



T.C.  
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PİMETROZİNİN İNSAN LENFOSİTLERİNDE GENOTOKSİK  
AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

**ZELİHA YILDIRIM**

**DOKTORA TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2016**

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PİMETROZİNİN İNSAN LENFOSİTLERİNDE**  
**GENOTOKSİK AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

**ZELİHA YILDIRIM**

**Biyoloji Anabilim Dalında**  
**DOKTORA**  
**derecesi için hazırlanmıştır.**

**KAHRAMANMARAŞ 2016**

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi **Zeliha YILDIRIM** tarafından hazırlanan “PİMETROZİNİN İNSAN LENFOSİTLERİNDE GENOTOKSİK AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 15/11/2016 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Ahmet KAYRALDIZ (Danışman) .....  
Biyoloji Anabilim Dalı,  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof.Dr. Lale DÖNBAK (Üye) .....  
Biyoloji Anabilim Dalı,  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof.Dr.Ergül BELGE KURUTAŞ (Üye) .....  
Biyokimya Anabilim Dalı,  
Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Doç.Dr. Yusuf SEVGİLER (Üye) .....  
Biyoloji Anabilim Dalı,  
Adıyaman Üniversitesi

Yrd.Doç.Dr. Mehmet ARSLAN .....  
Biyoloji Anabilim Dalı,  
Ardahan Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa ŞEKKELİ .....  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, alıntı yapılan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Zeliha YILDIRIM

Bu çalışma Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından desteklenmiştir.  
Proje No: 2014/3-25 D

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**PİMETROZİNİN İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDE GENOTOKSİK  
AKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ  
(DOKTORA TEZİ)**

**ZELİHA YILDIRIM**

**ÖZET**

Pimetrozin, turunçgiller ve sebzelerde gözlenen yaprak biti ve beyaz sinek mücadelesinde yaygın olarak kullanılan bir insektisittir. Bu çalışmada pimetrozinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozomal aberasyon (KA) ve mikronükleus (MN) testleriyle olası genotoksik etkisi ve mitotik indeks (MI), proliferasyon indeksi (PI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) değerleri saptanarak olası sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Hücreler, pimetrozinin, 5, 10, 20 ve 40 µg/mL'lik dozları ile 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmiştir. Hazırlanan daimi preparatlarda yapılan mikroskopik incelemelerle KKD/Hücre, KA/Hücre, Anormal Hücre (AH), MN ve mikronükleuslu binükleer hücre (BNMN) frekansları ile MI, PI ve NBI değerleri saptanmıştır. Elde edilen veriler SPSS (17.0) paket programı kullanılarak kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. KKD frekansında sadece 24 saatlik muamele süresinde 20 µg/mL'lik dozda istatistiki olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $P<0,05$ ). Pimetrozin, 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde, KA ve AH frekansını kontrole göre önemli ölçüde arttırmıştır ( $P<0,05$ ). Pimetrozin ile muamele edilen hücrelerde, 24 saatlik muamele süresinde 20 µg/mL'lik dozda, 48 saatlik muamele süresinde ise en yüksek doz hariç (40 µg/mL) denenen diğer dozlarda hem MN hem de BNMN frekansında önemli bir artış olduğu saptanmıştır ( $P<0,05$ ). MI değerinin 24 saatlik muamele süresinde 20 ve 40 µg/mL'lik dozlarda, 48 saatlik muamele süresinde ise; 40 µg/mL'lik dozda kontrole göre önemli oranda azaldığı saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Diğer yandan PI ve NBI değerlerinde kontrole göre gözlenen farklılıkların anlamlı olmadığı bulunmuştur ( $P>0,05$ ). Sonuç olarak; bu çalışmada elde edilen verilere göre pimetrozin etken maddesinin insan periferal lenfositlerinde genotoksik etkiye sahip olduğu ve aynı zamanda zayıf sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Pimetrozin, İnektisit, Genotoksisite, Sitotoksisite, Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Anormalliği, Mikronukleus.

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Kasım/2016

Danışman: Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ

Sayfa sayısı: 117

# ANALYSIS OF GENOTOXIC ACTIVITY OF PYMETROZINE IN HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTES

(PhD Thesis)

Zeliha YILDIRIM

## ABSTRACT

Pymetrozine is an insecticide commonly used in aphid and whitefly struggle observed in citrus fruits and vegetables. In this study, possible genotoxic effects of pymetrozine were investigated in human peripheral blood lymphocytes by *in vitro* sister chromatid exchange (SCE), chromosome aberration (CA) and micronucleus (MN) tests and also cytotoxic effects of pymetrozine were determined with mitotic index (MI), proliferation index (PI), and nuclear division index (NDI) evaluations. The cells were treated with 5, 10, 20 and 40 µg/mL pymetrozine for 24 and 48 hours. SCE/Cell, CA/Cell, abnormal cell (AC), MN, and micronucleated binuclear cell (BNMN) frequencies were determined by microscopic analysis of the preparations. Obtained data were compared with the control group by using SPSS package programme (17.0). In the SCE frequency, there was a statistically significant increase only in the cells treated with the 20 µg/mL pymetrozine ( $P<0,05$ ). Pymetrozine was markedly elevated the CA and AC incidences in the cells treated for 24 and 48 h as compared to control group ( $P<0,05$ ). There was also a significant increase in both MN and BNMN frequencies of the cells treated with 20 µg/mL pymetrozine for 24 h and with tested doses for 48 h (except for 40 µg/mL) ( $P<0,05$ ). Decrease in MI values was found to be significant at doses of 20 and 40 µg/mL for 24 h and a dose of 40 µg/mL for 48 h in comparison with the control ( $P<0,01$ ). On the other hand, observed differences in PI and NBI values were found to be not insignificant ( $P>0,05$ ). As a result; according to the data obtained from this study, pymetrozine had genotoxic effect and also weak cytotoxic effect in human peripheral lymphocytes.

**Keywords:** Pymetrozine, Genotoxicity, Cytotoxicity, Sister Chromatid Exchange, Chromosome Aberration, Micronucleus.

Kahramanmaraş Sütçü İmam University  
Institute for Graduate Studies in Science and Technology  
Department of Biology Kasım / 2016

Supervisor: Assoc. Prof. Ahmet KAYRALDIZ

Page number : 117



## TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam sırasında beni her konuda destekleyen, tecrübelerini, bilgilerini benimle paylaşan, önerileri ile beni yönlendiren danışman hocam sayın Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ'a, bilgilerini ve deneyimlerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Lale DÖNBAK'a, laboratuvarında her aşamada desteklerini gördüğüm tüm arkadaşlarıma ve akademik kariyerimde ilerlemem adına maddi ve manevi desteğini her zaman hissettiğim abim Ferhat YILDIRIM'a, manevi olarak her daim destek olan ablam Gamze YILDIRIM KÖSE'ye ve eniştem Önder KÖSE'ye, ayrıca hayatımın her döneminde yanımda olan ablam Ayten SARPER ve eniştem Kemal SARPER'e, canım anneme ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın bir bölümü, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Fonu tarafından desteklenmiş olup katkılarından dolayı Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü'ne teşekkür ederim

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

<b>ÖZET .....</b>	<b>I</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>III</b>
<b>TEŞEKKÜR.....</b>	<b>V</b>
<b>İÇİNDEKİLER.....</b>	<b>VI</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ.....</b>	<b>X</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....</b>	<b>XI</b>
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Tarım .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Tarımsal İlaçlama.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3. Pestisitlerin Tanımı .....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Pestisitlerin Tarihçesi.....</b>	<b>5</b>
<b>1.5. Pestisitlerin Dünyadaki Kullanımı.....</b>	<b>6</b>
<b>1.6. Pestisitlerin Türkiye'deki Kullanımı .....</b>	<b>7</b>
<b>1.7. Pestisitlerin Zararları.....</b>	<b>9</b>
1.7.1. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerine Akut ve Kronik Etkileri.....	9
1.7.2. Pestisitlerin Çevre Üzerine Etkileri .....	13
1.7.3. Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkileri .....	14
<b>1.8. Pestisitlerin Sınıflandırılması .....</b>	<b>14</b>
1.8.1. İnsektisitler .....	16
1.8.1.1. Klorluhidrokarbon Yapısındaki İnsektisitler .....	17
1.8.1.2. Karbamat Grubu İnsektisitler .....	19
1.8.1.3. Piretiroit Grubu İnsektisitler.....	19
1.8.1.4. Organofosfat (Organikfosfor) Grubu İnsektisitler.....	20
1.8.1.5. Diğer Yeni İnsektit Grupları.....	21
1.8.2. Herbisitler .....	22
1.8.3. Fungusitler .....	23
1.8.4. Rodentisitler .....	23
1.8.5. Fumigantlar ve Böcek Uzaklaştırıcılar .....	23
<b>1.9. Genetik Toksikoloji .....</b>	<b>25</b>

1.9.1. Genotoksisite Testleri .....	27
1.9.1.1. Kromozom Anormallikleri (KA) Testi .....	27
1.9.1.2. Mikronükleus (MN) Testi .....	28
1.9.1.3. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Testi .....	32
1.9.1.4. Salmonella/Mikrozom Mutajenite (Ames) Testi .....	32
1.9.1.5. Komet Testi .....	33
1.9.1.6. Fare Lenfoma Testi .....	33
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....</b>	<b>35</b>
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>54</b>
<b>3.1. Materyal .....</b>	<b>54</b>
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddelerin Özellikleri ve Hazırlanışları .....	54
3.1.1.1. Pimetrozin .....	54
3.1.1.2. 5'-Bromo-2'-deoksiuridin (BrdUrd) .....	54
3.1.1.3. Sitokalsin B .....	55
3.1.1.4. Entellan (Merck No: 7961) .....	55
3.1.1.5. Fiksatif .....	55
3.1.1.6. Giemsa (Merck No: 9204) .....	55
3.1.1.7. Hipotonik Çözelti .....	55
3.1.1.8. Kolşisin (Sigma No: C9754) .....	56
3.1.1.9. Kromozom Medyumu (PB-Max No: 12552-013) .....	56
3.1.1.10. Mitomisin C (MMC) (Sigma No: Y0000378) .....	56
3.1.1.11. Nitrik Asit (HNO <sub>3</sub> Sigma 438073) .....	56
3.1.1.12. Sorensen Tamponu .....	56
3.1.1.13. Standart Sodyum Sitrat (SSC) Çözeltisi .....	57
3.1.2. Kullanılan Deney Ekipmanları .....	57
3.1.2.1. Hassas Terazi .....	57
3.1.2.2. İnkübatör .....	57
3.1.2.3. Mikroskop .....	57
3.1.2.4. Santrifüj .....	57
3.1.2.5. Su Banyosu .....	57
3.1.3. Lamların Temizlenmesi .....	58
3.1.4. Sterilizasyon .....	58
3.1.4.1. BrdUrd Eriyiğinin Sterilizasyonu .....	58
3.1.4.2. Saf Suyun Sterilizasyonu .....	58
<b>3.2. Metod .....</b>	<b>58</b>
3.2.1. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) ve Kromozom Anormalliklerini (KA) Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İnceleme .....	58
3.2.1.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması .....	59
3.2.1.2. Preparatların Boyanması ve Daimi Preparatların Hazırlanması .....	60
3.2.1.3. Daimi Preparatlarda Mikroskopik İnceleme .....	61
3.2.1.4. Kardeş Kromatid Değişimi Sayısının (KKD) ve Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması .....	61
3.2.1.4.1. KKD Sayısının Saptanması .....	61
3.2.1.4.2. Proliferasyon İndeksi'nin (PI) Saptanması .....	61
3.2.2. Kromozom Anormallikleri (KA) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması .....	66

3.2.2.1. Kromozom Anormalliklerinin Saptanması.....	66
3.2.2.2. Mitotik İndeksin (MI) Saptanması .....	66
3.2.3. Mikronukleus (MN) Oluşumunu Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İncelemeler .....	67
3.2.3.1. Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması.....	67
3.2.3.2. Preparatların Boyanması.....	67
3.2.3.3. Mikroskopik İnceleme .....	68
3.2.4. Mikroskopta Fotoğraf Çekme.....	70
3.2.5. İstatistiksel Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi .....	70
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>71</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>81</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

### Sayfa No

Şekil 1.1. Pestisitlerin ekosistem içerisindeki döngüsü.....	13
Şekil 3.1. Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumunun şematik olarak gösterilmesi.....	61
Şekil 3.2. Deoksitimidin (dT), Bromodeoksüridin (BrdUrd) ve Deoksüridin(dU)' in kimyasal yapıları.....	72
Şekil 3.3. BrdUrd'nin DNA yapısına girmesi ile birinci (A), ikinci (B) ve üçüncü mitoz (C) bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması.....	64
Şekil 3.4. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (x1000).....	65
Şekil 3.5. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (x1000).....	65
Şekil 3.6. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (x1000).....	66
Şekil 3.7. Bir (a) ve iki (b) nükleus içeren hücreler. ....	69
Şekil 3.8. Üç (a) ve dört (b) nükleus içeren hücreler.....	69
Şekil 4.1. Kromatid kırığı (x1000) (20 µg/mL, 48 saatlik muamele, ♂).....	74
Şekil 4.2. Kardeş kromatitlerin birleşmesi (x1000) (20 µg/mL, pimetrozin 48 saatlik muamele, ♂).....	75
Şekil 4.3. Fragment (x 1000) (40 µg/mL, 24 saatlik muamele, ♂) .....	75
Şekil 4.4. Poliploidi (10 µg/mL, 24 saatlik muamele, ♂) .....	76

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 1.1. Dünyada pestisit tüketimi.....	7
Çizelge 1.2. Türkiye'de pestisit tüketimi .....	9
Çizelge 1.3. Türkiye’de insanlarda pestisitlerden meydana gelen zehirlenmeler .....	10
Çizelge 1.4. Hedef organizmaya göre pestisitlerin sınıflandırılması.....	14
Çizelge 1.5. Organoklorlu pestisitlerin yapısal sınıflandırılması .....	18
Çizelge 1.7. Pimetrozin aktif maddesine ait bazı bilgiler.....	25
Çizelge 4.1. Pimetrozin ile muamele edilen insan periferal lenfositlerinde hücre başına düşen kardeş kromatid değişimi (KKD/hücre) ve Proliferasyon indeksi (PI).	71
Çizelge 4.2. Pimetrozin ile muamele edilen insan periferal lenfositlerinde hücre başına düşen anormallik oranı (KA/hücre), kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre (AH) yüzdesi ve mitotik indeks (MI) .....	73
Çizelge 4.3. Pimetrozin ile muamele edilen insan periferal lenfositlerinde mikronukleus (MN), mikronukleuslu binukleer hücre (BNMN) ve nukleer bölünme indeksi (NBI) .....	77

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	: Asetilkolin esteraz
BHC	: Benzen heksaklorür
BrdU	: 5-Bromo-2-deoksiüridin
CBMN	: Sitokinezis engelleyici mikronükleus
CHO	: Çin hamster over
CYP	: $\alpha$ -sipermetrin
Cyt-B	: Sitokalsin-B
DDE	: Dikloro difenil dikloroetilen
DDT	: Dikloro difenil trikloroetan
DFP	: Diizopropil fluorofosfat
DNOC	: 2,4- dinitro-6-metil fenol
ETU	: Etilen tiyoüre
EUROGAP	: Avrupa Tarım Uygulamaları
HCB	: Hekzaklorobenzen
HCCH	: Hekzaklorosikloheksan
HCH	: Hekzakloroheksan
IARC	: Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu
IMI	: İmidakloprid
IPM	: Entegre zararlı yönetimi
LCT	: $\lambda$ -siyalotrin
MMC	: Mitomisin-C
MSS	: Merkezi sinir sistemi
OF	: Organofosfat bileşikleri
PCE	: Polikromatik eritrosit
PCP	: Pentaklorofenol
PSS	: Periferik sinir sistemi
SCGE	: Tek hücre jel elektroferezi
SSC	: Sodyum sitrat çözeltisi
TCDD	: 2,3,7,8-tetraklorodibenzo- <i>p</i> -dioksin
TEPP	: Tetraetil pirofosfat
TFT	: Triflorotimidin
TMTD	: Tetrametilthiuram disülfür
XPRT	: Ksantin guanin fosforibozil transferaz

$\alpha$ -HCH	: Alfa heksaklorosikloheksan
$\gamma$ -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	: Gama Glutamil Transferaz
FISH	: Floresan <i>in situ</i> hibridizasyon
DEL	: Deltametrin
ISO	: İzoproturon
MTT	: (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)2,5-diphenyltetrazolium bromide)
PKE/NKE	: Polikromatik eritrosit/ Normokromatik eritrosit
PHR	: Forat
DDVP	: Diklorvos
ADI	: Kabul edilebilir günlük alım dozu
MRL	: Maksimum kalıntı sınırı
USEPA	: Birleşik Devletler Çevre Koruma Ajansı
WO	: Wipe-out
KOG	: K-O Gard®
CWB	: Kutworm bait
SB	: Snail ban
CPX	: Koopeks



## 1. GİRİŞ

Günümüzde teknolojinin gelişmesi, beraberinde çevre kirliliğini de getirdiğinden dolayı canlılar bu durumdan olumsuz yönde 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 bilinmektedir. Ayrıca pestisitlerin kullanılması bir yandan tarımsal üretimi artırırken diğer yandan, pestisitlerin yoksun, gelişi güzel ve aşırı dozda kullanılmaları sonucunda çevredeki kalıntıları çoğalmakta ve bu maddeler canlıları olumsuz yönde etkilemektedir (Avcı, 2013).

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 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 ((Delen ve ark., 1995; Kaya, 2005; 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 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. Pestisitlerin insanlarda belirli miktarlarda toksik olmaları nedeniyle savaşında çalışan herkesin bunların kullanımı sırasında meydana gelebilecek potansiyel zarardan sakınmaları gerekir. Bu nedenle insektisit ve diğer kimyasalların genotoksik potansiyellerini değerlendirebilmek için bazı *in vitro* test sistemleri geliştirilmiştir. Kısa zamanlı testler diye bilinen bu testlerle insektisitlerin belirli sistemlere etki edip etmedikleri araştırılmakta ve elde edilen sonuçlarla maddelerin genotoksik potansiyelleri arasında ilişkiler kurulmaktadır.

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 ve piridin azomethin 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 kullanılmaktadır. Aynı zamanda 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 (Pimetrozin 2013 yılında ülke çapında toplam 5052 kg satılmış ([www.tarim.gov.tr](http://www.tarim.gov.tr)) 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 lenfositleri üzerindeki genotoksik etkisinin incelendiği herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada; farklı konsantrasyonlar ve muamele süreleri için pimetrozinin insan periferal 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. Tarımın gelişmesi, insanların göçebe yaşam tarzlarını bırakarak yerleşik 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 edilebilmektedir (Avcı, 2013).

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 yabancı 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 (yabancı ot öldürücü), fungusit (küf öldürücü), rodentisit (kemirgen öldürücü) olmak üzere birçok türevi 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. 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 yüzdede bulunan kimyasal maddeye de “etkili/aktif madde” denilmektedir. Bu formulasyon içinde etkili madde (belli düzeyde), yardımcı maddeler, emülgatörler ve dolgu maddeleri 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 toksisite 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 seviyedeki etkinliği elde etmek için başlangıçta devamlı doz yükseltilmesi yöntemine başvurulması nedeniyle artan dozlara paralel olarak doğadaki 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 değişmelere 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 ürünlerinin zararlı canlılara karşı korunması için çaba sarfetmişlerdir. Günümüze kadar, bu amaç için pestisit diye adlandırılan kimyasal maddeler kullanılmış ve kullanılmaktadır. Kükürt ve arseniğin 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; Ündeğer, 2001; Dağlıoğlu, 2004).

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 çeşitliliğin artmasıyla beraber, kimyasal madde üretim miktarı da bu gereksinimleri karşılamaya yönelik olarak 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 fungusit 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, 1999a; EPA, 1999b).

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 Protokolünü (EUROGAP) 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 (Çizelge 1.1) 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.

<b>Kıtalar ve bölgeler Pestisit tüketimi</b>	<b>(bin ton)</b>	<b>%</b>
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 (Çizelge 1.2). 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 (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 asefatın, AB'de 2003'de kullanımları durdurulmuştur (Delen ve ark., 2005). Ayrıca meposfolan insektisiti 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/L) (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

Yurdumuzda, pestisitlerin en önemli uygulama alanı "tarımsal savaş ilaçları" olarak kullanımındır. 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.

### 1.7. Pestisitlerin Zararları

Pestisitlerin hem yanlış kullanılmaları hem de birçok nedenle gittikçe önem kazanan zararları olmaktadır.

#### 1.7.1. Pestisitlerin İnsan Sağlığı Üzerine Akut ve Kronik Etkileri

Pestisitlerin akut etkileri irritasyondan, dermatite, sistemik emilime bağlı olarak ölüme kadar değişmektedir. Belirtiler nonspesifik olup, gastroenterit, soğuk algınlığı, nezle vb. hastalıklarla karıştırılabilir. Toksisitesi çok yüksek olan paratyon ve metamidofos kimyasalları mesleki nedeni ölümlerin büyük çoğunluğuna neden olmaktadır. 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, nörotoksisite, nörodavranışsal bozukluklar, nörofizyolojik değişiklikler, üreme ve fertilité üzerindeki etkiler olarak sıralanabilir (Çizelge 1.3) (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 böceklere toksik etki göstererek yok eder. DDT'nin yerini zamanla organik fosfat esteri yapısındaki 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 paratyon 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 yenen sebze ve meyvelerde ve gerekli yıkama işlemi yapılmadan yenen 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. 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 (Mardin, Urfa) yaşayan 3000'den fazla kişide "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 ekmekleri yiyerek zehirlenmelerinden kaynaklı olduğu anlaşılmıştır. Bu zehirlenme olayının % 10'u ölümle sonuçlanmıştır. Aynı zamanda pestisitler kasıtlı

öldürme ve intihar amacı ile de kullanılabilir. 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:**

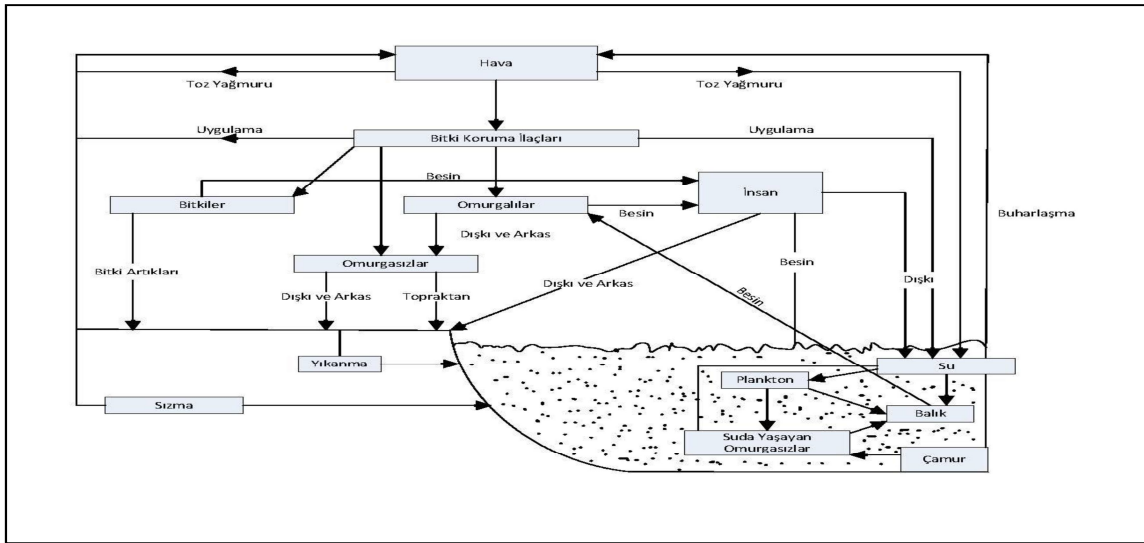
Pestisitlerle oluşan mesleki zehirlenmeler için bir bölgede 8268 pestisit zehirlenmesi ve pestisitlerle zehirlenenlerin bazılarında ise ölümler gözlenmiştir. Endüstri kazası sonucunda oluşan pestisit zehirlenmeleri sadece işleri nedeni ile maruz kalanları kapsamamakta, ayrıca civarda yaşayanları da etkilemektedir. Örneğin 1984 yılında Hindistan'da karbamat grubu pestisit üreten bir fabrikada, metil izosiyanatın depolandığı tanktan kaza sonucu kimyasalın sızması 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:** Pestisitlerle gebeliğin ilk üç ayında mesleki olarak maruz kalınması embriyotoksisite veya fetotoksisiteye neden olabilir.
- **Nörotoksisite:** 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.

## 1.7.2. 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 vermemesinin yanı sıra yok edilmesi istenilen organizmanın direnç kazanmasına neden olmakta ve sonuç olarak uygulama başarısız olmaktadır.
- Ayrıca pestisitlerin aşırı kullanılması hedef olan organizmalarla birlikte faydalı organizmaları da yok etmekte, böylece doğal denge bozulmakta 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 pestisit uygulandığı bölgede kimyasallar hava, toprak ve suya karışmakta bunlar aracılığıyla da diğer canlılara bulaşmakta ve dönüşüme uğramaktadır (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 (Avcı, 2013).

### **1.8.3. Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkileri**

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 ölümler,
- Balık, kuş ve diğer organizmalarda üreme potansiyelinin azalması,
- Hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşmasından dolayı insanlara hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolsüzce artması,
- Ekosistemin yapısının ve türlerinin sayılarının değişmesi gibi uzun sürede gerçekleşen etkiler (Kırımlı, 2007).

### **1.8. 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 Çizelge 1.4'de görüldüğü gibi sınıflandırılırlar (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Çizelge 1.4. Hedef organizmaya göre pestisitlerin sınıflandırılması.

<b>Pestisit Türü</b>	<b>Etkilediği Canlı Grubu</b>
İnsektisitler	Böcekler
Akarisitler	Akarlar
Nematisit	Nematodlar
Mollussisit	Yumuşakçalar
Rodentisit	Kemirgenler
Avisit	Kuşları
Afisit	Yaprak bitleri
Fungisit	Mantarlar
Bakterisit	Bakteriler
Herbisit	Otlar
Algisit	Algler

Ayrıca pestisitler genel sınıflandırılmasının yanı sıra çeşitli özelliklerine göre de sınıflandırılmaktadır. Aşağıdaki paragrafta bu sınıflandırılmanın örnekleri verilmektedir.

• **Etkilediği canlının biyolojik dönemine göre;**

- Larvisit (larva öldüren)
- Ovisit (yumurta öldüren)
- Erginleri öldüren

• **Zararlı organizmaya giriş yollarına göre;**

Pestisitlerin zararlı organizmaya giriş yollarına göre;

- Mide zehirleri: Zararlı organizmanın vücuduna oral yolla alınıp sindirim sisteminde zehirlenmelere yol açan pestisitlerdir.
- Kontakt zehirleri: Bitki yüzeyine püskürtüldüklerinde zararlıların ilaçlanmış

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:**

- 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 (Öncüer, 1993);**

- Toz ilaçlar (DP)
- Islanabilir ilaçlar (WP)
- Suda çözülen ilaçlar (SP)
- Kuru tohum ilaçları (DS)
- Granüller (GR)
- Peletler
- Tabletler (TB)
- Emülsiyon konsantre ilaçlar (EC)
- Akıcı konsantre ilaçlar (SC)
- Yağlar(gs)
- ULV ilaçlar (UL)
- Aerosoller (AE)

### **1.8.1. İnsektisitler**

Zararlı böceklerle mücadelede kullanılan en yaygın olan insektisitler, Organoklorinler (Organik Klorlular), Piretroidler, Karbamatlar ve Organofosfatlar



(Organik Fosforlar) olarak gruplandırılabilir (Ishaaya, 2000). İsektisitlerin hepsi nörotoksikandır ve bundan dolayı hedef organizmaların sinir sistemlerine toksik etki gösterirler. Böceklerin merkezi sinir sistemleri (MSS) de, periferik sinir sistemleri (PSS) de memelilerininkine benzemekle beraber çok gelişmiştir. O yüzden bütün türlerde insektisitlerin 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 klorlar, piretroidler gibi insektisitler sodyum (Na), potasyum (K), klorür (Cl) iyonlarının membran iletimine etki ederek veya spesifik enzimleri inhibe ederek; organik fosforlar, karbamatlar gibi insektisitler de veya sinir uçlarındaki kimyasal nörotransmitterleri etkileyerek etkilerini gösterirler (Vural, 2005).

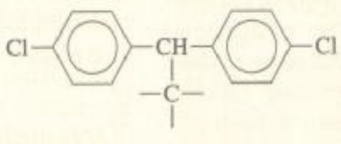
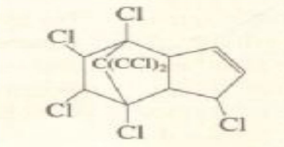
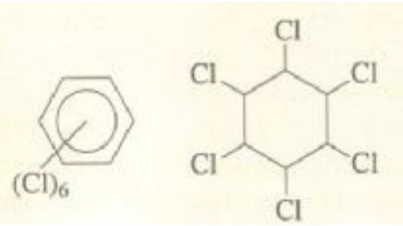
İsektisitler, kimyasal yapılarına göre organik ve anorganik yapıda olanlar olmak üzere sınıflandırılabilirler: Organik yapıda olanlar; Klorluhidrokarbonlar, organik fosfat esterleri, N-karbamat türevleri gibi ve anorganik yapıda olanlar ise kalsiyum arsenat gibidir. Aynı zamanda sentetik (DDT, organik fosfatlar gibi) ve bitkisel (nikotin, piretrum, toksafen gibi) kaynaklı olmak üzere de ayrılabilirler.

#### **1.8.1.1. Klorluhidrokarbon Yapısındaki İsektisitler**

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**

Çizelge 1.5. Organoklorlu pestisitlerin yapısal sınıflandırılması.

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

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 ölümlerine yol açarlar ve bundan dolayı yırtıcı kuşların nesillerinin azalmasına neden olurlar. Deniz canlılarında da birikimler gözlemlenilmektedir.

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.

### **1.8.1.2. Karbamat Grubu İnektisitler**

Karbamat grubu pestisitler, karbomik asidin organik esterleri veya tuzlarıdır. Hipotetik karbomik asit üzerindeki bazı gruplar üzerinden esterleşme yapılıdır. Organofosfatlara bazı özellikleri ile benzeyen karbamatlar, iki yönüyle de onlardan farklılık göstermektedirler. Farklılık gösterdiği özelliklerden ilki, organofosfatlı inektisitlerde 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 inektisitler gibi, karbamat grubu inektisitler de asetil kolinesterazın inhibitörleridir. Kolinerjik sinirlerde, asetilkolinesterazi inhibe ederek muskorinik ve nikotinik stimulusa yol açarlar. Karbamat inektisitlerinin toksik etkisi kısa sürelidir bunun nedeni ise asetilkolinesteraz inhibisyonunun kendiliğinden ve hızlı şekilde geri döndürme etkisidir (Johnson, 1970; Taylor ve ark., 1997; Lima ve ark., 2005).

### **1.8.1.3. Piretroit Grubu İnektisitler**

Piretroit grubundaki inektisitler ilk defa 1880'li yıllarda Piretrum cinsine ait bazı bitkilerin çiçeklerinin öğütülmesi ile elde edilen piratrum ekstratındaki piretrin maddesinin inektisit olarak kullanılmasıyla başlanmıştır (Ünal ve Gürkan, 2001). Sentetik piretroitlerden olan alletrin ve sikletrin ilk defa 1949'da sentezlenmişlerdir. İlk kez sentezlenen bu ürünler inektisit 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 inektisit sınıfıdır. Krizantem (*Chrysanthemum cinerariifolium*) içeren inektisidal özütünden elde edilen toz olan piretrumlar; piretrum özellikteki kimyasallar ise piretrinlerdir ve sentetik kimyasallardan olan piretroitler de; kimyasal yapısı ve toksisite mekanizması piretrumlara 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 inektisit potansiyelleri keşfedilmiş olan inektisitler piretrinlerdir. Piretrumlar, güneş ışığında ve suda kolay bir şekilde hidroliz ve fotolize

uğradığı için kendiliğinden parçalanır ve hızlı bir şekilde bozular. Bundan dolayı sentetik eşdeğerleri olan piretroidler geliştirilmiştir. (Klaassen ve ark., 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 piretroid etkili maddeler yağda çözüdür (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).

#### **1.8.1.4. Organofosfat (Organikfosfor) Grubu İsektisitler**

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; Echobichan, 1996; Marrs ve Dewhurts, 2000; Lima ve ark., 2005;). Organofosfatlı pestisitlerin alkilleyici ajanlar olduğu düşünülmektedir. Protein alkilenmesi aracılığıyla doğrudan ya da dolaylı olarak DNA bazlarının alkilenmesi DNA hasarına yol açmaktadır. Rahman ve ark., (2002) ile Wild'in (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.

#### **1.8.1.5. Diğer 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 toksitesi, kısa yeniden girişlere ve hasat öncesi aralıklara yol açmakta ve bu durumda insektisitlerin böcek kontrol programına kolaylıkla dahil edilmesine izin vermektedir. Birçoğu daha çok seçici olduğu için ve doğal düşmanlara karşı geniş spektrumlu organofosfatlar, karbamatlar, neonikotinoidler ve piretroid insektisitlere göre daha az zarar vermektedir. Örneğin; bunlar ikincil böceklerin (sekonder pestlere) salgınına daha az neden olmaktadır ki bu böceklerin kontrolü doğal düşmanları tarafından sağlanmaktadır ve ayrıca bunlar geniş spektrumlu pestisitlerin neden olduğu 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 böcek 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 pestisitlere karşı direnç gösterdiği gözlenmiştir.

### 1.8.2. 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 soluma yolu ile 2,4-D'nin absorpsiyonu sonucunda sinir iltihapları görülmektedir. Ayrıca, bu herbisitlerin insanlara deri ile temas etmesi sonucu dermatite neden olur.

### 1.8.3. 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 bileşikleri, 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.

### 1.8.4. Rodentisitler

Fare, sıçan ve diğer kemiricileri kontrol etmek için kullanılan biyosidal ürünlerdir. Akut ve antikoagölant 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 çekingenliği adı verilen ve kemirgenlerin yeniden yeme dönüşünü engelleyen olumsuz tesirleri mevcuttur.
- **Antikoagölant rodentisitler**; Antikoagölant 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. Antikoagölant rodentisitler Dünya Sağlık Teşkilatı tarafından 1. ve 2. Jenerasyon olarak sınıflandırılmıştır.

### 1.8.5. Fumigantlar ve Böcek Uzaklaştırıcılar

Kemiriciler, böcekler 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. Dimetil ftalat, indalon gibi repellentler daha az toksiktirler. Toprak fumigantlarında en toksik olanları siyanürler ve halojenlihidrokarbonlardır. Evde güvelere karşı kullanıldığı için naftalin ve paradiklorobenzen ise önemlidirler.

### **1.9. Pimetrozin**

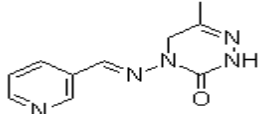
Piridin grubunda yer alan Pimetrozin, Azotmethin piridin ailesine mensup bir insektisittir. Yeni bir Azotmethin Piridin insektisidi olan Pimetrozin, 4,5-dihidro-6 metil-4-[(3-piridinil metilen) amino]-1,2,4-triazin-3(2H), emici böceklerde sinir sisteminin tükürük bezlerini etkiler ve beslenmeyi durdurarak 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 insektisitlerle çapraz direnç geliştirmediği 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 (Öncüer ve



Durmuşoğlu, 2008).

Çizelge 1.7. Pimetrozin aktif maddesine ait bazı bilgiler.

Pimetrozin Molekülü						
Fiziksel Durumu	Etkili madde renksiz ve kristal haldedir					
Kimyasal Formülü	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> N <sub>5</sub> O					
CAS Numarası	123312-89-0					
IRAC	9B					
Akut oral LD <sub>50</sub> (mg/kg)	5820					
ARfD (mg/kg)	0,1					
Dermal LD <sub>50</sub> (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, Sebzelerde; 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 fungusit 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	-

### 1.10. Genetik Toksikoloji

Biyolojik olarak etkileri tam bilinmeyen sentetik ve doğal maddelerin çevrede her geçen gün sayılarının ve kullanımlarının hızla artması ayrıca kanser vakalarındaki artışlar, bu maddelerin karsinojenik ya da mutajenik potansiyelleri açısından test edilmeleri gereğini ortaya çıkarmıştır. Bundan dolayı kanser riskini saptayabilecek özelliğe sahip olan biyobelirteçlere 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

anormalliğı, klastojenite ve anöploidide 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-Atlı, 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 (Mercangöz ve Ayaz, 2000; Vural, 2005). Bir kimyasalın karsinojenik potansiyelinin mutajenik kapasitesi ile doğru orantılı olduğu saptanmıştır. Son yıllarda, karsinojenik olan birçok maddenin mutajenik; aynı şekilde mutajenik olan birçok maddenin 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 mutajenite testlerinin tarama testleri olarak kullanılması sonucunu doğurmuştur. Toksikite 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).

Kromozom anormallikleri genotoksik ajanlara maruz kalınmasından sonra ortaya çıkan önemli biyolojik sonuçlardan birisidir (Obe ve ark., 2002). 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<sub>0</sub> ya da G<sub>1</sub> fazında, kromatid tipi kırıklara neden olanlar ise S ya da G<sub>2</sub> fazında etkilidirler. Kromozom kırıkları, G<sub>1</sub> fazında sadece bir kromatitte bir kırık meydana getirir ve S fazı süresince devam ederse, metafazdan sonra her iki kromatide 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).

### **1.11.1. Genotoksisite Testleri**

Genotoksisite testleri başlıca kansere yakalanmaktan korunmada, radyasyon 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, çeşitli mekanizmalarla mutajenik ve genotoksik özelliğe sahip olan maddelerin karsinojenik potansiyellerini ölçebilmek için *in vivo* ve *in vitro* olarak geliştirilmiştir (Bedir ve ark., 2004; Zeiger, 2004). 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.

Genetik sistemlerin, mutajenitesi test edilmek istenen maddelerle reaksiyona girmesi sağlanarak, maddelerin karsinojenik/mutajenik potansiyeleri 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, Komet testi ve Fare lenfoma testidir (Parlak, 2007).

#### **1.11.1.1. Kromozom Anormallikleri (KA) Testi**

Test bileşikleri 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 anormalliği 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).

Hücrelerin mitoz bölünme geçirmesini sağlayan kültürda ortamlarında Çin 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 kurban edilmeden yaklaşık 2-4 saat önce yapılmaktadır. Kültürü yapılan hücreler ve kemik iliği hücreleri hipotonik solüsyon ile muamele edildikten sonra, metanol-asetik asit karışımıyla fikse edilir ve lamaların üzerine damlatılarak preparatlar hazırlanır. Hazırlanan preparatlar boyanarak metafaz hücreleri mikroskop altında kromozomal anormallikler yönünden incelenir (Ford ve Hamerton,1956; Evans, 1984; Üstün, 2007).

#### **1.11.1.2. Mikronükleus (MN) Testi**

Hücrenin mitoz bölünmesi esnasında ortaya çıkan MN'ler, 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). 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).

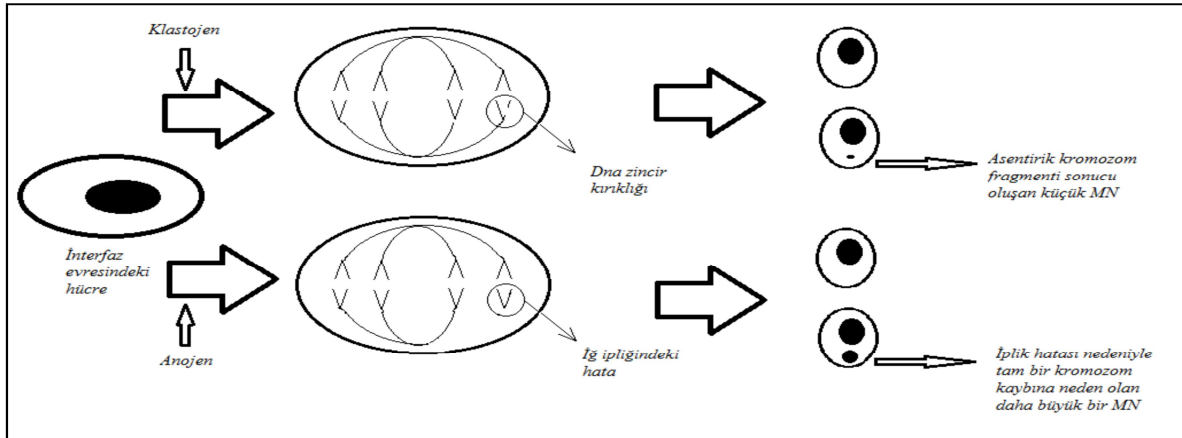
MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde meydana getirdiği sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin dolaylı göstergesi olarak düşünülmektedir. Anöploidiyi tetikleyen ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına neden olarak; klastojenler ise kromozom 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 canlılığı 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). 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 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 kf mantarlarının metabolitlerinden biri olan Cyt-B ile sitokinezi durdurmayı hedeflemektedir. Amaç, uygun konsantrasyonda lenfosit kültürlerine Cyt-B eklenmesiyle, sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş ancak çekirdek bölünmesini tamamlamış çift nukleuslu 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).

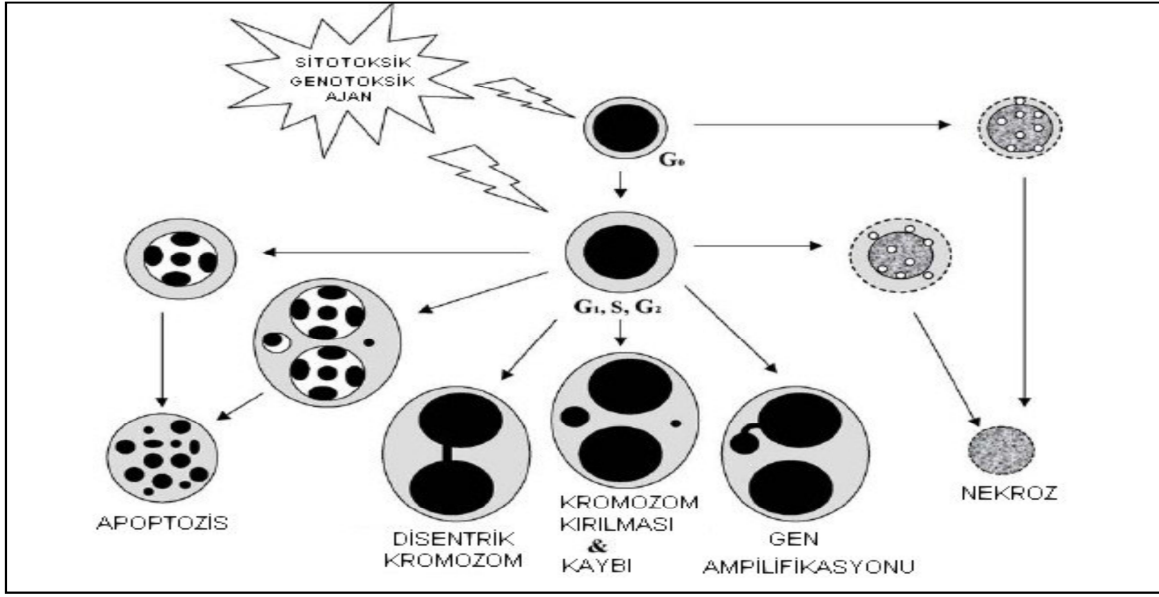
Mikronükleus değerlendirilmesinde kullanılan kıstaslar şunlardır;

- 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 sayılmalı,
- Doza bağlı olarak MN oluşumu olmalıdır,
- Nükleer olmayan partiküllerden farklı olarak ışığı yansıtılmamalıdır (Şekil 1.3) (Almassy ve ark., 1987).



Şekil 1.3. Mikronükleus oluşumu (Conner ve Smith, 1993).

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

*In vivo* mikronükleus testlerinde genellikle kemik iliğindeki veya kandaki PCE'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 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) MN içeren eritrosit sayısındaki artış kromozomal hasarın veya anafaz gecikmesi sonucu ortaya çıkan sitogenetik hasarın bir belirteçidir (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 (Şekil 1.4).

Genotoksik maddelere maruz kalan canlıların eritrositlerinde meydana gelen mikronükleus haricinde gözlenen çekirdek anomalileri de vardır. Bu çekirdek anomalilerini dört grupta toplayabiliriz. Hücrelerden iki nükleusu olanlar binükleat (çift çekirdekli) olarak isimlendirilir. Çekirdek membranından küçük çıkıntılar olup kromatin içeren çıkıntılar olarak gözlenenler tomurcuklu nükleidler, tomurcuklu çekirdeklerden daha büyük çıkıntılara sahip ve loblu bir görüntü sergileyen nükleuslar loplu nükleus olarak tanımlanır. Nükleusun içeriye doğru girinti yaptığı ve vakuolleri olan nükleuslara çentikli nükleus adı verilir. Hücrelerdeki çekirdek anomalisi verileri tüm çekirdek anomalilerinin

toplama göre değerlendirilir (Çavas ve Könen, 2008). Çekirdek anomalileri genel olarak genotoksik hasarın belirteçleri olarak düşünülmektedir. Bu nedenle rutin genotoksisite çalışmalarında MN testinin tamamlayıcısıdır (Özkan ve ark., 2009).

#### **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 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 araştırılmaları 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).

#### **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 olarak da bilinir. 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 ve 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 “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 agarozaya yerleştirilir. Lizis ve alkali elektroforez tamponunda yürütme işlemlerini takriben 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 momenti, kuyruktaki DNA yüzdesi ve kuyruk uzunluğu önemli parametrelerdir (Östling ve Johanson, 1984; Singh ve ark., 1988; McKelvey-Martin ve ark., 1993; 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) HPRT lokusundaki veya 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 kültür ortamına ekilir ve inkübasyon süresinden sonra koloniler sayılır. Mutant frekansını saptayabilmek için, TFT içeren kültür ortamındaki 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. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

- **İnsektisitlerle İlgili *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 indüklemediğini fakat kültüre edilen dalak hücrelerinde tüm gruplarda hasarın gözlendiğini bildirmişlerdir.

Surrales ve arkadaşları (1995) piretroid insektisitlerinden sipermetrin, deltametrin, fenpropatrin, fenvalerat ve permetrinin hem izole edilmiş insan lenfositlerinde hem de tam kanda mikronukleusu indükleme 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 piretroid 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 sağlık 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 indüklenme 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 binukleuslu mikronukleatlı (BNMN) hücrelerin frekanslarını arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bu kimyasalın hücre döngüsünde gecikmeye neden olduğunu ve S9 mikslili varlığında genotoksik aktivitesinin azaldığını bildirmişlerdir.

Campana ve arkadaşları (1999) *Cheirodon interruptus interruptus*'un eritrositlerinde mikronukleus testi kullanarak piretroid lambda-siyalotrinin genotoksitesini araştırmışlardır. Mikronukleus 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) kurban edilmiş 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 çalışmada 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 gözlemlenmiştir.

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 akrinatri, alfametrin, bifentrin, deltametrin, fenvalerat, lambda-sihalotrin, permetrin, tralometrin, asetamiprid, imidakloprid ve bakterisitler bulunmaktadır. Pestisitlere maruz kalan işçilerde lenfositlerin artışı ile olabilecek varyasyonları ise sitokinez bloklayıcı 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 gözlemlenmiştir.

Giri ve arkadaşları (2002) farelerde KA ve KKD analizleri ile fenvaleratın 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. Fenvaleratın ne 5 ve 10 mg/kg'lık akut dozu ne de (5x4 mg/kg) sub-akut dozu herhangi bir önemli etkiyi indüklediğini gözlemlemişlerdir. 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 pestisitini (kloroprifos ve asefat) ve siklofosfamidin (pozitif kontrol) Swiss albino erkek farelerin lökositlerinde *in vivo* genotoksik etkiyi indükleme yeteneklerini test etmişlerdir. Asefatın 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 pestisitle 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 periferal 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 µg/ml dozlarını hücre döngüsünün G<sub>1</sub>, G<sub>1</sub>/S, S ve G<sub>2</sub> fazlarına uygulamışlardır. Bu uygulama sonucunda 1 ve 1,5 µg/ml dozlarının G<sub>1</sub> fazında poliploidi ve endoredublikasyona neden olduğunu gözlemlemişlerdir. G<sub>1</sub>/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<sub>2</sub> 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 insektisitinin hücre döngüsünün tüm safhalarında sitotoksik etkiye, G<sub>1</sub>/S ve S fazlarında yapılan tüm uygulamalardan elde edilen verilere göre ise klastojenik etkiye neden olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmalarında; rotenonun, G<sub>1</sub> fazındaki hücrelerde poliploidi ve enderodublikasyona neden olmasından dolayı mitotik iğ iplikleri üzerinde de etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Demir (2005) bu çalışmada, metidatyon ve triyadimenol insektisitlerinin çeşitli dozlarıyla 48 saat muamele edilen insan periferal lenfositlerinde mikronükleuslu

binükleatların sayısında artış olduğunu gözlemlemiştir. Bu artışın, metidatyonun 3,75 µg/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 insektisitlerinin kültüre edilmiş insan lenfositlerinde klastojenik ve anojenik etkiye neden olduğunu bildirmiştir.

Ündeğer ve Başaran (2005) yaptıkları çalışmada, yaygın olarak kullanılan organofosfatlı insektisitlerden; dimetoat ve metil paratyon; karbamatlı insektisitlerden de; propoksür ve pirimikarbın, piretiroidlerden ise; sipermetrin ve permetrinin insan periferik lenfositlerinde komet testi uygulayarak genotoksik potansiyelini araştırmışlardır. Dimetoat uygulanan tüm dozlarda (10, 50, 100 ve 200 µg/mL) kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğunun önemli düzeyde ve doza bağlı olarak artmış olduğunu gözlemlemiştir. Metil paratyonun ise 10, 50 ve 200 µg/ml'lik dozlarda kuyruk uzunluğunda, 100 ve 200 µg/mL'lik dozlarda ise kuyruk yoğunluğunda artışa neden olduğunu saptamışlardır. Kuyruk yoğunluğundaki artış ile doz arasında doğru orantılı bir korelasyon olduğunu belirlemiştir. 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, kalın 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 asefat 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 incelemiştir. İnsan periferik lenfositlerini *in vitro* koşullarda asefat ve mefosfolanın farklı dozları (asefat 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. Asefat ve mefosfolanın her iki uygulama süresinde kromozom anormallik frekansını doza bağlı olarak artırdığını gözlemlemiştir. Asefat 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, aseptat 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 MI' 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 genotoksititeyi 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 *Escherichia 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 indüklenme durumunu değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda, *in vivo* olarak da silfütrin verilen sıçanların kemik iliği hücrelerinde KA ve sitotoksisiteyi değerlendirmişlerdir. Ames testinde, *Salmonella typhimurum*'da revers mutasyonların sayısındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını saptamışlardır. KA'nın 24 saatlik periyotlar için çeşitli konsantrasyonlarda silfütrin uygulanan lenfositlerdeki frekansının da anlamlı oranda artmadığını gözlemlemişlerdir. Aksine, kontrol grubuna kıyasla KA'nın, 48 saatlik uygulamada en yüksek iki konsantrasyonda (1000 ve 2000 µg/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 µg/L) muamele edilen sucül makrofit *Bidens laevis* L. kök uçlarında bu maruziyetin MN frekansı ve anafaz-telofazda kromozomal anormalliklere neden olduğunu belirlemişlerdir. MN frekansının, 0,01 µg/L ve 5 µg/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 µg/L'de yüksek oranda kalgın kromozomların gözlemlenmesi sonucu iğipliği ile etkileşen endosülfanın normal kromozom göçünü engellediğini gözlemlemişlerdir. Endosülfanın, 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 G<sub>2</sub> 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 immünohistokimyasal kullanarak hücre proliferasyon etkisini değerlendirmişlerdir. PT'nin en düşük konsantrasyonu (1 µg/mL), PO'nun (100 µg/mL) konsantrasyonundan daha fazla DNA hasarını indüklediğini, buna karşın DF'nin ise DNA hasarını indüklediğini bildirmişlerdir. Kullanılan tüm konsantrasyonlarda (0,01-100 µg/mL), DF hücre proliferasyonunu arttırırken, PT ve PO en yüksek konsantrasyonda (100 µg/mL) hücre proliferasyonunun 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 asefatın kromozomal anormalliğe ve Komet oluşumları üzerine etkisini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada doza bağlı olarak kromozom anormalliği frekansında artış olduğu 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<sub>rt</sub>) gen mutasyonu, KA ve KKD frekanslarını inceleyerek metoksifosfonilin alt ünitelerini içeren 5 organofosfor insektisit (asefat, diklorvos, metamidofos, monokrotofos, triklorfon) genotoksitesini değerlendirmişlerdir. İnsektisitlerin KKD'yi önemli oranda indüklemiş olduğunu tespit etmişler ve indüklemeye potansiyelinin sırasıyla asefat>triklorfon>monokrotofos>metamidofos>diklorvos şeklinde olduğunu gözlemişlerdir. KA test sonuçları incelendiğinde ise; en fazla KA oluşumunu diklorvos ve methamidofosun indüklediğini, monokrotofos ve asefatın şüpheli pozitif etki gösterdiğini, triklorfonun ise herhangi bir etki göstermediğini saptamışlardır. Kromozom aberasyon indüklemeye potansiyelinin diklorvos>metamidofos>monokrotofos>asefat>triklorfon şeklinde olduğunu saptamışlardır. Organofosfor insektisitlerin hiç birinin negatif kontrole göre hgp<sub>rt</sub> gen mutasyonunu indüklemeye oranının önemli düzeyde olmadığını belirlemişlerdir.

Kocaman ve Topaktaş (2009) çalışmalarında α-sipermetrinin bir ticari formülasyonunun (Fastac 100 EC, etken madde % 10 α-sipermetrin) insan periferel

lenfositlerinde KKD, KA ve MN testleriyle olası genotoksitesini araştırmışlardır.  $\alpha$ -sipermetrinin insan lenfositlerinde 24 ve 48 saat uygulama süreleriyle 5, 10, 15 ve 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozlarıyla muamele etmişlerdir.  $\alpha$ -sipermetrinin tüm konsantrasyonlar ve uygulama sürelerinde önemli oranda KKD ve KA'yı indüklediğini ve MN frekansını ise hem kontrol hem de üzücü kontrolle kıyaslandığında 5 ve 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  dozlarında önemli oranda arttırdığına saptamışlardır.  $\alpha$ -Sipermetrinin en yüksek iki konsantrasyonunda (15 ve 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) ve her iki uygulama sürelerinde yeterli düzeyde binükleer hücre gzlemlemediğini bildirmişlerdir.  $\alpha$ -Sipermetrin 10, 15 ve 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik konsantrasyonlarında ve tüm uygulama periyotlarında PI değerini azalttığını tespit etmişlerdir. Bunun yanı sıra  $\alpha$ -sipermetrinin tüm konsantrasyonlarda ve her iki uygulama sürelerinde NBI ve MI'i anlamlı oranda azalttığını gözlemlemişlerdir. Her iki muamele süresinde konsantrasyona bağlı olarak  $\alpha$ -sipermetrin PI ve MI azalttığını bildirmişlerdir.  $\alpha$ -sipermetrinin 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde ki en yüksek iki konsantrasyonda pozitif kontrolden (MMC) daha sitotoksik ve sitostatik etki gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Çalışmaya göre  $\alpha$ -sipermetrinin ticari formülasyonun insan periferal lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Kurteshi ve arkadaşları (2010) alışmalarında *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.

Saleh ve arkadaşları (2010) yaptıkları çalışmada, nörotoksin analogu olan tiyosiklam insektisitinin 135, 270 ve 540  $\text{mg}/\text{kg}$ '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 sakrifiye 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 genotoksitesiteye 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 (2010) deltametrin ve tiyaklopridin insektisitlerinin tek başlarına ve karışım halinde kullanıldıklarında sıçan kemik iliği hücreleri üzerindeki genotoksik etkisini araştırmışlardır. Kromozom anormalliği ve mikronükleus 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, MI'in en düşük, KA'nın ise en yüksek ve pozitif kontrole en yakın değerlerin, bu insektisitlerin karışım halinde verildiği ratlarda gözlemişlerdir. 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 indükleme 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 gözlemlemişlerdir.

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 gözlemlemişlerdir. 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 gözlemlemiştir.

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 *Penaus monodon*'dan geliştirilen primer hematosit kültürünü kullanmışlardır. MTT analizi kullanılarak hesaplanan 12 saatlik LC<sub>50</sub> 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±16,27 µM ve 5,52±1,16 µM '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, Lamedor nehri kıyısındaki çiftlik bölgelerinde, MN testi kullanarak genotoksisite 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 taşınmasından 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 kontrole 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.

Gerić ve arkadaşları (2012) DDT (1,1,1-trichloro-2,2-bis (p-klorofenil) etan), DDE (1,1-dichloro-2,2-bis (p-klorofenil)etilen) ve DDD (1,1-dikloro-2,2-bis(p-klorofenil)etan) 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.

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 genotoksitesisi en yüksek olanın Jade olduğunu belirlemişlerdir.  $18 \times 10^{-3}$  M Jade,  $2,0 \times 10^{-3}$  M Gasho,  $2,0 \times 10^{-1}$  M Kalipso ve 1,07 M Ponso dozları uygulanan hücrelerde sitotoksikite gözlemişler ve  $30 \times 10^{-3}$  M Jade,  $3,3 \times 10^{-1}$  M Gasho,  $2,8 \times 10^{-1}$  Kalipso ve 1,42 M Ponso 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 ( $37,5 \mu\text{g/mL}$ ) 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  $18,75 \mu\text{g/mL}$  dozları ve 48 saat muamele edilen  $18,75 \mu\text{g/mL}$  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 lindan ve diklofop-metilin sitotoksik ve genotoksik potansiyellerini incelemişlerdir. Soğan köklerini her pestisidin üç farklı ( $\frac{1}{4}$ ,  $\frac{1}{2}$  ve  $EC_{50}$ ) 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 lindan 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 ve 0,13 mg/kg dozlarını intraperitoneal olarak vermişlerdir. Deneysel koşullar altında MN frekansında, herhangi bir dozda veya polikromatik (PCE) ve normokromatik (NCE) eritrositlerin örnekleme 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 genotoksositeye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Dilek ve Muranlı (2013) bu çalışmada,  $\lambda$ -siyalotrin (LCT) ve  $\alpha$ -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 akridin 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 µg/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 µg/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 genotoksisiteyi değerlendirmişlerdir. Aynı zamanda bu bileşimin sitotoksik potansiyeli olup olmadığını kombine edilmiş floresan geçirililik boyasını kullanarak incelemişlerdir. Sonuçlara göre; fenotrinin sırasıyla insan periferel lenfositlerinde ve hepatositlerinde 20 ve 50 µM' den daha yüksek konsantrasyonlarda, işaretlenmiş sitotoksisitenin 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 *Hypsiboas pulchellus* kurbağasına İmidakloprid' in akut toksititesi ve genotoksisitesini değerlendirmişlerdir. Mortalite çalışmaları, IMI'nın LC<sub>50</sub> (96h) değerinin 84,91 olduğunu göstermiştir (% 95 güvenilirlik sınırları, 77,20-93,04). IMI ile kurbağanın 48 saat maruziyeti sonucunda 15 ve 30 mg/L'lik dozlarda MN frekansında artış gözlemlerken, 96

saat maruz kalan kurbağalarda sadece 15 mg/L 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 anormaliler, 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’ nin 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 µg/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.

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.

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 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 gözlemlemiştir.

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.

Basilio da Conceição ve Protti (2012) tavuk embriyolarında test edilen maddelerin (Quinklorak, Fipronil ve Pirazosulfaron-etil) potansiyel genotoksik etkisinin değerlendirilmesi için mikronükleus testini kullanmışlardır. *Gallus gallus domesticus* 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 indoksakarbın mutajenitesine etkisini MN testi kullanarak değerlendirmişlerdir. Çalışmada 40 tane wistar erkek rat ve 20 tane bred erkek ve dişi kedi seçilmiştir. Indoksakarbın iki türde ve farklı dozlarda da mutajenik aktivite göstermediğini gözlemlemiştir. Farklı hayvan türleri, genç ve yetişkinler olmak üzere MN'li

eritrositlerin sayısı farklı olabileceğini ve özellikle genç hayvanlarda spontan mikronükleus varlığını saptamışlardır. Bu çalışmada kullanılan türler yüksek oranda MN'li 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.

Badgular ve arkadaşları (2016) fipronilin çeşitli dozları (2,5; 12,5 ve 25 mg/kg) yetişkin erkek ve dişi farelere gavaj yöntemiyle verilerek MN, KA ve komet analizi ile genotoksik etkisini araştırmışlardır. Fipronil hem erkek hem de dişi farelerde, polikromatik eritrositlerde MN frekansında 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 genotoksositeye 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, spermatozoidlerde 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 azomethin 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. Kimyasal formülü C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>N<sub>5</sub>O' dur. CAS No: 123312-89-0' dır. Bu madde Syngenta firmasından temin edilmiştir.

Pimetrozin renksiz ve kristal haldedir. Suda çözünebilen bir maddedir. Bu çalışmada pimetrozinin piyasada kullanılan en düşük dozu olan turunçgillerde yaprak bitine karşı kullanılan (15 g/100 L) miktar baz alınarak doz tespiti yapılmıştır. Ancak piyasada kullanılan miktar ile yapılan çalışmada üreme olmadığını gözlemledik. Bu nedenle hazırladığımız bu çözeltiyi 4 kat sulandırılarak doz tespiti yapılmıştır. Son olarak pimetrozin maddesinden 2,25 mg alınıp 250 ml suda çözülerek 2,5 ml'lik besiyerine verilmek üzere 10 µg/mL'lik doz belirlenmiştir. Daha sonra bu dozun (10 µg/mL'lik dozun) iki kat artan ve bir kat azalan katları şeklinde deneyde kullanılacak olan dozlar (5,10,20,40 µg/mL) belirlenmiştir. Stok çözeltiler her deneyden 24 saat önce hazırlanarak +4 °C'de bekletilmiştir.

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

Kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla BrdUrd çözeltisi kullanılmıştır. BrdUrd eriyiği bidistile su içerisinde hazırlanmış daha sonra 0,2 µm por çapına sahip membran filtre (Sartorius marka) ile steril edilmiştir. Bu eriyikten 50 µg/mL alınarak kültür tüplerine ilave edildiğinde kültür son konsantrasyonu 10 µg/mL olacak şekilde BrdUrd içermiştir.

### **3.1.1.3. Sitokalasin B**

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

### **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 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 L'lik erlende 4 g KCl'nin 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 oluşumunu 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.

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

Bu çalışmada Gibco firmasının ürettiği kromozom medyumunu hücre kültürü için kullanılmıştır. PB-Max medyumunu tam medyumdur. PB-Max içerisinde fetal buzağı serumu, L-glutamin, gentamisin sülfat ve fitotohemagglutinin 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.

### **3.1.1.11. Nitrik Asit (HNO<sub>3</sub> Sigma 438073)**

Nitrik asit, sitogenetik çalışmalarında deneyden iki gün önce lamları temizlemek amacıyla kullanılan kuvvetli bir asittir. 1 N HNO<sub>3</sub> çözeltisi olarak hazırlanmakta ve laboratuvarında kapalı plastik bir kaptaki saklanarak her defasında tekrar tekrar kullanılmaktadır.

### **3.1.1.12. Sorensen Tamponu**

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°C'de saklanmıştır.



### **Hazırlanışı:**

**Tampon A:** 11,34 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  250 mL saf su içinde eritilmiştir (pH=4,8).

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

#### **3.1.1.13. Standart Sodyum Sitrat (SSC) Çözeltisi**

Bu çözelti için 11,05 g 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 g NaCl tartılarak yine saf su içerisinde ancak ayrı bir kaptaki eritilmiştir. İki eriyik, bir şişeye dökülerek iyice karıştırılmış ve üzerine 500 mL oluncaya kadar saf su ilave edilmiştir. Hazırlanan bu stok eriyik 5×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 tamamlanarak elde edilen 1×SSC eriyiği kullanılmıştır.

#### **3.1.2. Kullanılan Deney Ekipmanları**

##### **3.1.2.1. Hassas Terazi**

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

##### **3.1.2.2. İnkübatör**

Kan kültürlerinin 37 °C'de inkübasyonu için sıcaklık toleransı 0-100 °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 hızına sahip zaman ayarlayıcılı ve 28 tüp kapasiteli Hettich Universal marka santrifüj kullanılmıştır.

##### **3.1.2.5. Su Banyosu**

Kardeş kromatidlerin farklı boyanmasında kullanılan SSC eriyiğinin belirli sıcaklıkta (58–60 °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 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°C) saklanmıştır.

### **3.1.4. Sterilizasyon**

#### **3.1.4.1. BrdUrd Eriyiğinin Sterilizasyonu**

BrdUrd eriği steril bir cam kap içinde (erlen) bulunan ve steril olan saf su içinde 5'-bromo-2'-deoksiuridin 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, etrafı 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 şişeye konulmuş ve şişenin 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.'ları (2000) 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'nun (1984) 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'lik kromozom medyumuna (PB-Max) ilave edilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Kanın ilavesinden hemen sonra tüplere 50 µL BrdUrd çözeltisi ilave edilerek 37 °C'deki inkübatörde 72 saat kültüre alınmıştır. Test maddesinin ön çalışma sonucu belirlenen dört konsantrasyonu (5, 10, 20 ve 40 µg/mL) suda çözülerek toplam hacim 3 µL olacak şekilde, kültürün başlangıcından 24 ve 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 µg/mL olacak şekilde verilmiştir. Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (yani kültürün 70. saatinde) metafazları bloklayabilmek için her tüpe hazırlanan kolşisin eriyiğinden (0,06 µg/mL) ilave edilmiş ve tüpler hafifçe sallanarak iyice karıştırılmıştır.

Kültür süresi olan 72. saatin bitiminde tüplerdeki hücreler 2000 rpm'da 5 dk süreyle santrifüjde çöktürülmüştür. Üste kalan süpernatant atılmış ve tüpte kalan 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 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Dipte kalan sıvı homojenize edildikten sonra 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 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra 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 lamaların üzerine 50 cm yükseklikten farklı alanlara hücre süspansiyonu damlatılarak (her lama 3-4 damla) hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Hücre süspansiyonunun lamalara 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'in (1985) geliştirdikleri metot modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla bir günlük preparatlar ışınlama kabına konarak üzeri bir film gibi örtülecek şekilde Sorensen tamponu ile kapatılmıştır. Işınlama eriyiği, 5 mL tampon A, 5 mL tampon B'den alınıp bu karışımın distile su ile 100 mL'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6,8). Işınlama eriyiğinin fazla veya az olmasının kardeş kromatidler arasındaki kontrast farkını önemli derecede etkilediği görülmüştür. Bu şekilde ince bir tabaka halinde ışınlama eriyiği ile örtülen preparatlar, karanlıkta 15 cm yükseklikten 30 W'lık 254 nm dalga boyunda ışık yayabilen ultraviyole lambası ile 30 dk ışınlanmıştır. Işınlama bittikten sonra preparatlar 1xSSC eriyiği içerisinde 58-60 °C arasındaki sıcaklıklarda 60 dk inkübe edilmiştir. Işınlama süresi bitmeden 15 dk önce % 5'lik Giemsa boya eriyiği hazırlanmıştır. % 5'lik Giemsa boyası, 5 mL tampon A, 5 mL tampon B ve 5 mL Giemsa'nın karıştırılarak üzerleri son hacim 100 mL olacak şekilde saf su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6,8). Sonra bu boya dik bir şale içine filtre kâğıdı ile süzülmüştür. İnkübasyon süresinin sonunda preparatlar 1xSSC eriyiğinden 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.

KA analizi için preparatların 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 daimi hale getirilmiştir.

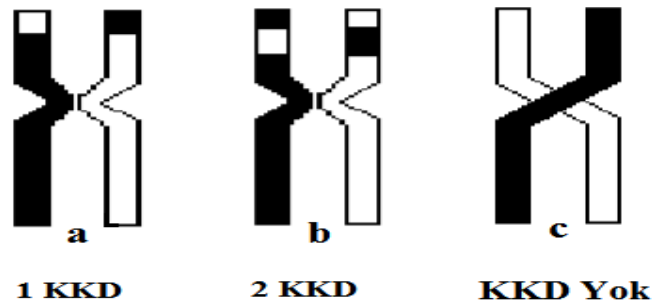
### 3.2.1.3. Daimi Preparatlarda Mikroskopik İnceleme

Hazırlanmış olan daimi preparatlar Olympus CX21 marka ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ( $10 \times 100 = 1000$  büyütme) ile incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında KKD ve KA belirlenmiştir. Aynı preparatlarda birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin sayısı saptanmıştır. Bu incelemeler sonucunda PI ve MI saptanmıştır.

### 3.2.1.4. Kardeş Kromatid Değişimi Sayısının (KKD) ve Proliferasyon İndeksinin (PI) Saptanması

#### 3.2.1.4.1. 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 3.1. a: 1 KKD, b: 2 KKD, c: KKD Yok. Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990).

#### 3.2.1.4.2. Proliferasyon İndeksi'nin (PI) Saptanması

Test maddesinin DNA replikasyonu üzerindeki etkilerini saptamak amacı ile PI değeri saptanmıştır. 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 değeri şu şekilde hesaplanmıştır:

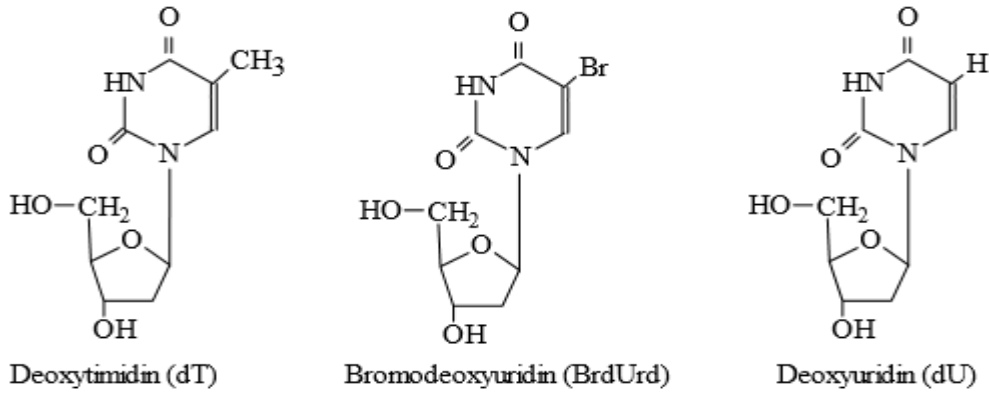
$$PI = \frac{1 \times (M1) + 2 \times (M2) + 3 \times (M3)}{100}$$

*M1*: Birinci mitozu geçiren hücrelerin sayısı

*M2*: İkinci mitozu geçiren hücrelerin sayısı

*M3*: Üçüncü mitozu geçiren hücrelerin sayısı

BrdUrd, deoksitimidin (dT) ve deoksiuridin (dU) birbirlerinin analogu olan bileşiklerdir (Şekil 3.2). 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 CH<sub>3</sub>, BrdUrd’de Br ve dU’de H atomudur.

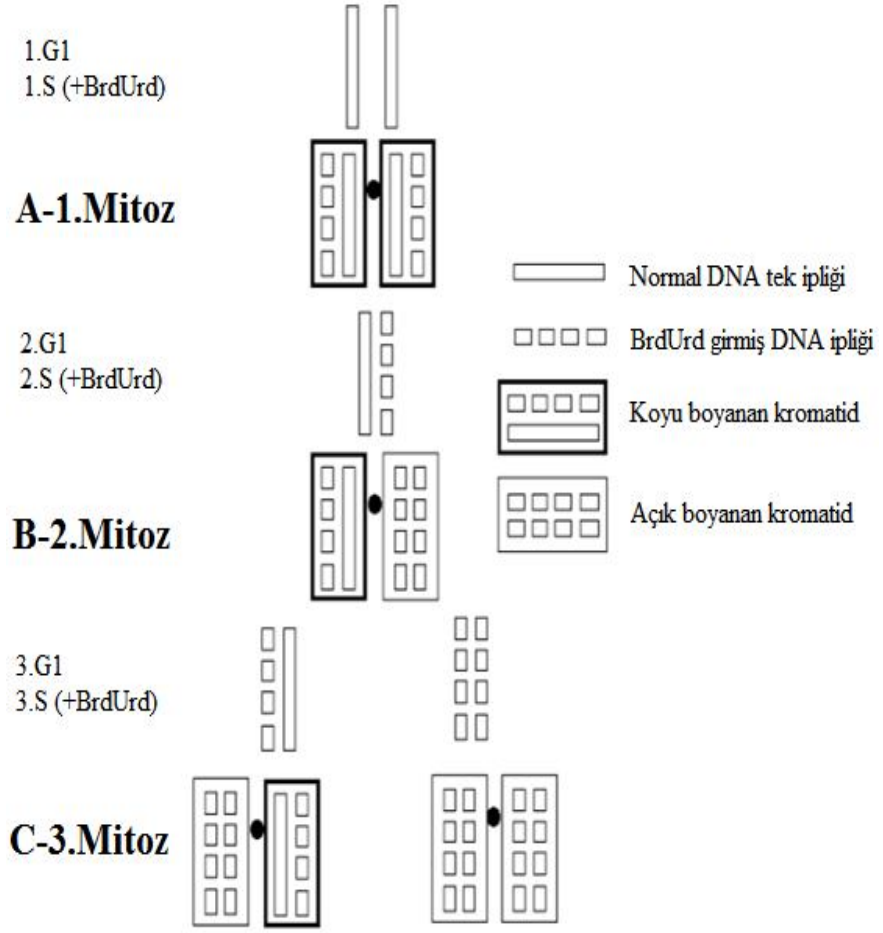


Şekil 3.2. Deoksitimidin (dT), Bromodeoksüridin (BrdUrd) ve Deoksüridin(dU)’in kimyasal yapıları.

Bromodeoksiuridin, DNA’nın yapısında bulunan timin bazının analogu olduğundan kültür ortamına BrdUrd eklendikten sonraki DNA replikasyonları esnasında (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 3.4). 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

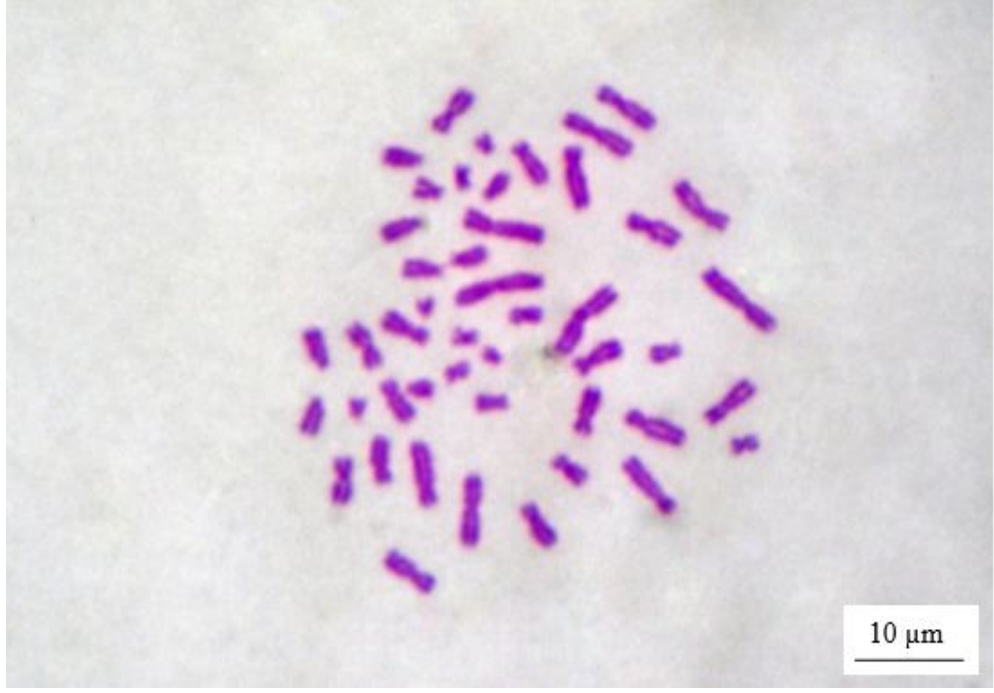
oluşturan her iki polinukleotid ipliği de BrdUrd içereceğinden (BrdUrd/BrdUrd) bu kromatid, aynı kromozomun açık boyanan kromatidini oluşturacaktır (BrdUrd/BrdUrd). İşte bu hücrenin metafaz devresinde kromozomlar boyandığında tüm kromozomların kromatidlerinden birisi koyu diğeri açık renkte boyanacaktır (BrdUrd/dT (koyu renkli); BrdUrd/BrdUrd (açık renkli)). Bunlarda ikinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.5). 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 diğeri kromatidinin bir ipliği timinli diğeri ipliği BrdUrd'li olan bir kromozom (BrdUrd/BrdUrd; dT/BrdUrd) oluşacaktır. Bu kromozom da boyandığında bir kromatidi koyu renkte, diğeri 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 diğeri kromatidi koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler de üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.6). İşte bu şekilde birinci, ikinci ve üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreler ayırt edilmiş (Şekil 3.3), 100 hücre içinde bu hücrelerin sayısı saptanmış ve elde edilen veriler kullanılarak PI hesaplanmıştır.

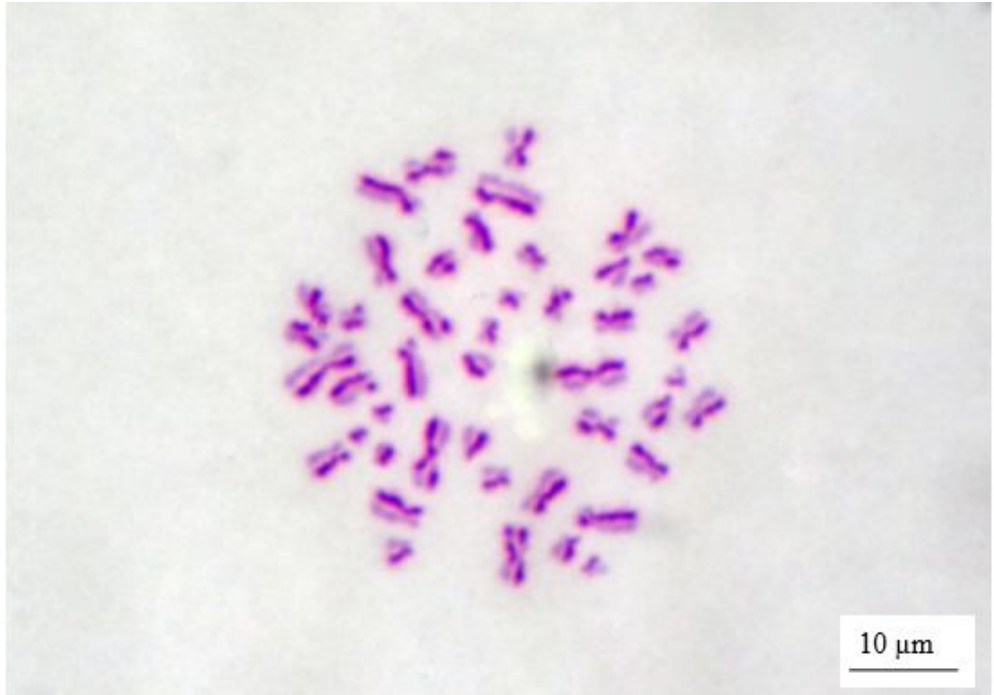


Şekil 3.3. BrdUrd'nin DNA yapısına girmesi ile birinci (A), ikinci (B) ve üçüncü mitoz (C) bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması (Topaktaş ve Speit, 1990).

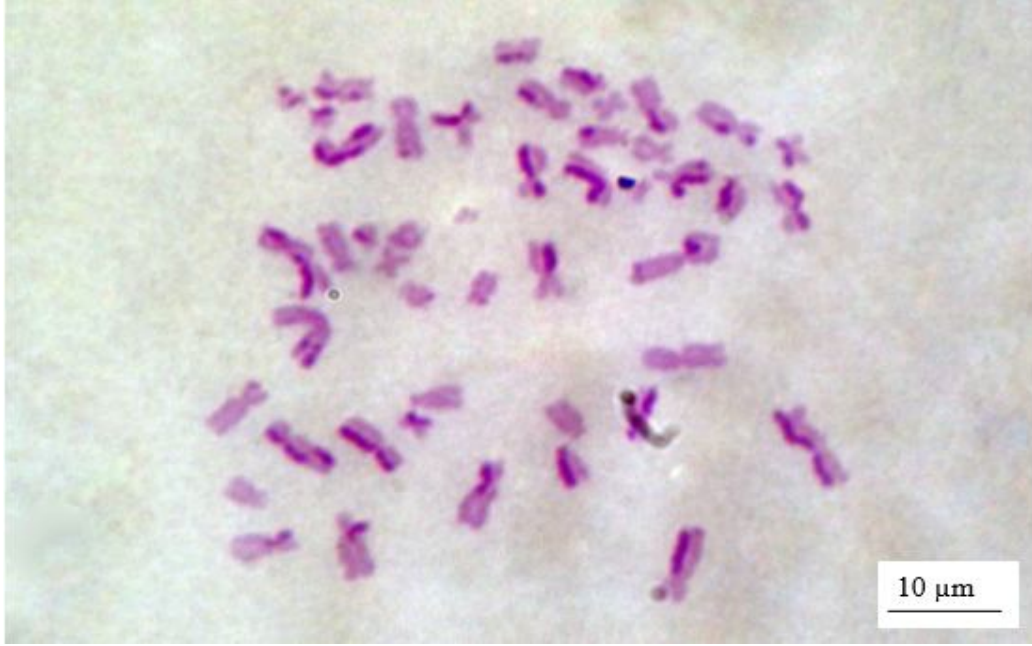




Şekil 3.4. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (x1000).



Şekil 3.5. İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (x1000).



Şekil 3.6. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücrenin metafaz kromozomları (x1000).

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

#### 3.2.2.1. Kromozom Anormalliklerinin 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 (KA/hücre) ile anormallik içeren hücrelerin yüzdesi (% AH) bulunmuştur. Bu çalışmada karşılaştığımız gaplar anormallik olarak değerlendirilmemiştir (Preston ve ark., 1987).

#### 3.2.2.2. Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

Pimetrozinin mitoz bölünme üzerindeki etkilerini incelemek 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  $37\pm 0,5$  °C'de 68 saat süre ile inkübe edilmiştir. Pimetrozinin etkisini incelemek için, daha önce belirlenmiş olan konsantrasyonlardaki (5, 10, 20 ve 40 µg/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 µg/mL Mitomisin-C) kullanılmıştır. İki nukleuslu hücre oluşumunu sağlamak için kültürün 44. saatinde bütün tüplere 6 µg/mL olacak şekilde sitokalsin B ilave edilmiştir. Kültür süresinin bitiminde (68. saat) kültür tüpleri 2000 rpm'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 rpm'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 rpm'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 yeniden çözelti haline getirilmiştir. Daha sonra hücre süspansiyonu soğuk ve temiz lamlar 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 süzülmüştür. Preparatlar direkt

olarak boya içerisine 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 mikroskobik incelemeler yapılmıştır.

### 3.2.3.3. Mikroskobik İnceleme

Hazırlanmış olan kalıcı preparatlar Olympus marka binoküler ışık mikroskopunda 40'lık objektif ile incelenmiştir (10x40=400 büyütmede). Bu incelemeler sırasında hazırlanan her bir preparattan 2000 adet iki nukleuslu (4 kişiden toplam 8000 binükleer) 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). Nukleer Bölünme İndeksi (NBI) hesaplanmıştır (Fenech, 2000). Hesaplaması aşağıdaki formüle göre yapılmıştır;

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

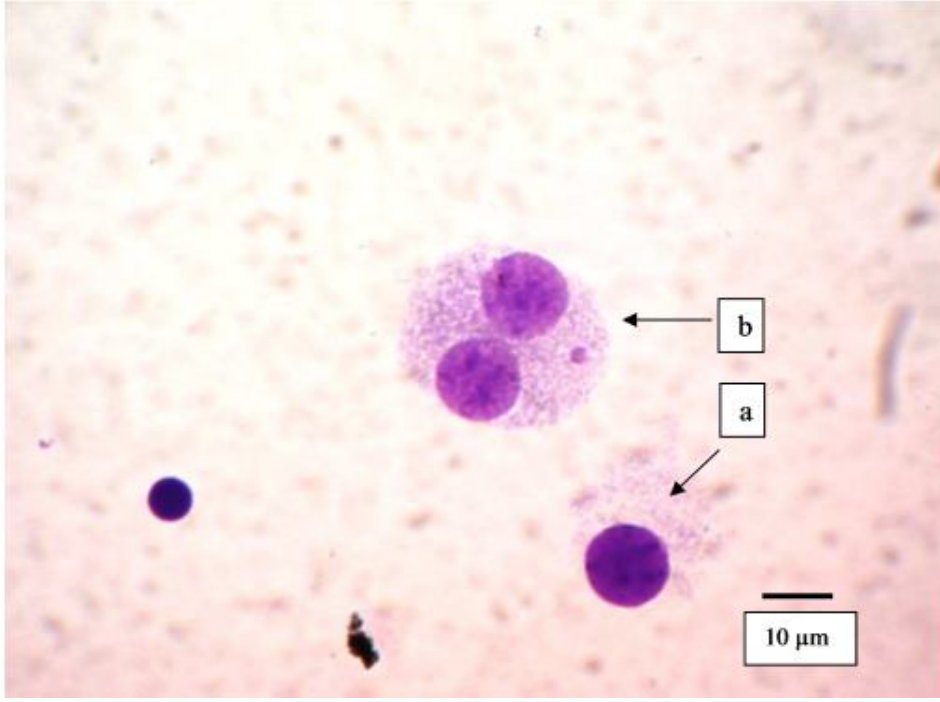
N1: Bir nukleuslu hücre sayısı

N2: İki nukleuslu hücre sayısı

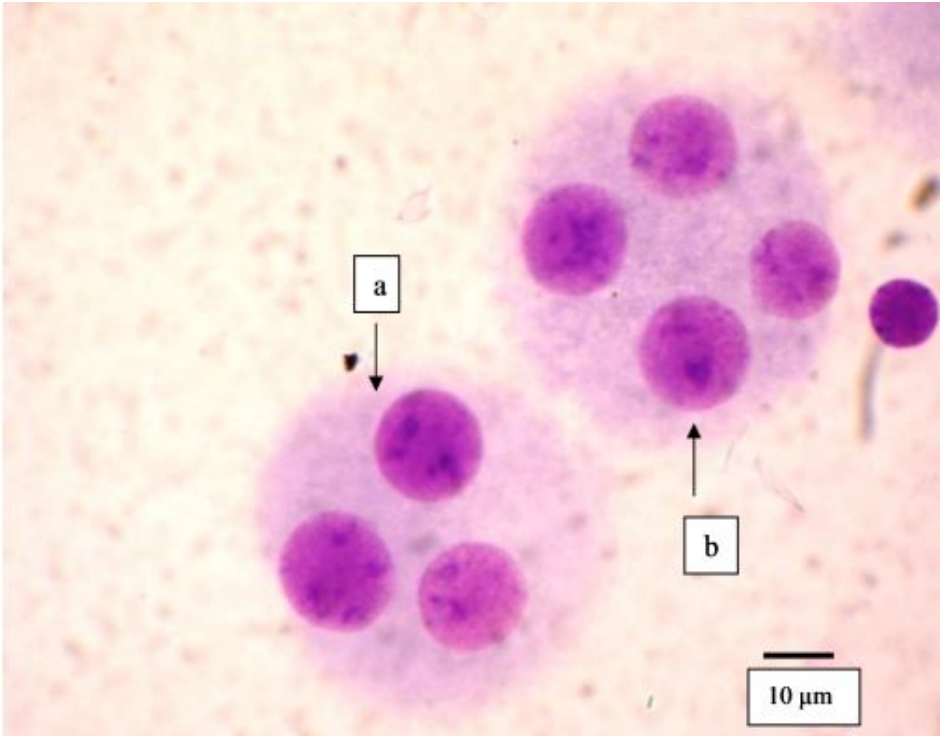
N3: Üç nukleuslu hücre sayısı

N4: Dört nukleuslu hücre sayısı

N: Sayılan toplam hücre



Şekil 3.7. Bir (a) ve iki (b) nükleus içeren hücreler.



Şekil 3.8. Üç (a) ve dört (b) nükleus içeren hücreler.

### **3.2.4. Mikroskopta Fotoğraf Çekme**

Fotoğraf çekme işlemi Olympus marka trinoküler mikroskoba bağlı dijital fotoğraf makinesinde 1000 büyütmede yapılmıştır (Olympus CX31RTSF, 7.1 Megapiksel). 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.

### **3.2.5. 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 TARTIŞMA

Pimetrozin etken maddesinden hazırlanan 5, 10, 20 ve 40 µg/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 ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde hücre başına düşen kardeş kromatid değişimi (KKD/Hücre) ve proliferasyon indeksi (PI).

Test maddesi	Muamele		KKD/Hücre ±SH	PI±SH
	Süre (s)	Doz (µg/mL)		
<b>K (-)<sup>a</sup></b>	24	0,00	3,03±0,85	2,69±0,69
<b>K (+)<sup>b</sup></b>		0,10	34,42±3,21	1,76±0,12
<b>Pimetrozin</b>		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
<b>K (-)</b>	48	0,00	3,03±0,85	2,69±0,69
<b>K (+)</b>		0,10	34,42±3,21	1,76±0,12
<b>Pimetrozin</b>		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

<sup>a</sup>: Kontrol

<sup>b</sup>: Pozitif kontrol, Mitomisin C

\*  $P < 0,05$

Pimetrozin ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde 24 saatlik muamele süresindeki 20 µg/mL doz ( $P<0,05$ ) hariç diğer tüm dozlar ile ve 48 saatlik muamele süresindeki denem tüm dozlar için, kontrol ile mukayese edildiğinde hücre başına düşen KKD sayısındaki artışın istatistiki olarak önemli olmadığı saptanmıştır ( $P>0,05$ ) (Çizelge 4.1).

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, PI'ni 24 ve 48 saat'lik muamele sürelerinde ve tüm dozlarda kontrole nazaran önemli ölçüde düşürmüştür ancak bu azalma istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Bu çalışmada kullanılan kısa süreli mutajenite ve kanserojenite testlerinden olan kardeş kromatid değişimi testi hassas ve kabul gören yöntemlerdendir (Bolognesi, 2003; Bağcı ve ark., 2005). Birçok kimyasal ajan kardeş kromatid değişimi oluşumunu farklı şekillerde etkilemektedirler. Yapılan bazı çalışmalarda kimyasalların DNA'yı alkilleyerek polinükleotidlerde çapraz bağlar oluşmasını sağladıkları belirlenmiştir. Meydana gelen bu bağlanmalar DNA tamir mekanizması tarafından tamir edilemediği için KKD frekansında artışa sebep olmaktadır (Tuna, 1992; Wilson III ve Thompson, 2007).

Bu durum pimetrozinin DNA'yı alkilleme ve sonucunda gerçekleşen çapraz bağların tamir edilememesi şeklinde oluşan DNA hasarına neden olmadığını göstermektedir.



Çizelge 4. 2. Pimetrozin ile 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 ±SH	Kromozom Anormallikleri <sup>a</sup>						AH±SH (%)	MI±SH
	Süre (s)	Doz (µg/mL)		B	B''	F	SU	DS	P		
<b>K (-)<sup>b</sup></b>	24	0,0	0,05±0,01	5	-	1	1	-	-	5,25±2,06	3,67±0,31
<b>K (+)<sup>c</sup></b>		0,1	0,34±0,22	8	4	11	3	6	8	29,32±2,32	1,25±0,27
<b>Pmtrzn</b>		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**
<b>K (-)</b>	48	0,0	0,05±0,01	5	-	1	1	-	-	5,25±2,06	3,67±0,31
<b>K (+)</b>		0,10	0,52±0,40	6	6	20	12	9	10	44,15±3,70	1,22±0,23
<b>Pmtrzn</b>		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**

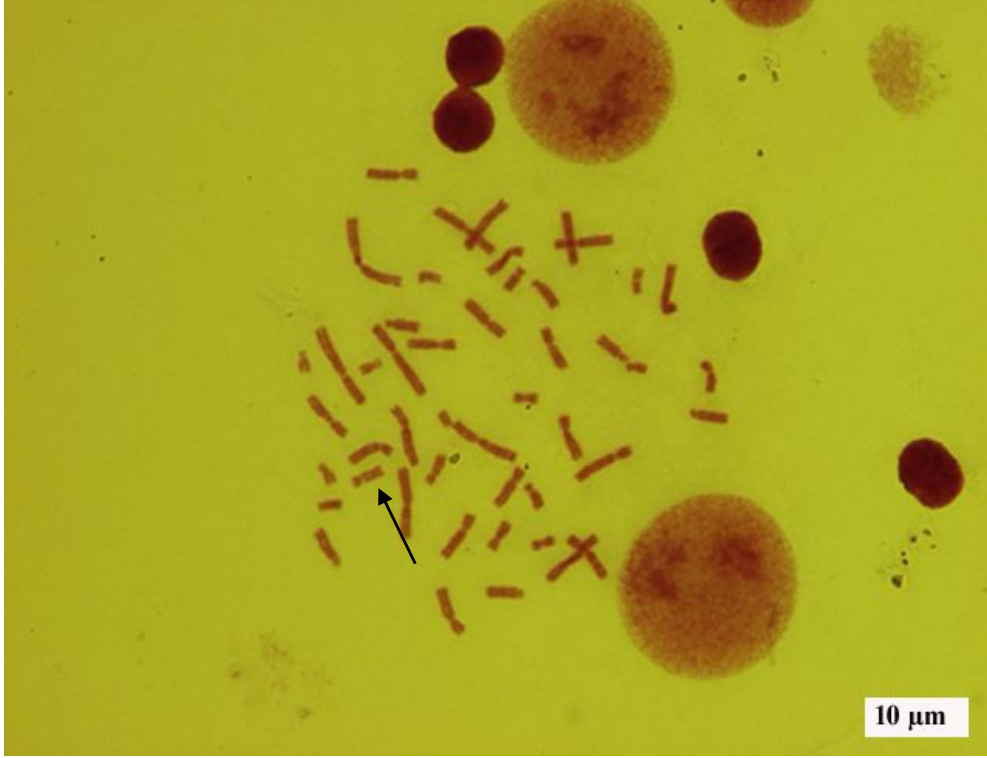
<sup>a</sup>: B', Kromatid Kırığı; B'', Kromozom Kırığı; F, Fragment; SU, Kardeş Kromatidlerin Birleşmesi, DS, Disentrik Kromozom; P, Poliploidi;

<sup>c</sup>: Pozitif kontrol, Mitomisin C

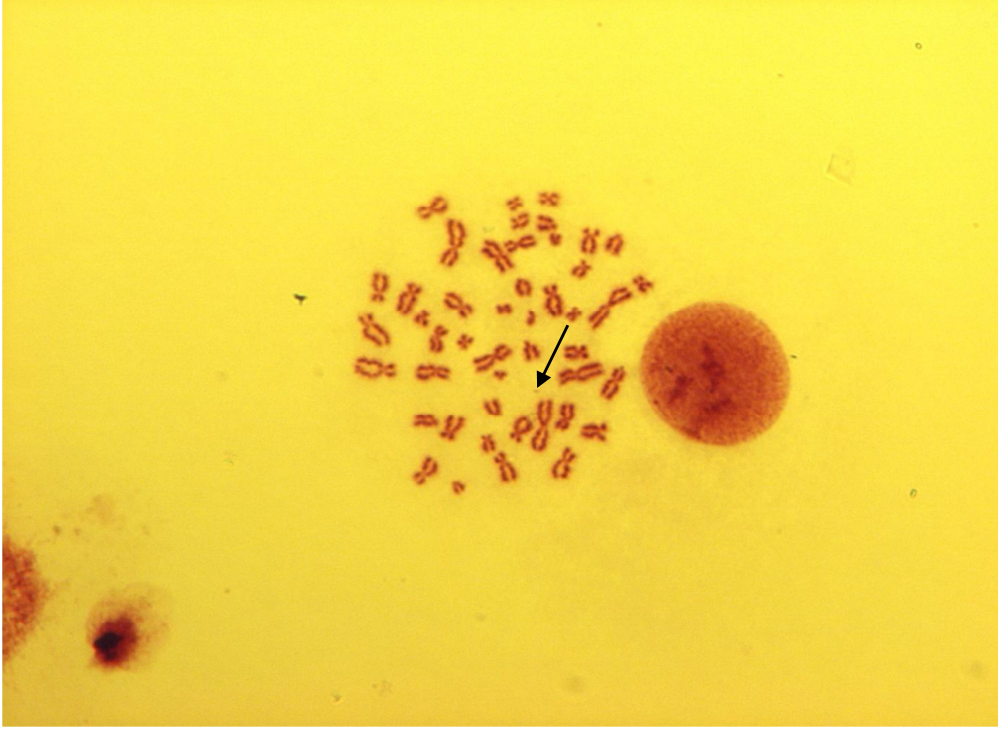
\*  $P<0,05$  \*\* $P<0,01$

Pimetrozin ile 24 ve 48 saat muamele edilen hücrelerde, hücre başına düşen Anormallik frekansını ve Anormal hücre yüzdesini denem tüm dozlarda kontrole göre önemli ölçüde arttırmıştır ( $P<0,05$ ) (Çizelge 4.2). Pimetrozinin, 24 saat'lik muamele süresinde 20 µg/mL ( $P<0,05$ ) ve 40 µg/mL ( $P<0,01$ ) dozlarda; 48 saatlik muamele süresinde ise 40 µg/mL'lik dozda kontrol ile mukayese edildiğinde MI'yi istatistiki olarak önemli düzeyde azalttığı saptanmıştır ( $P<0,01$ ).

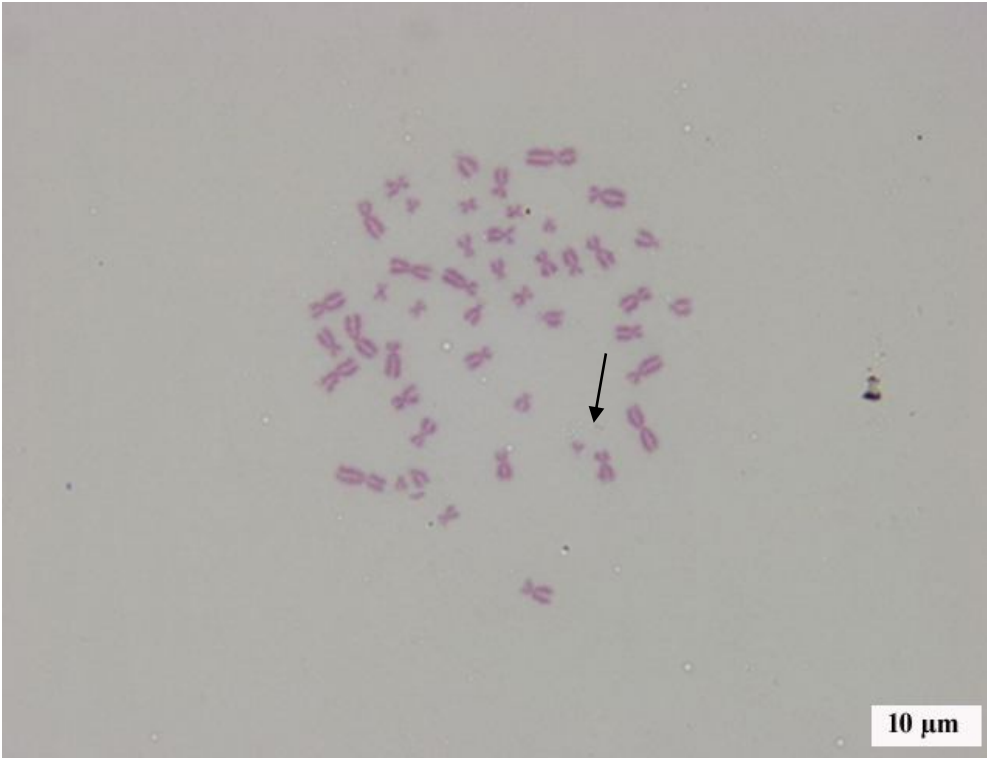
Çizelge 4.2’de görüldüğü gibi, bu çalışmada gözlenen kromozomal anormallikler; kromatid kırığı (Şekil 4.1), kromozom kırığı, kardeş kromatidlerin birleşmesi(Şekil 4.2), fragment (Şekil 4.3), disentrik kromozom ve poliploidi (Şekil 4.4) şeklindedir. Başta kromatid kırığı olmak üzere kromozom kırığı ve kardeş kromatidlerin birleşmesi ve fragment en sık gözlenen kromozomal anormalliklerdir.



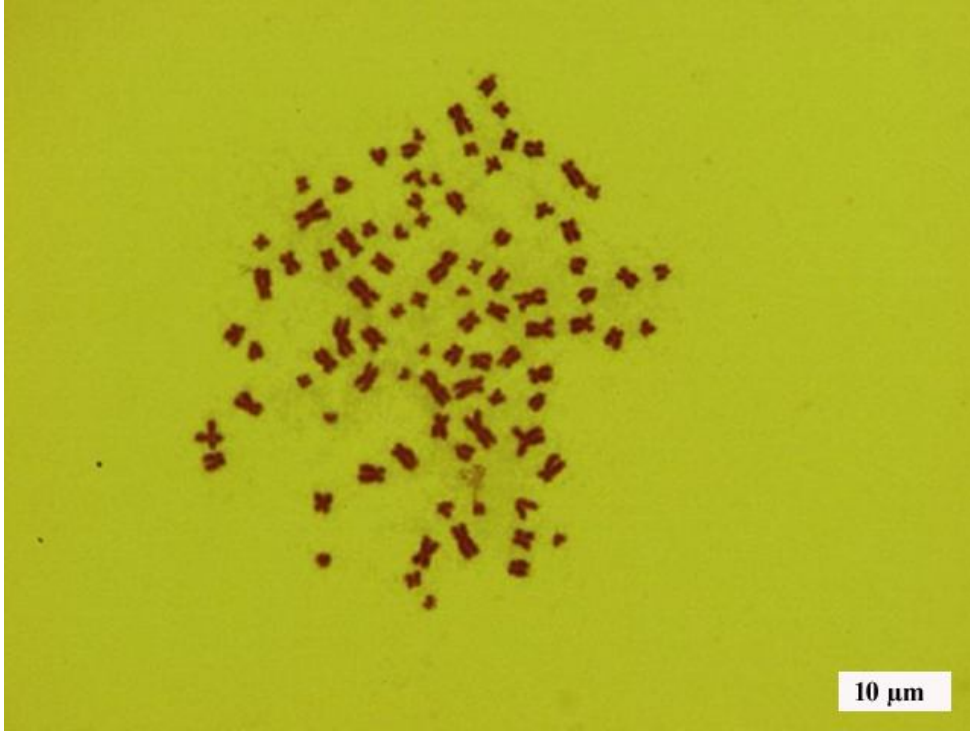
Şekil 4.1. Kromatid kırığı (x1000) (20 µg/mL, pimetrozin 48 saatlik muamele, ♂).



Şekil 4.2. Kardeş kromatitlerin birleşmesi (x1000) (40 µg/mL, 24 saatlik muamele, ♂).



Şekil 4.3. Fragment (x1000) (20 µg/mL, 48 saatlik muamele, ♂).



Şekil 4.4. Poliploidi (x1000) (10 µg/mL, 24 saatlik muamele, ♂).

Kromatid kırıkları kromozomun bir kromatidinde görülen yani DNA'nın çift zincirinde oluşan kırılmalar sonucu oluşan kırıklardır. Kromatid kırıklarının sebebi uygulanan maddelerin geç S veya G2 safhasında etkili olmalarıdır (Natarajan, 2002). Sık karşılaşılan ikinci anormallik ise kromozom kırığıdır. Kromozom kırıkları kromozomların her iki kromatidinde de meydana gelen ve tamir edilememiş DNA çift zincir kırıklarıdır (Savage, 1993). Bu durum insektisitlerin G1 safhasında da etkili olduklarını göstermektedir (Natarajan ve Obe, 1982). Her iki kromatitte meydana gelen DNA çift zincir kırıkları DNA'nın fosfodiester bağlarındaki kırılmalar olarak tespit edilmiştir (Topaktaş ve ark., 1996).

Pimetrozin de kardeş kromatidlerde birleşme ve disentrik kromozom oluşumuna neden olduğu tespit edilmiştir. Kardeş kromatidlerde birleşme genellikle kromozomun terminal kısmında meydana gelen delesyonlardır (Kayraldız ve Topaktaş, 2001; Yüzbaşıoğlu ve ark., 2006). Disentrik kromozom oluşumunda ise homolog olmayan kromozomlar arasında ya da homolog kromozomların iki uzun veya iki kısa kolu arasındaki birleşmeler etkilidir (Anderson ve Pedersen-Bjergaard, 2000). Pimetrozin ayrıca fragment oluşumuna da neden olmaktadır. Fragmentlerin pestisitlerin etkisiyle oluşan

subkromatid ve kromatid kırıkları olduğu düşünülmektedir (Kaur ve Grover, 1985; Prakash ve ark., 1988).

Çizelge 4.3. Pimetrozin ile muamele edilen insan periferal 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)			
<b>K (-)<sup>a</sup></b> <b>K (+)<sup>b</sup></b> <b>Pimetrozin</b>	24	0,00	3,75±0,95	3,75±0,95	1,71±0,12
		0,1	45,78±3,85	39,23±3,21	1,03±0,01
		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
<b>K (-)</b> <b>K (+)</b> <b>Pimetrozin</b>	48	0,00	3,75±0,95	3,75±0,95	1,71±0,12
		0,10	62,25±4,82	67,12±2,62	1,00±0,01
		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

<sup>a</sup>: Kontrol

<sup>b</sup>: Pozitif kontrol, Mitomisin C

\*  $P < 0,05$  \*\*  $P < 0,01$

Yaptığımız çalışmada pimetrozin, 24 saatlik muamele süresinde 20 µg/mL'lik dozda gerek MN gerekse BNMN frekansını istatistiki olarak önemli düzeyde arttırmıştır ( $P < 0,05$ ). Diğer taraftan 48 saatlik muamele süresinde hem MN hem de BNMN'de en yüksek doz hariç (40 µg/mL) denen diğer dozlarda istatistiki olarak önemli artış olduğu saptanmıştır ( $P < 0,05$ ;  $P < 0,01$ ). Pimetrozin ayrıca denen tüm dozlar ve muamele süreleri için kontrol ile mukayese edildiğinde NBI frekansında bir artışa neden olmamıştır ( $P > 0,05$ ) (Çizelge 4.3).

Mikronükleuslar, asentrik fragment ve/veya mitozda kutuplara çekilememiş tam bir kromozomdan (kalgın kromozom) meydana gelmektedir. Kalgın kromozomlar kromozom uçlarında yapışkanlık veya kromozomal hareketlerin yetersizliği sonucu oluşan kromozomlardır (Ahmad ve Yasmin, 1992). Telofaz safhasında ayrı kalmış kromozomlar ve fragmentlerin etrafı çekirdek zarı oluşumu ile ana nükleusdan daha küçük olan mikronükleuslar oluşturur. Bu metod sadece bölünme özelliği gösterebilen hücrelerde kullanılabilir (Dimitrov ve Gadeva, 1997; Fenech, 2000; Gömürgen, 2000).

Dolayısıyla test maddemiz olan pimetrozinin etkisi iğ ipliklerinin yapısını bozarak (tubulin A ve tubulin B proteinleri) metafazda 1 veya 1'den fazla kromozom kalması, ayrıca metabolik bir hataya neden olarak da multipolar anafaz-telofaz'a neden olarak yüksek oranda mikronükleus oluşumuna neden olmuştur.

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.

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada; Greensun insektisitinin etken maddesi olan pimetrozinin insan periferel lenfositlerinde genotoksik bir potansiyele sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Bu nedenle sigara, alkol kullanmayan, sağlıklı, yaşları birbirine yakın (20-24) iki erkek ve iki bayandan alınan kan örnekleri 5, 10, 20 ve 40 µg/mL olmak üzere pimetrozinin dört farklı konsantrasyonu ile 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.

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; test maddesi olarak kullandığımız pimetrozinin insan periferel lenfositlerinde genotoksik bir etkiye sahip olduğunu ve ilaveten zayıf sitotoksik etkili olduğunu belirledik. Ancak bu maddenin genotoksik aktivitesi hakkında kesin yargıya varabilmek için ilave testler ile pimetrozinin analiz edilmesi gerektiği düşüncesindeyiz.

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 verirler. Böylece de endüstride, yakın çevrede akut ve kronik zehirlenmelere neden olurlar. Pestisitlerin bu fayda zarar ilişkisini değerlendirmek ise oldukça güçtür.

Pestisitler; insan 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.



## 6. KAYNAKLAR

- Ahmad, S., Yasmin, R. 1992. Effects of methyl parathion and tri-miltox on the mitosis of *Allium cepa*. *Cytologia*, 57 (1): 155-160.
- 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 of Radial Application 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.
- Anderson, M.K., Pedersen-Bjergaard, J. 2000. Increased frequency of dicentric chromosomes in therapy-related MDS and AML compared to *de novo* disease is significantly related to previous treatment with alkylating agents and suggests a specific susceptibility to chromosome breakage at the centromere. *Leukemia*, 14 (1): 105-111.
- Anonim., 2004. Ürün Çalışma Grubu'nun iyi tarım teknikleri uygulamaları (EUREPGAP), *Akdeniz Yaş Meyve Sebze İhracatçıları Birliği, ARGE Dış İlişkileri 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* (Amfibia : Anura) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Eritrosit Mikronukleus Testi İle Belirlenmesi.Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi. Biyoloji Anabilim Dalı. Afyon, 196s.
- Badgajar, 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.
- Bağcı, H., Bağcı, G., Açıkbaş, İ., Demir, G. 2005. *In vitro* testing for genotoxicity of 4-CPA by sister chromatid exchange in human lymphocyte culture. *Turkish Journal of Medical Science*, 35: 75-78.
- 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  $\mu$ -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. 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research*, 543: 251-272.
- Bolognesi, C., Landini, E., Perrone, E., Roggeri, 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.
- Bulut, H., Tamer, A. 1996. “Pestisit kullanımının azaltılması ile ilgili politika ve stratejiler”, *II. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu*, Ankara, 12-24.
- Calderòn-Segura, M.E., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Martínez-Valenzuela, C., Carbajal-López, Y., Calderòn-Ezquerro, M.D., Cortès-Eslava, J., García-Martínez, R., Flores-Ramírez, D., Rodríguez-Romero, M.I., Mèndez-Pèrez, P., and Bañuelos-Ruíz. 2012. 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.
- 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.
- 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 Yayınları, 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. 42s.
- Das, P.G., Shaik, A.P., Jamil, K. 2007. Cytotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide acephate on cultured human peripheral blood lymphocytes. *The Internet Journal of 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, 239-244.
- Demir, H., 2005. Methidathion ve triadimenol pestisitlerinin insan lenfosit kültüründeki genotoksik etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara. 102s.
- 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., Muranli, G. 2013. Genotoxic and Cytotoxic Evaluation of Pyrethroid Insecticides  $\lambda$ -Cyhalothrin and  $\alpha$ -Cypermethrin on Human Blood Lymphocyte Culture. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 90 : 357–363.
- Dimitrov, B., Gadeva, P. 1997. Genotoxicity studies on the insecticide dursban in root meristem cells of *Crepis capillaris L.* *Environmental and Experimental Botany*, 37: 199-209.
- 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., Çakir, S., Ertuğrul, O. and Kence, A. 2000. The detection of mutagenic activity of some chemicals (azamethyphos, dichlorvos, methyl parathion, aflatoxinB1) by SMART *Drosophila melanogaster*. *Türkish Journal of Veterinary and 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, Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongre. 4: 20-24.
- 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*. 43(5): 2441-2443.

- Evans, H.J. 1984. Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. In: Kilbey BJ, Legator M, Nicholson W, Ramel C, editors. Handbook of Mutagenicity Test Procedures. 2nd ed. Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Amsterdam, the Netherlands: *Elsevier Science Publishers*, pp. 405–427.
- Fairbairn, D.W., Olive, P.L., O'Neill, K.L. 1995. The comet assay: a comprehensive review. *Mutatiton Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 339: 37-59.
- FDA, 2006. Redbook 2000: IV.C.1.c Mouse lymphoma thymidine kinase gene mutation assay. Department of Health and Human Services, U.S.
- 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 comprehensive 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. 58s.
- Gerić, M., Ceraj-Cerić, N., Gajski, G., Vasilić, 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*. *Chemospher*, 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., Prasad, S.B., Giri, A., Sharma, G.D. 2002. Genotoxic effects of malathion: an organophosphorus insecticide, using three mammalian bioassays *in vivo*. *Mutation Research*, 514: 223-231.
- 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.
- Gömürgen, A.N. 2000. Cytological effect of the herbicide 2,4-D isooctylester 48% on root mitosis of *Allium cepa*. *Cytologia*, 65 : 383-388.

- 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.
- 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 design including repeated treatments, integration with toxicity testing, and automated scoring. *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.
- Ishaaya, I., 2000. Biochemical sites of insecticide action and resistance. Springer-Verlag Berlin 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.
- Johnson, M. K. 1970. Organophosphorus and other inhibitors of brain neurotoxic esterase and development of delayed neurotoxicity in hens. *Biochemical Journal*, 120: 523-531.



- Jose, S., Jayesh, P., Mohandas, A., Philip, R., Bright Singh, I.S. 2011. Application of primary haemocyte culture of *Penaeus monodon* in the assessment of cytotoxicity and genotoxicity of heavy metals and pesticides. *Marine Environmental Research*, 71; 169-177.
- Karabay, U., Karasulu, E., Oğuz, G., Tuğlular, I. 2001. Toxic effects of synergistically acting insecticides ingestion in rat. *EUROTOX 2001*. Istanbul, Turkey.
- Kaur, P., Grover, I.S. 1985. Cytological effects of some organophosphorus pesticides I. mitotic effects. *Cytologia*, 50: 187-197.
- Kaya, E., 2005. Klorprifos ve Deltamethrin'in kan ve beyin lipid peroksidasyon ve antioksidan enzim aktivitelere etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Isparta. 69 s.
- Kayraldız, A., Topaktaş, M. 2001. Indirect genotoxic effect of gamma rays in human peripheral lymphocytes. *Cytologia*, 66 : 25-31.
- Kevlekçi, C., 2008. Psoriasisite darbant ultraviyole-B ve E vitamininin mutajenik risk üzerine etkilerinin Comet tekniği ile değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi. Ankara.109 s.
- Kırımlı, R., 2007. Bazı fungusit ve insektisitlerin *Vicia faba* l. ve *Capsicum annum* l. Türlerinin kök ucu mitozu üzerine Etkileri. Yüksek lisans tezi. Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Çanakkale. 65s.
- Kirsch-Volders, M., Sofuni, T., Aardema, M., Albertini, S., Eastmond, D., Fenech, M., Ishidate, M.Jr., Lorge, E., Norppa, H., Surralle's, J., Von der Hude, W., Wakata, A. 2003. Report from the *in vitro* micronucleus assay working group. *Mutation Research*, 540:153–163.
- Klassen, C.D., Amdur, M.O., Doull, J. 2001. Casarett and Doull's Toxicology: The basic science of poisons. 6th Edition, *McGraw-Hill International Editions*, New York, 763-784s.

- Kocaman., A.Y., Topaktaş, M. 2009. The In vitro genotoxic effects of a commercial formulation of  $\alpha$ -Cypermethrin in human peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50: 27-36.
- 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.
- Latt, S.A., Sehrek, 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. Mutagenicity and genotoxicity of dicapthon 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, Macmillan Reference Ltd. ISBN: 1-56159-242-0, 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 Science*, 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.
- 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.
- Mosesso, P., Bohm, L., Pepe, G., Fiore, M., Carpinelli, A., Gäde, G., Nagini, S., Ottavianelli, A., Degrassi, F. 2012. Cytogenetic analyses of Azadirachtin reveal absence of genotoxicity but marked antiproliferative effects in human lymphocytes and CHO cells in vitro. *Toxicology Letters*, 213 : 361-366.

- 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.
- 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) : 118-145.
- Nagya, K., Rácza, G., Matsumotoa, T., Ádánya, R., Ádáma, B. 2014. Evaluation of the genotoxicity of the pyrethroid insecticide phenothrin. *Mutation Research*, 770 : 1-5.
- Natarajan, A.T., Obe, G. 1982. Mutagenicity testing with cultured mammalian cells: cytogenetic assays. *Academic Press*, New York, 171-213.
- Natarajan, A.T. 2002. Chromosome aberrations: past, present and future. *Mutation Research*, 504: 3-16.
- 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., Cebulska-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.
- Obe, G., Pfeiffer, P., Savage, J. R. K., Johannes, C., Goedecke, W., Jeppesen, P, Natarajan, A. T., Martínez-López, W., Folle, G. A., Drets, M. E. 2002. Chromosomal aberrations: formation, identification and distribution. *Mutation Research*, 504 : 17-36.
- 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., 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. Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir. 326s.
- 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. 2009. 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. 2009. 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.
- Özparlak, H. 2006. Yumurtaya Verilen Organik İnektisit 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 anormalliği ve mikronükleus oluşumu üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.72s.
- Pastor, S., Gutierrez, S., Creus, A., Cebulka-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. 459–529.
- Plestina R., 1984. Prevention, diagnosis and treatment of insecticide poisoning. *Geneva: World Health Organization Report*, 84 : 889.
- Prakash, N.S., Lakshmi, N., Harini, I. 1988. Cytological effects of agricultural chemicals: II. Effects of fungicides Bavistin and Deltan on chilli (*Capsicum annum* L.), *Cytologia*, 53: 709-715.
- 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.
- 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.

- Roloff, B.D., Belluck, D.A., Meisner, L.F. 1992. Cytogenetic studies of herbicide interactions *in vitro* and *in vivo* using atrazine and linuron. *Archives of Environmental Contaminant and 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-Iglesias, 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., Yılmaz, 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 and 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 atomic absorpsiyon spektrometrisi ile tayini. Yüksek Lisans Tezi. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri. Ankara, 10-30
- 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, Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., Stevens, J.T., Weiner, M.L. 2002. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, 171 : 3-59.
- Sonada, J., Wharton, R.P. 1999. Recruitment of Nanos to hunchback 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.
- Surralles J., Xamena, N., Creus, A., Catalfin, 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 İsektisitlerinin 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.



- 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. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi. 5 (1, 2, 3) : 73-84.
- Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E., İla, H.B. 1996. *In vivo* chromosomal aberrations in bone marrow cells of rats treated with Marshal. *Mutation Research*, 371 : 259-264.
- Tuna, M. 1992. Akut lösemi tanılı olgularda kromozom ve kardeş kromatid değişimi analizi. Yüksek Lisans Tezi. *Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*. Ankara. 1-6.
- 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.
- 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. İnsektisitler 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 genotoksitesisi 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., Rodríguez, 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-Zwierzycka, 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.
- Wilson III, D.M., Thompson, L.H. 2007. Molecular mechanism of sister chromatid exchange. *Mutation Research*, 616 (1-2) : 11-23.
- Wolff, S., 1980. Sister chromatid exchange. *Advances in Human Genetics*, 10 : 183-201.
- Yavuz, O., Şanlı, Y. 1999. Halk sağlığı ve vektör kontrolünde kullanılan pestisitler, pestisit formülasyonları ve uygulama seçenekleri. I. Seminer Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri.
- Young, R.R., 2002. Genetic toxicology. *Toxicology*, 173 : 103-121.
- Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H. 2006. Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes. *Mutation Research*, 604: 53-59.
- Zahran, M.M., Abdel-Aziz, K.B., Abdel-Raof, A., 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:**

“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).

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, soyadı : Zeliha YILDIRIM  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 22.09.1985 Gaziantep  
Medeni hali : Bekar  
Cep Telefon : 0 (530) 560 8671  
e-posta : zyildirim@gantep.edu.tr

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	GAÜN /Biyoloji Bölümü	2011
Lisans	KSÜ/ Biyoloji	2008
Lise	Opet Anadolu Lisesi	2003

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2010-	Gaziantep Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. Yıldırım, Z., Özaslan, M., Karagöz, I.D., Erkılıç, S., Taysi, S., Ehrlich Solid Tümörlü Farelerde Melatonin ve Gece Işık Uygulamasının Karşılaştırmalı Etkisi. 11. *Ulusal Meme Kongresi*, Antalya. 2013. (SÖZLÜ)
2. Dal, O.T., Çelik, M., Yıldırım, Z., Dönbak, L. İnsan Periferik Lenfositlerinde Antidepresan Bir İlaç Olan Reboksetinin Genotoksik Etkileri. *XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, SS-10 02. Kuşadası. 2013.(SÖZLÜ)

3. Ören, A., Yıldırım, Z., Kayraldız, A., Dönbak, L. İnsan Periferal Lenfositlerinde Factive (Gemifloksasin) Antibiyotiğin Genotoksik Etkileri. *XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, PS-10 07. Kuşadası. 2013.
4. Kaşan, E., Yıldırım, Z., Dönbak, L., Kayraldız, A. Temizlik İşçilerinin Genotoksik Risklerinin Değerlendirilmesi. *XIII. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi*, PS-10 08. Kuşadası. 2013.
5. Kayraldız, A., Dönbak, L., Bilgi D., Eldemir, Y., İshak, A.E., Yıldırım, Z., Uzun, Y. İnsan Periferal Lenfositlerinde Dynabac Antibiyotiğinin Genotoksik Etkileri. *Ulusal Botanik Bitki Bilimi Kongresi.*, Afyon. 2015.
6. Kenger , İ.H., Eldemir, Y., Bilgi, D., Gökçe,Ş., Kurt, K., Yıldırım, Z., Kayraldız, A., Dönbak, L. İnsan Periferal Lenfositlerinde Tavanic(Levofloksasin) Antibiyotiğinin Genotoksik Etkileri. *Ulusal Botanik Bitki Bilimi Kongresi.*, Afyon. 2015.
7. Yıldırım, Z., Kayraldız, Ahmet., Dönbak, L., Gündüz, R. Etken maddesi Pimetrozin Olan Greensun İnsektisitinin İnsan Periferal Lenfositlerinde Genotoksik Aktivitesinin İncelenmesi. XXIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Gaziantep. SS / MBG-12. 2016.
8. Bilgi, D., Dönbak, L., Yıldırım, Z., Kayraldız, A., Kaşan, E. İnsan Periferal Lenfositlerinde Onset 20 WP (Pyridaben) İnsektisitinin KA, KKD ve MN Testleri ile Genotoksitesinin Değerlendirilmesi. XXIII. Ulusal Biyoloji Kongresi, Gaziantep. PS-35. 2016.

### **Hobiler**

Doğa bilimleri, Fotoğrafçılık, Tiyatro