasyonların tamamının anlamlı bir sitotoksik etki göstermediğini tespit etmişlerdir.

Chauhan ve Gupta (2005), izoproturonun deltamethrin ile kombine kullanımının *Allium cepa* kök meristem hücrelerinde kromozom kırıkları, yapışıklık, multipolar anafaz, kromozom köprüleri, kalgın kromozomlar, kromozomların dengesiz ayrılması, iki ve çok nükleuslu hücrelere sebebiyet

verdiğini, kombine muamelelerin organellerde ultrastruktürel değişimlere neden olduğunu ve bitki hücrelerinde geri dönüşümsüz hasarlar meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Özkan ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada asetat ve mefosfolan insektisitlerinin insan lenfositlerindeki genotoksik etkilerini KA, KKD, MN ve komet test yöntemleri ile araştırmışlardır. Ayrıca, bu insektisitlerin mitotik indeks (MI), replikasyon indeksi (RI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) üzerine etkileri olup olmadığını da incelemişlerdir. İnsan periferik lenfositlerini *in vitro* koşullarda asetat ve mefosfolanın farklı dozları (asetat için 12,5; 25; 50; 100 ve 200 µg/ml, mefosfolan için 0,125; 0,25;

0,50; 1,00 ve 2,00 µg/ml) ile 24 ve 48 saatlik süreler ile muamele etmişlerdir. Asetat ve mefosfolanın her iki uygulama süresinde kromozom anormallik frekansını doza bağlı olarak artırdığını gözlemlemişlerdir. Asetat ve mefosfolanın tüm uygulama süreleri ve dozlarda KKD/hücre ve MN frekanslarını da doza bağlı olarak artırdığını saptamışlardır. Ayrıca her iki kimyasalın MI değerini doza bağlı olarak düşürmüş olmasına rağmen RI ve NBI değerlerini etkilememiş olduğunu belirlemişlerdir. Komet testinde ise komet kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğunu kontrole göre önemli oranda artırdıklarını ve bu kimyasalların primer DNA hasarına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada elde edilen verilere göre, uygulama ve kontrol grupları arasında KA, KKD, MN ve MI frekanslarında önemli düzeyde farklılıklar gözlenmesi sonucunda, asetat ve mefosfolanın insan periferik lenfositlerinde klastojenik, mutajenik, anojenik ve sitotoksik etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Chauhan ve arkadaşları (2007) çalışmalarında Deltametrin (DEL) ve/veya İzoproturon (ISO)'nun insan lenfositlerinde ve fare kemik iliğinde ki sitogenetik etkilerini incelemişlerdir. Periferik lenfositler DEL (2,5, 5, 10 ve 20 µM), ISO (25, 50, 100 ve 200 µM), veya DEL+ISO (2,5+25, 5+50, 10+100, veya 20+200 µM) dozlarıyla muameleleri ve sitogenetik etkileri kromozomal aberasyonlar (CA) ve sitokenez-engelleyici mikronukleus (CBMN) analizi kullanarak değerlendirmişlerdir. Fareye oral yolla gavaj yöntemiyle CA analizi için DEL' in tek dozu (6,6 mg/kg), ISO (670 mg/kg) 24 saat, veya 30 gün boyunca DEL+ISO (6,6+670 mg/kg) dozlarını uygulamışlardır. DEL, öyle ki ISO'nun (25-100 µM) yalnız 10 µM' da, veya DEL ile kombinasyonunda CA frekansını önemli ölçüde indüklemiştir, ancak önemli bir etkiye sahip olmadığını göstermiştir. Önemli frekanslar 5 µM DEL, 100 µM ISO veya 5+ 50 µM DEL+ISO' da gözlemlenmesine rağmen MN indüksiyonunu (MN) konsantrasyona bağlı olduğunu gözlemlemişlerdir. Farelerde, DEL, 24 saatte sadece ISO ile mitotik indeksi

(MI) önemli ölçüde ($p < 0.001$) inhibe etmekte olduğunu veya DEL ile kombine olduğunda istatistiksel olarak önemli bir etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir. DEL+ISO tek başlarına CA frekansını önemli oranda ($p < 0.001$) indüklemiştir, oysa DEL+ISO kombinasyonunda öyle bir durum söz konusu olmadığını belirlemişlerdir. Bunun yanı sıra DEL tek başına veya ISO ile beraber CA veya MP te önemli bir etki olmadığı sonuçlanırken, ISO ile 30 gün muamele sonucunda MI önemli ölçüde inhibe etmiş olduğu ($p < 0.02$ veya $p < 0.01$) ve CA'yı indüklemiş olduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmaya göre, *in vivo* ve *in vitro* da DEL'in ticari formülasyonu ile maruziyetinin memelilerde genotoksik etkiye neden olduğunu belirlemişlerdir. Ancak, DEL ve ISO'nun beraber maruziyetinde aditif bir etki göstermediğini ama onun yerine genotoksiteyi biraz azalttığını göstermiştir.

Aktintonwa ve arkadaşları (2008) çalışmalarında yaygın olarak kullanılan farklı markalardaki (Baygon, Mobile, Mortein and Total) insektisitlerin mutajenik olup olmadığını araştırmışlardır. Farklı markalardaki insektisitler *Escherica coli* ile Ames testine tabi tutularak organizmalardaki revers mutasyon frekansını metabolik aktivasyon sisteminin varlığında ve yokluğunda değerlendirmişlerdir. Analizlerin sonucunda bu insektisitlerin organizmalarda önemli oranda mutasyona neden olmadığını saptamışlardır.

İla ve arkadaşları (2008) çalışmalarında insektisitlerin *in vitro* insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi, kromozom anomaliliği ve mikronükleus oluşumunu ve Ames testi ile gen mutasyonlarını indükleme durumunu değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda, *in vivo* olarak da silfüttrin verilen sıçanların kemik iliği hücrelerinde KA ve sitotoksiteyi değerlendirmişlerdir. Ames testinde, *Salmonella typhirum*'da revers mutasyonların sayısındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır. KA'nın 24 saatlik periyotlar için çeşitli konsantrasyonlarda silfüttrin uygulanan lenfositlerdeki frekansının da anlamlı oranda artmadığını gözlemlemişlerdir. Aksine, kontrol grubuna kıyasla KA'nın, 48 saatlik uygulamada en yüksek iki konsantrasyonda (1000 ve 2000 $\mu\text{g/ml}$) artış gösterdiğini belirlemişlerdir. MN oluşumu, tüm dozlarda 48 saatlik uygulamadan sonra anlamlı bir şekilde artış göstermesine rağmen, KKD frekansının artışının istatistiksel olarak anlamlı olmadığını tespit etmişlerdir. Test maddesinin sıçan kemik iliği hücrelerinde KA frekansını tüm dozlarda (250, 500 ve 1000 mg/kg vücut ağırlığı), her iki uygulama periyodunda (24 ve 48 saat) ve tüm uygulama yöntemlerinde (gavaj ve intraperitoneal) anlamlı bir biçimde artışa neden olduğunu saptamışlardır.

Perez ve arkadaşları (2008) 48 saat endosülfanın çeşitli dozlarıyla (0,01, 0,02, 0,5 ve 5 $\mu\text{g/L}$) muamele edilen sucuk makrofik *Bidens laevis* L. kök

uçlarında bu maruziyetin MN frekansı ve anafaz-telofazda kromozomal anormalliklere neden olduğunu belirlemişlerdir. MN frekansının, 0,01 $\mu\text{g/l}$ ve 5 $\mu\text{g/l}$ 'ye maruz kalan bitkilerde 0-3 arasında olduğunu gözlemişlerdir. Bununla beraber, doza bağlı olarak anafaz ve telofazdaki kromozomal aberasyonlardaki artışının önemli düzeyde olduğunu bildirmişlerdir. 5 $\mu\text{g/l}$ 'de yüksek oranda kalgın kromozomların gözlemlenmesi sonucu iğ ipliği ile etkileşen endosulfanın normal kromozom göçünü engellediğini gözlemlemişlerdir. Endosulfanın, pestisitler tarafından çevresel kirliliğin *in situ* görüntülediği ve biyoanalizde değerli bir tür olan *Bidens laevis* üzerinde genotoksik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir.

Hreljac ve arkadaşları (2008) çalışmalarında insan karaciğer Hep G₂ hücrelerinde, metil paratyon (PT), metil parakson (PO) ve dimefoks (DF) organofosfat bileşiklerinin (OP) düşük konsantrasyonlarının DNA hasarını ve/veya hücre proliferasyonunu indükleyip indüklediğini araştırmışlardır. Organofosfatlı bileşiklerin genotoksitesini komet testi kullanarak değerlendirmişlerdir. MTT analizi ve proliferasyon marker Ki-67 immünotokimyasal kullanarak hücre proliferasyon etkisini değerlendirmişlerdir. PT'nin en düşük konsantrasyonu (1 $\mu\text{g/ml}$), PO'nun (100 $\mu\text{g/ml}$) konsantrasyonundan daha fazla DNA hasarını indüklediğini, buna karşın DF'nin ise DNA hasarını indüklediğini bildirmişlerdir. Kullanılan tüm konsantrasyonlarda (0,01- 100 $\mu\text{g/ml}$), DF hücre proliferasyonunu arttırırken, PT ve PO en yüksek konsantrasyonda (100 $\mu\text{g/ml}$) hücre proliferasyonun azalmasına yol açmıştır. Sonuç olarak, DF mutajenik aktivite gösterirken PT ve PO'nun genotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Das ve arkadaşları (2008) çalışmalarında kültüre edilmiş insan lenfositlerinde asfatin kromozomal anormalliğe ve Komet oluşumları üzerine etkisini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada doza bağlı olarak kromozom anormalliği frekansında artış olduğunu saptamışlardır. Komet testi sonuçlarına göre ise 1, 2, 3, 4, 5, 6 ve 7 μm dozlarında komet kuyruk uzunluğunun artış göstermiş olduğunu, 8, 9 ve 10 μm dozlarında ise nekroz oluşumuna neden olduğunu gözlemlemişlerdir.

Wang ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada Çin Hamster Ovaryum (CHO) hücrelerinde hipoksantin-guanin fosforibozil transferaz (hgp_{rt}) gen mutasyonu, KA ve KKD frekanslarını inceleyerek metoksifosfonilin alt ünitelerini içeren 5 organofosfor insektisit (asfat, diklorvos, metamidofos, monokrotofos, triklorfon) genotoksitesini değerlendirmişlerdir. İnsektisitlerin KKD'yi önemli oranda indüklemiş olduğunu tespit etmişler ve indükleme potansiyelinin sırasıyla asfat > triklorfon > monokrotofos

> metamidofos > diklorvos şeklinde olduğunu gözlemişlerdir. KA test sonuçları incelendiğinde ise; en fazla KA oluşumunu diklorvos ve methamidofosun indüklediğini, monokrotofos ve asfatın şüpheli pozitif etki gösterdiğini, triklorfonun ise herhangi bir etki göstermediğini saptamışlardır. Kromozom aberasyon indüklemeye potansiyelinin diklorvos > metamidofos > monokrotofos > asfat > triklorfon şeklinde olduğunu saptamışlardır. Organofosfor insektisitlerin hiç birinin negatif kontrole göre hgprrt gen mutasyonunu indüklemeye oranının önemli düzeyde olmadığını belirlemişlerdir.

Kocaman ve Topaktaş (2009) çalışmalarında α -sipermetrinin bir ticari formülasyonun (Fastac 100 EC, etken madde %10 α -sipermetrin) insan periferik lenfositlerinde KKD, KA ve MN testleriyle olası genotoksitesini araştırmışlardır. α -sipermetrinin insan lenfositlerinde 24 ve 48 saat uygulama süreleriyle 5, 10, 15 ve 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik dozlarıyla muamele etmişlerdir. α -sipermetrinin tüm konsantrasyonlar ve uygulama sürelerinde önemli oranda KKD ve KA'yı indüklediğini ve MN frekansını ise hem kontrol hem de çözücü kontrolle kıyaslandığında 5 ve 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozlarında önemli oranda arttırdığını saptamışlardır. α -Sipermetrinin en yüksek iki konsantrasyonunda (15 ve 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) ve her iki uygulama sürelerinde yeterli düzeyde binükleer hücre gözlemlenmediğini bildirmişlerdir. α -Sipermetrin 10, 15 ve 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'lik konsantrasyonlarında ve tüm uygulama periyotlarında PI değerini azalttığını tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra α -sipermetrinin tüm konsantrasyonlarda ve her iki uygulama sürelerinde NBI ve MPi anlamlı oranda azalttığını gözlemlenmiştir. Her iki muamele süresinde konsantrasyona bağlı olarak α -sipermetrin PI ve MI azalttığını bildirmişlerdir. α -sipermetrinin 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde ki en yüksek iki konsantrasyonda pozitif kontrolden (MMC) daha sitotoksik ve sitostatik etki gösterdiğini gözlemlenmiştir. Çalışmaya göre α -sipermetrinin ticari formülasyonun insan periferik lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Wang ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada CHO hücrelerinde, metoksfosfonilin alt birimlerini içeren 5 organofosfor insektisit (asfat, diklorvos, monokrotopos, metamidopos, triklorfon) genotoksik etkilerini KKD, KA ve hipoksantin- guanin (hgprrt) gen mutasyonu analizleriyle incelemişlerdir. Bu insektisitlerin KKD'yi indüklemeye potansiyellerinin sırasıyla asfat > triklorfon > monokrotofos > metamidofos > diklorvos şeklinde olduğunu saptamışlardır. Ancak, insektisitlerden sadece diklorvos ve metamidofosun kromozom anormalliklerini indüklemiş olduğunu tespit etmişlerdir. Triklorfonun kromozom anormalliklerini indüklenmediğini, monokrotofos ve asfatın ise; şüpheli pozitif sonuç verdiğini gözlemlenmiştir.

Kromozom anormalliği indüklenme potansiyellerinin ise sırasıyla diklorvos > metamidofos > monokrotofos > asphat > triklorfon şeklinde olduğunu belirlemişlerdir. Bu insektisitlerin hiçbirinin negatif kontrole kıyasla önemli düzeyde hgprrt mutasyonuna neden olmadığını saptamışlardır.

Kurteshi ve arkadaşları (2010) çalışmalarında *Carasius auereus*'a (altın balık) akvaryumda 4 ve 8 gün boyunca Deltametrin WP 250 uygulayarak eritrositlerde olası genotoksik etkisini incelemişlerdir. Muamele edilen balıklarda MN frekansının kontrol grubuna nazaran daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Salch ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, nörotoksin analogu olan tiyosiklam insektisinin 135, 270 ve 540 mg/kg'lık dozlarını erişkin erkek ratlara gavaj yoluyla 24 saat aralıklarla 5 gün süresince uygulamışlardır. Ratların kemik iliğinde MN testi kullanarak tiyosiklamın genotoksik etkiye sahip olup olmadığını analiz etmişlerdir. Son uygulamadan 24 saat sonra ratları kurban etmişler ve kemik iliği hücrelerinde MN frekansını değerlendirmişlerdir. Tiyosiklamın, rat kemik iliğine uygulanan tüm dozlarda mikronukleuslu polikromatik eritrositlerin görülme sıklığında, herhangi bir artışa neden olmadığını saptamışlardır. Polikromatik eritrositlerin/normokromatik eritrositlere oranının (PKE/NKE) $0,50 \pm 0,11 - 0,55 \pm 0,02$ aralığında olduğunu bulmuşlardır. Çalışmadan elde edilen verilere göre; tiyosiklamın etkisinin, ratlarda *in vivo* mikronukleus oluşumunda önemli bir etkiye sahip olmadığını rapor etmişlerdir.

Sankar ve arkadaşları (2010) bu çalışmada ratlarda sipermetrin ile indüklenmiş genotoksisiteye karşı zerdeçalın koruyucu etkisini araştırmışlardır. 28 gün süresince sipermetrin uygulanan (25 mg/kg) ratların kan hücrelerinde DNA hasarının, kemik iliği hücrelerinde ise MN frekansının önemli düzeyde arttığını saptamışlardır. Zerdeçalın (100 mg/kg) MN formasyonunda ve DNA hasarlarında azalmaya neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Sonuç olarak, zerdeçal varlığının, ratlarda sipermetrin ile indüklenmiş genotoksisiteyi azalttığını rapor etmişlerdir.

Şekeroğlu ve arkadaşları (2010) deltametrin ve tiyaklopridin insektisitlerinin tek başlarına ve karışım halinde kullanıldıklarında sıçan kemik iliği hücreleri üzerindeki genotoksik etkisini araştırmışlardır. Kromozom anormalliği ve mikronukleus oranlarının belirlenebilmesi için, Wistar albino ratlara gavaj yoluyla 15 mg/kg tek doz 24 saat ve 3 mg/kg/gün olacak şekilde 30 gün deltametrin, 112,5 mg/kg tek doz 24 saat ve 22,5 mg/kg/gün olacak şekilde 30 gün tiyakloprid ve bu insektisitlerin karışımları 15 + 112,5 mg/kg olacak şekilde tek doz 24 saat ve 3+22,5 mg/kg/gün olacak şekilde 30 gün

boyunca uygulamışlardır. Deltametrin ve tiyaklopridin hem tek başlarına hem de karışım halinde

24 saat ve 30 gün uygulanmasının, MI değerini istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğünü, KA'yı ise istatistiksel olarak önemli derecede artırdığını saptamışlardır. Ayrıca, MP'in en düşük, KA'nın ise en yüksek ve pozitif kontrole en yakın değerlerin, bu insektisitlerin karışım halinde verildiği ratlarda gözlemlenmiştir. Aynı şekilde bu ratlarda MN frekansının kontrole oranla istatistiksel olarak önemli oranda olduğunu saptamışlardır.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, deltametrin ve tiyaklopridin karışım halinde kullanıldıklarında, tek başlarına kullanımlarına oranla daha fazla genotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Sandal ve Yılmaz (2011) çalışmalarında yapısal olarak dört farklı pestisit (endosulfan, bir organoklorin pestisit; klorprifos, bir organofosfat insektisit; sipermetrin, tip II piretroid insektisit ve 2,4-diklorfenoksi-asetik asit, bir klorinat aromatik hidrokarbon asit pestisit) kültüre edilen insan lenfositlerinde komet analizi ile DNA hasarlarını indüklemeye potansiyellerini araştırmışlardır. Lenfosit kültürlerini endosulfan, kloropirifos, sipermetrin ve 2,4-diklorfenoksi-asetik asitin üç farklı konsantrasyonlarıyla (1, 5 ve 10 μM) muamele etmişlerdir. Kloropirifos ve 2,4-diklorfenoksi-asetik asit ve sipermetrinin yüksek konsantrasyonlarıyla muamelenin insan lenfositlerinde DNA göç oranlarında artışa neden olduğunu tespit etmişlerdir. Endosulfanın en yüksek konsantrasyonda (10 μM) bile önemli bir genotoksik etkiye sahip olmadığını gözlemlenmiştir.

Eroğlu (2011) *Hordeum vulgare* L. tohumlarında diklorvosun sitogenetik etkisini araştırmıştır. *H. vulgare* tohumları diklorvosun farklı konsantrasyonlarıyla (0,01; 0,05; 0,1; 0,5 ve 1 mg/l) 10, 24 ve 48 saat süreyle muamele edildiğinde bu kimyasalın kontrole kıyasla mitotik indeksi azalttığını gözlemlenmiştir. Mitotik indekste inhibitör etkisi gösteren diklorvos (DDVP) kimyasalının *H. vulgare* tohumlarında mutajenik ve genotoksik etkilere yol açtığını bildirmişlerdir. DDVP'nin net bir şekilde genotoksik bir potansiyele sahip olduğunu yaptığı çalışma neticesinde gözlemlenmiştir.

Jose ve arkadaşları (2011) yaptıkları araştırmada, iki organofosfat insektisit; malatyon ve monokrotofosun ve iki ağır metal; kadmiyum klorid ve merkurik kloridin genotoksitesini ve sitotoksitesini değerlendirmek için *Penaeus monodon*'dan geliştirilen primer hematosit kültürünü kullanmışlardır. MTT analizi kullanılarak hesaplanan 12 saatlik LC_{50} değerleri sırasıyla malatyon ve monokrotopos için 59.94 ± 52.30 mg ve 186.76 ± 77.00 mg ve kadmiyum klorid ve merkurik klorid için $31.09 \pm 16.27 \mu\text{M}$ ve

$5.52 \pm 1.16 \mu\text{M}$ “dir. Komet analizi ile primer hemositlerde bu kimyasalların DNA hasarına neden olma potansiyellerini değerlendirmişlerdir ve bu kimyasalların hücrelerin % 60’ında DNA hasarına yol açtığını gözlemlemişlerdir.

Salvagni ve arkadaşları (2011) pestisit kullanımının Brezilya ‘da, Guatambuda, Lambedor nehri kıyısındaki çiftlik bölgelerinde, MN testi kullanarak genotoksosite riskini değerlendirmişlerdir. Bölgeden toplanan örnekler *Cyprinus carpio*, *Hypostomus punctatus*, *Rhamdia quelen* ve *Oreochromis niloticus*’da MN frekanslarının 1000 eritrositte 6.21’den 13.78’e yükselmiş olduğunu saptamışlardır. Bu artışın bölge barajlarındaki pestisit kalıntılarının genotoksik potansiyel taşımasından kaynaklandığını ve pestisit kalıntılarının bölgede çevre kirliliğine önemli oranda katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir.

Oliveira ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmada fipronilin farklı dozlarına maruz bırakılan farelerde bu bileşimin potansiyel mutajenik ve genotoksik etkilerini değerlendirmeyi amaçlamışlar ve çalışmada yapay koşullarda hedeflenmeyen organizmalarda fipronilin DNA hasarlarına neden olduğunu saptamışlardır. Farelere 15, 25 ve 50 mg/kg dozlarında fipronil verilmiş ve periferik kan, komet analizi için muameleden 24 saat sonra ve MN testi için muameden 24, 48 ve 72 saat sonra alınmıştır. Elde edilen bulgulara göre; fipronilin 15 ve 25 mg/kg’lık dozlarının önemli bir mutajenik ve genotoksik etki göstermediğini tespit etmişlerdir. Sadece en yüksek dozun (50 mg/kg) muameleden 24 saat sonra DNA hasarına neden olduğunu ve fipronilin mutajenik etki gösterdiğini saptamışlardır. Bu nedenle araştırmacılar, 50 mg/kg ve bundan daha yüksek dozların kullanımının hedeflenmeyen organizmalar üzerinde toksik etkiye neden olacağını bildirmişlerdir.

Mosesso ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmada, Çin hamster ovaryum hücrelerinde (CHO) ve insan periferik lenfositlerinde, biyoinsektisit azadiraktin A’nın (AZA) hücre proliferasyonuna etkisini ve genotoksik potansiyelini incelemişlerdir. AZA’nın genotoksitesini, S9 miks varlığında ve yokluğunda, KKD ve KA yöntemleriyle değerlendirmişlerdir. Komet testi ile de primer DNA hasarını incelemişlerdir. Elde edilen verilere göre; memeli hücrelerinde AZA’nın genotoksik etkisinin olmadığını saptamışlardır.

Asita ve Hatane (2012) soğan (*Allium cepa*) testi ile Wipe-out (WHO, glifosat 360 g/l), K-O Gard® (KOG, deltametrin 10 g/l), Kutworm bait (CWB, sodyum fluosilikat, 100 g/kg), Snail ban (SB, metaldehit, 30 g/kg ve Karbaril, 20 g/kg) ve Koopeks (CPX, permetrin 250 g/kg) pestisitlerinin sitotoksik ve genotoksik olup olmadığını değerlendirmişlerdir. Soğan

tohumları 24 saat WO (78.1, 156.3, 312.5), KOG (156.3, 312.5, 625.0), CWB (78.1, 156.3, 312.5), SB (156.3, 312.5, 625.0), ve CPX (312.5, 625.0,

1250.0) EC50 dozlarıyla maruz bırakılmış ve çimlendirilmiştir. Her bir muamele, T-testi kullanılarak negatif kontrolle kıyaslanmış, sitotoksitesi ve genotoksitesi değerlendirilmiştir. Elde edilen verilere göre, WO (78.1, 312.5), CWB (156.3, 312.5), SB (625.0) ve CPX (1250.0) 'in sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir ($p<0,05$). WO (78,1; 312,5), CWB (156,3; 312,5), SB (625,0) ve CPX (1250,0) ise genotoksiktir ($p<0,05$) ve çoğunlukla yapışık kromozomlar olduğunu gözlemlemişlerdir.

Geriçve arkadaşları (2012) DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane), DDE (1,1-dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethylene) ve DDD (1,1-dichloro-2,2-bis (p chlorophenyl) ethane) pestisitlerinin insan lenfositlerinde sitokinezis engelleyici mikronükleus testi ve komet testi ile olası genotoksik etkilerini araştırmışlardır. $0,1 \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ DDT, $4,1 \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ DDE ve $3,9 \mu\text{g}/\text{ml}^{-1}$ DDD dozlarıdaki bileşimlerin 1, 6 ve 24 saat maruziyetten sonra hücrelerde DNA hasarlarında artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. 24 saat muamele edilen hücrelerde mikronükleatlı hücrelerin sayılarında sırasıyla DDD, DDE ve DDT için kontrol grubuna nazaran $2,5 \pm 0,71$ 'den $23,5 \pm 3,54$ 'e, $13,5 \pm 0,71$ ve $16,5 \pm 6,36$ önemli düzeyde artış olduğunu bildirmişlerdir. Benzer bir etki, her bir bileşik için kontrole kıyasla, sırasıyla $1,81 \pm 0,16$ 'den $17,24 \pm 0,55$, $11,21 \pm 0,56$ ve $9,28 \pm 0,50$ komet testi kullanarak önemli oranda komet kuyruk uzunluklarında, DNA hasarı oranlarında artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda, Fpg-komet analizinin, bu kimyasalların oksidatif DNA hasarını uyarılması raporunda başarısız olduğunu saptamışlardır. Bunun yanında, hücre ölüm tipi, baskın nekrozis ve difüzyon analizi kullanarak belirlemişlerdir.

Roma ve arkadaşları (2012) farelerin periferik lenfositlerinde, intraperitoneal yolla permetrin uygulayarak mikronükleus analizi ile sitogenetik ve genotoksik potansiyele sahip olup olmadığını araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, test edilen tüm dozlarda 24 saat muamele süresi sonunda genotoksik ve mutajenik etki gösteren permetrinin, DNA hücrelerinde hasara yol açma özelliğine sahip olmaması, kısmen toksik olan bu kimyasal ürünün sınıflandırılması ile ilgili çelişki olabileceğini saptamışlardır.

Abdelaziz ve arkadaşları (2012) güneş radyasyonları ile beraber ve asetamiprid ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde, asetamipridin genotoksitesini değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda, KA testi ile açık alanda güneş ışığının, ultraviyole, gözle görülebilen ve kızıl ötesi ışınların mutajenik etkilerini değerlendirmişlerdir. Sonuçlara göre asetamipridin,

insan lenfositlerinde, tüm dozlarda (0,01; 0,1; 1; 10; 100 ve 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$) kontrol grubuna oranla, KA'nın önemli ölçüde indüksiyonuna neden olmadığını tespit etmişlerdir. İnfrared radyasyonun diğer radyasyonlardan daha tehlikeli olabileceğini ve sağlık problemlerine yol açabileceğini saptamışlardır. Elde edilen verilere göre, insan lenfositlerinde lazer ışınlarıyla asetamiprid beraber uygulandığında doğadaki güneş ışınlarının etkisini stimüle ettiğini ve bu durumun asetamipridin tek başına uygulamasından daha büyük genotoksititeye yol açtığını bildirmişlerdir.

Calderón-Segura ve arkadaşları (2012) insan periferik lenfositlerini *in vitro* olarak dört farklı insektisit; Kalipso (tiyakloprid), Poncho (klothiyanidin), Gasho (imidakloprid), Jade (imidakloprid) farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmışlardır. Bu kimyasalların olası genotoksik ve sitotoksik etkilerini alkalik komet ve tripan mavisi tekniklerini kullanarak analiz etmişlerdir. DNA hasarı olup olmadığını genotoksik parametrelerden; kuyruk uzunluğu ve komet frekansını kullanarak değerlendirmişlerdir. Çalışılan bu dört insektisitten genotoksitesi en yüksek olan Jade olduğunu belirlemişlerdir. 18×10^{-3} M Jade, 2.0×10^{-3} M Gasho, 2.0×10^{-1} M Kalipso ve 1.07 M Poncho dozları uygulanan hücrelerde sitotoksikite gözlemişler ve 30×10^{-3} M Jade, 3.3×10^{-1} M Gasho, 2.8×10^{-1} Kalipso ve 1.42 M Poncho dozlarında ise hücre ölümlerinin meydana geldiğini belirlemişlerdir. Bu çalışmada, ticari neonikotinid insektisitlerin *in vitro* insan lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik etkisi olduğunu rapor etmişlerdir.

Timuroğlu ve arkadaşları (2012) organofosfor insektisitlerden forat (PHR) ve triklorfanın (TKF), *in vitro* insan periferik lenfositlerinde genotoksik etkilerini kromozomal aberasyonlar, kardeş kromatid değişimi, mikronükleus ve komet testleri ile araştırmışlardır. Ayrıca PHR ve TKF'nin etkileri mitotik indeks (MI), replikasyon indeksi (RI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI)'nde de değerlendirmişlerdir. Her insektisitte tüm muamele sürelerinde (24-48 saat) ve konsantrasyonlarda kromozomal anormallik frekansında ve KKD/hücre oranında önemli düzeyde artışa yol açtığını bildirmişlerdir. TKF'nin en yüksek dozunun (37,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 48 saat muamele süresi sonunda oldukça toksik olduğunu tespit etmişlerdir. Hemen hemen tüm konsantrasyonlarda MN frekansında da önemli bir artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. PHR ve TKF'nin RI ve NBI'nde anlamlı olmayan azalmaya yol açtığını gözlemlemişlerdir. Bunun yanı sıra, TKF'nin 24 saat muamele edilen 9,38 ve 18,75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozları ve 48 saat muamele edilen 18,75 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozu önemli oranda azalmaya neden olmuştur PHR'ın 24 ve 48 saat muamele edilen tüm konsantrasyonlarında mitotik indekste dikkate değer bir azalma olduğunu saptamışlardır. Her iki insektisit tüm muamele sürelerinde komet analizi sonuçlarına göre primer DNA hasarlarında anlamlı oranda artış olduğunu

tespit etmişlerdir. PHR'ın (sadece en yüksek dozu olan 2,00 µg/ml) ve TCF'nin bütün konsantrasyonlarındaki komet kuyruk uzunluklarında ve şiddetlerinde anlamlı bir şekilde artış olduğunu gözlemlenmiştir. Çalışmadan elden edilen verilere göre; *in vitro*'da insan lenfositlerinde PHR ve TCF' nin klastojenik, mutajenik ve anojenik etkisi olduğunu ve DNA hasarlarına yol açtığını bildirmişlerdir.

Mesi (Dizdari) ve Kopluki (2013) *Allium sepa* L. Kök uçlarında linden ve diklofop-metilin sitotoksik ve genotoksik potansiyellerini incelemişlerdir. Soğan köklerini her pestisidin üç farklı (1/4, 1/2 ve EC₅₀) dozuyla 24 saat muamele etmişlerdir. Kök ucu hücrelerinde; mitotik ve faz indeksleri, interfaz nükleer volümü ve kromozomal aberasyon oranı ve tiplerini değerlendirmişlerdir. Sırasıyla diklofop-metil ve linden için, interfaz nükleer volümü % 54' ten 49'a ve % 42' den 36'ya düşerken, mitotik indeksin % 59' dan 45'e ve % 37'den 24'e azaldığını belirlemişlerdir. Anormal hücre frekansında da dikkate değer şekilde önemli artışlar olduğunu saptamışlardır. Çalışmadan elde edilen verilere göre, analiz edilen her iki pestisitte (yaygın bir şekilde Ermenistan tarım alanlarında on yıldır kullanılan) insan sağlığı ve biotalarda hasara yol açmış olduğunu ve tarım ürünlerinde sito/genotoksik etkiyi potansiyel olarak indüklediğini gözlemlemişlerdir.

Nazam ve arkadaşları (2013) bir organofosfor insektisit olan diklorvosun *Mus musculus* hemapoitetik kemikiliği hücrelerindeki olası genotoksik etkisini değerlendirmek için *in vivo* MN, MI ve KA analizleri yapmışlardır. Farelere, diklorvosun 0.06, 0.08 and 0.13 mg/kg dozlarını intraperitoneal olarak vermişlerdir. Deneysel koşullar altında, MN frekansında, herhangi bir dozda veya polikromatik (PCE) ve normokromatik (NCE) eritrositlerin örneklem zamanında dikkate değer bir artış olmadığını saptamışlardır. Bu çalışmada, diklorvosun fare kemik iliği hücrelerinde subletal dozlarda genotoksik etki göstermediğini saptamışlardır. Hücrelerde çeşitli yapısal kromozomal anormallikler gözlemlemişler ama kontrol grupları ile diklorvos muamele edilen gruplar arasında KA ve MI üzerine istatistiksel ($p < 0,05$; Man-Whitney U-testi) olarak anlamlı bir fark olduğunu gözlemlememişlerdir. Çalışmaya göre, diklorvosun subletal dozlarında *in vivo* da negatif bir genotoksisiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Dilek ve Muranlı (2013) bu çalışmada, 11-siyalotrin (LCT) ve α-sipermetrin (CYP) insektisitlerinin 1; 2; 3,75; 7,5; 15 ve 30 µM'lık konsantrasyonlarının insan periferik lenfositlerinde genotoksik, sitotoksik ve anojenik etkilerini MN ve floresan *in situ* hibridizasyon (FISH) metodlarını kullanarak araştırmışlardır. Tüm konsantrasyonlar, MN frekansı ve apoptozis etkileri değerlendirmek için test edilirken, FISH analizi için sadece 1 ve 2 µM LCT

ile 7,5 ve 15 μM 'lık CYP konsantrasyonlarını test etmişlerdir. Apoptotik etkiyi saptayabilmek için akrinin oranj/etidyum bromid floresan boyama metodu ve sitotoksik etkiyi ise tripan mavisi kullanarak değerlendirmişlerdir. Tüm dozlarda, insektisitlerin her ikisinin de sitotoksik etki gösterdiğini ve LCT'nin 15–30 μM ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$), CYP'nin ise 2 ve 30 μM konsantrasyonları arasında ($p \leq 0.05$; $p \leq 0.01$) apoptotik etkiye sahip olduğunu saptamışlardır. LCT ve CYP'nin iğ ipliği oluşumunu olumsuz etkilediğini ve sentromer veya kinetokor fonksiyonlarının hasar görmesine sebep olabileceğini bildirmişlerdir.

Liman (2014) dikaptonun mutajenik etkisini *Salmonella typhimurium* suşlarını kullanarak Ames testi ile genotoksik etkisini ise insan periferel lenfositlerinde KA, KKD ve MN testleri ile araştırmışlardır. Dikaptonun, 24 ve 48 saatlik uygulamalarda sadece 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonunda KKD frekansında artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Dikaptonun tüm dozlar ve uygulama sürelerinde MN frekansını, KA/hücre oranını ve anormal hücre frekansını indüklediğini saptamışlardır. Araştırmacılar bu kimyasalın tüm konsantrasyonlarda mitotik indeksi, 100 ve 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ konsantrasyonlarında ise nükleer bölünme indeksini istatistiksel olarak önemli derecede düşürerek sitotoksik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Nagya ve arkadaşları (2014) insan periferel lenfositlerde ve insan hepatositlerinde *in vitro* fenotrin maruziyeti sonucunda DNA hasarının artışına neden olup olmadığını araştırmışlardır. Uygulama sonrası DNA'da oksidatif baz hasarı bulgulanması için, modifiye edilen formamidopirimidin DNA glikosilazın komet analizi kullanarak genotoksiteyi değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda bu bileşimin sitotoksik potansiyeli olup olmadığını kombine edilmiş floresan geçerlilik boyasını kullanarak incelemişlerdir. Sonuçlara göre; fenotrinin sırasıyla insan periferel lenfositlerinde ve hepatositlerinde 20 ve 50 μM ' den daha yüksek konsantrasyonlarda, işaretlenmiş sitotoksitenin varlığının olması, doza bağlı olarak ortaya çıkan DNA hasarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu saptamışlardır. İstatistiki bir öneme arz etmemesine rağmen her iki hücre tipinde de oksidatif DNA hasarı olduğunu bulgulamışlardır.

Ruiz de Arcaute ve arkadaşları (2014) laboratuvar koşullarında *Hypsiobas pulchellus* kurbağasına İmidaklorpid' in akut toksitesini ve genotoksitesini değerlendirmişlerdir. Mortalite çalışmaları, IMI (imidaklorpid)'nin LC_{50} (96h) değerinin 84.91 olduğunu göstermiştir (%95 güvenilirlik sınırları, 77.20-93.04). IMI ile kurbağanın 48 saat maruziyeti sonucunda 15 ve 30 mg/lt 'lik dozlarda MN frekansında artış gözlemlerken, 96 saat maruz kalan kurbağalarda sadece 15 mg/lt dozunda MN frekansında artış olduğunu

saptamışlardır. Ayrıca, hem 15 ve 30 mg/l ile 96 saat IMI ile muamele edilen kurbağalarda hem de 48 saat 15 mg/l IMI konsantrasyonlar ile maruz bırakılan kurbağalarda diğer nuklear anormaller, kesikli ve blebbed nükleus ve binükleuslu hücrelerin olduğunu gözlemlemişlerdir. 48 saat ve 96 saat 30 mg/l IMI kimyasalı ile muamele edilen kurbağalarda genetik hasar indeksinde artışa yol açtığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışma, Arjantin’ de doğal bir amfibia türü olan iribaşlar üzerinde IMI’ nın akut öldürücü ve öldürücü olmayan etkilerinin ilk delillerini sunmaktadır.

Rim ve Kim (2015) bu çalışmada geniş bir uygulama alanına sahip olan allil klorürün mutajenitesini erkek ICR fare kemik iliğinde MN testi ile değerlendirmişlerdir. Test sonuçlarına göre; bu kimyasalın hücrelerde MN frekansını indüklediğini fare kemik iliği hücrelerinde mutajenik etkisinin olmadığını saptamışlardır.

• Diğer İnsektisit Grubunda Yer Alan İnsektisitlerle İlgili Yapılan Çalışmalar

Özparlak (2006) ilk olarak fipronilin tavuk embriyolarının gelişimi üzerindeki olası embriyotoksik ve teratojenik etkilerinin belirlenmesini amaçlamıştır. Fipronil grupları ile kontrol grubu arasındaki anormal embriyo oranı istatistiksel bir öneme sahip olmadığını belirtmiştir. Bununla birlikte fipronil gruplarında canlı ve rölatif embriyo ağırlıkları ile embriyoların CRL değerlerinin kontrol grubuna kıyasla önemli düzeyde azalma gösterdiği belirlendi. Bu sonuçlar, fipronilin metabolize olmamış formunun tavuk embriyoları üzerinde önemli embriyotoksik etkiye sahip olduğunu, bununla birlikte teratojenik etkiye sahip olmadığını göstermektedir. Çalışmada ikinci olarak, Fipronil (161; 80,50 ve 40,25 $\mu\text{g}/\text{yumurta}$ dozlarında) kuluçka başlangıcında ve 8. gününde dömlü tavuk yumurtalarına enjekte ederek ve immün sistem üzerindeki olası zararlı etkilerini değerlendirmişlerdir. Tüm Fipronil gruplarındaki embriyolarda kuluçkanın 11. gününde iskelet sistemi gelişiminde gecikme gözlemlemişlerdir. Sonuçlar, tavuk embriyolarında fipronilin metabolitlerinin doğal formundan daha toksik olduğuna işaret etmektedir.

Ghisi ve arkadaşları (2010) *Rhamdia quelen* balıklarında Fipronil insektisitinin (0,05, 0,10 ve 0,23 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dozları) nuklear morfolojik başkalaşım, mikronükleus (MN) ve komet testi kullanarak genotoksik etkisini araştırmışlardır. Sonuçlara göre, eritrositlerde sadece test edilen fipronilin en yüksek dozu hasara yol açmıştır ama solungaç hücrelerinde bu konsantrasyonların hiçbirinin DNA’yı değiştirmeye yeterli olmadığını gözlemlemişlerdir.

Oliveira ve arkadaşları (2012) fipronilin farklı dozlarının farelerde potansiyel mutajenik ve genotoksik etkilerini araştırmışlardır ve çalışma da yapay koşullarda hedeflenmeyen organizmalarda fipronilin hasarlara neden olduğu belirtilmiştir. Fareler 5 gruba ayrılarak negatif ve pozitif kontrol grupları olmak üzere fipronilinin 15, 25 ve 50 mg/kg dozlarına maruz bırakılmıştır. Farelerden alınan periferik kan örneklerinde, komet testi ve mikronükleus testi yapmışlardır. Elde edilen bulgulara göre; sadece test edilen en yüksek dozun (50 mg/kg) muameleden 24 saat sonra DNA hasarına neden olduğunu ve fipronilinin mutajenik potansiyel etkisi gösterdiğini saptamışlardır.

Moura de Bortoli ve arkadaşları (2009) yaptıkları çalışmada soya fasülyesi tarlalarında pestisitlere (fipronil de dahil olmak üzere toplam 10 pestisit) maruz kalan 29 Brezilyalı tarım işçisinden alınan kan örneklerinde mikronükleus analizi yapmışlardır. Elde edilen sonuçlara göre, işçilerdeki MN düzeyinin, kontrol grubuna oranla anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Basilio da Conceição ve Protti (2012) tavuk embriyolarında test edilen maddelerin (Quinklorak, Fipronil ve Pirazosulfuron-etil) potansiyel genotoksik etkisinin değerlendirilmesi için mikronükleus testini kullanmışlardır. *Gallus gallus domesticus*un döllenmiş yumurtalarını 11 gün boyunca inkübe etmişler ve toplamışlardır. Sitotoksik hasarı değerlendirmek için de polikromatik hücreler ve normokromatik hücreler arasında ki oran hesaplayarak (PCE/NCE) değerlendirmişlerdir. Fipronil insektisitinin 2,7 mg/kg dozunun yanı sıra 104,2 mg/kg pirazosülfüron-etil herbisiti mikronükleus oluşumunda önemli bir etki göstermiştir. Test edilen dozların hiçbirinde Quinklorak herbisidinin önemli bir genotoksik etki göstermediğini saptamışlardır.

Girgis ve arkadaşları (2013) çalışmalarında mikronükleus ve kromozomal aberasyon testleri kullanarak fipronilin iki farklı dozuna (25 ve 50 mg/kg) farklı sürelerde (24, 48 ve 96 saat) maruz kalan Wistar albino ratlarında bu bileşimin potansiyel mutajenik ve genotoksik etkilerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada fipronilin ratlarda mutajenik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu bulmuşlar ve kromozomal aberasyonları ve mikronükleusu yüksek oranda indüklediğini saptamışlardır.

Francisco da Silva ve arkadaşları (2015) ratlar ve kedilerde, bir ve on kat teropatik doz uygulamasının İndoksakarb'ın mutajenitesine etkisini mikronükleus testi kullanarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada 40 tane wistar erkek rat ve 20 tane bred erkek ve dişi kedi seçilmiştir. İndoksakarb'ın iki türde ve farklı dozlarda da mutajenik aktivite göstermediğini gözlemlemişlerdir. Farklı hayvan türleri, genç ve yetişkinler olmak üzere mikronükleuslu

eritrositlerin sayısı farklı olabileceğini ve özellikle genç hayvanlarda spontan mikronükleus varlığını saptamışlardır. Bu çalışmada kullanılan türler yüksek oranda mikronükleuslu eritrositlere sahip olması mükemmel biyomonitör mutajenitesi olduğunu düşündürmüştür. Sonuç olarak, topikal olarak indoksakarb kullanılan rat ve kedilerde, benzer çalışma yapanlarda olduğu gibi, rat ve kedi türlerinde mutajenitenin olduğunu gözlemlemişlerdir.

Badgujar ve arkadaşları (2016) fipronilin çeşitli dozları (2,5; 12,5 ve 25 mg/kg) yetişkin erkek ve dişi farelere gavaj yöntemiyle verilerek mikronükleus (MN), kromozom aberasyon (KA) ve komet analizi ile genotoksik etkisini araştırmışlardır. Fipronil hem erkek hem de dişi farelerde, polikromatik eritrositlerde mikronükleus frekansında (MN) önemli artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde, kemik iliğindeki yapısal CA ve lenfositlerdeki DNA hasarları, kontrol grubuna kıyasla fipronile maruz bırakılan dişi ve erkek ratlarda yüksek oranda önemli olduğunu bildirmişlerdir. Fipronille indüklenmiş genotoksisiteye karşı uygulama öncesi verilen E vitaminin hayvanlarda CA'yı % 63,28: MN formasyonunu % 47,91 ve DNA hasarını ise % 74,70 azalttığını saptamışlardır.

Lovinskaya ve arkadaşları (2016) yaptıkları çalışmada kullanılan tüm dozlarda (4,75, 9,50, 19 ve 31,70 mg/kg) fipronilin genotoksik etkisini komet analizi ile saptamışlardır. Fipronil 9,50 mg/kg'lık dozunda, kendiliğinden mutasyon oranını ($p < 0,01$ ve $p < 0,001$) aşan frekanslarla fare kemik iliği hücrelerinde tek ve tekrarlanan maruz kalmalarda (10 gün içinde) aberasyonları indüklemektedir. Fipronil, spermatositlerde sinaptonemal komplekslerin yapılarında anormalliklere neden olurken, aynı zamanda deneysel hayvanların germ hücrelerinde genotoksik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

3. Materyal ve Metod

Bu çalışmada materyal olarak sağlıklı, sigara içmeyen ve yaşları birbirine yakın iki bayan (20-24 yaş) ve iki erkekten (20-24 yaş) alınan periferik kan ve test maddesi olarak piridin azomethines ailesinin bir üyesi olan pimetrozin etken maddeli Greensun insektisit maddesi kullanılmıştır.

24 ve 48 saatlik muamele süreleri için ön çalışma ile denenmiş olan pimetrozin dozları 5, 10, 20 ve 40 µg/ml olarak belirlenmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddelerin Özellikleri ve Hazırlanışları

3.1.1.1. *Pimetrozin*

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan bileşiğin genel adı {1,2,4-triazin, 3(2H)-1,4,5-dihidro-6-metil-4-[(3- piridinilmetilen) amino]}'dır.

Pimetrozin piridin grubunda yer alan bir insektisittir. Pamuk, tütün, meyve ve sebzelerde sorun olan bazı zararlılar ile mücadelede kullanılmaktadır. Pimetrozinin etki mekanizması biyokimyasal olarak açıklanamamaktadır, ancak sinir kaslarına etki ettiği bilinmektedir. Fizyolojik olarak zararlı böceğin stylusları ile sokup emmesini engellemektedir (EPA, 2000).

Sıcakkanlılar için orta derecede zehirli sınıftadır. Toprakta kalıcı olmayıp yer altı suyuna karışma skoru düşük, kuşlara, solucanlara ve balıklara orta derecede, memelilere ve arılar için düşük derecede akut toksisiteye sahiptir.

3.1.1.1.1. Pimetrozin'in Kimyasal Özellikleri

Sistemik isim: {1,2,4-triazin-3(2H)-one,4,5-dihydro-6-methyl-4-[(3-pyridinilmetilen) amino]}

CAS kayıt no: 123312-89-0

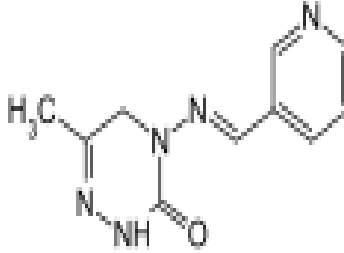
Üretici firma: Syngenta Crop Protection, Inc

Kapalı Formülü: $C_{10}H_{11}N_5O$ **Molekül Ağırlığı:** 217.23 g/mol
Yoğunluğu: 1.36 g/mL (23 °C) **Erime Sıcaklığı:** 217 °C

Çözünürlük: 0.29 g/l (25 °C)

Fiziksel Durumu: kristal (granül) katı

Sıçanlarda Oral LD₅₀: 5820 mg/kg



Şekil 3. 1. Pimetrozinin kimyasal formülü

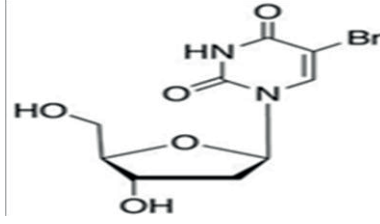
3.1.1.2. 5'-Bromo-2'-deoksiuridin (BrdUrd)

Kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla BrdUrd çözelitisi kullanılmıştır. BrdUrd eriyiği bidistile su içerisinde hazırlanmış daha sonra 0.2 μ m por çapına sahip membran filtre (Sartorius marka) ile steril edilmiştir. Bu eriyikten 50 μ g/mL alınarak kültür tüplerine ilave edildiğinde kültür son konsantrasyonun 10 μ g/mL olacak şekilde BrdUrd içermiştir.

Kimyasal adı: 5'-Bromo-2'-deoksiuridin

Kapalı formülü: $C_9H_{11}BrN_2O_5$ **Molekül ağırlığı:** 307.10 g/mol **Erime noktası:** 191-194°C **CAS No:** 59-14-3

Sigma No: B 5002



Şekil 3. 2. BrdUrd'in açık formülü

3.1.1.3. Sitokalsin B

Hücre bölünmesi esnasında sitokinezi engellemek ve iki nukleuslu hücreler oluşturmak için mikronukleus (MN) testinde, Sitokalsin B kullanılmıştır (0,6 µg/mL). Stok çözelti, 5 mg sitokalsin B'yi, 9 mL %50'lik alkolde çözerek elde edilmiştir.

Kimyasal adı: Sitokalsin B

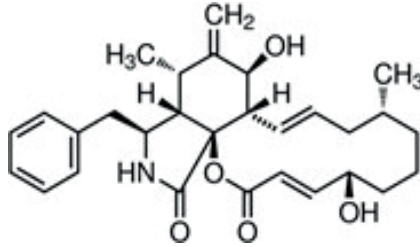
Kapalı formülü: $C_{29}H_{37}NO_5$

Molekül ağırlığı: 479,61 g/mol **Erime noktası:** 218-223°C **Kaynama noktası:** 218-223°C

Safılık düzeyi: % 98

CAS No: 14930-9

Sigma No: C-6762



Şekil 3. 3. Sitokalsin B'nin açık formülü

3.1.1.4. Entellan (Merck No: 7961)

Entellan, kuruduktan sonra hava kabarcığı oluşturmayan akıcı bir preparat kapatma solüsyonudur. Hazırlanan preparatlar daimi hale getirilirken lam ve lamelin birbirlerine yapıştırılmasında kullanılmış olan şeffaf bir sıvıdır.

3.1.1.5. Fiksatif

Kardeş kromatid değişimi (KKD) ve kromozom anormalliği (KA) deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanan fiksatif, 3 hacim metil alkol ile 1 hacim asetik asitin karıştırılması sonucu elde edilmiştir. MN deneyleri için iki farklı fiksatif kullanılmıştır. Birinci fiksatif; 1 hacim glasiyal asetik asit, 5 hacim metanol ile karıştırılarak elde edilen karışımın 1/1 oranında %0.9 NaCl ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. İkinci fiksatif; 1/5 glasiyal asetik asit/ metanol alkol karışımına NaCl ilave edilmeden kullanılmıştır. Her seferinde preparat yapım işleminden iki saat önce fiksatif taze olarak hazırlanmış ve +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

3.1.1.6. Giemsa (Merck No: 9204)

Giemsa boyası, DNA'daki fosfat grubu için spesifik olup DNA'nın adenin-timin yoğunluğu yüksek bölgelerine fazlaca bağlanır ve de kromozom bantlama (G-bantlama) uygulamalarında da kullanılmaktadır. Sorensen tamponu içinde %5'lik tampon A, tampon B ve giemsa boyası karıştırılarak hazırlanan boya eriyiği, filtre kağıdından geçirildikten sonra kromozomları boyamak için kullanılmıştır.

3.1.1.7. Hipotonik Çözelti

Çalışmada kullanılan hipotonik eriyik %0.4'lük KCl (Merck No: P9333) 1 lt'lik erlende 4 gr KCl 1000 ml distile su ile karıştırılması ile hazırlanmıştır. Eriyik stok halinde hazırlanıp, ağzı kapalı cam kap içerisinde buzdolabında (+4°C) saklanmıştır. Her preparasyondan yaklaşık bir saat önce yeterli miktarda hipotonik eriyik, inkübatörde 37°C'ye kadar ısıtılarak kullanılmıştır. Bu çözelti yoğunluk olarak hücrenin plazmasından daha az yoğunluk içerdiği için lenfositlerin su alarak şişmesini ve preparasyonun kaliteli olmasını sağlamaktadır.

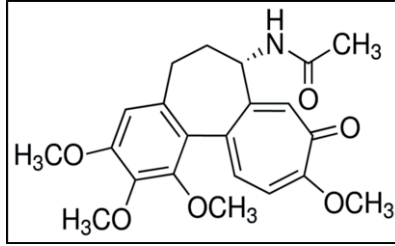
3.1.1.8. Kolşisin (Sigma No: C9754)

Kolşisin kimyasal bir alkaloid olup kromozom preparatlarının hazırlanmasında metafaz bloklayıcı mitotik bir zehir (iğ ipliği teşekkülünü engelleyici) olarak kullanılmaktadır. Kolşisin çözeltisi saf su içerisinde hazırlanmış ve kromozom medyumunun her mililitresinde 0.06 µg olacak bir biçimde (0.06 µg/ml) 2.5 ml'lik kromozom medyumuna kültürün 70.saatinde ilave edilmiştir. Kolşisine ait ayrıntılı teknik özellikler aşağıda verilmiştir.

Kimyasal adı: Kolşisin **Kapalı formülü:** $C_{22}H_{25}NO_6$ **Molekül ağırlığı:** 399.4

Etil asetat içeriği: %3.4

Kloroform içeriği: < %0.1



Şekil 3. 4. Kolşisin'in açık formülü

3.1.1.9. Kromozom Medyumu (PB-Max No: 12552-013)

Bu çalışmada Gibco firmasının ürettiği kromozom medyumu hücre kültürü için kullanılmıştır. PB-Max medyumu tam medyumdur. PB-Max içerisinde fetal buzağı serumu, L-glutamine, gentamicin sulfate ve phytohemagglutinin bulunmaktadır. Bu medyum steril kültür tüplerine 2.5 ml olacak şekilde paylaştırılmış ve bu miktarlarda kullanılmıştır.

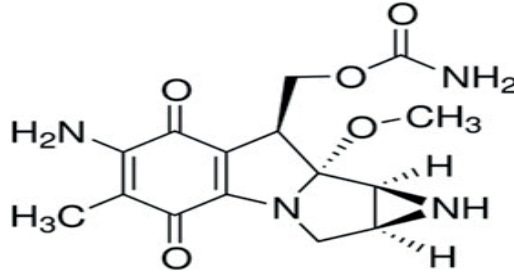
3.1.1.10. Mitomisin C (MMC) (Sigma No: Y0000378)

Bu çalışmada Mitomisin C (Sigma), pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Saf suda çözülerek elde edilmiş olan stok Mitomisin C, kültürde son hacmi 0.25 µg/ml olacak şekilde ilave edilmiştir.

Kimyasal adı: 6-Amino-1,1a,2,8,8a,8b-hekzahidro-8-(hidroksimetil)-8a-metoksi 5- metil-azirino[2',3':3,4] pirrolo[1,2-a]indole-4,7-dionekarbamat (ester)

CAS No: 50-07-7

Kapalı formülü: $C_{15}H_{18}N_4O_5$ **Molekül ağırlığı:** 334.33 g/mol **Erime noktası:** >360°C



Şekil 3.5. Mitomisin C'nin açık formülü

3.1.1.11. Nitrik Asit (HNO_3 Sigma 438073)

Nitrik asit, sitogenetik çalışmalarında deneyden iki gün önce lamaları temizlemek amacıyla kullanılan kuvvetli bir asittir ve HNO_3 formülüyle gösterilir. 1 N HNO_3 çözeltisi olarak hazırlanmakta ve laboratuvarında kapalı plastik bir kapta saklanarak her defasında tekrar tekrar kullanılmaktadır.

3.1.1.12. Sorensen Tamponu (Sorensen Buffer)

Kardeş kromatid değişimini inceleyebilmek için preparat yapımı sırasında preparatlar tampon karışımı içerisinde ultraviyole (UV) lambası ile ışınlandırılmıştır. Sorensen tamponu, ortamın pH dengesini ayarlamak için kullanılmaktadır. Ayrıca bu tampon %5'lik Giemsa boyası hazırlanmasında da kullanılmıştır.

Bu çözelti, Tampon A ve Tampon B olmak üzere iki stok olarak hazırlanmış ve çalışmanın amacına uygun olarak birbirleriyle değişik miktarlarda karıştırılarak kullanılmıştır. Buzdolabında $+4^\circ\text{C}$ 'de saklanmıştır.

Hazırlanışı:

Tampon A: 11,34 gr KH_2PO_4 250 ml saf su içinde eritilmiştir (pH=4.8).

Tampon B: 14,83 gr $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 250 ml saf su içinde eritilmiştir (pH=9,3).

3.1.1.13. Standart Saline Citrate (SSC) Eriyiği

Bu solüsyon için 11,05 gr tri-sodyum sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) tartılarak bir miktar saf su içerisinde eritilmiştir. Daha sonra 21,9 gr NaCl tartılarak yine saf su içerisinde ancak ayrı bir kapta eritilmiştir. İki eriyik, bir şişeye dökülerek iyice karıştırılmış ve üzerine 500 ml oluncaya kadar saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan bu stok eriyik $5 \times \text{SSC}$ 'dir ve bu eriyik buzdolabında saklanmıştır. KKD'yi incelemek için deney yapılırken bu stoktan 20 ml

alınarak üzeri 100 ml oluncaya kadar saf su ile tamamlanmış ve elde edilen $1 \times \text{SSC}$ eriyiği kullanılmıştır.

3.1.2. Kullanılan Deney Ekipmanları

3.1.2.1. Hassas Terazî

Katı kimyasalların tartılmasında hava akımlarına karşı özel cam paravanlarla korunan ve 0,0001 gr hassasiyetindeki Gec Avery marka terazi kullanılmıştır.

3.1.2.2. İnkübatör

Kan kültürlerinin inkübasyonunda ve ekimi yapılmış bazı besiyerlerin ve bazı kültürlerin 37°C 'de sabit tutulmasında, sıcaklık toleransı $0-100^\circ\text{C}$ 'ye ayarlanabilen Inkucell marka inkübatör kullanılmıştır.

3.1.2.3. Mikroskop

Preparatları incelemek için koordinat cetveli, immersiyon objektifi ve kamera monte aparatı olan x4, x10, x40, x100 büyütme gücüne sahip Olympus marka binoküler ışık mikroskobu kullanılmıştır.

3.1.2.4. Santrifüj

Çalışmada kanın şekilli elemanlarını çöktürebilmek için rotor çapı 21 cm olan ve 4000 rpm'e kadar yükselebilen devir hızı, 99 dk'lık zaman ayarlayıcı, açılabilir başlığa sahip ve 28 tüp kapasiteli Hettic Universal marka santrifüj kullanılmıştır.

3.1.2.5. Su Banyosu

Hücre kültürü preparatları hazırlandıktan sonra, kardeş kromatidlerin farklı boyanmasında kullanılan SSC eriyiğinin belirli sıcaklıklarda ($58 - 60^\circ\text{C}$) sabit kalmasını sağlamak amacıyla zaman ayarlı BM 302 Nüve marka su banyosu kullanılmıştır.

3.1.3. Lamların Temizlenmesi

Kültür süresinin bitiminden iki gün önce etiketli olan lamlar şaleye dizilerek üzerlerini iyice örtecek şekilde 1 N nitrik asit (HNO_3) konmuştur. Şalenin ağzı kapatılarak bu şekilde 24 saat bekletilmiştir. Süre bitiminde lamlar yarım saat akan çeşme suyunda iyice yıkanmıştır. Lamlar 3-4 defa saf sudan geçirildikten sonra şale saf su ile doldurularak buzdolabında ($+4^\circ\text{C}$) saklanmıştır.

3.1.4. Sterilizasyon

3.1.4.1. BrdUrd Eriyiğinin Sterilizasyonu

BrdUrd eriyiği steril bir cam kap içinde (erlen) bulunan ve steril olan saf su içinde 5'-bromo-2'-deoxyuridine maddesinin eritilmesiyle hazırlanmıştır. Bu eriyik steril şartlarda por çapı 0.2 µm olan bakteri filtresinden (Sartorius, membran filtre) geçirilerek steril edilmiştir. Sonra vida kapaklı steril cam tüplere konulan bu eriyik, etrafi alüminyum folyo ile kapatılarak buzdolabında saklanmıştır.

3.1.4.2. Saf Suyun Sterilizasyonu

Bazı stok çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan steril suyun hazırlanması için 100 mL'lik damıtık su, temiz vida kapaklı bir kültür şişesine doldurularak şişe ağzı pamukla iyice kapatılmıştır. Sterilizasyon esnasında otoklavdaki buhardan pamuğun ıslanmaması için üzeri alüminyum folyo ile örtülmüştür. Şişedeki saf su otoklavda 1.2 atm buhar basıncında ve 121 °C'de 20 dk steril edilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) ve Kromozom Anormalliklerini (KA) Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İnceleme

Bu tür çalışmaların uluslararası yönergeler göre planlama, uygulama ve yorumlanmasında uygun hareket edilme zorunluluğu bulunmaktadır. Pimetrozinin insan lenfositlerindeki genotoksik etkisinin olup olmadığının araştırıldığı bu çalışmada, Albertini ve ark. (2000)'ları tarafından yayımlanan Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (The International Programme on Chemical Safety = IPCS) yönergesi dikkate alınmıştır.

3.2.1.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması

Bu çalışmada KKD ve KA' yı saptamak amacıyla hücre kültürünün yapılması ve preparatların hazırlanması Evans (1984), Perry ve Thompson (1984)'un metotlarına uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Yaşları birbirine yakın (20-24 yaş), sağlıklı, gönüllü ve sigara içmeyen iki kadın ve iki erkekten alınan 1/10 heparinize edilmiş periferik kanın 0,2 ml'si 2,5 ml kromozom medyumuna (PB-Max) ilave edilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Kanın ilavesinden hemen sonra tüplere son konsantrasyonu steril 5-bromo-2- deoksiuridin ilave edilerek 37°C'deki inkübatörde 72 saat

kültüre alınmıştır. Test maddesinin ön çalışma sonucu belirlenen toksik olmayan dört konsantrasyonu (5, 10, 20 ve 40 $\mu\text{g/ml}$) suda çözülerek toplam hacim 3 μL olacak şekilde, kültürün başlangıcından 24 veya 48 saat sonra tüplere ilave edilmiş ve hücrelerin test maddesiyle 24 veya 48 saat boyunca muamele edilmeleri sağlanmıştır. Ayrıca hem 24 hem de 48 saatlik muamele süreleri için pozitif kontrol olarak MMC (Mitomisin-C) 0,25 $\mu\text{g/ml}$ olacak şekilde verilmiştir. Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (yani kültürün 70. saatinde) metafazları bloklayabilmek için her tüpe hazırlanan kolşisin eriyiğinden (0,06 $\mu\text{g/ml}$) ilave edilmiş ve tüpler hafifçe sallanarak iyice karıştırılmıştır. Kültür süresi olan 72. saatin bitiminde tüplerdeki hücreler 2000 devir/dk (rpm)'da 5 dk. süreyle açılır başlıklı santrifüjde çöktürülmüştür. Üste kalan süpernatant atılarak 0,5-0,7 ml'lik sıvı iyice karıştırıldıktan sonra üstüne ılık (37°C) hipotonik eriyik ilave edilmiştir. Hücrelerde kümeleşmeyi engellemek için hipotonik eriyik ilavesi damla damla ve karıştırılarak yapılmıştır. Her tüpe 5 mL hipotonik eriyik (%0,4 KCl) ilave edildikten sonra ağızları kapatılarak 5 dk süresince inkübatörde 37°C 'de hücrelerin şişmeleri sağlanmıştır. Sürenin sonunda tüpler 10 dk 1200 devir/dk santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Dipte kalan sıvı homojenize edildikten sonra ardından soğuk fiksatif (1/3, asetik asit/metanol) damla damla ve karıştırarak her tüpe yaklaşık 5 ml olacak şekilde ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 20 dk fiksatif ile muamele edilen hücreler 1200 devir/dk'da 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan dipteki kısım homojenize edilip tekrar soğuk fiksatif ilavesi damla damla gerçekleştirilmiştir. Bu işlem toplamda 3 kere tekrarlanmış ve 3. fiksatif muamelesinin sonunda tüpte kalan sıvının berraklaştığı görülmüştür. Şayet 3. fiksatif muamelesinin sonunda dipte kalan çökeltide bir berraklaşma olmaz ise ilave bir fiksatif muamelesi yapılmıştır. Her fiksatif ilavesinden sonra tüpler santrifüj edilerek üstteki sıvı atılmıştır. Son santrifüjden sonra dipte 0,5-0,7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atıldıktan sonra preparat yapma işlemine geçilmiştir.

Tüpün dibinde toplanan hücreler plastik mikropipet ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Pipet içine 4-5 damla olacak şekilde bu hücre süspansiyonundan çekilmiştir. Özel olarak hazırlanmış düzeneğe tutturulan plastik mikropipet ile daha önce temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanmış lamların üzerine 50 cm yükseklikten farklı alanlara hücre süspansiyonu damlatılarak (her lama 3-4 damla) hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Hücre süspansiyonunun lamlara damlatılması esnasında damlaların üst üste düşmemesine dikkat edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

3.2.1.2. *Preparatların Boyanması ve Daimi Preparatların Hazırlanması*

Bir kromozoma ait kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla Speit ve Haupter (1985)'in geliştirdikleri metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla bir günlük preparatlar ışınlama kabına konarak üzeri bir film gibi örtülecek şekilde Sorensen tamponu ile kapatılmıştır. Işınlama criyiği, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B'den alınıp bu karışımın distile su ile 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6.8). Işınlama criyiğinin fazla veya az olması kardeş kromatidler arasındaki kontrast farkını önemli derecede etkilediği görülmüştür. Bu şekilde ince bir tabaka halinde ışınlama criyiği ile örtülen preparatlar, karanlıkta 15 cm yükseklikten 30W'lık 254 nm dalga boyunda ışık yayabilen tek ultraviyole lambası ile 30 dk. ışınlanmıştır. Işınlama bittikten sonra preparatlar 1xSSC criyiği içerisinde 58-60°C arasındaki sıcaklıklarda 60 dk. inkübe edilmiştir. Işınlama süresi bitmeden 15 dk önce %5'lik Giemsa boya criyiği hazırlanmıştır.

%5'lik Giemsa boyası, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B ve 5 ml Giemsa'nın karıştırılarak üzerleri 100 ml saf su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6.8). Sonra bu boya dik bir şale içine filtre kâğıtları ile süzölmüştür. İnkübasyon süresinin sonunda preparatlar 1xSSC criyiğinden alınarak direkt olarak boya içerisine konmuş ve yaklaşık olarak 30 dk boya içerisinde bekletilmiştir (kardeş kromatidler arasındaki en iyi kontrast farkı bu sürede sağlanmıştır). Bu sürenin sonunda preparatlar boyadan çıkarılmış, üç ayrı kaptaki saf su içinden geçirilerek fazla boyanın akması sağlanmıştır. Bundan sonra lamalar dik vaziyette konularak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirilmiştir. Kromozom aberasyonu (KA) inceleme preparatlarının boyanmasında yine aynı şekilde hazırlanmış %5'lik Giemsa solüsyonu 10 dk süreyle kullanılmıştır. Sonraki işlemler KKD preparatlarında yapılanlarla aynıdır.

Boyanmış preparatlar kuruduktan sonra entellan ile kapatılarak daimî hale getirilmiştir.

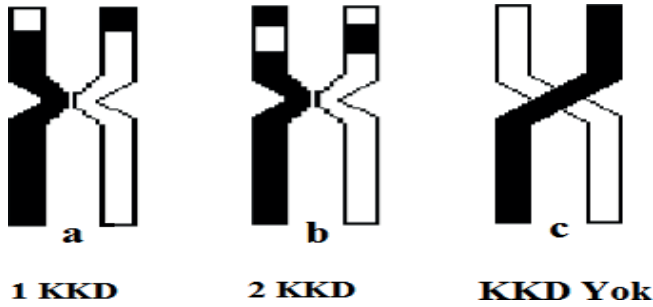
3.2.1.3. *Daimî Preparatlarda Mikroskopik İnceleme*

Hazırlanmış olan daimî preparatlar Olympus CX21 marka ışık mikroskopunda immersiyon objektifi (10 × 100 = 1000 büyütme) ile incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında kardeş kromatid değişimi sayısı (KKD) ve kromozomal anormallikler belirlenmiştir. Aynı preparatlarda birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin sayısı saptanmıştır. Bu incelemeler sonucunda proliferasyon indeksi (PI) ve mitotik indeks (MI) saptanmıştır.

3.2.1.4. Kardeş Kromatid Değişimi Sayısının (KKD) ve Proliferasyon İndeksinin (PI) (Replikasyon İndeksi=RI) Saptanması

3.2.1.5. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Sayısının Saptanması

Kardeş kromatid değişimi sayısı, her kişinin kan kültürüne ait preparatlardan iyi dağılmış ve ikinci mitozu geçiren 50 metafazda (4 kişiden toplam 100 hücrede) saptanmıştır. KKD sayısı bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla belirlenmiştir (Topaktaş ve Speit, 1990). Uçtan parça değişimi olmuş ise bu 1 KKD olarak sayılmıştır (Şekil 3.1.a), benzer şekilde ortadan bir parça değişimi olmuş ise bu 2 KKD olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.1.b). Ancak bu incelemeler esnasında kromatidlerin primer boğum bölgelerinden dönüm yapıp yapmadıklarına dikkat etmek gerekir. Bu durumdaki kromozomlarda KKD yoktur (Şekil 3.1.c).



Şekil 3. 6. a: 1 KKD, b: 2 KKD, c: KKD Yok. Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990).

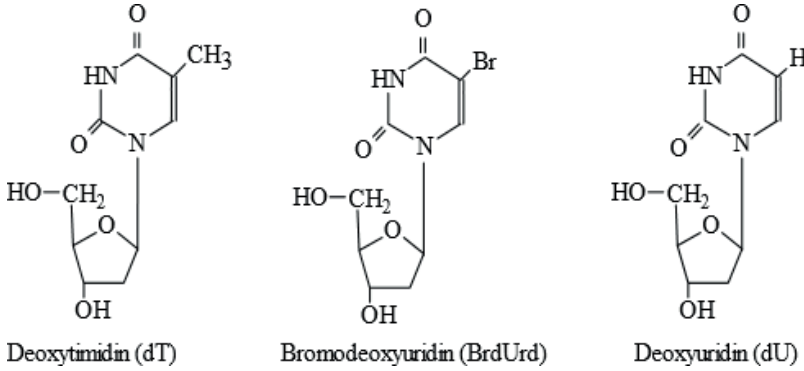
3.2.1.6. Replikasyon (Proliferasyon) İndeksi (RI=PI)'nin Saptanması

Test maddesinin DNA replikasyonu üzerindeki etkilerini saptamak amacı ile PI bulunmuştur. Bunun için tesadüfi seçilmiş 100 metafaz incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında gözlenen birinci, ikinci ve üçüncü metafaz devresindeki hücreler sayılmıştır. Bu verilerden yola çıkarak her bir kişinin kan kültüründeki PI şu şekilde hesaplanmıştır:

$$PI = \frac{1 \times (M1) + 2 \times (M2) + 3 \times (M3)}{100}$$

M1: Birinci mitozu geçiren hücrelerin sayısı *M2*: İkinci mitozu geçiren hücrelerin sayısı *M3*: Üçüncü mitozu geçiren hücrelerin sayısı

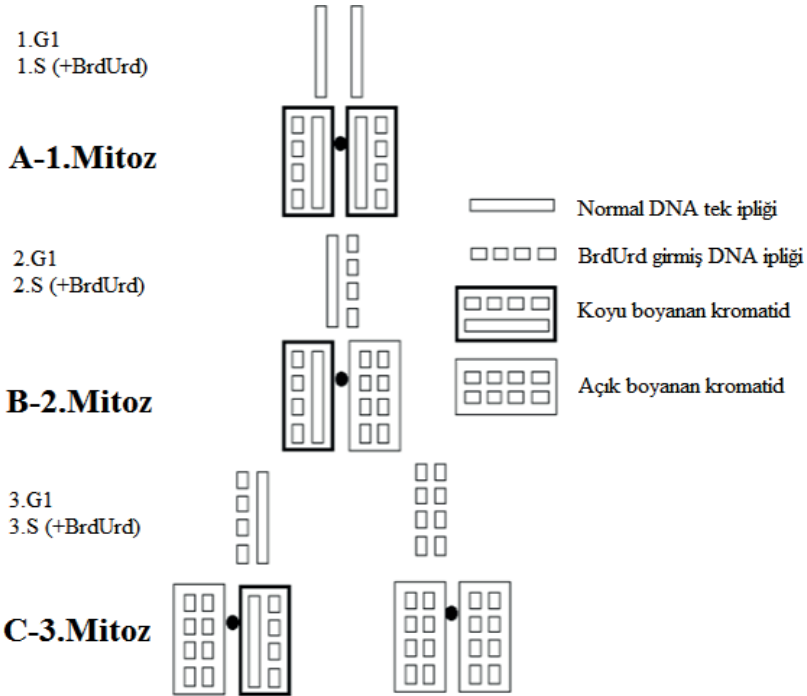
BrdUrd, deoxytimidin (dT) ve deoxyuridin (dU) birbirlerinin analoğu olan bileşiklerdir. BrdUrd, dT ve dU arasındaki tek fark taşıdıkları heterosiklik benzen halkasındaki beşinci C atomuna bağlanan grupların farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Beşinci C atomuna bağlanan grup dT'de CH₃, BrdUrd'de Br ve dU'de H atomudur (Şekil 3.2).



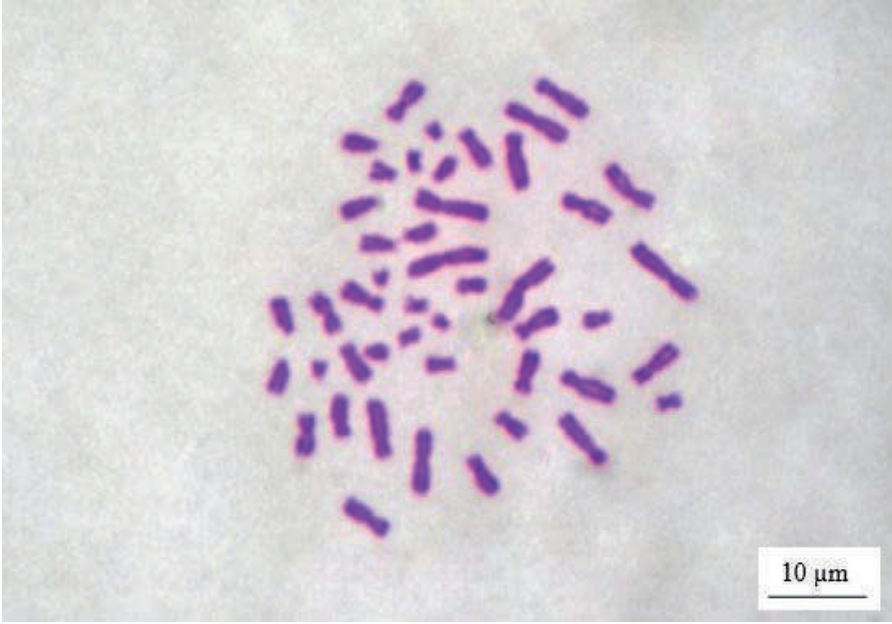
Şekil 3.7. Deoksitimidin (dT), Bromodeoksiridin (BrdUrd) ve Deoksiridin(dU)'ün kimyasal yapıları.

BrdUrd, DNA'nın yapısında bulunan timin bazının analoğu olduğundan kültür ortamına BrdUrd eklendikten sonraki DNA replikasyonları esnada (birinci S fazında) yeni sentezlenen polinukleotid ipliği içine timin yerine ortamda bulunan BrdUrd girecektir. Böyle hücrelerin kromozomları boyandığında bir kromozomun her iki kromatidi de (BrdUrd/dT // dT/BrdUrd) homojen koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 A ve Şekil 3.4). Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerden meydana gelen yavru hücreler tekrar S fazına girdiğinde (BrdUrd bulunan ortamda ikinci S fazı) adenin içeren polinukleotid ipliğine komplementer olarak sentezlenen yeni DNA ipliğinde yine timin yerine BrdUrd bulunacaktır. Bu iki polinukleotid ipliği bir kromozomun koyu boyanan kromatidini (BrdUrd/dT) oluşturacaktır. BrdUrd içeren ipliğe komplementer olarak sentezlenen yeni ipliğe de BrdUrd girecektir ve bir kromatidi oluşturan her iki polinukleotid ipliği de BrdUrd içereceğinden (BrdUrd/BrdUrd) bu kromatid, aynı kromozomun açık boyanan kromatidini oluşturacaktır (BrdUrd/BrdUrd). İşte bu hücrenin metafaz devresinde kromozomlar boyandığında tüm kromozomların kromatidlerinden birisi koyu diğeri açık renkte boyanacaktır (BrdUrd/dT (koyu renkli) // BrdUrd/BrdUrd (açık renkli)). Bunlarda ikinci mitoz

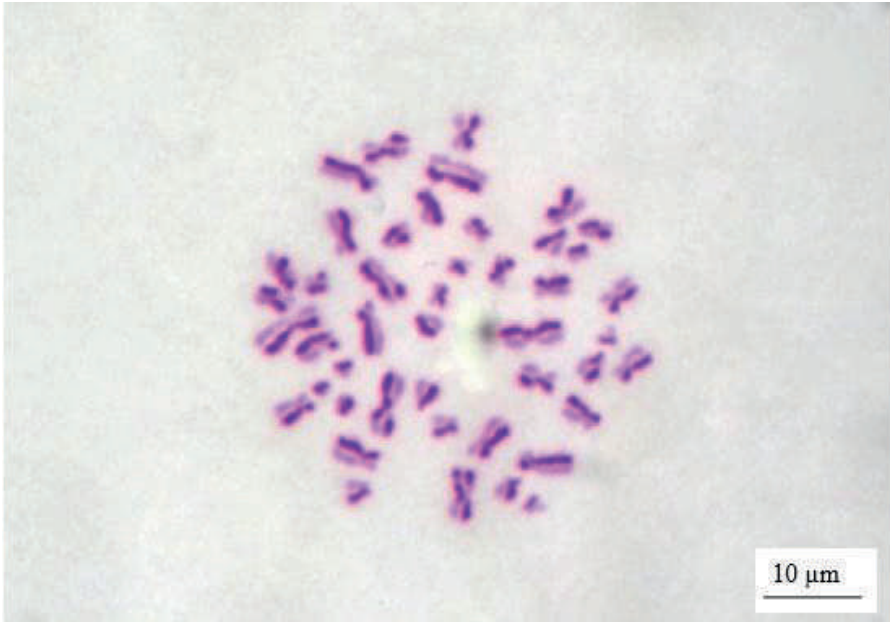
bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 B ve Şekil 3.5). Bu hücreler tekrar S fazına girdiğinde (BrdUrd bulunan ortamda üçüncü S fazı) ikinci mitozda açık boyanan kromatidden (BrdUrd/BrdUrd) tüm polinukleotid ipliklerine BrdUrd girmiş olan bir kromozom meydana gelecektir ve bu kromozomun her iki kromatidi de açık boyanacaktır (BrdUrd/BrdUrd // BrdUrd/BrdUrd). İkinci mitozda koyu boyanan kromatidden ise (dT/BrdUrd), bir kromatidin her iki ipliği BrdUrd'li ve diğer kromatidinin bir ipliği timinli diğer ipliği BrdUrd'li olan bir kromozom (BrdUrd/BrdUrd // dT/BrdUrd) oluşacaktır. Bu kromozom da boyandığında bir kromatidi koyu renkte, diğer kromatidi açık renkte olacaktır. BrdUrd'li ortamda hücre kültürüne devam edilirse DNA'daki timin yerine analog olan BrdUrd girmeye devam edeceğinden böyle hücrenin metafaz devresinde preparat yapıldığında bazı kromozomların her iki kromatidi açık renkte, bazı kromozomların bir kromatidi açık diğer kromatidi koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler de üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 C ve Şekil 3.6). İşte bu şekilde birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreler ayırt edilmiş, 100 hücre içinde bu hücrelerin sayısı saptanmış ve elde edilen veriler kullanılarak yukarıdaki formüle göre proliferasyon indeksi (PI) hesaplanmıştır.



Şekil 3.8. BrdUrd'nin DNA yapısına girmesi ile birinci (A), ikinci (B) ve üçüncü mitoz (C) bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması (During, 1985: Topaktaş ve Speit, 1990'dan).



Şekil 3.9. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları ($\times 1000$).



Şekil 3.10. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları ($\times 1000$).



Şekil 3.11. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları ($\times 1000$).

3.2.2. Kromozom Anormallikleri (KA) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

3.2.2.1. Kromozom Anormalliklerin Saptanması

Her bir kişiden hazırlanan preparatlardan iyi dağılmış kromozomlara sahip 200 metafaz (4 kişiden toplam 800 metafaz) kromozomal anormallikleri saptamak amacıyla incelenmiştir. Bu hücreler içinde gözlediğimiz kromozom yapı ve sayı anormallikleri Uluslararası İnsan Sitogenetik Adlandırma Sistemine (ISCN= International System for Human Cytogenetic Nomenclature) uygun olarak değerlendirilmiş ve adlandırılmıştır (Pazy-Mino ve ark., 2002). İncelenen bu 200 hücre içinde hücre başına düşen yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerinin sayısı ile anormallik içeren hücrelerin yüzdesi (KA/hücre) bulunmuştur.

Bu çalışmada karşılaştığımız Gap'lar anormallik olarak değerlendirilmemiştir (Preston, 1987).

3.2.2.2. Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

Pimetrozinin mitoz bölünme üzerindeki etkilerini saptamak amacı ile mitotik indeks saptanmıştır. Bunun için her konsantrasyona ait preparatlardan toplam 3.000 hücre (4 kişide toplam 12.000 hücre) incelenmiş ve bunlar

arasındaki metafaz devresinde olan hücreler saptanarak kaydedilmiştir. 3.000 hücre içerisinde mitoz bölünme geçirenlerin oranı yüzde cinsinden hesaplanarak mitotik indeks saptanmıştır.

3.2.3. Mikronukleus (MN) Oluşumunu Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İncelemeler

3.2.3.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması

Mikronukleus sayısını saptamak için Fenech (2000) ve Kirsch-Volders ve ark. (2003) tarafından geliştirilen metod modifiye edilerek kullanılmıştır. Sağlıklı ve sigara içmeyen yaşları birbirine yakın (20-24 yaş) sağlıklı ve gönüllü iki kadın ve iki erkekten alınan 1/10 oranında heparinize kan örnekleri 2,5 ml'lik kromozom medyumlarına steril şartlarda 6 damla (0.2 ml) ekilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Hücre kültürü inkübatörde $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 'de 68 saat için inkübe edilmiştir. Pimetrozinin etkisini incelemek için, daha önce belirlenmiş olan konsantrasyonlardaki (5, 10 ve 20 ve 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$) pimetrozin, kültür tüplerine ilave edilerek hücrelerin 24 veya 48 saat boyunca muamele edilmeleri sağlanmıştır. Ayrıca hem 24 hem de 48 saatlik muamele süreleri için kontrol ve pozitif kontrol (0,25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) Mitomisin-C) kullanılmıştır. İki nükleuslu hücre oluşumunu sağlamak için kültürün 44. saatinde bütün tüplere 6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ olacak şekilde sitokalsin B ilave edilmiştir. Kültür süresinin bitiminde (68. saat) kültür tüpleri 2000 devir/dk'da 5 dk santrifüj edilmiş, süpernatant atılmıştır. Dipte kalan ve hücreleri ihtiva eden 0,5-0,7 ml'lik sıvı iyice karıştırıldıktan sonra tüplere ılık (37°C) hipotonik eriyik (5 ml) yavaş yavaş ilave edilerek 5 dk süreyle 37°C 'de inkübe edilmiştir. Sürenin sonunda tüpler 10 dk 1200 devir/dk'da santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Ardından her bir tüpe yaklaşık 5 ml soğuk fiksatif yavaş yavaş ve karıştırarak ilave edilmiştir. İlk fiksatif; 1 kısım asetik asit 5 kısım metil alkol karışımının 1/1 oranında % 0,9 NaCl ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır. Oda sıcaklığında 15 dk bu fiksatifle muamele edilen hücreler daha sonra 1200 devir/dk'da 10 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra tüplere ilkinden farklı bir fiksatif (1 kısım asetik asit 5 kısım metil alkol) ilave edilerek bu işlem iki kere daha tekrarlanmıştır. Her fiksatif ilavesinden sonra santrifüj edilerek üstteki sıvı atılmıştır. Son santrifüjden sonra dipte 0.5-0.7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atıldıktan sonra toplanmış olan hücreler resüspanse edilmiştir. Daha sonra hücre süspansiyonu soğuk ve temiz lamalar üzerine 10 cm yükseklikten damlatılarak preparatlar hazırlanmıştır.

3.2.3.2. Preparatların Boyanması

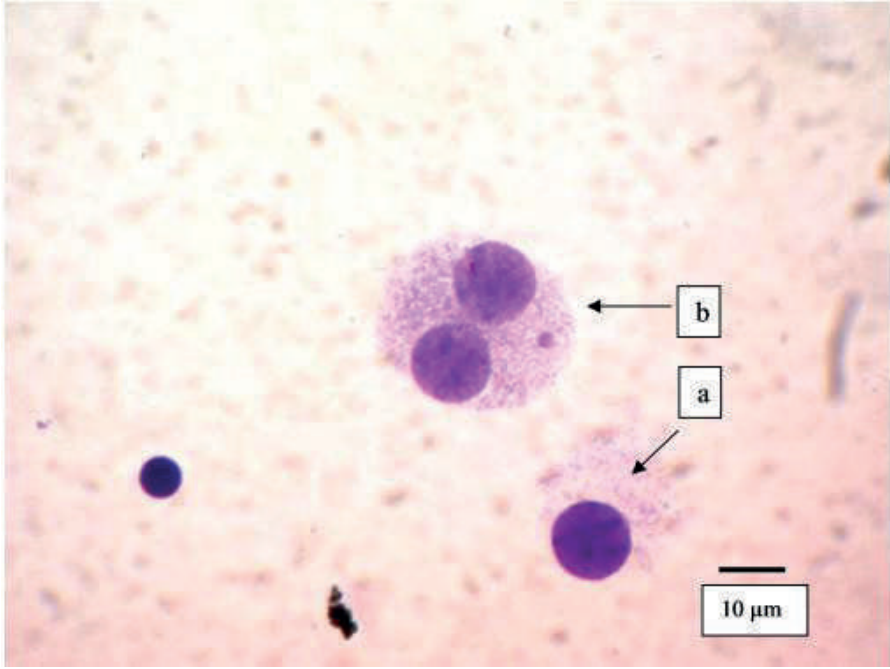
Hazırlanan preparatlar Sorensen tamponu ile hazırlanmış % 5'lik Giemsa boyası ile boyanmıştır. 5 ml tampon A, 5 ml tampon B ve 5 ml Giemsa karıştırılmış üzerleri 100 ml oluncaya kadar saf su ile tamamlanarak % 5'lik Giemsa boyası hazırlanmıştır (pH=6.8). Sonra bu boya dik bir şale içine filtre kâğıtları ile süzölmüştür. Preparatlar direkt olarak boya içerisinde konmuş ve yaklaşık olarak 8 dk. boya içerisinde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda preparatlar boyadan alınıp üç ayrı kaptaki saf su içinden geçirilerek preparatlar üzerindeki fazla boyanın akması sağlanmıştır. Bundan sonra preparatlar dik vaziyette konularak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirilmiştir. Entellan kuruduktan sonra bu kalıcı preparatlarda mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

3.2.3.3. Mikroskopik İnceleme

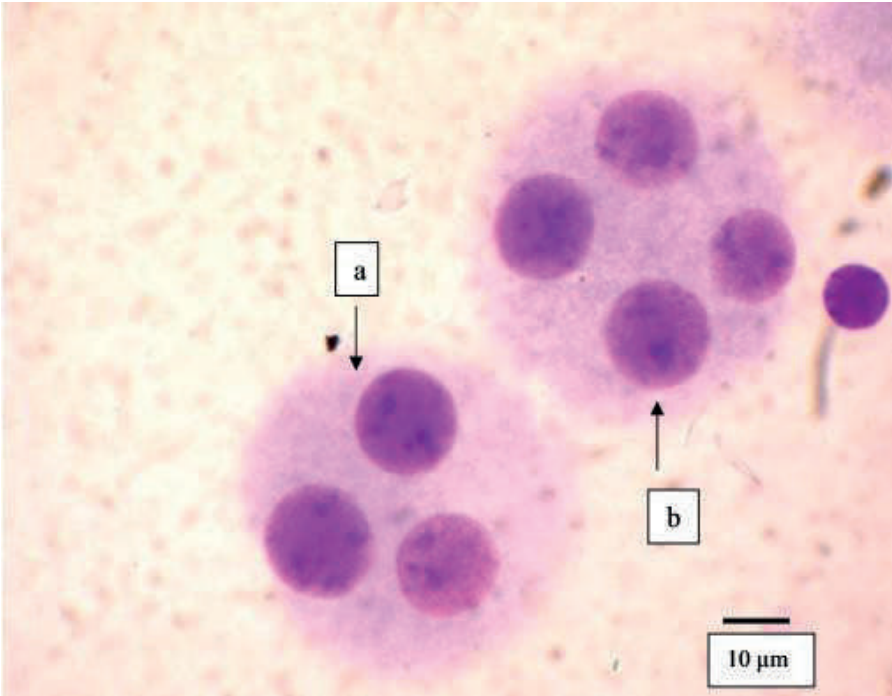
Hazırlanmış olan kalıcı preparatlar Olympus marka binoküler ışık mikroskopunda 40'luk objektif ile incelenmiştir (10x40=400 büyütmede). Bu incelemeler sırasında hazırlanan her bir preparattan 2000 adet iki nukleuslu (4 kişiden toplam 8000 binökleer) hücre incelenmiş, bu iki nukleuslu hücreler içerisinde mikronukleuslu olanlar saptanmıştır. Ayrıca hazırlanan her bir preparattan 1000 tane hücre sayılmış, bu hücreler arasından bir, iki, üç ve dört nukleuslu olan hücrelerin sayıları kaydedilmiştir (Şekil 3.7, Şekil 3.8). Bu orandan yola çıkarak Nukleus Bölünme İndeksi (NBI) hesaplanmıştır (Fenech, 2000). Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır;

$$NBI = (1 \times N1 + 2 \times N2 + 3 \times N3 + 4 \times N4) / N$$

N1: Bir nukleuslu hücre sayısı N2: İki nukleuslu hücre sayısı N3: Üç nukleuslu hücre sayısı N4: Dört nukleuslu hücre sayısı N: Sayılan toplam hücre



Şekil 3.12. Bir (a) ve iki (b) nükleus içeren hücreler.



Şekil 3.13. Üç (a) ve dört (b) nükleus içeren hücreler

3.2.5. Mikroskopta Fotoğraf Çekme

Fotoğraf çekme işlemi Olympus marka trinoküler mikroskoba bağlı dijital fotoğraf makinesinde 1000 büyütmede yapılmıştır (Olympus CX31RTSF, 7.1 Megapixel). Bu çalışmada KKD testinde 1. 2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin, KA testinde sık rastlanan ve ilginç anormalliklerin, mikronukleuslu binukleer hücrelerin ve 1, 2, 3, 4 nukleuslu hücrelerin fotoğrafları çekilmiştir.

3.2.6. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Mikroskobik inceleme sonucunda elde edilen KKD, KA, PI, MI, MN ve NBI normal dağılım gösteren parametrik değerler bağımsız örneklem T-testi ile değerlendirilmiştir (SPSS 17). $P < 0.05$ değeri, sonuçların istatistiksel olarak önemli olduğu anlamına gelmektedir. Mikroskobik incelemeler sonucunda elde edilen bulgular çizelge ve şekiller halinde verilmiştir.

4. Bulgular ve Tartışma

Pimetrozin etken maddeli Greensun insektisitinden hazırlanan 5, 10, 20 ve 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 'lık konsantrasyonlarla 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde saptanan hücre başına düşen kardeş kromatid değişimi (KKD/Hücre) frekansı ve proliferasyon indeksi (PI) değerleri Çizelge 4.1'de, hücre başına düşen kromozomal anormallik (KA/Hücre) oranı, incelenen hücrelerde gözlenen kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre (AH) yüzdesi ve mitotik indeks (MI) değerleri Çizelge 4.2'de, mikronukleus (MN) frekansı, mikronukleuslu binukleer hücre (BNMN) oranı ve nukleer bölünme indeksi (NBI) değerleri ise Çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Pimetrozin etken maddeli insektisitten hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde hücre başına düşen kardeş kromatid değişimi (KKD/Hücre) ve proliferasyon indeksi (PI).

Test maddesi	Muamele		KKD/Hücre ±SD	PI±SD
	Süre (s) (µg/ml)	Doz		
K (-) ^a	24	0,00	3,03±0,85	2,69±0,69
K (+) ^b		0,10	32,45±2,28	1,73±0,15
Pimetrozin		5	3,90±1,54	2,18±0,21
		10	4,48±1,92	1,92±0,12
		20	4,50±0,74*	1,94±0,19
		40	5,00±1,59	1,82±0,47
K (-)	48	0,00	3,03±0,85	2,69±0,69
K (+)		0,10	32,45±2,28	1,73±0,15
Pimetrozin		5	3,39±0,59	2,46±0,48
		10	4,11±0,90	2,88±1,34
		20	3,50±0,88	2,50±1,04
		40	3,68±0,81	2,35±1,02

^a: Kontrol

^b: Pozitif kontrol, Mitomisin C

^c: Çözücü Kontrol, Su

* $p < 0,05$

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi Pimetrozin ile 24 ve 48 saat muamele edilen lenfositlerde tüm dozlarda hücre başına düşen KKD frekansını ise arttırmış ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0,05$). Ayrıca Pimetrozin, Pİni 24 ve 48 saat'lik muamele sürelerinde ve tüm dozlarda kontrole nazaran önemli ölçüde düşürmüştür ancak bu azalma istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Pimetrozin etken maddeli insektist ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde, hücre başına düşen Anormallik frekansını ve Anormal hücre yüzdesini tüm dozlarda (5, 10, 20 ve 40 µg/ml) kontrole göre önemli ölçüde arttırmıştır ($p < 0,05$). Pimetrozin, mitotik indeksi (MI) her iki muamele süresinde ve tüm dozlarda genel olarak bir düşüşe neden olmuştur ve bu azalma 24 saat'lik muamele süresinde 20 ve 40 µg/ml'lik dozlarda; 48 saat muamele süresinde ise en yüksek doz ile (40 µg/ml) muamele edilen hücrelerde istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, bu çalışmada gözlenen kromozomal anormallikler; kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerin birleşmesi, fragment, disentrik kromozom ve poliploidi şeklindedir. Başta kromatid kırığı olmak üzere kromozom kırığı ve kardeş kromatidlerin birleşmesi ve fragment en sık gözlenen kromozomal anormalliklerdir.

Çizelge 4. 2. Pimetrozin etken maddeli insektisitten hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde hücre başına düşen anormallik oranı (KA/Hücre), kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre (AH) yüzdesi ve mitotik indeks (MI).

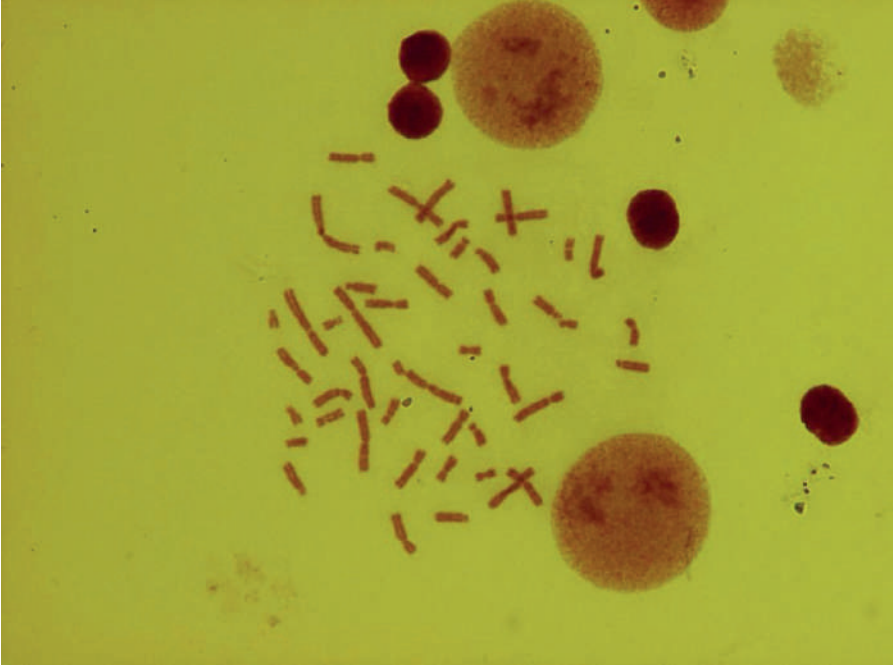
Test Maddesi	Muamele		KA/Hücre ±SD	Kromozom Anormallikleri ^a						AH±SD (%)	MI±SD
	Süre (s)	Doz (µg/ml)		B'	B''	F	SU	DS	P		
K (-) ^b	24	0,0	0,05±0,01	5	-	1	1	-	-	5,25±2,06	3,67±0,31
K (+) ^c		0,1	0,35±0,52	8	4	11	3	6	8	31,28±2,39	0,02±0,00
Pmtrzn	5		0,08±0,01*	7	2	1	2	-	-	8,25±1,50*	3,40±1,20
	10		0,11±0,01**	10	2	-	-	-	1	11,00±1,15*	3,60±1,40
	20		0,14±0,02**	9	1	-	2	-	-	13,50±2,64*	3,17±0,20*
	40		0,12±0,01**	12	-	1	3	2	-	12,25±1,89**	2,00±0,53**
K (-)	48	0,0	0,05±0,01	5	-	1	1	-	-	5,25±2,06	3,67±0,31
K (+)		0,10	0,52±0,43	6	6	20	12	9	10	4,25±0,62	0,02±0,00
Pmtrzn	5		0,09±0,02*	7	2	-	1	2	-	8,25±2,50	3,44±1,19
	10		0,11±0,02**	12	3	1	-	-	-	10,75±1,70**	2,84±1,02
	20		0,08±0,01*	11	1	1	1	2	-	8,75±1,89*	2,71±0,84
	40		0,12±0,01**	15	2	1	6	2	-	12,50±1,91**	1,45±0,44**

^a: B', Kromatid Kırığı; B'', Kromozom Kırığı; F, Fragment; SU, Kardeş Kromatidlerin Birleşmesi; DS, Disentrik Kromozom; P, Poliploidi;

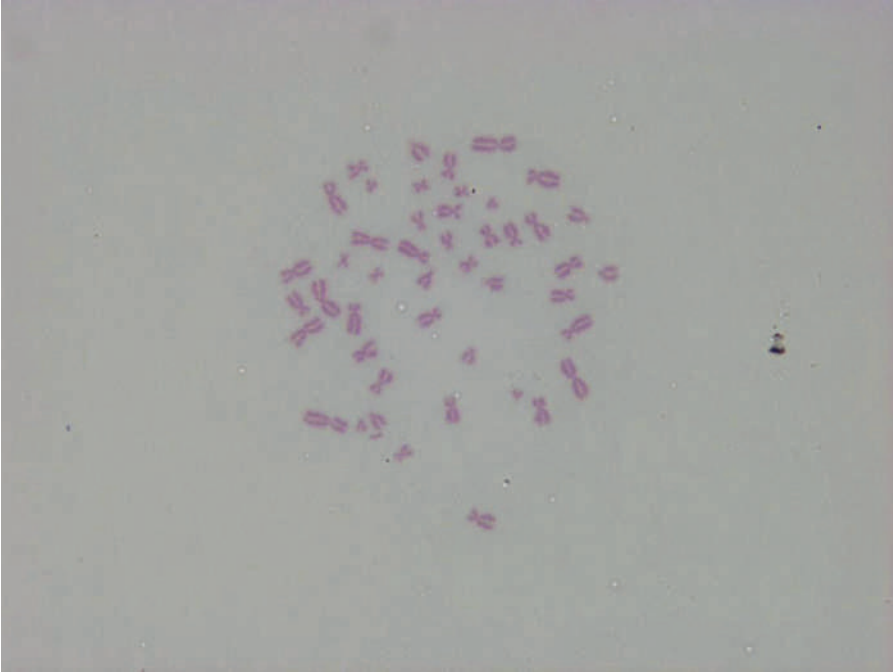
^c: Pozitif kontrol, Mitomisin C

^d: Çözücü Kontrol, Su

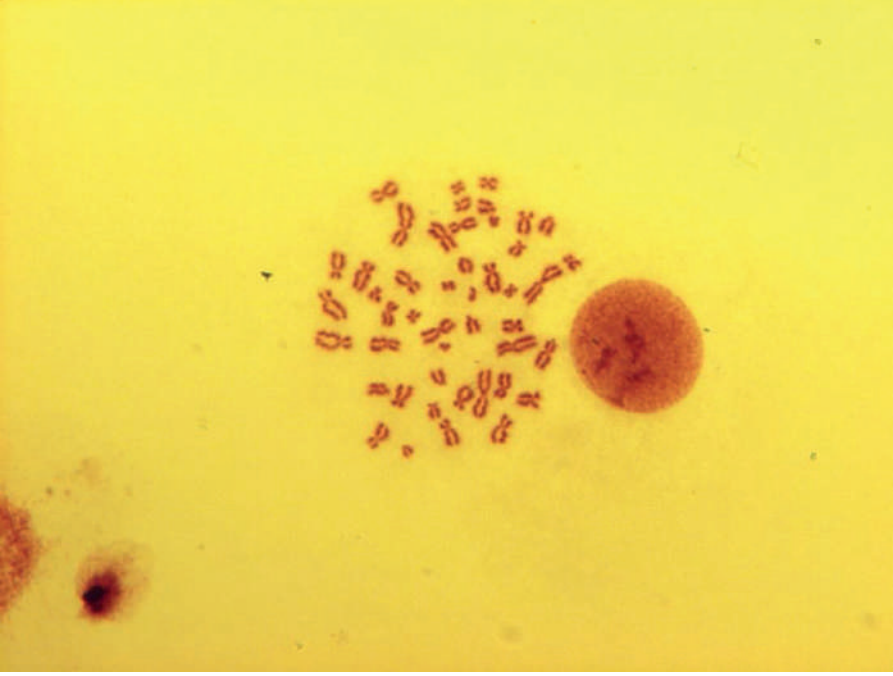
* $p < 0,05$



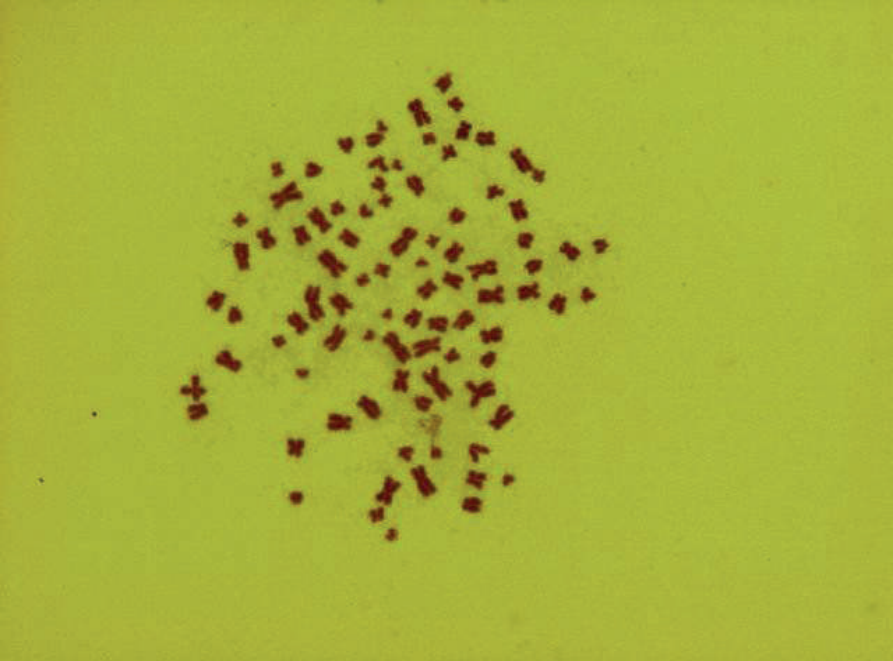
Şekil 4.1. Kromatid kırığı ($\times 1000$) (20 $\mu\text{g/ml}$, pimetrozin 48 saatlik muamele, ♂)



Şekil 4.2. Fragment ($\times 1000$) (20 $\mu\text{g/ml}$, 48 saatlik muamele, ♂)



Şekil 4.3. Sister union ($\times 1000$) (40 $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♂)



Şekil 4.4. Poliploidi ($\times 1000$) (10 $\mu\text{g/ml}$, 24 saatlik muamele, ♂)

Çizelge 4.3. Pimetrozin etken maddeli insektisitlen hazırlanan farklı dozlar ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde mikronukleus (MN), mikronukleuslu binukleer hücre (BNMN) ve nukleer bölünme indeksi (NBI).

Test maddesi	Muamele		MN±SE (%)	BNMN±SE (%)	NBI±SE
	Süre (s)	Doz			
	(μg/ml)				
K (-) ^a	24	0,00	3,75±0,95	3,75±0,95	1,71±0,12
K (+) ^b		0,1	44,75±2,56	39,23±3,21	1,01±0,01
Pimetrozin		5	5,50±2,88	5,25±2,62	1,70±0,15
		10	7,25±1,25	6,25±0,95	1,67±0,25
		20	7,50±1,29*	7,50±1,29*	1,69±0,08
		40	4,00±0,81	4,00±0,81	1,64±0,31
K (-)	48	0,00	3,75±0,95	3,75±0,95	1,71±0,12
K (+)		0,10	71,18±3,82	67,12±2,62	1,00±0,01
Pimetrozin		5	10,25±1,70*	10,00±2,16*	1,44±0,28
		10	20,75±2,06**	18,75±2,06*	1,61±0,15
		20	10,25±3,77*	9,25±3,09*	1,60±0,09
		40	7,00±3,55	6,75±3,09	1,64±0,17

^a: Kontrol

^b: Pozitif kontrol, Mitomisin C

^c: Çözücü Kontrol, Su

* $p < 0,05$

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi, Pimetrozin etken maddeli insektisit ile muamele edilen hücrelerde, MN ve BNMN frekansı kontrole kıyasla, 24 ve 48 saat'lik muamele sürelerinde ve tüm dozlarda bir artışa neden olmuştur ancak bu artışlar 24 saat'lik muamele sürelerinde 20 μg/ml'lik dozda istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Ayrıca pimetrozinin 5, 10, 20 μg/ml'lik konsantrasyonları ile 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde hem MN hem de BNMN frekansında istatistiki olarak önemli bir artış olduğu gözlenmiştir ($p > 0,05$). Bu çalışmada pimetrozin etken maddesinin NBI'ni 24 ve 48 saat'lik muamele sürelerinde uygulanan tüm dozlarda kontrole nazaran düşürmüştür ancak bu azalma istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Pestisitler toksik yapıları nedeniyle hedef alınan zararlı böcek ve hastalığın dışında doğrudan ve dolaylı yollarla insan ve çevresine olumsuz etkiler göstermektedir. Pestisitlerle insanların teması; ilaç üretimi, taşıma, depolama, kullanma ve ilaç kalıntısı içeren ürünlerin tüketimi sırasında olmaktadır. Bu etkileşim sonunda pestisit, insan vücuduna ağız, deri ve solunum yoluyla

girmektedir. Zararlılık, maruz kalmanın süresine ve alınan doza göre değişir. Tarım alanında pestisit kullanımı giderek artmaktadır. Bununla birlikte eğer bu uygulamalar gereken kurallar çerçevesinde yapılmazsa çevre üzerinde istenmeyen etkilere yol açmaktadır. Bilinçsizce yüksek miktarda kullanılan pestisitler akut zehirlenmelere yol açarken, gereğinden daha uzun süre ve daha düşük dozlarda kullanılan pestisitler kronik tipte zehirlenmelere yol açar. Ülkemizde tarımsal alanlarda kullanılan ilaçlar hakkında uygulayıcıların yeterince bilgi sahibi olunmadığı büyük bir ihtimalle söylenebilir. Bu da yanlış kullanılmalarını ve zehirlenme riskinin artmasını doğurur. Yapılan yanlışlardan biri tarımsal alanlarda kullanılan her pestisitın evlerde bit, pire, sinek gibi haşerelere karşı da kullanılmasıdır. Ayrıca pestisit atıkları rastgele çevreye serpilmekte veya bunlar açıkta bırakılarak yanlışlık sonucu zehirlenme vakalarına sebep olmaktadır. Özellikle kırsal alanlarda bu tür zehirlenmeler sıklıkla göze çarpmaktadır.

Dünyada bugün kullanılmakta olan yüzlerce pestisit bulunmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), pestisitleri insan sağlığına tehlikeli olma durumlarına göre sınıflandırmıştır. Bu sınıflandırmada; en çok kullanılan 700 civarındaki pestisitten 33'ü insan sağlığına çok zararlı olan grupta (Sınıf 1a), 48'i oldukça tehlikeli grupta (Sınıf 1b), 118'i orta dereceli tehlikeli grupta (Sınıf 2) ve 239'u da daha az tehlikeli grupta (Sınıf 3) yer almaktadır. 149 pestisit türü ise normal kullanımda zararlı etkisi olmayan grupta (Sınıf 4) yer almaktadır. 164 pestisit ise henüz sınıflandırmaya girmemiştir. AB'nin bir araştırmasında ise 149 pestisitın çevreye zararlı olduğu belirtilmiştir (WHO, 1990).

EPA tarafından bazı pestisitler düşük riskli ya da çevre dostu olarak nitelendirilmektedir. Böyle etkili maddelerin ruhsatlandırılması daha hızlı yapılmakta ve kullanımları desteklenmektedir (EPA, 1999 a,b). EPA'ya göre düşük riskli ya da çevre dostu pestisitlerde bulunması gerekli kriterler şöyle özetlenebilir; insan sağlığına düşük etki, hedef dışı organizmalara düşük zehirlilik, yer altı sularını kirletme potansiyelinin düşüklüğü, uygulama dozunun daha düşük olması, zararlı organizmalarda dayanıklılık potansiyelinin düşüklüğü, entegre zararlı yönetimi (IPM)'ne uygun olması. 2002 pestisit kullanımına göre, Türkiye'de tüketilen etkili maddelerin ancak %4,45'i düşük riskli ya da çevre dostu pestisitlerdir. Bizim test maddemiz olan Pimetrozin de bu pestisit grubu arasında yer almaktadır.

Son yıllarda ilaçların besin maddelerindeki kalıntılarının insanlar için kronik toksisitesi iki şekilde ele alınmaktadır:

1. Kabul edilebilir günlük alım (Acceptable Daily Intake-ADI): Bir kişinin bir günde alabileceği kabul edilebilir günlük ilaç miktarını mg/kg olarak ifade eden değerdir.
2. Maksimum kalıntı limitleri (Maximum Residue Limits-MRL): Gıda maddelerinde bulunmasına izin verilen en fazla ilaç miktarını (ppm) ifade eden değerdir.

“Codex Alimentarius”, USEPA (United States Environmental Protection Agency) gibi kuruluşların bu değerleri içeren listeleri mevcuttur. Bu miktarlar tarımsal ürünlerin dış pazarlaması bakımından da önemlidir. Zira tolerans miktarını aşan değerlerde pestisit kalıntısı tespit edilen tarımsal ürünler alıcı ülkeler tarafından geri çevrililmektedir. Pestisitlerin kalıntı yoluyla kronik toksisiteyi yanında bazılarının insanlarda mutajenik, teratojenik ve kanserojen etkilerinin de olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarla saptanmıştır (www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/ pestisitler).

Bizim çalışmamızda kullandığımız etken maddenin dahil olduğu “Diğer İnsektisit Grubunda” yer alan insektisitlerden fipronil ve indoksakarbın *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle sitotoksik ve genotoksik etkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Oliveira ve arkadaşları (2012) fipronilin 15, 25 ve 50 mg/kg dozlarına maruz bırakılan farelerin periferik kan örneklerini, komet testi ve MN testi ile analiz etmişlerdir. Elde edilen bulgulara göre; sadece test edilen en yüksek dozun (50 mg/kg) muameleden 24 saat sonra DNA hasarına neden olduğunu ve fipronilin mutajenik potansiyel etki gösterdiğini saptamışlardır.

Moura de Bortoli ve arkadaşları (2009) soya fasülyesi tarlalarında fipronil de dahil olmak üzere toplam 10 pestisite maruz kalan 29 Brezilyalı tarım işçisinden alınan kan örneklerinde MN frekansını analiz etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, işçilerdeki MN düzeyinin, kontrol grubuna oranla anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. MN frekansının bireylerin yaşı, sigara içme süresi, günlük içilen sigara sayısı, alkol tüketimi ve pestisitlere maruziyet süresinden etkilenmediğini saptamışlardır.

Girgis ve Yassa (2013) çalışmalarında, MN ve KA testleri kullanarak, fipronilin iki farklı dozuna (25 ve 50 mg/kg) farklı muamele sürelerinde (24, 48 ve 96 saat) maruz kalan Wistar albino ratlarında, bu bileşimin kromozomal aberasyonları ve mikronukleusu yüksek oranda indüklediğini gözlemlemişlerdir ve fipronilin ratlarda mutajenik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Ghisi ve arkadaşları (2010) *Rhamdia quelen* balıklarında fipronil insektisitinin (0,05, 0,10 ve 0,23 µg/ml dozları) nuklear morfolojik

başkalaşım, MN ve komet testi kullanarak genotoksik etkisini araştırdıkları araştırmada, eritrositlerde sadece fipronilin en yüksek dozunun MN frekansını arttırdığını saptamışlardır. Ancak solungaç hücrelerinde yapılan komet testi ile bu konsantrasyonların hiçbirinin DNA hasarına neden olmadığını gözlemlemişlerdir.

Badgujar ve arkadaşları (2016) fipronilin çeşitli dozlarını (2,5, 12,5 ve 25 mg/kg) yetişkin erkek ve dişi farelere gavaj yöntemiyle uygulayarak MN, KA ve komet analizi ile genotoksik etkisini değerlendirmişlerdir. Fipronilin hem erkek hem de dişi farelerde, polikromatik eritrositlerde MN frekansında önemli artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Benzer şekilde, kemik iliğindeki yapısal KA ve lenfositlerdeki DNA hasarlarını önemli oranda arttırdığını bildirmişlerdir. Fipronille indüklenmiş genotoksositeye karşı uygulama öncesi verilen E vitaminin hayvanlarda KA'yı %63,28; MN formasyonunu %47,91 ve DNA hasarını ise %74,70 azalttığını saptamışlardır.

Lovinskaya ve arkadaşları (2016) fipronilin farklı konsantrasyonlarına (4,75, 9,50, 19 ve 31,70 mg/kg) maruz bırakılan farelerde olası genotoksik etkisini komet yöntemi ile incelemişlerdir. Fipronilin 9,50 mg/kg'lık dozunun fare kemik iliği hücrelerinde aberasyonları indüklediğini saptamışlardır. Spermatositlerde ise fipronilin sinaptonemal komplekslerin yapısında anormalliklere neden olduğunu ve germ hücrelerinde de genotoksik aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Özparlak (2016) fipronilin tavuk embriyolarının gelişimi üzerindeki olası embriyotoksik ve teratojenik etkilerini araştırmıştır. Fipronilin metabolize olmamış formunun tavuk embriyoları üzerinde önemli embriyotoksik etkiye sahip olduğunu, ancak teratojenik etkiye sahip olmadığını saptamıştır. Çalışmada ayrıca fipronilin farklı dozlarını (161, 80,50 ve 40,25 µg/yumurta dozlarında) kuluçka başlangıcında ve kuluçkanın 8. gününde döllemiş tavuk yumurtalarına enjekte ederek immün sistem üzerindeki olası zararlı etkilerini değerlendirmiştir. Fipronilin tüm konsantrasyonlarda embriyolarda kuluçkanın 11. gününde iskelet sisteminin gelişiminde gecikmeye neden olduğunu gözlemlemiş ve fipronilin metabolitlerinin doğal formundan daha toksik olduğunu bildirmiştir.

Basilio da Conceição ve Protti (2012) tavuk embriyolarında kuinklorak, fipronil ve pirazosulfaron-etilin potansiyel genotoksik etkisini MN testi ile değerlendirmişlerdir. Fipronil insektisitinin 2,7 mg/kg'lık dozu ile 104,2 mg/kg'lık pirazosülfüron-etilin MN oluşumunu önemli düzeyde arttırdığını saptamışlardır. Test edilen dozların hiçbirinde kuinklorak herbisidinin önemli bir genotoksik etki göstermediğini bildirmişlerdir.

Francisco da Silva ve arkadaşları (2015) Wistar erkek ratlarda ve hibrit kedilerde, bir ve on kat teropatik doz uygulamasıyla indoksakarbın mutajenik etkisini MN testi ile kullanarak değerlendirmişler ve indoksakarbın her iki türde de mutajenik aktivite göstermediğini saptamışlardır.

Bu çalışmada; pimetrozinin dört farklı konsantrasyonu (5, 10, 20 ve 40 µg/ml) 24 ve 48 saat olmak üzere iki farklı muamele sürelerinde muamele edilen insan periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozomal anormallik ve mikronukleus (MN) frekansı incelenerek pimetrozinin olası genotoksik etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ayrıca pimetrozinin, olası sitotoksik etkisi için proliferasyon indeksi (PI), mitotik indeks (MI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) gibi hücre kinetik parametreleri çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde pimetrozinin KKD frekansını arttırmış olmakla birlikte bu artış düzeyinin istatistiki olarak önemli olmadığı gözlenmiştir. Ancak anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik frekanslarında tüm doz ve muamele sürelerinde istatistiki olarak önemli bir artışın olmadığı gözlenmiştir. Benzer şekilde pimetrozin hem 24 hem de 48 saatlik muamele sürelerinde tüm dozlarda (40 µg/ml hariç) MN ve BNMN frekanslarında istatistiki olarak önemli bir artışa neden olmamıştır.

Bu çalışmada test maddesi olarak kullandığımız pimetrozin hem 24 hem de 48 saatlik muamele sürelerinde genel olarak MI'yi düşürmüştür. Ancak bu azalma 24 saatlik muamele süresinde 20 ve 40 µg/ml'lik dozlarda, 48 saatlik muamele süresinde ise yalnızca 40 µg/ml'lik dozlarda, 48 saatlik muamele süresinde ise yalnızca 40 µg/ml'lik en yüksek dozda istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Bu çalışmada pimetrozin tüm doz ve muamele sürelerinde gerek PI gerekse NBI frekansını istatistiki olarak önemli olmayan oranlarda düşürmüştür.

Çalışmamızda kullandığımız test maddesi olan pimetrozinin de dahil olduğu “diğer insektisit grubunda” yer alan fipronil ve indoksakarb insektisitlerinin fareler, ratlar, tavuk embriyoları, balıklar ve tarım işçilerinde KKD, KA, MN ve komet testleri ile olası genotoksik potansiyellerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Ancak pimetrozinin genotoksik ve sitotoksik etkisi ile ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu nedenle etken madde olarak pimetrozinin seçildiği ve çalışıldığı bu çalışmada elde edilen verilere göre; Greensun insektisitinin *in vitro* olarak insan periferik lenfositlerinde genotoksik aktivite gösterdiği ayrıca çok zayıf bir sitotoksik etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Sonuç ve Öneriler

Bu çalışmada; Greensun insektisitinin etken maddesi olan pimetrozinin insan periferik lenfositlerinde genotoksik bir potansiyele sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Bu nedenle sigara, alkol kullanmayan, sağlıklı, yaşları birbirine yakın (20-25) iki erkek ve iki bayandan alınan kan örnekleri 5, 10, 20 ve 40 µg/ml olmak üzere pimetrozinin dört farklı konsantrasyonuyla 24 ve 48 saat muamele edilerek KKD frekansı, PI, KA/Hücre, AH yüzdesi ve MI değerleri ile MN frekansı, BNMN oranı ve NBI değerleri saptanmış ve elde edilen veriler kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır.

Pimetrozin etken maddeli insektisit ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde, hücre başına düşen Anormallik frekansını ve Anormal hücre yüzdesini tüm dozlarda (5, 10, 20 ve 40 µg/ml) kontrole göre önemli ölçüde arttırmıştır ($p<0,05$). Pimetrozin ile 24 ve 48 saat muamele edilen lenfositlerde tüm dozlarda hücre başına düşen KKD frekansını ise arttırmış ancak bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Pimetrozin etken maddeli insektisit ile muamele edilen hücrelerde tüm dozlar ve muamele sürelerinde kontrole göre genel olarak MN ve BNMN frekanslarında bir artış gözlenmiştir. Ancak bu artışlar 24 saatlik muamele sürelerinde 20 µg/ml'lik dozda, 48 saatlik muamele sürelerinde ise 5, 10, 20 µg/ml'lik konsantrasyonlarda istatistiki olarak önemli bulunmuştur. Diğer taraftan pimetrozin gerek 24 saatlik gerekse 48 saatlik muamele sürelerinde tüm dozlarda NBI'de bir azalmaya neden olmuş ancak bu düşüş istatistiki olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$).

Pimetrozin, mitotik indeks (MI) de her iki muamele süresinde ve tüm dozlarda genel olarak bir düşüşe neden olmuştur ancak bu azalma 24 saat'lik muamele süresinde 20 ve 40 µg/ml'lik dozlarda; 48 saat muamele süresinde

ise en yüksek doz ile (40 µg/ml) muamele edilen hücrelerde istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Ayrıca Pimetrozin, PI'ni ve NBI'ni 24 ve 48 saat'lik muamele sürelerinde ve tüm dozlarda kontrole nazaran önemli ölçüde düşürmüştür ancak bu azalma istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Çalışmamızda kullandığımız test maddesi olan pimetrozinin de dahil olduğu diğer insektisit grubuyla yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile bizim bu çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar bir uyum göstermektedir. Sonuç olarak bu çalışmada; Greensun insektisitinin insan periferallenfositlerinde genotoksik bir aktivite gösterdiğini ayrıca çok zayıf bir sitotoksik bir etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Pestisitler, kullanılmaları ile gerek halk sağlığı ve gerekse de açlıkla savaşta besinlerin korunması bakımından ekonomik faydalar sağlamaktadır. Diğer taraftan geniş bir alanda bıraktıkları kalıntılarla su, toprak, hava ve besin kirlenmesine neden olarak, ekolojik sistemin dengesini bozmaktadırlar. Ayrıca bazıları selektif olarak kullanıldıkları canlı türü için toksik olurken, bir kısmı da insanlar ve diğer memeli hayvanlara zarar veririler. Böylece de endüstride, yakın çevrede akut ve kronik zehirlenmelere neden olurlar. Pestisitlerin bu fayda zarar ilişkisini değerlendirmek ise oldukça güçtür.

Pestisitler; insans sağlığını, çevre ve doğal dengeyi olumsuz yönde etkilemesi, ürünlerde, toprakta, suda ve havada kalıntı bırakması, hastalık, zararlı ve yabancı otlarda dayanıklılık meydana getirmesi gibi birçok istenmeyen etkilerinin olmasıyla sorgulanmaya başlanmıştır. Pestisit olarak kullanılan kimyasal maddelerin toksisitelerinden dolayı, zararlılarla mücadelede doğal biyolojik maddelerin kullanımının tercih edilmesinin daha avantajlı olacağı görüşü, her geçen gün daha da önem kazanmaktadır. Hayvanlar tarafından üretilen feromonlar (ektöhormon) ve mikroorganizmalar tarafından üretilen mikrobiyal pestisitlerin daha güvenilir olduğu yönündeki bulgular artmaktadır. Hatta bazı ülkelerde yeni geliştirilen pestisitlerin bu özelliklere uyması zorunluluğu vardır.

Pestisit kullanmanın gerekliliğine rağmen, özellikle gıdalar vasıtasıyla insan vücudunda akümüle olması ve çevre kirliliği üzerine olumsuz etkisi bu bileşiklerin zararları konusunda insanoğlunu gün geçtikçe daha fazla endişeye sevk etmektedir. Pestisitler tavsiye edilen dozların üzerinde kullanıldıklarında, gereğinden fazla sayıda ilaçlama yapıldığında, gerekmediği halde birden fazla ilaç karıştırılarak kullanıldığında veya son ilaçlama ile hasat dönemi arasında bırakılması gereken süreye riayet edilmediği durumlarda gıda maddelerinde fazla miktarda kalıntı bırakabilmektedirler.

Pestisit kullanımını azaltmak için çiftçilere yeni yetiştirme yöntemlerinin geliştirilmesi ve uygulanması önemli bir yaklaşım olacaktır. Bunun için belli bir alanda yetiştirilen bitkilerin her yıl değiştirilmesi, zararlıların tarlaya girmesini zorlaştırmak için tarlanın kenarında veya içinde bitkilerden oluşan bir çit veya ağaç sırası tesis edilmesi, ekim-dikim zamanının ayarlanması, önemli zararlı ve hastalık etmenlerinin bulunmadığı bölgelerde bitki yetiştirme gibi önlemler alınabilir. Hastalık etmeni ve zararlılarla savaşım kimyasal değil, esas olarak ekolojik bir problemdir. Bu nedenle ürünlerde zarar yapan organizmalarla en iyi kontrol yönteminin entegre zararlı yönetimi (IPM) olduğuna inanılır. IPM'nin temel amacı eradikasyon yani zararlının tamamen yok edilmesi değil, mevcut popülasyonu ekonomik zarar eşiğinin altında tutmaktır. Tarım alanları dikkatli bir şekilde taranarak zararlıların ekonomik zarar eşiğine ulaşp ulaşmadıkları kontrol edilir.

Sonuç olarak, tarım ilaçları ile ilişkili olarak ortaya çıkabilecek insan ve çevre sağlığı sorunlarını en aza indirmek için, tarım alanında çalışan bireylere sürekli danışmanlık ve eğitim verilmesi, bitkilerdeki hastalık ve zararlılara karşı yapacakları mücadelede kimyasal yöntemler dışında daha ucuz başka yöntemler olduğu konusunda bilgilendirilmesi, tarım ilaçlarının mutlaka reçete kontrolünde satılması, çevreye ve sağlığa en az zarar verecek biçimde önlem alınarak kullanımının sağlanması ve uygulamaların denetlenmesi gerektiği kanısındayız.

Kaynaklar

- Abdelaziz, M., Awad, E.S., Noaishi, A.M. 2012. Mutagenic effect of unique combinations between neonicotinoid insecticide and laser irradiations in human lymphocyte cultures. Laser in Biotechnology and Agriculture Group, Cairo University.
- Akçan, R., 2008. Pestisit uygulanan tavşanlarda postmortem kan ve kemik iliğinde pestisit düzeylerinin araştırılması. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adli Tıp Anabilim Dalı, Adana, 89 s.
- Akintonwa, A., Awodele, O., Olayemi, S. O., Oreagba, I.A. and Olaniyi, O. M. 2008. The mutagenic testing of different brands of commonly used insecticides. *African Journal of Biotechnology*. 7: 2134-2136.
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hugmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Suhaker, D.E.G., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A. 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research*. 463:11-172.
- Almassy, Z., Krcpinsky, A.B., Bianco, A., Koteles, G.J. 1987. The presentstate and perspectives of micronucleus assay in radiation protection. *international Journal Radial App Instrum*.38: 241-249.
- Ames, B.N., Mccann, J., Yamasaki, E. 1975. "Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella* mammalian microsome mutagenicity test genotoxicity". *Mutation Research*. 31: 347-364.
- Anonim., 2004. "Ürün Çalışma Grubu'nun iyi tarım teknikleri uygulamaları (EUREPGAP)", *Akdeniz Yaş Meyve Sebze ihracatçıları Birliği, ARGE Dış ilişkileri Şube Müdürlüğü Raporu*, 36.
- Asita, A. O., Hatane, B. H. 2012. Cytotoxicity and genotoxicity of some agropesticides used in Southern Africa. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*. 4: 175-184.
- Avcı, E.C., 2013. Deltametrin'in (Pestisit; İnsektisit) *Pelophylax ridibundus* (Amfhibia:

- Anura) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Eritrosit Mikronukleus Testi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Afyon, 196s.
- Badgujar, P.C., Selkar, N.A., Chandratre, G.A., Pawar, N.N., Dighe, V.D., Bhagat, S.T., Telang, A.G. Vanage, G.R. 2016. Fipronil-induced genotoxicity and DNA damage in vivo: Protective effect of vitamin E. *Human and Experimental Toxicology*, 1–12.
- Barış, A., 2007. Farklı Tipteki Pestisitlerin muhtemel mutajenitelerinin Ames/ Salmonella/Mikrozom test yöntemiyle araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon, 84 s.
- Basilio da Conceição, M., Protti, L.B. 2012. Genotoxicity of Selected Pesticides in the Hen's Egg Test for Micronucleus Induction. *Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology*. 1: 43-47.
- Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B.Ş. and Alvur, M. 2004. DNA hasarı analizinde μ -Fadu ve Comet yöntemlerinin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*. 2 (3), 97-103.
- Behera, B.C., Bhunya, S.P. 1990. Genotoxic effect of isoproturon (herbicide) as revealed by three mammalian in vivo mutagenic bioassay. *Indian Journal of Experimental Biology*. 28: 862-867.
- Błasiak, J., Jałoszynski, P., Trzeciak, A., Szyfter, K. 1999. In vitro studies on the genotoxicity of the organophosphorus insecticide malathion and its two analogues. *Mutation Research*. 445: 275-283.
- Bolognesi, C., Landini, E., Perrone, E., Roggieri, P. 2004. Cytogenetic biomonitoring of a floriculturist population in Italy: Micronucleus Analysis by Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) with an All-Chromosome Centromeric Probe. *Mutation Research*. 557: 109- 117.
- Moura de Bortoli, G., Barbieri de Azevedo, M., Basso da Silva, L. 2009. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutation Research*, 675: 1–4.
- Bostanian, N. J., and M. Akalach. 2006. The effect of indoxacarb and five other insecticides on *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae), *Amblyseius fallacis* and nymphs of *Orinus insidiosus* (Hemiptera: Anthocoridae). *Pest Management Science*. 62: 334–39.
- Bretschneider, T. 2003. Spirodiclofen and spiromesifen—Novel acaricidal and insecticidal tetrone acid derivatives with a new mode of action. *Chimia*. 57: 697–701.
- Bulut, H., Tamer, A. 1996. “Pestisit kullanımının azaltılması ile ilgili politika ve stratejiler”, *II. Ulusal Zırai Mücadele İlaçları Sempozyumu*, Ankara, 12-24.
- Calderón-Segura, M.E., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Martínez-Valenzuela, C., Carbajal-López, Y., Calderón-Ezquerro, M.D., Cortés-

- Eslava, J., García- Martínez, R., Flores-Ramírez, D., Rodríguez-Romero, M.I., Mèndez-Pèrez, P., and Ba□uelos-Ruíz. 2012. E. Evaluation of Genotoxic and Cytotoxic Effects in Human Peripheral Blood Lymphocytes Exposed In Vitro to Neonicotinoid Insecticides News. *Journal of Toxicology*. 10: 1155-1156.
- Campana, M.A., Panzeri, A.M., Moreno, V.J., Dulout., F.N. (1999). Genotoxic evaluation of the pyrethroid lambda-cyhalothrin using the micronucleus test in erythrocytes of the fish *Cheirodon interruptus interruptus*. *Mutation Research*. 438 :155–161.
- Carrillo, L.L., Arreola, L.T., Sanchez, L.T., Torres, F.E., Jimenez, C., Cebrian, M., Waliszewski, S., Saldate, O. 1996. Is DDT Use a Public Health Problem in Mexico. *Environmental Health Perspect*; 104:584 -588.
- Chauhan, L.K.S., Gupta, S.K. 2005. Combined cytogenetic and ultrastructural effects of substituted urea herbicides and synthetic pyrethroid insecticides on the root meristem cells of *Allium cepa*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 82: 27-35.
- Chauhan, L.K.S., Kumar, M., Paul, B.N., Goel, S.K., Gupta, S.K. 2007. Cytogenetic effects of commercial formulations of Deltamethrin and/or Isoproturon on human peripheral lymphocytes and mouse bone marrow cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 48: 636-643.
- Cole, L., R. Nicholson, J. E. Casida. 1993. Action of phenylpyrazole insecticides at the GABA-gated chloride channels. *Pesticide Biochemical Physiology*. 46: 47–54.
- Conner, J.M., Smith, F.M.A. 1993. Essential Medical Genetics. *Blackwell Scientific Publications*, Fourth ed.
- Countryman, P.I., Heddle, J.A. 1976. “The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes”. *Mutation Research*. 41: 321–332.
- Crites, A., Haldeman, V., Morris, R. 1995. Disposal and household hazardous waste. *Nevada Cooperative Extension*, University of Nevada, 15-91.
- Çakır, Ş., Yamanel, Ş. 2005. Böceklerde insektisitlere direnç. Gazi Üniversitesi, Kırşehir Eğitim Fakültesi. 6 (1): 21-29.
- Çavas, T., Könen, S. 2008. In vivo genotoxicity testing of the amnesic shell fish poison (domoic acid) in piscine erythrocytes using the micronucleus test and the comet assay. *Aquatic Toxicology*. 90: 154–159.
- Çelik, H. 2005. Malarya (sıtma) hastalarında oksidatif stres ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 84 s.
- Dağlıoğlu, N. 2004. “Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 8-20.

- Das, P.G., Shaik, A.P., Jamil, K. (2008). "Cytotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide acephate on cultured human peripheral blood lymphocytes." *The International Journal Toxicology*. 5: (2).
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre, Ankara.
- Delen, N., Toros, S., Tosun, N., Öztürk, S., Yücel, E., Çalı, E. 1995. Tarım ilaçları kullanımı ve üretimi. Türkiye Ziraat Mühendisliği 4. Teknik Kongresi, T.C. Ziraat Bankası Kültür Yayınları, 26: 1015-1028.
- Delen, N., Tosun, N. 1996. Fungisitlere dayanıklılığı önleyici stratejiler. II. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı. s: 239-244.
- Demir, H., (2005). "Methidathion ve triadimenol pestisitlerinin insan lenfosit kültüründeki genotoksik etkileri", Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara. 1-77.
- Demirel, S., Zamani, A. 2002. Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları. Genel Tıp Dergisi, 12 (3):123-127.
- Demsia, G., Vlastos, D., Goumenou, M., Matthopoulos, D.P., 2007. Assessment of the genotoxicity of Imidacloprid and Metalaxyl in cultured human lymphocytes and rat bone marrow. *Mutation Research*. 634 (1-2), 32-39.
- Dilek, F., Muranlı, G. 2013. Genotoxic and Cytotoxic Evaluation of Pyrethroid Insecticides α -Cyhalothrin and α -Cypermethrin on Human Blood Lymphocyte Culture. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 90: 357-363.
- Dökmeci, İ. 2001. Toksikoloji Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. Nobel Tıp Kitabevi. 3. baskı, İstanbul.
- Echobichan, D.J. 1996. Toxic effects of pesticides "Casarett and Doull's Toxicology"(Ed. C. D. Klassen)'de 5. Edition, *Mc. Graw- Hill Co.*, New York, 643-689.
- Ekebaş, S., Çakır, S., Ertuğrul, O. and Kence, A. 2000."The detection of mutagenic activity of some chemicals (azamethyphos, dichlorvos, methyl parathion, aflatoxinB1) by SMART *Drosophila melanogaster*". *Türk Journal Veteriner Animal Science.*, 24 (6): 563-569.
- El-Gohary, M., Awara, W.M., Nassar, S., Hawas, S. 1999. Deltamethrin-induced testicular apoptosis in rats: the protective effect of nitric oxide synthase inhibitör. *Toxicology*. 132: 1-8.
- EPA, 1999a. "Summary of OPP reduced- risk pesticides initavite", US EPA, Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. 2: 19-21.
- EPA, 1999b. "Fisal year 1999 work plan", USA EPA, 4.

- EPA, 2000. Environmental protection agency. Name of Chemical: Pymetrozine
Reason for Issuance: Conditional Registration Date Issued: August.
Disk 74.
- Eroğlu, H.E., 2011. The Cytogenetic Effects of Organophosphorus Insecticide Dichlorvos In Barley (*Hordeum Vulgare* L.) Seedlings. *Pakistan Journal of Botany*. Bozok University, Science and Arts Faculty, Department of Biology. 43(5): 2441-2443.
- Evans, H.J., 1984. Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. Handbook of Mutagenicity Test Procedures, 2nd ed., Amsterdam. s: 405–427.
- Fairbairn, D.W., Olive, P.L., O'Neill, K.L., 1995. The comet assay: a comprehensive review. *Mutatiton Research*. 339: 37-59.
- FDA, 2006. Redbook 2000: IV.C.I.c Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay. Department of Health and Human Services, U.S.
- Fenech, M. 1993. The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutation Research*. 285: 35–44.
- Fenech, M., 2000. “The *in vitro* micronucleus technique”. *Mutation Research*. 455: 81-95.
- Fenech, M., 2006. “ Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death.” *Mutation Research*. 600: 58- 66.
- Fenech, M., Crott, W.J. 2002. Micronuclei, nucleoplasmic bridges and nuclear buds induced in folic acid deficient human lymphocytes-evidence for breakage- fusion- bridge cycles in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutation Research*. 504: 131-136.
- Fenech, M., Holland, N., Chang, W.P., Zeiger, E., Bonassi, S. 1999. The human micronucleus Project- an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*. 428, 271-283.
- Fenech, M., Morley, A.A., 1985. Solutions to the kinetic problem in the micronucleus assay. *Cytobis*. 43: 233-46.
- Fenech, M., Morley, A.A., 1986. Cytokinesis-block micronucleus method in human lymphocytes: Effect of *in vivo* ageing and dose X-irradiation. *Mutatiton Research*. 161: 193-198.
- Fenech, M., Pereptskaia, G., Mikhalevich, L. 1997. A more compfhrensive application of the micronucleus technique for biomonitoring of genetic damage rates in human populations-experiences from the Chernobyl catastrophe. *Environmental and Molecular Mutagenesis*.30: 112-118.
- Ford, C.E., Hamerton, J.L.A. 1956. Colchicine, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes. *Staining Technology*. 3: 247–251.

- Francisco da Silva, D.A., Nogueira, R.M.B., Giroto, A.B., Teixeira, B.F., Sousa, F. Gabriel dos Santos, Filho, M.S., Laposy, C.B. 2015. Giuffrida, R. Mutagenicity Assessment of Indoxacarb in Rats and Cats. *Acta Scientiae Veterinariae*. 43: 13-28.
- Gedikli S., 2001. "Kayseri İli İçme Sularında Organoklorlu Pestisit Kalıntılarının Belirlenmesi." Yüksek Lisans Tezi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Gerić, M., Ceraj-Cerić, N., Gajski, G., Vasilčić, Ž., Capuder, Ž., Garaj-Vrhovac, V. 2012. Cytogenetic status of human lymphocytes after exposure to low concentrations of p,p'-DDT, and its metabolites (p,p'-DDE, and p,p'-DDD) in vitro. *Chemosphere*. 87: 1288–1294.
- Ghisi, Nédia de Castilhos., Ramsdorf, W.A., Vinícius, M., Ferraro, M., Mateus de Almeida, M.I., Ribeiro, C.A.O., Cestari, M.M. 2011. Evaluation of genotoxicity in *Rhamdia quelen* (Pisces, Siluriformes) after sub-chronic contamination with Fipronil. *Environmental Monitoring and Assessment*, 180:589–599.
- Girgis, S. M., Yassa, V.F. 2013. Evaluation of the Potential Genotoxic and Mutagenic Effects of Fipronil in Rats. *Journal of Mediterranean Ecology*. 12: 5-11.
- Giri, S., Giri, A., Sharma, D.G., Prasad, S.B. 2003. Induction of sister chromatid exchanges by cypermethrin and carbosulfan in bone marrow cells of mice in vivo. *Mutagenesis*. 18:53-58.
- Grant, D. B. 1990. A comparison of mammalian and insect GABA receptor chloride channels. *Pesticide Science*. 30: 355–56.
- Grisolia, C.K., 2002. A comparison between mouse and fish micronucleus test using cyclophosphamide, mitomycin C and various pesticides. *Mutation Research*. 518: 145–150.
- Guadaño, A., González-Coloma, A., Peña, E. 1998. "Genotoxicity of the insecticide rotenone in cultured human lymphocytes." *Mutation Research*. 414: 1-7.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. 1. Basım. T.C. Sağlık Bakanlığı Yayınları, Ankara, 8-37.
- Hainzl, D., and J. E. Casida. 1996. Fipronil insecticide: Novel photochemical desulfinylation with retention of neurotoxicity. *Proceedings of National Academy of Science USA*. 93: 12764–67.
- Hammes, G. G., D. Sherrod, and W. H. Mitchell. 1998. A five year summary of beneficial arthropod studies with "Steward" (DPX MP 062). In *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference*, ed. C. P. Druggier and D. A. Richter, 940. Memphis, TN: National Cotton Council.
- Hamon, N., R. Shaw, and H. Yang. 1996. Worldwide development of fipronil insecticide. In *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, National*

- Cotton Production Conference*, ed. C. P. Dugger and D. A. Richter, 759–65. Memphis, TN: National Cotton Council of America.
- Harder, H.H. 1997. A novel broad-spectrum, environmentally soft, insect control compound. In *Proceedings of the 1997 Beltwide Cotton Production Conference, National Cotton Production Conference*, ed. C. P. Dragger and D. A. Richter, 48–50. Memphis, TN: National Cotton Council of America.
- Hayashi, M., Mac Gregor, J.T., Gatehouse, D.G., Adler, I.D., Blakey, D.H., Dertinger, S., Krishna, G., Morita, T., Russo, A., Sutou, S. 2000. In vivo rodent erythrocyte micronucleus assay: Aspects of protocol desing including repeated treatments,integration with toxicity testing, and automated scoring. A report from the international work shop on genotoxicity test procedures (IWGTP). *Environmental Molecular Mutagenesis*. 35: 234-252.
- Heddle, J., 1973. A rapid in vivo test for chromosome damage. *Mutation Research*. 18: 187-190.
- Helvacı, N.D., 2003. “Methidathion insektisinin *Allium cepa* L. kök ucu hücrelerinde sitogenetik etkileri.” Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 100s.
- Hreljac, I., Zajc, I., Lah, T., Filipi, M. (2008). “Effects of model organophosphorous pesticides on DNA damage and proliferation of HepG2 cells.” *Environmental Molecular Mutagenesis*, 49: 360-367.
- IARC, 1999. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Occupational Exposures in Insecticide Application and Some Pesticides.
- Ishaaya, I., 2000. Biochemical sites of insecticide action and resistance. Springer-Verlag Berl, in Heidelberg, New York. 342 s.
- İla, H.B., Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E., Kayraldiz, A., Dönbak, L., Dağlıoğlu, K.Y. (2008). Genotoxic potential of cyfluthrin. *Mutation Research*. 656: 49–54. ile tayini”. Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri*, Ankara, 10-30.
- İstanbulluoğlu, H., Oğur, R., Güleç, M. 2009. Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluklar. *Genel Tıp Dergisi*. 19(4): 187-195.
- Johnson, M. K., 1970. “Organophosphorus and other inhibitors of brain neurotoxic esterace and development of delayed neurotoxicity in hens.” *Biochemical Journal*. 120: 523-531.
- Karabay, U., Karasulu, E., Oğuz, G., Tuglular, I. 2001. Toxic Effects of Synergistically Acting Insecticides Ingestion in Rat. EUROTOX 2001, Istanbul, Turkey.
- Kaya, E., 2005. Klorprifos ve Deltamethrin’in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta, 69 s.

- Kevlekçi, C., 2008. Psoriasiste darbant ultraviyole-B ve E vitamininin mutajenik risk üzerine etkilerinin Comet tekniği ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 109 s.
- Kirsch-Volders, M., Sofuni, T., Aardema, M., Albertini, S., Eastmond, D., Fenech, M.,
- Ishidate, M.Jr., Lorge, E., Norppa, H., Surrallé's, J., von der Hude, W., Wakata, A. (2003). Report from the in vitro micronucleus assay working group. *Mutation Research*. 540:153–163.
- Klaassen, C.D., (2001). 6th Edition, Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons. *McGraw-Hill international Editions, Medical Pub*, 898p.
- Klassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J. (2001). "Casarett and Doull's Toxicology: Basic Science of Poisons". *McGraw-Hill international Editions*, New York, 763–784.
- Klis, S. F. L., H. P. M. Vijverberg, J. Van den Berken. 1991. Phenylpyrazoles, a new class of pesticides: Electrophysiological investigation into basis effects. *Pesticide Biochemical Physiology*. 39: 210–18.
- Kocaman., A.Y., Topaktaş, M. 2009. The In Vitro Genotoxic Effects of a Commercial Formulation of a-Cypermethrin in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 50: 27-36.
- Kontsedalov, S., 2008. Toxicity of spiromesifen on the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest Management of Science*. 65: 5–13.
- Krishna, G., Hayashi, M. 2000. In vivo rodent micronucleus assay: protocol, conduct and data interpretation. *Mutation. Research*. 455: 155-166.
- Kurteshi, K., Letaj, K., Shaqiri, Z. (2010). Determination of Genotoxic Effect of Insecticide Deltamethrin WP 250. *New Knowledge Journal of Science*. 1314 -5703.
- Lambert, I.B., Singer, T.M., Boucher, S.E., Douglas, G.R. 2005. Detailed review of transgenic rodent mutation assays. *Mutation Research*. 590: 1-280.
- Lapied, B., F. Grolleau, and D. B. Sattelle. 2001. Indoxacarb, an oxadiazine, blocks insect neuronal sodium channels. *British Journal Pharmacology*. 132:587–95.
- Latt, S.A., Schrek, R.R., Loveday, K.S., Dougherty, C.P., Schuler, C.F. 1980. Sister chromatid Exchange. *Advances in Human Genetics*. 10: 267-331.
- Lima, P.D.L., Yamada, E. S., Costa, E. T., Pessoa, C. O., Rabenhorst, S. H. B., Bahia, M.
- O., Cardoso, P. C., Santos, R. A., Smith, M. A. C., Burbano, R. R. 2005. "Genotoxic effects of rotenone on cultured lymphocytes." *Genetics and Molecular Research*. 4 (4): 822–831.

- Liman, R., 2014. Mutagenecity and genotoxicity of dicaphton insecticide. *Cytotechnology*. 66: 741–751.
- Lorge, E., Lambert, C., Gervais, V., Becourt-Lhote, N., Delongas, L., Claude, N. 2007. Genetic toxicity assessment: employing the best science for human safety evaluation. Part II: Performances of the in vitro micronucleus test compared to the mouse lymphoma assay and the in vitro chromosome aberration assay. *Toxicology and Science*. 96 (2): 214–217.
- Lovinskaya, A.V., Kolumbayeva, S.Zh., Kolomiets, O.L., Abilev, S.K. 2016. Genotoxic Effects of Pesticide Fipronil in Somatic and Generative Cells of Mice. *Russian Journal of Genetics*. 52: 491–497.
- MacGregor, T.J., Heddle, A.J., Hite, M., Margolin, H.B., Ramel, C., Salamone, M.F., Tice, R.R., Wild D. 1987. Guidelines for the conduct of micronucleus assays in mammalian bone marrow erythrocytes. *Mutation Research*. 189: 103–112.
- Marrs, T. C., Dewhurst, I. 2000. "Toxicology of pesticide." General and Applied Toxicology, 2.Edition, Macmillan Reference Ltd., New York, 1993–2012.
- Mavournin, H.K., Blakey, H.D., Cimino, C.M., Salamone, F.M., Heddle, A.J., 1990. The *in vivo* micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*. 239: 29–80.
- McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E., Ames, N.B. 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 72: 5135–5139.
- McKelvey-Martin, V.J., Green, M.H., Schmezer, P., Pool-Zobel, B.L., De Meo, M.P., Collins, A. 1993. The single cell gel electrophoresis assay (comet assay): A european review. *Mutation Research*. 288: 47–63.
- Mercangöz, A., Ayaz T.B. 2000. 2, 4, 5 tri (Süstitüe) fenil imidazol ve türevlerinin mutajenik etkilerinin Ames/Salmonella test sisteminde saptanması. *Turkish Journal of Biology*. 24: 57–64.
- Mesi (Dizdari), A., Kopliku, D. 2013. Cytotoxic and Genotoxic Potency Screening of Two Pesticides on *Allium cepa* L. 6th International Conference on Information and Communication Technologies in Agriculture, *Food and Environment* (HAICTA 2013), *Procedia Technology*. 8: 19–26.
- Michaelides, P., and S. N. Irving. 1998. Cotton insect pest control with indoxacarb: A novel insecticide. In *Proceedings of the World Cotton Research Conference 2*, Athens, Greece, pp. 773–76.
- Mortelmans, K., Rupa, S.D. 2004. Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists. *Advances Applied Microbiology*. 56: 379–401.

- Mortelmans, K., Zeiger, E. 2000. The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay. *Mutation Research*. 455: 29-60.
- Naccarati, A., Pardini, B., Hemminki, K. and Vodicka, P. (2007). Sporadic colorectal cancer and individual susceptibility: a review of the association studies investigating the role of DNA repair genetic polymorphisms. *Mutation Research*. 635 (2- 3) : 118-45.
- Nagya, K., Rácz, G., Matsumoto, T., Ádány, R., Ádáma, B. 2014. Evaluation of the genotoxicity of the pyrethroid insecticide phenothrin. *Mutation Research*. 770: 1-5.
- Nauen, R., and I. Denholm. 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: Current status and future prospects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 58: 200-15.
- Nauen, R., and Konanz, S. 2005. Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer*. 58: 485- 502.
- Nauen, R., T. Bretschneider, A. Elbert, R. Fischer, and R. Tieman. 2003. Spirodiclofen and spiromesifen. *Pesticide Outlook*. 14: 243-46.
- Nazam, N., Lone, M.I., Shaikh, S., Ahmad, W. 2013. Assessment of genotoxic potential of the insecticide Dichlorvos using cytogenetic assay. *Interdisciplinary Toxicology*. 6: 77-82.
- Norppa, H., Bonassi, S., Hansteen, I-L., Hagmar, L., Strömberg, U., Rössner, P., Boffetta, P., Lindholm, C., Gundy, S., Lazutka, J., Cebulski-Wasilewska, A., Fabianova, E., Sram, R. J., Kunudsen, L.E., Barale, R., Fucic, A. 2006. Chromosomal aberrations and SCE as biomarkers of cancer risk. *Mutation Research*. 600 (1-2): 37-45.
- Oliveira, P.R., Bechara, G.H., Denardi, S.E., Oliveira, R.J., Mathias, M.I.C. 2012. Genotoxic and mutagenic effects of fipronil on mice. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 64: 569- 573.
- Öncüer, C. ve Durmuşoğlu, E., 2008. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın. 472 s.
- Öncüer, C., 1993. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları, 80-213.
- Östling, O., Johanson, K.J., 1984. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 123 (11): 291-298.
- Özbek, T., 2006. Doğu Anadolu tıbbi bitkilerine ait bazı türlerin Ames/ Salmonella Mikrozom testi kullanılarak antimutajenik özelliklerinin saptanması. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 72 s.
- Özkan, D., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H. 2009b. Evaluation of the cytogenetic damage induced by the organophosphorous insecticide acephate. *Cytotechnology*. 59: 73-80.

- Özkan, F., Gündüz, S.G., Berköz, M., Hunt, A.Ö. 2009a. Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in peripheral erythrocytes of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, following exposure to sublethal cadmium dose. *Turkish Journal of Zoology*. 35(4): 585-592.
- Özkaya, G., Çeliker, A., Koçer, G.B. 2013. İnsektisit zehirlenmeleri ve Türkiye'deki durumun değerlendirilmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 70(2): 75- 102.
- Özparlak, H. 2006. Yumurtaya Verilen Organik İnsektisit Fipronil'in Tavukların Embriyonik ve Kuluçka Sonu Erken Dönem Gelişimi Üzerindeki Zararlı Etkilerinin Belirlenmesi. Doktora tezi. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Konya.135s.
- Parlak, Ş., (2007). "Gıda koruyucu maddesi olan Bifenil'in insan lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi, kromozom anormallliği ve mikronükleus oluşumu üzerine etkileri". Yüksek Lisans Tezi. *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Adana. 25-30.
- Pastor, S., Gutierrez, S., Creus, A., Cebulski-Wasilewska, A., Marcos, R. 2001. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and Buccal epithelial cells of polish farmers exposed to pesticides. *Mutation Research*. 495: 147-156.
- Paz-y-Min˘o, C., Bustamante, G., Sa´nchez, M.E., Leone, P.E. (2002). Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticide in Ecuador. *Environmental Health Perspectives*. 110:1077-1080
- Perez, D.J., Menone, M.L., Camadro, E.L., Moreno, V.J. 2008. Genotoxicity evaluation of the insecticide endosulfan in the wetland macrophyte *Bidens laevis* L. *Environmental Pollution*. 153(3):695-8.
- Perry, P.E., Thomson, E.J. (1984). The methodology of sister chromatid exchanges. In: Kilbey BJ, Legator M, Nichols W, Ramel C (eds) *Handbook of mutagenicity test procedures*, 2nd edn. Elsevier, Amsterdam. pp 459-529.
- Plestina R., (1984). "Prevention, diagnosis and treatment of insecticide poisoning", *Geneva: World Health Organization Report*. 84:889.
- Preston, R.J, Dean, B.J., Galloway, S., Holden, H., McFee, A.F., Shelby, M. 1987. Mammalian in vivo cytogenetic assays: Analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutation Research*. 189:157-165.
- Rahman, M. F., Mahboob, M., Danadevi, K., Banu B. S., Grover, P. 2002. "Assessment of genotoxic effects of Chloropyrifos and Acephate by the comet assay in mice leucocytes." *Mutation Research*. 516: 139-147.
- Rahman, M. F., Mahboob, M., Danadevi, K., Banu, B.S., Grover, P. (2002). "Assessment of genotoxic effects of Chloropyrifos and Acephate by the comet assay in mice leucocytes." *Mutation Research*. 516: 139-147.
- Rencüzoğulları, E., Topaktaş, M. 1991. The relationship between quantities of bromodeoxyuridine and human peripheral blood with determination

- of the best differential staining of sister chromatids using chromosome medium-B. *Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. 5(3): 19-24.
- Rim, K-T., Kim, S-J. 2015. A Review on Mutagenicity Testing for Hazard Classification of Chemicals at Work: Focusing on *in vivo* Micronucleus Test for Allyl Chloride. *Safety and Health at Work*. 6: 184-191.z
- Roloff, B.D., Belluck, D.A., Meisner, L.F. 1992. Cytogenetic studies of herbicide interactions *in vitro* and *in vivo* using atrazine and linuron. *Arch Environmental Contaminant Toxicology*. 22(3): 267-271.
- Roma, G.C., de Oliveira, P.R., Araujo, A.M., Bechara, G.H., Mathias, M.I. 2012. Genotoxic and mutagenic effects of permethrin in mice: micronuclei analysis in peripheral blood erythrocytes. *Microscopy Research Technique*. 75: 1732-1736.
- Rooney, D., Czepulkowski, B.H. 1992. "Human Cytogenetic", *Oxford University Press*, New York, 269.
- Ruiz de Arcautea, C., Pérez-Iglesiasa, J.M., Nikoloffa, N., Nataleb, G.S., Soloneskia, S., Larramendy, M.L. 2014. Genotoxicity evaluation of the insecticide imidacloprid on circulating blood cells of Montevideo tree frog *Hypsiboas pulchellus* tadpoles (Anura, Hylidae) by comet and micronucleus bioassays. *Ecological Indicators*. 45 : 632–639.
- Saleh, K., Çelikler, S., Sarhan, M.A.A. 2010. Lack of micronuclei formation in bone marrow of rats after oral exposure to thiocyclam insecticide. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 17: 311–314.
- Salvagni, J., Ternus, R.Z., Fuentefria, A.M. 2011. Assessment of the genotoxic impact of pesticides on farming communities in the countryside of Santa Catarina State, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*. 34: 122-126.
- Sandal, S., Yilmaz, B. 2011. Genotoxic effects of chlorpyrifos, cypermethrin, endosulfan and 2,4-D on human peripheral lymphocytes cultured from smokers and nonsmokers. *Environmental Toxicology*. 5: 433-42.
- Sankar, P., Telang, A.G., Manimaran, A. 2010. Curcumin protects against cypermethrin- induced genotoxicity in rats. *Environmental Toxicology Pharmacology*. 30 (3) : 289-91.
- Savage, J.R.K., 1993. Update on target theory as applied to chromosomal aberrations. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 22: 198-207.
- Schmid, W., 1975. The micronucleus test. *Mutation Research*. 31: 9-15.
- Sezer, B., 2002. "Metal içeren bazı pestisitlerin alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi
- Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*. 175: 184-191.

- Soderlund, D.M., J.M. Clark, L.P. Sheets, L.S. Mullin, V.J. Piccirillo, D. Sargent, J.T. Stevens, M.L. Weiner. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*. 171: 3-59.
- Sonada, J. and Wharton, R.P. 1999. Recruitment of Nanos to *bunchback* mRNA by Pumilio. *Genes & Development*. 13: 2704–2712
- Speit G, Haupter S (1985) On the mechanisms of differential giemsa staining of bromodeoxyuridine-substituted chromosomes. II. Differences between the demonstration of sister chromatid differentiation and replication patterns. *Human Genetics*. 70:126–129.
- Stopper, H., Müller, O.S. 1997. Micronuclei as a biological endpoint for genotoxicity: A minireview. *Toxicology in vitro*. 11: 661-667.
- Sulak, M.T., Çalan, R., Tulger, G. 2012. Pestisitlerin Taşınım Süreçleri ve Çevresel Etkileri. Birinci Tarım Sağlığı ve Güvenliği Sempozyumu, 6-7 Nisan, Şanlıurfa.
- Sullivan, M. J., Turnipseed, S. G., Robinson, D. 1999. Insecticidal efficacy against a complex of fall and beet armyworms and soybean looper in South Carolina Cotton. In *Proceedings of the 1999 Beltwide Cotton Production Conference*, ed. C. P. Dugger and D. A. Richter, 1034–36. Memphis, TN: National Council of America.
- Surrallés J., Xamena, N., Creus, A., Catalán, J., Norppa, H., Marcos, R. 1995. Induction Of Micronuclei By Five Pyrethroid Insecticides In Whole-Blood And Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mutation Research*. 341: 169-184.
- Şekeroğlu, V. 2010. Thiacloprid ve Deltamethrin İnsektisitlerinin Tek Başlarına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman Sıçan Kemik İliği Hücrelerinde *in vivo* (*rattus norvegicus* berkenhout, 1769) Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi. On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun. 148 s.
- Şekeroğlu, V., Atlı-Şekeroğlu, Z. 2011. Genotoksik hasarın belirlenmesinde mikronükleus testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*. 68(4): 241-52.
- Tarım ve Köyişleri İl Müdürlüğü , 1995.
- Taylor, J.H., Woods, P.S., Hughes, M.L. 1957. The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 43:122.
- Taylor, W.G., Vedres, D.D., Hall, T.W. 1997. “Capillary gas chromatographic determination of permethrin insecticide by trans esterification.” *Journal of Chromatography*. 690:123-129.
- Timoroğlu, İ., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H., Çelik, M. 2012. Assesment of the Genotoxic Effects of Organophosphorus Insecticides

- Phorate and Trichlorfon in Human Lymphocytes. *Enviromental Toxicology*. 10: 1002-1006.
- Titenko-Holland. N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, A.M., Smith, M.T. 1997. Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay *in vitro* and *in vivo*: A study of malathion- exposed workers. *Mutation Research*. 388: 85–95.
- Topaktaş, M., Speit, G., 1990. Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Ç.Ü. Sağlık Bilimleri Dergisi*. 5(1, 2, 3):73-84.
- Tuzmen, N., Candan, N., Kaya, E., Demiryas, N. 2008. Biochemical effects of Chlorpyrifos and Deltamethrin on altered antioxidative defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochemistry and Function*. 26: 119–124.
- Uma Devi, P., Satish Rao, B.S., Kamath, R. 1998. A method to score micronuclei *in vivo* using cytochalasin B-induced cytokinesis block. *Mutation Research*. 401: 33–37.
- United Nations Environment Programme, The International Labour Organization and The World Health Organization. Organophosphorus Insecticides: A General Introduction. Environmental Health Criteria 63, Geneva, 1986.
- Uslu, O., Türkman, A. 1987. “Su kirliliği ve kontrolü”, T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi:1, Ankara. 118-125.
- Ünal, G., Gürkan, M.O. 2001. “İnektisitler kimyasal yapıları, toksikolojileri ve ekotoksikolojileri.” *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü*, Ankara.
- Ündeğer, Ü., 2001. “Pestisitlerin olası genotoksik ve immünotoksik etkilerinin değerlendirilmesi”, Doktora Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 164-200.
- Ündeğer, Ü., Başaran, N. 2005. Effects of pesticides on human peripheral lymphocytes *in vitro*: induction of DNA damage. *Archives of Toxicology*. 79: 169–176.
- Üstün, F. 2007. Albendazol’un olası genotoksitesi üzerine askorbik asitin etkisi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. 100 s.
- Vanparys, P., Vermeiren, F., Sysmans, M., Temmerman, R., 1990. The micronucleus assay as a test for the detection of aneugenic activity. *Mutation Research*. 244: 95-103.
- Villarini, M., Moretti, M., Pasquini, R., Scassellati-Sforzolini, G., Fatigoni, C., Marcarelli, M., Monarca, S., Rodri’guez, A.V. 1998. *In vitro* genotoxic effects of the insecticide deltamethrin in human peripheral blood

- leukocytes: DNA damage ("comet" assay) in relation to the induction of sister-chromatid exchanges and micronuclei. *Toxicology*. 130: 129–39.
- Von Ledebur, M., Schmid, W., 1973. The micronucleus test, methodological aspects. *Mutation Research*. 19: 109-117.
- Vural, N., 2005. "Toksikoloji". Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara. 73: 342–373.
- Wang, T.C., Lin, C-M., Lo, L.W. 2009. Genotoxicity of Methoxyphosphinyl Insecticide in Mammalian Cells. *Zoological Studies*. 42: 462-469.
- WHO (World Health Organization) 1990. Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture, Geneva.
- Widel, M., Kolosza, Z., Jedrus, S., Lukaszczyk, B., Raczek-Zwierzcyka, K., Swierniak, A. 2001. Micronucleus assay in vivo provides significant prognostic information in human cervical carcinoma: The updated analysis. *International Journal of Radiation Biology*. 77: 631-636.
- Wild, D., 1975. "Mutagenicity studies on organophosphorus insecticide." *Mutation Research*. 32: 133–150.
- Wing, K. D., 2000. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection*. 19: 537–45.
- Wolff, S., 1980. Sister chromatid exchange. *Advances in Human Genetics*. 10: 183-201.
- Yanase, D., ve A. Andoh. 1989. Porphyrin synthesis involvement in dephenyl ether-like mode of action of TNPP-ethyl, a novel phenylpyrazole herbicide. *Pesticide Biochemical Physiology*. 35:70–79.
- Yavuz, K.A., 2007. Acetamiprid ve Alpha-Cypermethrin pestisitlerinin tek başına ve karışım halinde kullanıldıkları zaman insan periferel lenfositlerindeki *in vitro* genotoksik etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 207 s.
- Yavuz, O., Şanlı, Y. 1999. "Halk sağlığı ve vektör kontrolünde kullanılan pestisitler, pestisit formülasyonları ve uygulama seçenekleri." I. *Seminer Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri*, 24.
- Young, R.R., 2002. Genetic toxicology. *Toxicology*, 173: 103-121.
- Yuji, T., K. Yoshiaki. 2003. Effects of the oxadiazine insecticide, indoxacarb, on voltagegated sodium channels in dorsal unpaired median neurons isolated from the American cockroach, *Periplaneta americana* (Linnaeus) (Orthoptera: Blattidae). *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology*. 47:29–32.
- Zahran, M.M., Abdel-Aziz, K.B., Abdel-Raof, A. and Nahas, E.M. 2005. The Effect of Subacute Doses of Organophosphorus Pesticide, Nuvacron, on the Biochemical and Cytogenetic Parameters of Mice and Their Embryos. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*. 1: 277-283.

Zeiger, E., 2004. History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 44: 363- 371.

İnternet Kaynakları:

<http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>

“Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü İstatistik Verileri”,

[www. kkgm.gov.tr](http://www.kkgm.gov.tr) (2008).

“Ziraat Mühendisleri Odası”, <http://www.zmo.org.tr/genel> (2008).

Etken Maddesi Pimetrozin Olan Greensun İnsektisitinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Yıldırım Durmuş

Dr. Öğr. Üyesi Zeliha Yıldırım Durmuş, Gaziantep Üniversitesi İslâhiye Meslek Yüksekokulu, Veterinerlik Bölümü'nde öğretim üyesi olarak görev yapmaktadır. Lisans eğitimini 2004–2008 yılları arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nde tamamlamış; yüksek lisans derecesini 2011 yılında Gaziantep Üniversitesi Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı'ndan, doktora derecesini ise 2016 yılında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden almıştır.

Araştırma alanları; moleküler biyoloji, tıbbi genetik ve mikrobiyoloji olmak üzere temel ve klinik bilimlerin kesişiminde yer almaktadır. Özellikle melatonin ve gece ışığının tümör gelişimi üzerindeki etkileri, kanser biyobelirteçlerinin tanısal değerleri ile serum HMGB1, endocan ve GGT gibi moleküllerin fizyopatolojik rolleri üzerine odaklanan çalışmaları bulunmaktadır. Bu kapsamda, uluslararası hakemli dergilerde yayımlanmış çeşitli bilimsel makaleleri mevcuttur.

Son yıllarda biyogirişimcilik ve biyoteknoloji alanına yönelmiş; bu çerçevede “Biyogirişimcilik ve Tıp” (2023), “Rise of Bio-Entrepreneurship: Opportunities and Challenges” (2023) ve “Responsible Innovation: Ethical Entrepreneurship in the Biotechnology Sector” (2024) gibi editöryal katkılar sunduğu çok sayıda ulusal ve uluslararası yayına imza atmıştır.