

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÇANAKKALE YÖRESİNDE KULLANILAN  
KÜLSİL FUNGUSİTİNİN  
İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİ ÜZERİNDE  
GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Nihan AKINCI**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 03/07/2012**

**Tez Danışmanı:**

**Doç. Dr. Cüneyt AKI**

**ÇANAKKALE**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

**NİHAN AKINCI** tarafından **DOÇ. DR. CÜNEYT AKI** yönetiminde hazırlanan “**ÇANAKKALE YÖRESİNDE KULLANILAN KÜLSİL FUNGUSİTİNİN İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİ ÜZERİNDE GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cüneyt AKI

Danışman

Doç. Dr. Uğur GÖZEL

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Sibel HAYRETDAG

Jüri Üyesi

Sıra No :

Tez Savunma Tarihi: 03/07/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Nihan AKINCI

## TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen, olumsuzlukları aşmamda yardımcı olan ve olumlu yönlendirmeleriyle daima yanımda olan saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Cüneyt AKI'ya, kilometrelerce uzakta olsalar da beni her zaman sabırla dinleyip fikirleriyle bana yol gösteren, her zor durumda bana moral veren ve bana yardımcı olan, bugünlere gelmemde büyük katkıları olan saygı değer hocalarım Doç. Dr. Serkan YILMAZ ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin AKSOY'a, deneysel çalışmalarım boyunca benden hiçbir yardımı esirgemeyen yüksek lisans arkadaşım Osman KENANOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca yüksek lisansım boyunca, benden yardımlarını esirgemeyen Özlem KIPRAK, Nergis KAYA ve Onur ESEN'e ve sıkıntılarımı paylaşan arkadaşlarım Müge ÇETİN, Hülya Nur GÖRKEM, Selin ERTÜRK ve İrem KÜÇÜK'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca beni ayakta tutan, emek ve desteklerini benden hiç esirgemeyen, bana daima inanan ve güvenen canım anneme ve canım babama; tüm bunların yanında tezimin her aşamasında bana yardımcı olan biricik ablama en içten teşekkürlerimi sunarım.

Nihan AKINCI

## SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde oranı
°C	Santigrat derece
µg/mL	Mikrogram/Mililitre
mg/mL	Miligram/Mililitre
µl	Mikrolitre
mL	Mililitre
LD <sub>50</sub>	Letal Doz <sub>50</sub>
rpm	Round (Rotor) Per Minute (Devir sayısı)
CAs	Chromosome aberrations
SCE	Sister chromatid exchange
MN	Mikronükleus
Mİ	Mitotik indeks
NBİ	Nükleus Bölünme İndeksi
MMC	Mitomisin-C
Cyt-B	Sitokalsin-B
KA	Kromozomal anormallik
KKD	Kardeş kromatid değişimi
ppm	parts per million (milyonda bir)
KKD	Kardeş kromatid değişimi
NDI	Nuclear Division Index
EPA	Environmental Protection Agency
WP	Islanabilir toz ilaçlar
EC	Emülsiyon konsantre ilaçlar
SC	Solüsyon konsantre ilaçlar
SP	Suda çözünebilir toz ilaçlar
G	Granüller
MRL	Maximum Residue Limit(Azami Kalıntı Sınırı)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği)

SMART	Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SCGE	Single Cell Gel Electrophoresis (Comet)
KCl	Potasyum Klorür
g/L	gram/litre
HNO <sub>3</sub>	Nitrik Asit
PI	Proliferasyon İndeksi
HCB	Hexachlorobenzene
DDT	Dichlorobiphenyltrichloroetane
DDE	1,1-dichloro-2,2-bis ( <i>p</i> -chlorophenyl) ethylene
2,4-D	2,4-Diklorofenoksiasetik asit
Ed	Endoreduplikasyon
P	Poliploidi
Ktd	Kromatid Değişimi
Ds	Disentrik Kromozom
F	Fragment
Kkb	Kardeş Kromatidlerde Birleşme
Kzk	Kromozom Kırığı
Ktk	Kromatid Kırığı

## ÖZET

# ÇANAKKALE YÖRESİNDE KULLANILAN KÜLSİL FUNGUSİTİNİN İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİ ÜZERİNDE GENOTOKSİK VE SİTOTOKSİK ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Nihan AKINCI

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Cüneyt AKI

03/07/2012, 80

Bu araştırmada triazol sınıfı fungusitlerden myclobutanil etken maddesi içeren Külsil pestisitinin insan periferal lenfosit kültürleri üzerindeki genotoksik etkisi, *in vitro* kromozomal anormallikleri (KA) ve mikronükleus testi (MN) ile saptanmıştır. Bu testlerin yanı sıra sitotoksik etkinin belirlenmesi için mitotik indeks (Mİ) ve nükleer bölünme indeksi (NBİ) yöntemleri de kullanılmıştır. Kültüre edilen lenfositler myclobutanilin 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm'lik beş farklı dozuna 24 ve 48 saat boyunca maruz bırakılmıştır. Külsil fungusiti 24 saatlik 3,125 ppm'lik dozu hariç tüm uygulamalarda kontrole göre kromozomal anormallik frekansını doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırmıştır. Aynı şekilde Külsil'in 48 saatlik 3,125 ppm'lik dozu hariç tüm uygulamalar kontrole karşılaştırıldığında mikronükleus frekansını doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırmıştır. Külsil fungusitinin 50 ppm'lik dozu ise her iki uygulama süresinde de lenfositler üzerine toksik etki göstermiştir. Külsil fungusitinin nükleer bölünme indeksinde istatistiksel açıdan anlamlı olmayan düşüşe neden olduğu bulunmuştur. Kontrole karşılaştırıldığında Külsil fungusiti 24 saatlik 3,125 ppm'lik dozu hariç tüm uygulamalarda mitotik indeksi doza bağlı olarak anlamlı derecede düşürmüştür. 24 saatlik 25 ppm ve 48 saatlik 25 ppm'lik dozlarda mitotik indeks sırası ile %43,75 ve %78,47'lik düşüş göstermiştir. Araştırma sonuçlarına göre myclobutanil etken maddeli Külsil fungusitinin uygulanan doza bağlı olarak insan lenfosit kültürleri üzerinde klastojenik ve anöjenik etki gösterebileceği belirlenmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Myclobutanil, Külsil, Genotoksisite, Kromozom Aberasyonları, Mikronükleus

## ABSTRACT

### EVALUATION OF THE GENOTOXIC AND CYTOTOXIC EFFECTS OF KÜLSİL FUNGİCİDE IN HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTES USED IN CANAKKALE PROVINCE

Nihan AKINCI

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Chair for Biology Thesis of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Cüneyt AKI

03/07/2012, 80

In this study, *in vitro* genotoxic effects of Külsil, which includes triazole fungicide myclobutanil, was investigated by using chromosomal aberrations (CAs) and micronucleus test (MN) in human peripheral lymphocyte cultures. Effects of on mitotic index (MI) and nuclear division index (NDI) were also investigated for determination cytotoxicity. Lymphocytes were treated with 3,125; 6,25; 12,5; 25 and 50 ppm doses of Külsil fungicide for 24 and 48 hours. Külsil fungicide significantly increased chromosomal aberration frequency at all treatments except 3,125 ppm dose for 24 h when compared with the control and this increase was dose-dependent in both treatment times. In the same way, Külsil increased micronucleus frequency with dose-dependently at all treatments except 3,125 ppm dose for 48 h when compared with the control. Külsil fungicide was toxic on lymphocytes at 50 ppm with both treatment times. Külsil decreased nuclear division index but this decrease was not statistically significant. Külsil fungicide significantly decreased the mitotic index with dose-dependently at all treatments except 3,125 ppm for 24 h when compared with the control group. Most effective decreasing in mitotic index in 25 ppm treatment when compared with the control group in 24 h and 48 h were observed respectively 43,75% and 78,47%. The results of this experiments showed that Külsil fungicide, which includes triazole fungicide myclobutanil, has clastogenic and aneugenic effects on human lymphocytes cultures depending on dose.

**Keywords:** Myclobutanil, Külsil, Genotoxicity, Chromosome Aberrations, Micronucleus



## İÇİNDEKİLER

Sayfa

YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT.....	viii
<b>BÖLÜM 1-GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>BÖLÜM 2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Genel Bilgiler .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1. Pestisitler .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....</b>	<b>5</b>
2.1.1.1.1. İnsektisitler .....	7
2.1.1.1.2. Herbisitler .....	8
2.1.1.1.3. Fungusitler .....	8
2.1.1.1.3.1. Triazololler .....	9
2.1.1.2. Pestisitlerin Tarihçesi ve Kullanım Öyküleri.....	10
2.1.1.3. Pestisitlerin Kalıntı Problemi .....	11
2.1.1.4. Pestisitlerin Etki Biçimleri .....	11
2.1.1.5. Pestisitlerin Toksisitesi .....	12
2.1.1.5.1. Pestisitlerin Çevreye Olan Etkileri.....	12
2.1.1.5.1.1. Pestisitlerin Toprak Kirliliği Üzerine Etkileri .....	13
2.1.1.5.1.2. Pestisitlerin Su Kirliliği Üzerine Etkileri.....	13
2.1.1.5.1.3. Pestisitlerin Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkisi....	14
2.1.1.5.2. Pestisitlerin İnsanlara Etkisi.....	15
2.1.1.6. Pestisit Tüketimi .....	16
2.1.2. Genotoksisite Testleri.....	16
<b>2.2. Çeşitli Pestisitlerin Genotoksisiteleri ile İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar .....</b>	<b>25</b>
<b>2.2.1. Pestisitlerin İnsan Periferik Lenfosit Kültürleri Üzerinde Yapılan</b>	
<b>Genotoksisite Çalışmaları .....</b>	<b>26</b>

2.2.2. Pestisitlerin Hayvan Kemik İliği Etkileri Üzerine Yapılan Genotoksisite Çalışmaları .....	30
<b>BÖLÜM 3-MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>33</b>
3.1. Materyal .....	33
3.2. Yöntem .....	34
3.2.1. Kromozomal Anormallik Denemeleri .....	34
3.2.2. Preparatların Boyanması.....	35
3.2.3. Mitotik indeks ve kromozom anormalliklerinin saptanması .....	35
3.2.4. Mikronüklüs (MN) Denemeleri .....	35
3.2.5. Preparatların Boyanması.....	36
3.2.6. Nükleer Bölünme İndeksi ve Mikronükleus Frekansının Saptanması.....	36
3.2.7. İstatistiksel Analizler .....	39
<b>BÖLÜM 4-ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>40</b>
4.1. Araştırma Bulguları.....	40
4.2. Tartışma .....	52
<b>BÖLÜM 5-SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>63</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>64</b>
Çizelgeler .....	I
Şekiller .....	II
Özgeçmiş .....	IV

**BÖLÜM 1****GİRİŞ**

Günümüzde hızla artan nüfus dünyanın en büyük sorunlarından birini teşkil etmektedir. Dünyanın yüzölçümü sabit olduğundan hatta yıldan yıla toprak kayıpları yaşandığından, üretim için yeni tarım alanları açılması mümkün olamamakta, buna karşın nüfus artışına bağlı olarak yeni yerleşim yerlerinin kurulması, fabrikalar açılması ve çeşitli afetlerin meydana gelmesi ile verimli toprakların yüzölçümü hızla azalmakta ve bunun sonucunda da dünya açlık sorunuyla karşı karşıya kalmaktadır. Bu sorunu çözmek için öncelikli olarak tarım alanlarından maksimum düzeyde ürün alınımının sağlanabilmesi yönündeki çalışmalara ağırlık verilmiştir. Bu konuda verilebilecek en iyi örnek 1960'lı yıllarda ürün verimini arttırmak amacı ile suni gübrelerin ve tarım ilaçlarının aşırı kullanılması sonucunda Yeşil Devrim olarak adlandırılan bir dönemin yaşanmış olmasıdır. Yeşil devrimde üretim, tohum-bitki-tohum döngüsünde gerçekleştirilir (Babaoğlu ve ark., 2002). Ancak Yeşil Devrim geçici bir süre ile insanları umutlandırmış olmakla birlikte ilerleyen yıllarda, aşırı miktarda kullanılan kimyasalların yol açtığı zararlar sonucunda, geçici olarak artan verim artışında büyük düşüşler yaşanmıştır.

Yıllardır insanların tarımsal zararlılar ve bitki hastalıkları ile mücadele edebilmek için başvurdukları farklı tarımsal savaşım yöntemleri arasında kültürel, biyoteknik ve karantina önlemleri ile mekaniksel, fiziksel, biyolojik ve kimyasal savaş yer almaktadır. Ancak ülkemizde uygulamasının kolay olması ve iyi sonuç alınması sebebi ile daha çok kimyasal savaşa başvurulmuştur. Dolayısı ile ülkemizde tarım ilaçları (pestisit) yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Çeşitli tarım ilaçlarının kullanımının artması ile birlikte gerek bu maddelerin uygulamadaki yanlılıkları gerekse ileri aşamadaki zararları oldukça büyük boyutlara ulaşmış durumdadır (Öztürk ve Tosun, 2004).

Günümüzde dünya nüfusunun hızla artması ile birlikte açlık sorununun çözülmesi için, tarımsal üretimde pestisitlerin çok miktarda ve kontrolsüz bir şekilde tüketilmesinin (Jamil ve ark., 2004) yanı sıra endüstriyel atıklar, gıda katkı maddeleri, kozmetik ürünlerinde kullanılan kimyasallar, ilaçlar ve sigara dumanı gibi kirleticiler toplum sağlığını giderek artan boyutlarda tehdit etmektedir (Batça-Kayhan ve ark., 2009).

Bu kirleticilerin pek çoğunun doğrudan doğruya veya bazı metabolik aktivasyonlardan sonra DNA ile etkileşerek mutasyona ve kansere neden oldukları hemen herkes tarafından kabul edilmektedir.

İnsanların değişik yollarla maruz kaldıkları çeşitli pestisitlerin, mutasyonlara neden olması durumunda, hem bireyin kendisini hem de gelecek nesilleri etkileyebilecek anormallikler ortaya çıkabilir. Görüldüğü gibi çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz tam olarak bilinmeyen pestisitlerin kanserojenik ve mutajenik potansiyellerinin test edilmesi hem bireylerin kendi sağlığı hem de sonraki nesillerin sağlığı açısından gerekmektedir.

DNA'da hasar oluşturan etki olarak da isimlendirilen genotoksik etki, kanser başlatıcı bir mekanizma olarak kabul edilmekte, bu nedenle de geliştirilen çeşitli yöntemler ile DNA'daki hasarın saptanması kanser riskinin belirlenmesinde yardımcı olabilmektedir (Salama ve ark., 1999). Genotoksisite testleri *in vivo* ve *in vitro* olmak üzere iki türlü uygulanabilmektedir.

*In vivo* test sistemlerinde; mutajenik etkisi araştırılacak kimyasallar çeşitli yollarla (beslenme, enjeksiyon gibi) deney hayvanlarına verilerek, belirli dozların belirli sürelerdeki etkisine bakılır. Bu testlerde genellikle böcek (özellikle *Drosophila*) (Osaba ve ark., 2002) ve memeliler (sıçan ve fare gibi) yaygın olarak kullanılır (Yılmaz, 2008). Ancak laboratuvar hayvanları ile yapılan kanserogenez deneyleri hem çok pahalı ve zahmetli hem de uzun zaman almaktadır (Ames, 1979). Oysa bir genotoksisite test yönteminde olması istenen temel özellikler; uygulama açısından basit olması, genetik hasarları belirlemede etkin olması, hızlı sonuç vermesi, ekonomik açıdan ucuz olması ve analiz için az sayıda örneğin yeterli olmasıdır (Scarpato ve ark., 1990).

Bu nedenle araştırmacılar, pestisitler, ilaçlar, gıda katkı maddeleri gibi kimyasal maddelerin mutajenik ve kanserojenik etkilerinin belirlenebilmesi için hızlı ve ucuz olan kısa süreli genotoksisite testleri geliştirmişlerdir.

Araştırmalarda yaygın olarak kullanılmakta olan bu test sistemleri araştırmanın amacına ve kullanılan organizmaya bağlı olarak farklı doku ve vücut sıvılarında gerçekleştirilmekle birlikte insanlarda genellikle periferik lenfositler kullanılmaktadır. İnsan mutajenitesi, genotoksisitesi ve sitotoksisitesi için en iyi sonuçlar insan periferik lenfositlerinden elde edilmektedir. Periferik lenfositlerin kolay elde edilebilirliği, doku kültüründe kolay çoğaltılabilmeleri ve maruziyet analizlerinde tüm vücuda dağılılabilmeleri nedeniyle periferik lenfositleri kullanmak avantajlıdır (Tucker ve Preston, 1996).

Pestisit formülasyonları, etken maddenin yanı sıra üreticilerin gizli tuttuğu çözücü, seyreltici, emülgatör gibi çok sayıda yan ürün içermektedir ve bu yan ürünlerin de etken maddeler kadar genotoksik riskleri olabilmektedir (Zeljezic ve Garaj-Vrhovac; 2004).

Araştırmamızda saf etken madde yerine pestisit formülasyonu çalışmamızın nedeni, pestisitlere maruz kalanların, pestisitlerin sadece etken maddelerine değil bu maddelerin sentez ürünlerine ve yan ürünlerine de maruz kalmasından dolayıdır. Dolayısı ile saf etken madde yerine tüm pestisit formülasyonunun genotoksik etkisini değerlendirmenin daha doğru olacağı düşünülmüştür.

Araştırmamızda, insanlar üzerinde genotoksitesisi belirlenmemiş ve Çanakkale ilinde yoğun olarak kullanılan triazol sınıfından myclobutanil etken maddesini içeren Külsil fungusinin farklı dozlarının, insan hücrelerinde ne tür zararlara yol açabileceği yönünde fikir edinebilmek için; deneysel amaçlı kullanımında insan sağlığı açısından herhangi bir zararı olmayan, zahmetsizce elde edilerek laboratuvar şartlarında çoğaltılabilen insan periferik lenfositleri kullanılmıştır. Bu test sisteminde, periferik lenfositler kromozom besi ortamlarında üretilerek kimyasal madde uygulamasının, mikronükleus (MN) ve kromozomal anormallik (KA) oluşturma potansiyelleri gözlenmiştir. Aynı zamanda sitotoksik etkilerinin ortaya konması için mitotik indeks ve nükleer bölünme indeksi değerlendirmeleri de gerçekleştirilmiştir.

## **BÖLÜM 2**

### **ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**

#### **2.1. Genel Bilgiler**

İnsanlar; dünya nüfusunun artması ve teknolojinin gelişmesi ile endüstriyel atıklar, kozmetik ürünleri, sigara dumanı, gıda katkı maddeleri gibi çok sayıda kirletici ile gün içinde devamlı karşı karşıya kalmaktadır. Bu kirleticilerin başında tarımsal alanlardan fazla miktarda ürün elde etmek amacı ile kontrolsüz bir biçimde ve aşırı miktarda kullanılan pestisitler gelmektedir.

##### **2.1.1. Pestisitler**

Pestisitler, herhangi bir zararlıyı uzaklaştırmak, azaltmak, baskılamak ya da bozmak için kullanılan madde ya da madde karışımları olarak tanımlanmaktadır. Pestisit, kimyasal bir madde ya da virüs ve bakteri gibi biyolojik ajan olabilmektedir (EPA, 2000). Pestisitler, insan, hayvan ve bitki üzerinde, çevresinde bulunan veya yaşayan, ayrıca besin maddelerinin üretimi, hazırlanması, depolanması ve tüketimi sırasında onların besin değerini azaltan, hasara uğratan zararlılara karşı kullanılmaktadır (Sataloğlu ve ark., 2007). Bu zararlılar başta tarım ve bitki zararlısı böcekler olmak üzere, çeşitli hastalıkları taşıyan parazitler, yabani ot ve mantarlar, insan, hayvan, çevre ve barınaklardaki sinek, bit, pire, kene, uyuz, hamam böceği gibi uçan ve yürüyen canlılardır (Soyöz ve Özçelik, 2003).

Dünyada tarım üretimini artırma çabaları yanında insan, hayvan ve çevreye olumsuz etkileri çok daha az olan tarım ilaçlarının kullanılması çalışmalarına ve özellikle 1970'li yıllardan sonra tarım ilaçları kullanımının kontrollü yapıldığı emniyetlilik araştırmalarına çok daha fazla ve geniş önem verildiği görülmektedir. Dünyada bu gelişmelere paralel olarak Türkiye'de de ülke menfaatleri dikkate alınarak ruhsatlı pestisitler araştırma sonuçları ışığı altında değerlendirmeye tabi tutulmaktadır.

Bu değerlendirmeye göre tarım ilaçları;

1. Biyolojik olarak aktif olmalı,
2. Etkili olmalı,
3. Güvenilir olmalı,
4. Yeteri kadar stabil olmalı,
5. Kullanıcılar açısından güvenilir olmalı,

6. Üçüncü şahıslar açısından güvenilir olmalı,
7. Tüketiciler açısından güvenilir olmalı,
8. Besi hayvanları açısından güvenilir olmalı,
9. Yabani hayata zararlı olmamalı,
10. Faydalı organizmalara zararlı olmamalı,
11. Çevre için kabul edilebilir olmalıdır (Anonim, 2005).

#### **2.1.1.1. Pestisitlerin Sınıflandırılması**

Pestisitler; görünüşlerine, fiziksel yapılarına, formülasyon şekillerine, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre çok değişik şekillerde sınıflandırılabilirler.

Pestisitlerin sınıflandırılmasında; etkili oldukları zararlı grubu ve formülasyon şekillerine göre olan sınıflandırma daha yaygın olarak kullanılmaktadır.

Pestisitlerin bazı formülasyon şekillerine göre sınıflandırılması;

1. Toz ilaçlar (Dust)
2. Islanabilir toz ilaçlar (WP)
3. Emülsiyon konsantre ilaçlar (E.C veya E.M.)
4. Solüsyon konsantre ilaçlar (SC)
5. Suda çözünebilir toz ilaçlar (SP)
6. Granüller (G)
7. Peletler
8. Tabletler
9. Toz tohum ilaçları
10. Sıvı tohum ilaçları
11. Aerosoller (Anonim, 2005).

Pestisitlerin bazı kimyasal tiplerine göre sınıflandırılması;

1. Organofosfatlar
2. N-metil karbamatlar
3. Klorlu hidrokarbonlar
4. Organotinler
5. Fenoksialifatik asitler
6. Piretroidler

7. Fenol türevleri (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Etkilediği Canlının Biyolojik Dönemine Göre Sınıflandırılması;

1. Larvisit (Larva öldüren)
2. Ovisit (Yumurta öldüren)
3. Adlutsit (Erginleri öldüren) (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Zararlılara Etki Yollarına Göre Sınıflandırılması;

1. Mide zehirliler
2. Değme (Kontakt) zehirliler
3. Fumigant (Solunum) zehirlileri (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Toksik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması;

1. Fiziksel zehirliler
2. Protoplazma zehirlileri
3. Sinir sistemi zehirlileri
4. Solunum zehirlileri
5. Antikoagülanlar (Mürk ve Cireli, 2003).

Kullanma Tekniğine Göre Sınıflandırılması;

1. Doğrudan kullanılanlar
2. Su veya bir başka çözücü ile seyreltilerek kullanılanlar (Mürk ve Cireli, 2003).

Etkili Madde Gruplarına Göre Sınıflandırılması;

1. Canlı kökenli olanlar (Mikroorganizma kökenliler)
2. Anorganik yapıda olanlar
3. Doğal organik yapıda olanlar
4. Bitkisel kökenli olanlar
5. Petrol yağları
6. Sentetik organik yapıda olanlar
7. Klorlandırılmış hidrokarbonlar
8. Organik fosforlular
9. Karbamatlılar
10. Sentetik piretroitler
11. Benzoyl türevleri
12. Dinitro bileşikler
13. Amin ve hidrazin türevleri
14. Dinitrofenol ve esterleri (Barış, 2007).



Pestisitler Etkiledikleri Parazit Çeşitlerine Göre Sınıflandırılması;

1. İnsektisitler (böceklere karşı kullanılan),
2. Akarisitler (örümcek, bit, kene gibi parazitlere karşı kullanılan),
3. Afisitler (yaprak bitlerine karşı kullanılan),
4. Rodentisitler (sıçan zehirleri)
5. Molluskisitler (sümüklü böceklerin kontrolünde kullanılan),
6. Fungusitler (tarımda mantar zararlılarına karşı kullanılan),
7. Nematositler (toprak ve bitki nematotlarına karşı kullanılan),
8. Herbisitler (tarımda yabancı otlarla mücadele için kullanılan),
9. Algisitler (algelere, yosunlara karşı kullanılan)
10. Bitki gelişme düzenleyicileri (tarım ürünlerinde genellikle verim ve kalitenin artırılması amacı ile kullanılan) (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Pestisitler, zehirliliklerine göre 4 sınıfa ayrılırlar. Bu sınıflar:

1. Sınıf 1 (çok zehirli),
2. Sınıf 2 (zehirli),
3. Sınıf 3 (az zehirli),
4. Sınıf 4 (zehirlilik bakımından az tehlikeli olanlar) bileşikler olarak dört sınıfta toplanmıştır (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

Pestisitler uygulandıkları çevrede kalıcılıkları veya dayanıklılıklarına göre genellikle 4 grupta toplanırlar:

1. Kalıcı olmayan pestisitler,
2. Orta derecede kalıcı pestisitler,
3. Kalıcı pestisitler,
4. Sürekli kalıcı pestisitler (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

#### **2.1.1.1.1. İnsektisitler**

Bitkilere ve diğer canlılara zarar veren hayvansal organizmaları öldürmek için kullanılan kimyasal maddelere insektisit adı verilir (Barış, 2007). Zararlıların büyük bir çoğunluğu, hızlı etkinliği nedeni ile kimyasal insektisitler tarafından kontrol edilmektedir (Jamil ve ark., 2004).

Böceklerin merkezi sinir sistemleri çok gelişmiş olup memelilerinkine benzer. Aynı şekilde perifer sinir sistemleri de benzerlik gösterirler. Bu nedenle insektisitlerin toksik etki mekanizmaları ve hedef aldıkları organlar bütün türlerde aynıdır. Ancak bu toksik etki

şiddetli dozla (maruziyet süresi ve düzeyi, biyotransformasyon hızı, absorpsiyon yoluna bağlı olarak) ilgilidir (Vural, 2005).

Böcek öldürücülerin doğal dengeyi bozarak besin maddeleri üzerinde, toprakta ve suda uzun süre parçalanmayan kalıntılar bırakarak, besin zinciri yolu ile yüksek yapılı organizmalara ve insanlara geçerek dokularda biriktiği bilinen bir gerçektir. Böcek öldürücülerin kendileri bazen doğrudan zehirli etki göstermeseler de biyokimyasal veya histokimyasal bir lezyon oluşturan, bir ya da birkaç metabolitin öncüsü olabilirler (Batça-Kayhan ve ark., 2009).

#### **2.1.1.1.2. Herbisitler**

Yabancı otlarla mücadelede kullanılan kimyasal maddelere ise herbisit denilmektedir. İstenmeyen bitkiler ve yabancı otları yok etmek için kullanılan herbisitlerin önemi gittikçe artmaktadır. Bitkilerdeki etkilerine göre herbisitler ikiye ayrılır. Bütün bitki türlerini etkileyen herbisitler seçici olmayan (nonselektif); belirli bitki türleri için toksik, diğerleri için zararlı olmayanlara ise selektif herbisitler denmektedir. Bitkilerdeki etki yeri ve kullanma şekillerine göre herbisitler üç alt gruba ayrılabilir:

1. Kontakt herbisitler: Bitki yaprak ve gövdesi ile temasta bitkiye zarar verirler.
2. Sistemik herbisitler: Bitkinin vasküler sisteminde yayılarak bitkiye zarar verirler. Bu tip herbisitler bitkinin yaprak ve kökü ile temasta olduğunda, çok çabuk olarak bitkinin damarları tarafından absorbe olur. Kuvvetli kök sistemi olan yabancı otların yok edilmesinde kullanılır.
3. Bitkinin kök sistemini veya çimlenen tohumlarını etkileyen herbisitler: Toprağa karıştırılan herbisit buradaki istenmeyen bitki tohumlarını yok eder (Vural, 2005).

#### **2.1.1.1.3. Fungusitler**

Fungusitler bitkilerde hastalık yapan fungusların kontrolünde kullanılan tarım ilaçlarıdır (Tezcan, 2009).

Mantarları yok ederek, ürünlerin bozulmasını engelleyen organik ve anorganik yapıda birçok fungusit vardır. Bazıları çok toksiktir ve birçok yaygın zehirlenmeler görülmüştür (Vural, 2005).

Fungusitler genellikle endüstri, tarım, ev ve bahçelerde çok çeşitli amaçlar için sıklıkla kullanılmaktadırlar. Özellikle tohumların çimlenmesi, depolanması ve taşınması sırasında, etli meyvelerin tohumları, çiçek ve çimlerin depolanma ve taşınması sırasında, yüzeylere bulaşan küflerin engellenmesi ve evlerde kullanılan halı ve kumaşların korunması sırasında fungusitler yaygın olarak kullanılırlar (Reigart ve Roberts, 1999).

Ayrıca, kültür bitkilerine zarar veren pas ve küf gibi hastalıklara karşı da fungusitler kullanılmaktadır. Bu hastalıkların etkisi mikroskobik mantar misellerinin çeşitli bitki dokularını örtmesi ile gerçekleşmektedir. Bu hastalıklara karşı mücadele, fungusitlerin yapraklara uygulanması ve böylece sporların gelişiminin önlenmesi ile olmaktadır (Akyıl, 2006)

Fungusitler etkileme şekillerine göre 3'e ayrılırlar:

- Koruyucu Fungusitler
  - Bakırlılar
  - Dikarboksimidler
  - Dithiokarbamatlar
  - Kalaylılar
  - Kükürtler
  - Nitro Bileşikler
  - Oksazolidinedionlar
  - Diğerleri
- Sistemik Fungusitler
  - Amin ve amidler
  - Benzimidazoller
  - Morpholinler
  - Pyrimidinler
  - İmidazoller
  - Triazoller
  - Strobilurinler
  - Diğerleri
- Biyolojik Fungusitler (Yücer, 2008).

#### **2.1.1.1.3.1. Triazoller**

1980'lerde tanıtılan fungusitlerin bu kimyasal sınıfı, difenoconazole, fenbuconazole, myclobutanil, propiconazole, tebuconazole, tetraconazole, triadimefon ve triticonazole olmak üzere çok sayıda üye içermektedir. Bir fungusit grubu olarak dünyada en çok

kullanılanlar arasındadır (Fishel, 2005).

Triazol fungusitler, sistemik etkili ve oldukça geniş etki spektrumuna sahip bir fungusit grubudur. Funguslarda C-14 demetilasyonunu engelleyerek sterol biyosentezini engellerler (Demirci ve Maden, 2006). Sitokrom P450 51 (Cyp 51) tüm ökaryotik sistemlerde sterol biyosentezi için gerekli olan, bitkiler, memeliler, protistalar ve mantarlarda korunmuş bir genidir. Triazol hemoglobinde bulunan “heme” proteinini bağlama ve Cyp-bağımlı enzimleri inhibe edebilme yeteneğine sahip bir fungusit grubudur (Barton ve ark., 2006; Hester ve ark., 2006; Wolf ve ark., 2006).

Triazol mantar lanosterol-14 $\alpha$ -demetilaz aktivitesini (cyp51) bağlama ve engelleme yeteneği sayesinde pek çok mantar türünü ve suşlarını kontrol etmek amacı ile kullanılmaktadır (Ghannoum ve Rice, 1999; Goetz ve Dix, 2009a, 2009b). Ergosterol biyosentezinin bozulması; mantarların hücre membranlarındaki toksik ara sterollerin birikmesine, membran geçirgenliğinin artmasına ve mantarların büyümesinin engellenmesine yol açar. Bu nedenle triazol antifungaller mantarlarda cyp51 engellemesi için kullanılmaktadır. Bu pestisitlerin mantar hastalıklarının birçok türüne karşı kontrolde değerli olduğu kanıtlanmıştır (Goetz ve Dix, 2009b).

Sistemik fungusitlerden triazol sınıfında yer alan myclobutanil yüksek verimli ve geniş spektrumlu bir fungusittir. Orta toksisiteye sahip myclobutanil genellikle buğday, pirinç gibi tahıllarda, bazı sebzelerde, tohumlarda, elma ve üzüm gibi meyvelerde ve konut ve ticari çim üzerinde meydana gelen küllenme ve pas hastalıklarına karşı yaygın olarak kullanılır (Sun ve ark., 2005; Goetz ve ark., 2007).

Myclobutanil, ergosterol biyosentezinden kısmen sorumlu bir sitokrom P-450 enzimi olan 24- metilen hidrolanosterol demetilazı engelleme yolu ile etkisini gösterir. Bu sterol fungal hücre membran yapısının kritik bir bileşeni olduğundan mantarların üremesi ve çoğalması açısından önemlidir (Athanasopoulos ve ark., 2003).

### **2.1.1.2. Pestisitlerin Tarihçesi ve Kullanım Öyküleri**

Pestisitlerin kullanımı çok eski tarihlere dayanmaktadır. M.Ö. 1500'lere ait bir papirüs üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı insektisitlerin hazırlanışına dair kayıtlar bulunmuştur.

Bugüne kadar 6000 kadar sentetik bileşik patent almasına karşın, bunlardan 600 kadarı ticari kullanım olanağı bulmuştur. Ülkemizde tarımı yapılan kültür bitkileri, sayıları 200'ü aşan hastalık ve zararlıların tehdidi altında olup yeterli savaşım yapılmadığı için

toplam ürünün yaklaşık 1/3'ü kayba uğramaktadır. Bu kayıpların önlenmesi bakımından pestisitlerin daha uzun yıllar büyük bir kullanım potansiyeline sahip olacağı kuşkusuzdur. Formülasyon olarak 30.000 ton civarında olan pestisit kullanımımızda en yoğun kullanılan gruplar sırası ile; herbisitler, insektisitler, fungusitler ve yağlardır (Kırımlı, 2007).

### **2.1.1.3. Pestisitlerin Kalıntı Problemi**

Tarımsal gelişme sürecinde pestisitler bir bitki koruma ajanı olarak gıda üretimini artırmada önemli bir araç haline gelmişlerdir. Fakat kullanımları, gelişmekte olan dünyada insan sağlığı için ciddi bir tehdit oluşturmuştur. Zehirli olan bu tarım kimyasalları gıdalarda kalıntılar bırakmakta ve böylece yoğunlukları azami kalıntı sınırını (MRL=maximum residue limit) geçtiğinde hastalıklara neden olmaktadır (Rekha ve ark. 2006).

Bazı pestisitler birçok yıldır yasaklanmış olmasına rağmen kalıcılığa eğilimleri sebebiyle çevrede hala bulunmaktadır. Bu kirleticiler beslenme zincirinde yukarıya doğru birikmekte ve yaban hayatı üzerinde çeşitli etkilere yol açmaktadırlar (Mazet ve ark. 2005). Yaban hayatında kirlenme genelde kirleticilerin besin zincirinde yukarı doğru taşınması sonucunda olduğundan, balık gibi yüksek lipit içeren organizmaların bu kirleticileri yüksek miktarda yoğunlaştırmasına neden olmaktadır (Bordajandi ve ark. 2003).

Gıda ve yem bitkilerinde, et ve kümes hayvanlarında, balık ve akuakültürde ve ayrıca süt ve süt ürünlerindeki pestisit kalıntıları genelde pestisitlerin çeşitli tarımsal uygulamalarda, hububat depolanmasında ve halk sağlığında dikkatsiz kullanılmalarından kaynaklanmaktadır (Rekha ve ark. 2006). Ayrıca pestisit uygulama sıklığındaki artış, pestisit kalıcılığına zemin hazırlamaktadır (Isubikalı ve ark., 1999).

### **2.1.1.4. Pestisitlerin Etki Biçimleri**

Pestisitler canlılara iki şekilde etki eder:

**a) Doğrudan etki:** Deri ve solunum yolu ile veya pestisitler ile direkt temas etmiş gıda maddelerinin tüketilmesi ile bu etki gerçekleşir. Doğrudan zehirleyici etki, zehirlilik düzeyine ve canlıların bu pestisitlerle temas etme derecesine bağlıdır. Canlı bünyesine girdikten sonra uzun süre değişmeden kalabildikleri gibi, bozulmaya uğrayarak ara ürünler de oluşturabilirler.

**b) Dolaylı etki:** Pestisit kalıntıları içeren bitkilerin ve hayvan dokularının besin maddesi olarak tüketilmesi sonucunda dolaylı etki gerçekleşir. Klorlandırılmış hidrokarbonlar vücut yağ dokusunda birikirler. Bu tür besin almış canlıda ölüm veya fizyolojik bozukluklar meydana gelebilmektedir (Kırımlı, 2007).

#### **2.1.1.5. Pestisitlerin Toksisitesi**

Pestisitler, amacına uygun olarak dikkatli ve uygun dozlarda kullanıldıklarında oldukça yararlıdır ve günümüzde tarımsal arazilerden yüksek verim elde edebilmek için genellikle yüksek miktarda ve yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Fakat yanlış, bilinçsiz, denetimsiz ve aşırı dozlarda kullanımı hem insan sağlığına zarar verebilir, hem de çevre kirliliğini artırarak diğer canlıları olumsuz yönde etkileyebilir (Sataloğlu ve ark., 2007).

Zirai mücadelede kullanılan pestisitler yalnız bunları bitki yetiştiriciliğinde kullanan insanları değil, aynı zamanda bu pestisitlerin üretiminde, işlenmesinde, spreylemesinde ve paketlemesinde çalışan işçileri de etkilemektedir (Jamil ve ark., 2004). Bu yüzden pestisitler hem üretim hem de tüketim sürecinde insanlar için zararlıdır.

Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere uygulanan pestisitler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır. Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini onun kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar gibi faktörler etkilemektedir (Kırımlı, 2007).

İdeal bir pestisit yalnızca hedef organizmayı etkileyen, ekosistemde uzun süreli olarak kalıcı olmayan ve zararlı çevresel etkileri olmayan kimyasal madde olarak tanımlanmasına rağmen, günümüzde birçok pestisitinin ekosistemler arasında taşındığı ve hedef olmayan organizmalarda direkt ya da dolaylı olarak çeşitli toksik etkilere yol açabildikleri bilinmektedir (Mansour, 2004). Bu toksik etkilerden özellikle kalıtım materyali DNA üzerinde ortaya çıkabilecek genotoksik hasarların belirlenmesi büyük önem taşımaktadır (Madle ve ark., 2000).

#### **2.1.1.5.1. Pestisitlerin Çevreye Olan Etkileri**

Pestisitlerin yalnız canlı üzerine değil aynı zamanda kullanıldığı çevreye de toksik etkileri bulunmaktadır.

**2.1.1.5.1.1. Pestisitlerin Toprak Kirliliği Üzerine Etkileri**

Pestisitler doğrudan bitki üzerine, toprağa ve tohumluğa uygulanır ve bu uygulamalardan sonra önemli miktarı toprakta kalır (Barış, 2007). Gerek bitkiler üzerine, gerekse doğrudan toprağa verilerek yapılan tarım ilacı uygulamasından mikro ve makro toprak flora ve faunası etkilenir (Kocataş, 2006). Eğer uygulanan pestisit kalıcı ise çevre yönünden çok büyük sakıncalara yol açar.

**2.1.1.5.1.2. Pestisitlerin Su Kirliliği Üzerine Etkileri**

Avrupa Birliği'nin yönergesine göre pestisit kalıntısı içme suyunda 0,1 µg/L, yüzey suyunda ise 1-3 µg/L'den daha yüksek olmamalıdır (Aguilar ve ark., 1997). Ayrıca pestisitlerin belirli konsantrasyondan fazlası akuatik organizmalar için toksik etki yapmaktadır (Atamanalp ve Yanık, 2001). Ancak pestisit kullanımı; tarımsal üretim, akuakültür ve toplum sağlığındaki faydalarının farkına varıldıkça günden güne artmaktadır.

Pestisitler; suda yaşayan canlılara veya su kanallarında yaşayan bitkilere karşı yapılan ilaçlamalarla, yerleşim bölgelerinde kanalizasyon ve lağım sularına pestisitlerin karışması ile ve pestisit imalat artıklarının deşarjı ile su kaynaklarına geçmektedirler. Pestisitler aynı zamanda yağmur suları, drenaj suları, yüzey akışları ve sulama sularına karışarak da bu sulara kontamine olurlar. Ayrıca sivrisinek uygulamasında olduğu gibi doğrudan suya yapılan uygulamalar sonucunda pestisitler su bitkileri veya dip çamurları tarafından tutulurlar (Atamanalp ve Yanık, 2001).

Pestisitlerin balıklara etkileri ise değişik şekillerde görülür. Yumurta koymayı ve üremeyi durdurmak suretiyle ya da direk olarak öldürme yoluyla balık popülasyonu üzerinde etkili olabilmektedirler. Bu letal etki balık türüne ve pestisit kimyasal yapısına bağlı olarak değişir. Ayrıca dokularında meydana getirdikleri hasarlar ile balıklarda duyarlılığa yol açarak, balıkların mevsimlik ısı değişimlerinden ve geçici açlıktan gereğinden fazla etkilenmesine yol açarlar (Atamanalp ve Yanık, 2001).

Kısaca farklı yollarla sulara bulaşan pestisitler sudaki organizmaları kötü yönde etkilemekte ve bu organizmaların dokularında hasara, üremelerinde bozukluğuna, direnç azalmasına hatta ölümlere yol açmaktadır.

**2.1.1.5.1.3. Pestisitlerin Hedef Olmayan Organizmalar Üzerine Etkisi**

Pestisitler toksik yapıları nedeni ile hedef alınan zararlıların dışında, doğrudan ve dolaylı yollarla insan ve çevresine olumsuz etkiler göstermektedir (Mansour, 2004).

Tarımsal savaşta kullanılan pestisitler hedef organizmaları yok ederek ürün artışına neden oldukları gibi aynı zamanda hedef olmayan canlılarda da çeşitli hasarlara yol açabilirler. Bu maddeler hedef olmayan organizmaya çeşitli yollarla bulaşmakta ve bu organizmada pankreas hasarına (Weizman ve Sofer, 1992), sinir sisteminde akut ve kalıcı hasara, endokrin sistem ve immün sistemde fonksiyon bozukluğuna, üreme organları ve akciğer gibi organlarda hasara, kansere (Mansour, 2004) ve doğum kusurlarına (Garcia ve ark., 1998; Mansour, 2004) yol açabilmektedir. Pestisitlerin etkilediği sistemlerden biri de vücuttaki en önemli koruyucu sistemlerden olan antioksidan sistemdir (Çömelekoğlu ve ark., 2000).

Pestisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkilerler. Zararlı etkilerin şiddeti, pestisite ve formülasyonun tipine, uygulama şekline ve tarımsal arazinin tipine bağlı olarak değişmektedir (Kırımlı, 2007).

Toprağa uygulanan pestisitlerin %10-30'u, püskürtülen pestisitlerin %50-75'i hedef canlılara ulaşmamakta, bunun yerine bu oranlar çevreye taşınarak bitki ve hayvanlara geçebilmektedir. Sucul çevreler karmaşık bir topluluk oluşturan pestisitler tarafından etkilenmekte, bunun en büyük kaynağını tarım oluşturmaktadır (Ribeiro ve ark., 2005).

Zararlı popülasyonunu baskı altına alan, onların aşırı çoğalmalarını önleyen en önemli faktör olan doğal düşmanlar kullanılan pestisitlerden en fazla etkilenen canlılardır. Genellikle avcı böcekler olan doğal düşmanlar fazla hareketlilikleri nedeni ile daha fazla pestisit bulaşmasına uğramakta ve bu uygulamadan çok zarar görmektedirler. Bu nedenle, bunların baskı altında tuttuğu ikinci dereceden bazı zararlılar zararlı konumuna geçmektedirler (Sürmeli, 2003; Akyıl, 2006).

Türkiye'de pestisit kullanımı ve ruhsatlandırması 1957 yılından bu yana 6968 sayılı Zirai Mücadele ve Zirai Karantina Kanunu ile yasal olarak kontrol altında tutulmaya çalışılmıştır. Ancak 2008 yılında yapılan yeni düzenlemelerle bu yasa daha etkili hale getirilmiştir. Bu kanuna dayanılarak çıkarılan yönetmeliklerle de özel konular güvence altına alınmaktadır. Ancak, genelde pestisitlerin, özelde ise fungusitlerin hedef dışı etkileri halen yeterince önemsenmemektedir (Tezcan, 2009).



**2.1.1.5.2. Pestisitlerin İnsanlara Etkisi**

Pestisitlerin insanlara etkilerinin değerlendirilmesinde tam niteliği bilinmeyen birçok etmen bulunmaktadır. Yaş, cins, ırk, beslenme düzeni, sağlık durumu, etkilenim süresinin uzunluğu ve biçimi, pestisit dozu, pestisitlerin etkisi altında kalan kişilerin etkilenimlerini ve sonuçlarını önemli boyutlarda değiştirmektedir (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Pestisitlerle insanların teması; ilaç üretimi, taşıma, depolama, kullanma ve ilaç kalıntısı içeren ürünlerin tüketimi ve iş kazaları sırasında olmaktadır. Bu etkileşim sonunda pestisit, insan vücuduna ağız, deri ve solunum yolu ile girmektedir (Barış, 2007).

**Ağız yolu ile**

Pestisite maruz kalma; ağız yolu ile, kaza ile ya da dikkatsizlik ile olmaktadır. Örneğin, pestisit uygulanmış meyvelerin yıkanmadan tüketilmesi pestisit ağız yolu ile vücuda alınmasına neden olabilmektedir.

**Deri yolu ile**

Buharlaşmayan pestisitleri kullanan bireylerin yaklaşık % 90'ı pestisite deri yolu ile maruz kalır. Örneğin, pestisit karıştırılırken ya da uygulanırken deri ile temas edebilir. Sıvı pestisitler kadar toz, pudra ve granül gibi kuru pestisitler de deri yolu ile absorbe edilebilir. Pestisit dermal toksisitesi, deri tarafından absorbe edilme oranı, kontamine olmuş derinin büyüklüğü, deri ile temas eden materyalin deride kalma süresi ve derideki pestisit miktarı, bu maddelerin zararlı etkiler oluşturmasında önemli etkenlere sahiptir.

**Solunum yolu ile**

Özellikle gaz halindeki buharlaşabilen pestisitler olmak üzere, toz ya da partikül halindeki pestisitler de solunum yolu ile vücuda alınabilir (Nesheim ve ark., 2005; Yavuz-Kocaman, 2007).

Pestisit'in insanlara etkisi kendi kimyasal yapısından veya "metabolit" adı verilen parçalanma ürünlerinden ileri gelebilir. Bu maddelerin bir kısmı birikime uğradığı için, bir kısmı da birikmediği halde sinir hücrelerinde tahribat yaptığı için çok tehlikeli sonuçlar doğurabilmektedir (Barış, 2007).

Pestisitlere direkt veya indirek maruz kalan insanlarda kanser frekansının arttığı gözlenmiştir (Fındıklı ve Türkoğlu, 2010). Pestisitlerin lösemi (Brown ve ark., 1990), deri, dudak, mide, beyin ve prostat kanseri (Blair ve Zahm, 1995), mesane kanseri (Viel ve Challier, 1995), pankreas kanseri (Ji ve ark., 2001), non-hodgkin lenfoma (Waddel ve ark., 2001; Zheng ve ark., 2001; Chiu ve ark., 2004; Chiu ve Blair, 2009) gibi kanserlere

yakalanma riskini arttırdığı bildirilmiştir. Pestisitlerin aynı zamanda parkinson (Jenner, 2001) gibi genetik hastalıklara yol açtığı ve kanserojenik etkilerinin yanında teratojenik etkilerinin de olabildiği (Garcia ve ark., 1998) bildirilmiştir.

#### **2.1.1.6. Pestisit Tüketimi**

Dünyada ve ülkemizde tarım alanlarındaki zararlıları yok etmek ve daha kaliteli ürün elde etmek amacı ile pestisitler yoğun olarak kullanılmaktadır (Çömelekoğlu ve ark., 2000). Türkiye’de yıllık pestisit tüketimi, yıllık iniş ve çıkışlara rağmen, 1979-2007 yılları arasında %270 oranında artmıştır (Delen, 2008). Bu değer yıllık olarak %9.64’e karşılık gelmektedir. Özellikle son yıllardaki önemli artışlar dikkat çekicidir. Pestisit tüketimimiz, 2002 yılında 12.199 ton iken, 2006 yılında yaklaşık %50 artış ile 18.258 ton ve 2007’de de %24,22 artarak 22.681 ton olmuştur (Yeşil ve Ögür, 2011).

Türkiye sıralamasında uzun yıllardır insektisitler ilk sırada yer alırken fungusitler ikinci sırada yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerin çoğunda ise sıralamada herbisitler birinci, fungusitler ise ikinci sıradadır (Tezcan, 2009).

#### **2.1.2. Genotoksisite Testleri**

Çevremizde bulunan ve biyolojik etkileri henüz tam olarak bilinmeyen bu sentetik ve doğal maddelerin kanserojenik ve mutajenik potansiyellerinin test edilmesi hem bireylerin kendi sağlığı hem de sonraki nesillerin sağlığı açısından gerekmektedir. Bunun için bu kimyasallar çeşitli genotoksisite testleri ile incelenmektedir.

*In vivo* test sistemlerinde; mutajenik etkisi araştırılacak kimyasallar çeşitli yollarla (beslenme, enjeksiyon gibi) deney hayvanlarına verilerek, belirli dozların belirli sürelerdeki etkisine bakılır. Bu testlerde genellikle böcek (özellikle *Drosophila*) (Osaba ve ark., 2002) ve memeliler (sıçan ve fare gibi) yaygın olarak kullanılır (Yılmaz, 2008).

*In vitro* test sistemlerinde genotoksik etkisi araştırılacak madde deney hayvanından veya insandan alınan dokulara belirli dozlarda belirli süre uygulanır. Bu testlerin *in vivo* testlerden farkı, test edilen kimyasalın canlıya değil ondan alınan dokuya dış ortamda uygulanmasıdır (Mamur, 2009). Kısa zamanlı testler (short-term tests) diye bilinen bu testlerle kimyasal maddelerin belirli genetik sistemlerde belirli sonuçlar verip vermedikleri ölçülmekte ve elde edilen sonuçlarla kimyasal veya etken maddelerin kanserojenik veya mutajenik potansiyelleri arasında ilişki kurulmaktadır (Yılmaz, 2008).

Günümüzde genotoksik etkilerin incelenmesi amacı ile gerçekleştirilen araştırmalarda temel olarak alınan ve mikroorganizmalar, böcekler, bitkiler, omurgalı hayvanlar, insanlar üzerinde uygulanabilecek çok sayıda genotoksik test metodu bulunmaktadır.

**Ames testi** (*Salmonella*/mikrozom test sistemi) Dr. Bruce Ames tarafından geliştirilen, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılan, mutajen-kanserojen etkisini etkili şekilde ölçebilen kısa zamanlı bakteriyel test sistemlerinden birisidir (Maron ve Ames, 1983). Bu testin temeli, yapay mutasyon oluşturulmuş olan *Salmonella typhimurium* türünün histidin sentezleme yeteneklerini kaybetmiş (his-) olan suşlarının, test bileşeni ile muamelesinden sonra tekrar bir mutasyon geçirip his+ haline dönüşmesi esasına dayanır (Ames ve ark., 1973).

**Allium testi**, kısa süreli genotoksisite testlerinden bir diğeridir. Hızlı ve hassas bir testtir. *Allium* testinde kullanılan bitkiler *Allium sativum* ve *Allium cepa* türleridir. Bu testte kullanılan türler, ucuz olmaları, kolayca çimlenebilmeleri, kromozomlarının az ve büyük olması, köklerinin ortama verilen kimyasallarla doğrudan etkileşim halinde olması nedeni ile tercih edilmektedir (Fiskesjö, 1985). *Allium* testini ilk kez 1938 yılında Levan kullanmış daha sonra da Fiskesjö bu metodu değişik kimyasalların toksisitesinin belirlenmesinde standart bir metod olarak kullanmaya başlamıştır (Fiskesjö, 1985; Rank ve Nielson, 1993).

Böcek denemelerinde ise *Drosophila melanogaster* L. türü ile yapılan testler yaygın olarak kullanılmaktadır (Ekebaş ve ark., 2000). *Drosophila sp.* türünde en çok uygulanan test cinsiyete bağlı resesif letalite testidir (Mamur, 2009). *Drosophila sp.* ırkları ile gerçekleştirilen bir diğer mutajenite metodu somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)'dir. SMART tekniği, çeşitli kimyasalların etkisine bırakılan mutant işaret genleri nedeniyle heterozigot fenotipe sahip larvalardan oluşan ergin sineklerin kanat hücrelerindeki mutajenik etkinin fenotipe gözlenmesine dayanır (Ekebaş ve ark., 2000).

**Komet (=kuyruklu yıldız)**, tek hücre jel elektroforezi (Single Cell Gel Electrophoresis (SCGE)) testi, özellikle son yıllarda gelişen ve çeşitli kimyasal ajanların oluşturdukları DNA tek zincir kırıklarını belirlemek için kullanılan metodlardan biridir (Singh ve ark., 1988; Tice ve ark., 2000; Poletta ve ark., 2008). Bu metodun özelliği, bir elektrik alanında, kırılan DNA moleküllerinin, bozulmamış DNA moleküllerine nazaran daha hızlı hareket etmelerine dayanmaktadır (Singh ve ark., 1988). DNA hasarının göstergesi olan hücrelerin nükleusundaki fragmentlerin hızlı göçüyle bir kuyruklu yıldız

görünümü oluştururlar (Poletta ve ark., 2008).

**Kardeş kromatid değişimi (KKD);** mutajenite ve kanserojenitenin saptanmasında kullanılan en etkili metodlardan biridir. Kardeş kromatid değişimi, bir kromozomun iki kromatidinin homolog bölgelerinde kromatitlerin kırılan parçaları yer değiştirdikten sonra yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (Hagmar ve ark., 2001; Baltacı ve Zeyneloğlu, 2004). Kardeş kromatid değişimi testi çeşitli çevresel ajanların mutajenik/kanserojenik potansiyelini ölçmek için kullanılan oldukça hassas bir testtir (Lambert ve ark., 1976; Hill ve ark., 1997; Baltacı ve Zeyneloğlu, 2004). Mitoz bölünme sırasında oluşan kardeş kromatid değişimlerinin frekansında meydana gelen artışlar, genotoksisitenin değerlendirilmesinde ve DNA hasarına neden olan ajanların erken biyolojik etkilerinin belirlenmesinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılan sitogenetik belirleyicilerden biridir (Bolognesi, 2003).

**Kromozomal anormallik (KA) testi,** kültüre alınmış periferik lenfositlerde kromozomal anormallik frekansını belirlemek ve iyonize radyasyon ile genotoksik olduğu bilinen veya şüphelenilen maddelere maruziyeti ya da maruziyetin biyolojik etkilerini değerlendirmede 1960'lardan itibaren sıklıkla kullanılan önemli bir yöntemdir (Hagmar ve ark., 1994; Sivikova ve Dianovsky, 1999; Natarajan, 2002).

DNA hasarının hücre bölünmesi sırasında kontrol edildiği noktalar vardır. DNA hasarlarına karşı oldukça duyarlı olan bu kontrol noktaları; mitozdan önce yer alan G2/M kontrol noktası, DNA replikasyonundan önce yer alan G1/S kontrol noktası ve S kontrol noktasıdır (Dasika ve ark., 1999). Oluşan kromozomal anormalliklerin çoğu, hasar görmüş olan bu kromozomların, bu kontrol noktalarında tamir edilememesi veya yanlış tamir edilmesi sonucunda ya da mitoz veya mayozda kutuplara göç sırasında oluşan anormalliklerden kaynaklanmakta ve metafaz aşamasında mikroskopik düzeyde gözlenebilmektedir (Hagmar ve ark., 1998; Ji ve ark., 2001; Bolognesi, 2003).

Yapısal ve sayısal kromozom anormallikleri en iyi metafaz aşamasında gözleendiğinden, kültürde çoğalan hücreleri metafaz aşamasında tutmak gerekmektedir. Bunun için insan lenfosit kültürüne tübülün polimerizasyon inhibitörü olan kolsemid veya kolşisin eklenir ve kromozomlar kolayca gözlenebilir (Albertini ve ark., 2000).

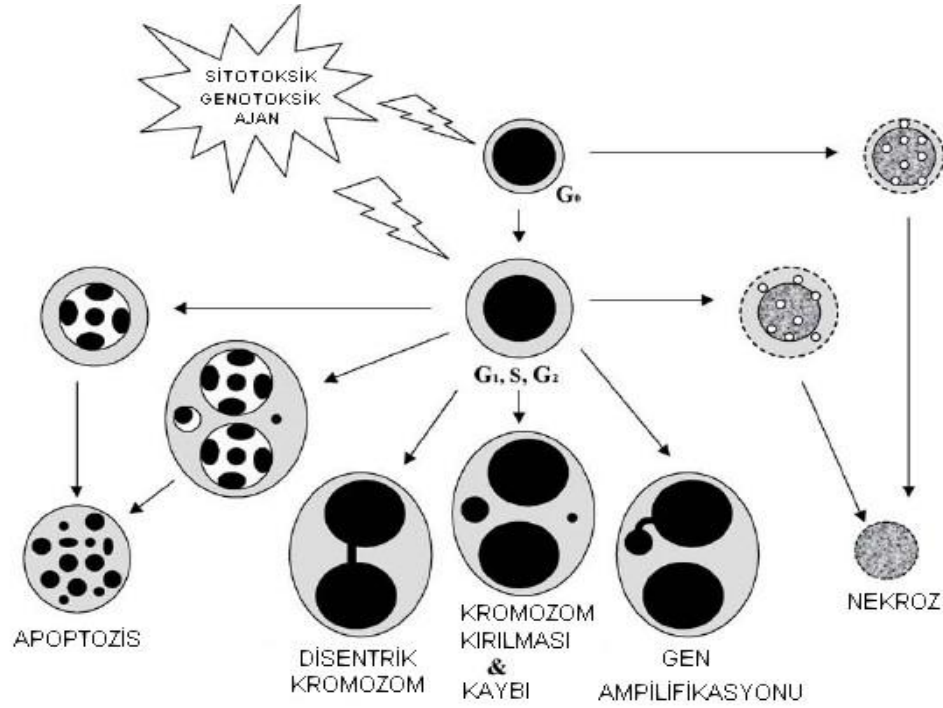
Lenfositlerdeki DNA hasarının frekansı, DNA onarım süreçleri, apoptoz ve nekroz yoluyla kandan ağır hasarlı hücrelerin kaybı ve hücre yenilenmesinden dolayı örnekleme ve maruziyet arasındaki süre arttıkça düşer. Bu yüzden hücreler en geç 2 gün içinde toplanmalıdır. Aksi takdirde pozitif klastojenik etkilerden dolayı hücreler

sayılamayabilirler (Albertini ve ark., 2000). Bundan dolayı oluşan anormallikleri gözleyebilmek için yapılan testlerde kimyasal madde uygulamasından sonraki süre iyi ayarlanmalıdır.

İnsan periferik lenfositlerinde yapılan kromozom anormallikleri testi hedef dokulardaki kanserojenik süreçlerin benzerini yansıtmamasından dolayı anormal lenfositlerin seviyesi, kansere eğilimli dokulardaki hasar seviyesini gösterir. Bu kromozom anormallikleri testinin kanser riskinin göstergesi olduğu düşünülmektedir (Hagmar ve ark., 1994; Bonassi ve ark., 2000, 2005, 2007). Hatta yapılan çalışmalar KA frekansı ile artan kanser riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir (Hagmar ve ark., 1998; Natarajan, 2002; Bolognesi, 2003). KA'lerinin her iki tipi (kromatid tipi- kromozom tipi) de kanser riskinin göstergesidir. Ancak bazı veriler kromozom tipi KA'lerinin kanser riskini belirlemede kromatid tip anormalliklere göre daha bariz öngörü niteliğinde olduğunu göstermektedir (Norppa ve ark., 2006; Boffetta ve ark., 2006).

**Mikronükleus (MN) Testi**, genotoksisite ve kanserojenitenin belirlenmesi için kullanılan sitogenetik testlerden birisidir (Heddle ve ark., 1991; Fenech, 2002). Mikronükleus testi basit ve hızlı ve ekonomik olmasından dolayı genetik toksikoloji çalışmalarında çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (Fenech, 1993 ve 2000).

Yapılan çalışmalar, bazı genotoksik ve sitotoksik ajanların, kromozomların kırılması ve kaybına, disentrik kromozom oluşumuna (nükleoplazmik köprüler), gen amplifikasyonlarına, nekroza ve apoptoza sebep oldukları tespit edilmiştir. Bu hasarların ölçümlerinde MN yöntemi kullanılmaktadır (Şekil 1) (Fenech, 2000 ve 2006).



**Şekil 1: Sitotoksik ve genotoksik ajanların etkisi ile mikronükleus oluşumu, apoptozis ve nekroz (Fenech, 2006).**

Mikronükleuslar, spontan olarak ya da genotoksik maruziyete yanıt olarak (Falck ve ark., 1997) esas çekirdeğe dahil olmayan asentrik fragmentlerden (sentromeri eksik kromozom fragmentleri) köken alan veya anafazda sentrik elementler kutuplara çekilirken iğ ipliklerine bağlanamayan bir veya birkaç kromozomun daha sonra etrafında çekirdek zarı teşekkül etmesi ile oluşurlar (Ford ve ark., 1988; Fenech, 1993, 1998 ve 2000; Feng ve ark., 2005; Pala ve ark., 2008; Eroğlu ve ark., 2010).

Fragment kaybı ve mikronükleus oluşumu muhtemelen hücrenin ve kromozomların boyutuna ve şekline bağlı olarak bir hücre tipinden diğerine farklılık göstermektedir (Heddle ve ark., 1991).

Mikronükleus yöntemi ile çeşitli kimyasalların ve fiziksel ajanların sebep oldukları anöjenik ve klastojenik etkiler belirlenebilir (Kirsch-Volders ve ark., 1997; Norppa ve Falck, 2003; Eroğlu ve ark., 2010).

MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; klastojenler ise kromozom kırıkları oluşturarak MN oluşumuna

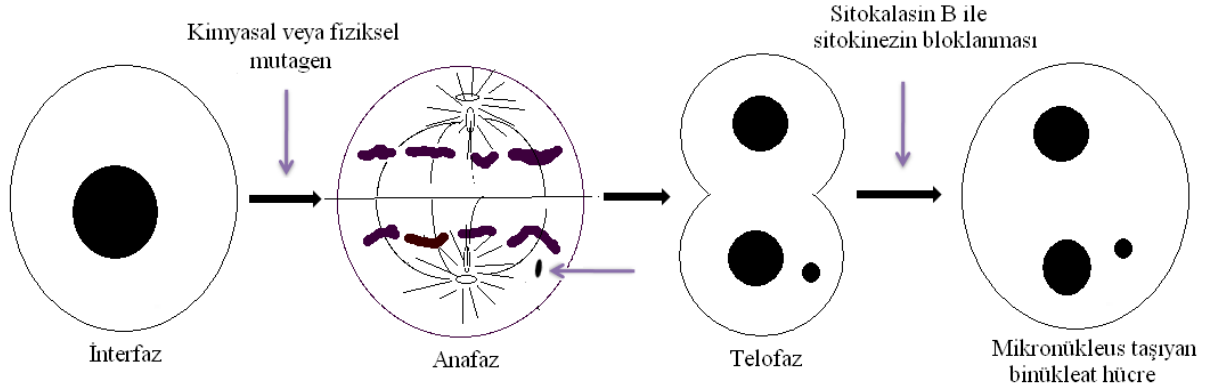
katkıda bulunmaktadır (Majer ve ark., 2001; Demirel ve Zamani, 2002).

MN ilk defa Howell tarafından 1800'lü yılların sonunda eritrositlerin sitoplazmasında tanımlanmış ve nükleer materyalin fragmenti olarak adlandırılmıştır. Daha sonra 1900'lü yılların başında da Jolly tarafından Howell'in çalışmaları desteklenmiştir (Kirsch-Volders ve ark., 2003). MN'ler bunun için hematolojide "Howell-Jolly Cisimleri" olarak adlandırılırlar (Fenech, 2000; Kirsch-Volders ve ark., 2003). Bu çalışmalardan sonra benzer yapılar Brenneke (1937) tarafından fare ve sıçan embriyolarında, Thoday (1951) tarafından *Vicia faba*'da gözlenmiştir. (Kirsch-Volders ve ark., 2003). 1959 yılında Evans ve arkadaşları *Vicia faba* kök uçlarında gözlemedikleri MN'lerin asentrik fragmentlerden meydana geldiklerini ve mitozun son evresinde yavru çekirdeklerden ayrılarak oluştuklarını belirlemişlerdir (Evans ve ark., 1959; Timoroğlu, 2009) ve ilk defa sitogenetik hasarın belirlenmesindeki kullanışlılığını keşfetmişlerdir (Kirsch-Volders ve ark., 2003). Boller ve Schmid 1970'de, Heddle 1973'te kimyasalların genotoksik etkilerini belirlemede kemik iliği eritrositlerinde MN oluşumlarını değerlendirmişlerdir (Kirsch-Volders ve ark., 2003). Daha sonraki yıllarda Countryman ve Heddle (1976) bu yöntemi ışınlanmış insan lenfosit kültürlerinde belirlemeye çalışmışlardır (Kirsch-Volders ve ark., 2003). Yöntemin kabul görmesi yavaş olmuştur, çünkü değerlendirmeye alınan hücrelerin bölünme geçirip geçirmediğini saptamak güçtür (Yılmaz, 2008).

Bölünebilme yeteneği olan her hücrede mikronükleus meydana gelebilmektedir. Bu olay herhangi bir kimyasala maruz kalmadan da oluşabilmektedir. Yani *in vitro*daki bölünme safhasında olmayan bir nükleuslu bir hücreye bakıldığında var olan bir mikronükleusun kendiliğinden mi oluştuğunu yoksa uygulanan bir kimyasalın mı sonucu olduğu anlaşılabilir. Fakat bölünme esnasında karyokinezden sonra sitokinezden önce; kendiliğinden oluşan mikronükleuslar kaybolur, kimyasalın etkisi ile oluşanlar kalır. (Tomanin ve ark., 1991; Eke, 2007)

1985 tarihinde, Fenech ve Morley, kültür ortamındaki hücrelere sitokalasin B ekleyerek bölünen hücreleri tanımlamak üzere bir yöntem geliştirmişlerdir. Sitokalasin B *Helminthosporium dematioideum* türüne ait bir metabolittir; sitokinezi engeller, fakat çekirdek bölünür ve çekirdek bölünmesi geçiren hücrelerden iki çekirdekli hücreler oluşur. Sitokalasin B, bölünen hücrenin ikiye ayrılmasını uyaran mikrofilamentleri oluşturacak aktin polimerizasyonuna neden olan plazma membranındaki molekül ağırlığı büyük yapılara bağlanarak sitokinezi inhibe eder (Fenech ve Morley 1985). Bu özelliği nedeni ile nükleer bölünmeyi durdurup binükleer hücreler oluşmasını sağlar (Fenech ve Morley,

1985; Fenech, 1993; Parry ve ark., 1997; Bonassi ve ark., 2001; Güven ve ark., 2006). Bu sayede binükleat hücreler kolaylıkla tespit edilerek kültürdeki tek mitoz geçiren hücrelerdeki mikronükleuslar değerlendirilir (Şekil 2) (Fenech ve Morley, 1985; Peace ve Succop, 1999; Güven ve ark., 2006). Kimyasalın etkisi ile oluşan MN'ler kaldığı için, iki nükleuslu bir hücreye bakıldığında mikronükleus gözlenmişse bu verilen kimyasalın genotoksitesinin bir göstergesidir (Tomanin ve ark., 1991; Eke, 2007).



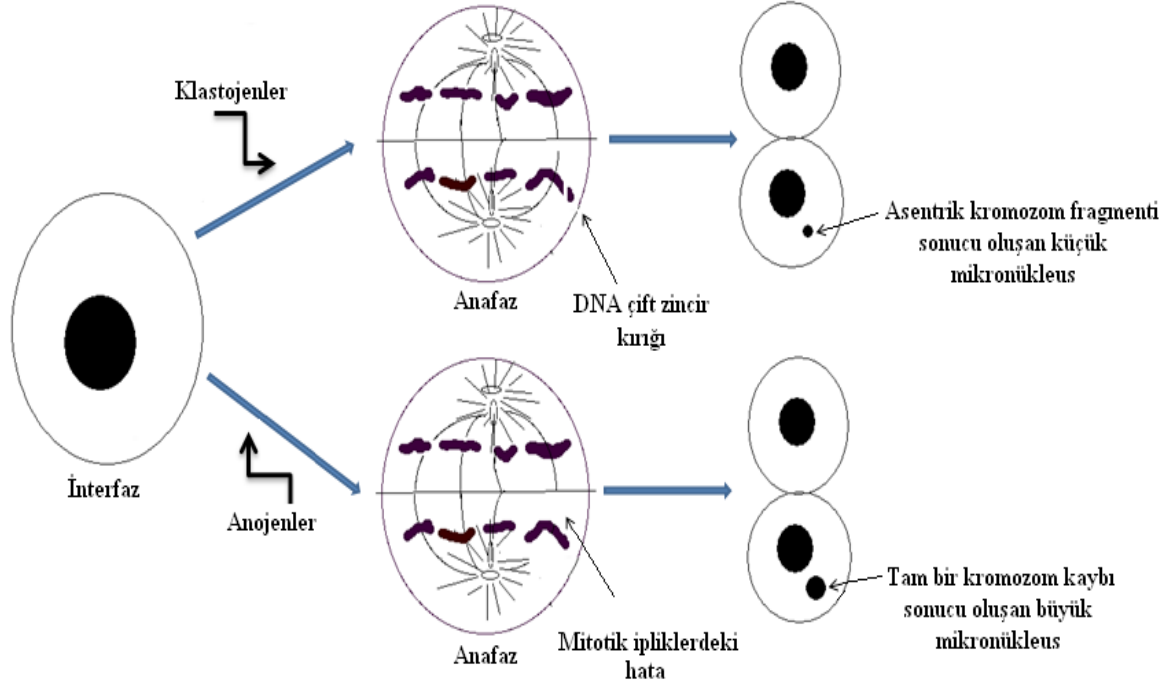
**Şekil 2: Sitokinezin bloklanması yöntemiyle MN içeren binükleat hücrenin oluşumu (Şekeroğlu ve Atlı-Şekeroğlu, 2011).**

MN testi için sadece lenfosit hücreleri aynı zamanda; üriner sistem epitel hücreleri, eritrositler, kemik iliği, damak, dil, dudakların iç kısmı, ve fibroblastlar da kullanılmıştır (Fenech ve ark., 1999; Kirsch-Volders ve Fenech, 2001). Ancak insanlarda periferik lenfositlerde mikronükleus uygulaması ile hedef doku toksisitesi yerine total vücut maruziyeti değerlendirilmektedir (Fenech, 1993). Bu yüzden genotoksite çalışmalarında genellikle periferik kan lenfositleri kullanılmaktadır.

*In vitro* çalışmalarda izole lenfositler yerine, tam kanın kültüre alınmasının, mikronükleus yönteminde daha iyi deneysel koşullar ve sonuçlar sağladığı önerilmiştir (Migliore ve ark., 1989).

Bazı araştırmacılar klastojeniteye sahip olan kimyasallar ile anöploidiyi sebep olan kimyasalların ayırt edilmesi için MN yönteminde bazı modifiye işlemlerden geçirmişlerdir. Oluşan MN büyüklüğüne bakılarak klastojenler ve anojenler tespit edilmiştir. Küçük MN'lerin asentrik kromozom fragmenti içerdikleri ve klastojenlerce uyarıldıkları; büyük MN'lerin ise tam kromozom içerdikleri ve anojenlerce uyarıldıklarını belirtmişlerdir (Şekil 3) (Countryman ve Heddle, 1976; Sato ve Tomita, 2001; Demirel ve Zamani, 2002).





**Şekil 3: Klastojen ve anojenler tarafından uyarılan hücrelerdeki mikronükleuslar (Şekeroğlu ve Atlı-Şekeroğlu, 2011).**

Mikronükleus değerlendirmesinde kullanılan ölçütler;

- Esas çekirdek ile aynı yapıya sahip olmalıdırlar.
- Çapları esas çekirdeğin 1/3'ü ile 1/16'sı arasında bir büyüklükte olmalıdır.
- Binükleat hücre içinde yer almalıdır.
- Hücrenin sitoplazma sınırları belirgin olmalıdır.
- Ana çekirdeğe nükleoplazmik köprü ile bağlı olmamalıdır.
- Esas çekirdekten ayrı oval veya yuvarlak olmalıdır.
- Nükleer olmayan partiküllerden farklı olarak ışığı yansıtmemelidir. Asıl çekirdekle aynı renkte gözlenmelidir (Fenech ve ark, 2003).

Aynı zamanda MN'ler ana çekirdeğe temas edebilir; ancak üst üste çakışmamalı ve mikronükleer sınır çekirdek sınırından ayırt edilebilir olmalıdır. MN'ler genellikle çekirdek ile aynı yoğunlukta boyanmalıdır; ana çekirdek bazen daha yoğun boyanabilir (Fenech, 2000; Fenech ve ark., 2003).

Mikronükleuslar sayılırken dikkat edilmesi gereken bazı hususlar bulunmaktadır:

- Ana nükleuslar ayrı olabilirler ancak boya yoğunlukları, desenleri ve boyutları eşit olmalıdır,

- Ana nükleuslar birbirlerine değebilir ya da kısmen üst üste binmiş olabilirler, ancak nükleer sınırları ayırt edilir olmalıdır.
- Ana nükleuslar komşu hücrelerden sitoplazmik izlerle açıkça ayrı olmalıdır (Fenech, 2000).

Bu hücreler sayılırken aşağıdaki hücreler sayılmazlar;

- Üç, dört ya da daha fazla nükleusa sahip olanlar
- Ana nükleusları eşit boyda olmayanlar,
- Apoptoz durumundaki hücreler (Fenech ve ark., 2003)

Sitokalsin kullanılarak yapılan MN yönteminin aşağıda sıralanan avantajları bulunmaktadır.

- Bölünmeye uğramış hücreler ile bölünmeye uğramamış hücrelerin birbirinden ayrılmasını kolaylaştırır.
- Disentrik kromozomların, nükleoplazmik köprüler şeklinde tayinine olanak verir.
- Hücre proliferasyonu değerlendirilebilir.
- Oluşan mikroçekirdekler hücre içinde kalacağından mikroskop altında tayin edip saymak daha kolaydır.
- Doz-cevap ilişkisinin belirgin bir şekilde gözlenmesine imkan sağlar (Fenech, 2000; Kirsch-Volders ve ark., 2003).

MN oranını etkileyen faktörler

- Yaş
- Cinsiyet
- Sigara kullanımı
- Alkol tüketimi
- Viral enfeksiyonlar
- X ışını
- Gamma ışını (Eroğlu ve ark., 2010)
- Diyetle alınan folat miktarının düşük olması
- Vitamin B<sub>12</sub> ve homosisteinin plazma düzeyleri (Fenech ve ark., 1998, 1999; Bonassi ve ark., 2001).

Lenfositlerdeki MN frekansının kanser riski ile korele olduğu bilinmektedir (Bonassi ve ark., 2007; Wultsch ve ark., 2011). Ayrıca *in vivo* insan periferal lenfositlerindeki MN frekansının artışı kanser riskini işaret etmektedir (Bonassi ve ark., 2007; Yavuz-Kocaman ve Topaktaş, 2007).

Dokulardaki MN frekansı ile kanser gelişimi arasında doğrudan bir ilişkinin olduğunu gösteren çok sayıda bulgular bulunmaktadır. Bu bulgular;

- Kanserli hastaların periferal kan lenfositleri ile hedef dokularındaki MN frekansının belirgin artışı.
- Bloom sendromu ve ataksi telenjektazi gibi konjenital hastalıkların hem MN frekansını anormal derecede yükseltmesi hem de kanser olma riskini arttırması.
- İyonizasyon radyasyonu, etilen oksit, benzen, sigara içimi gibi insan ve hayvanlarda MN frekansını yükseltebilen bazı ajanların genotoksisite ve kanserojenite arasında anlamlı bir korelasyon olması.

Tüm bu bulgular MN ile kanser arasında nedensel bir ilişkinin olabileceğini göstermektedir (Fenech ve ark., 1999).

**Mitotik İndeks (Mİ) testi**, kimyasal bir mutajenin sitotoksitesini çeşitli testler kullanılarak tahmin edilebilir. Bu testlerden en çok kullanılan ise Mİ'tir. Lenfosit kültürü kullanıldığında, toksisite ölçüsü olarak Mİ'in kullanımı kabul edilebilir (Çelikler ve ark., 2010). Mİ analizi metodların *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların her ikisinde de kullanılan sitogenetik testtir. Mİ testi hücrelerin çoğalmasını karakterize etmek ve mitotik ilerlemeyi indükleyen veya inhibe eden kimyasalları tanımlamak için kullanılır. Mİ bölünmeden önceki interfazdan bütün döngüye katılan hücre popülasyonunun oranı ve interfazın bağlı uzunluğu ile fark edilebilir mitotik aşamaları olmak üzere iki faktöre bağlıdır (Eroğlu ve ark., 2010).

## **2.2. Çeşitli Pestisitlerin Genotoksiteleri ile İlgili Yapılmış Bazı Çalışmalar**

Genotoksik potansiyelin belirlenmesi konusunda gerçekleştirilen bilimsel araştırmalarda kullanılan organizmaların tipi elde edilecek olan sonuçların hızlı ve güvenilir olması açısından önemlidir. Bu nedenle genotoksik potansiyel belirleme araştırmalarında sıçan, fare veya daha kolay elde edilebilir olma özelliğinden dolayı araştırmamızda kullandığımız insan periferal lenfositleri güvenilir olarak kullanılmaktadır.

**2.2.1. Pestisitlerin İnsan Periferal Lenfosit Kültürleri Üzerinde Yapılan Genotoksisite Çalışmaları**

Ribas ve ark. (1996), alachlor ve maleik hidrazid herbisitlerinin genotoksik etkilerini insan periferal lenfositlerinde KKD, KA ve MN testleri ile iki donörde incelemişlerdir. Alachlor herbisitinin 1, 5, 10 ve 20 µg/mL'lik dozlarını, maleik hidrazidin 100, 250, 500 ve 1000 µg/mL'lik dozlarını kullanmışlardır. Aynı zamanda her iki pestisit genotoksisitesindeki metabolik modifikasyonları belirlemek için, KKD ve MN kültürlerine S9 fraksiyonu da eklemişlerdir. Ribas ve ark. (1996), alachlor ve maleik hidrazidin kültüre edilmiş insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik olduğunu belirtmişlerdir.

Guadaño ve ark. (1998) rotenone isimli bir insektisit insan periferal lenfositlerinde *in vitro* MN, KKD ve KA testleriyle S9 varlığında ve yokluğunda genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Rotenone insektisitinin 0,1; 0,25; 0,5 ve 1 µg/mL'lik dozları kullanılmıştır. Rotenone, her iki koşul altında da, kromozomal anormallik frekansını, kardeş kromatid değişimi frekansını ve mitotik indeksi etkilemezken mikronükleus frekansını doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırmıştır. S9 varlığında rotenone insektisitinin genotoksik etkisinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Gökalp ve Kaymak (2002), insan periferal lenfositlerini bir herbisit olan maleik hidrazidin 75, 300, 500 ve 1000 µg/mL'lik dozlarıyla 24 ve 48 saat boyunca muamele etmişlerdir. Gaps bir anormallik olarak kabul edildiğinde maleik hidrazidin kontrole göre anlamlı KA'ya neden olduğunu, gaps anormallik olarak kabul edilmediğinde ise insan lenfositlerinde etkili olmadığını bulmuşlardır. Aynı zamanda maleik hidrazidin tüm uygulama sürelerinde ve dozlarında doza bağlı olarak mitotik indeksi düşürdüğünü bulmuşlardır. Gökalp ve Kaymak (2002) bu kimyasal tarımsal alanlarda dikkatli kullanılmasını önermişlerdir.

Rencüzoğulları ve ark. (2004), etoxazole adlı akarisit genotoksik etkilerini insan periferal lenfositlerinde KA, MN ve KKD testleri ile araştırmışlardır. Etoxazole akarisitinin 5, 10 ve 20 µg/mL'lik dozları kullanılmış ve periferal lenfositler 24 ile 48 saat boyunca bu dozlar ile muamele edilmişlerdir. Rencüzoğulları ve ark. insan periferal kültür lenfositlerinde etoxazole akarisitinin potansiyel genotoksik etkileri olduğunu belirtmişlerdir.

2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) etken maddesinden 500 mg/mL içeren Deherban A® herbisitinin insan lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkisi KA ve nükleusa

ait tomurcuklar da sayılarak MN testleri ile değerlendirilmiştir. 2,4-D'nin konsantrasyonları 0.4 ve 4 µg/mL olacak şekilde S9 karaciğer enzimi içeren ve içermeyen iki deney düzeneği kurulmuştur. Deherban'ın insan periferal lenfositlerinde genotoksik olabileceğini belirtmişlerdir (Zeljezic ve Garaj-Vrhovac, 2004).

Sistemik olmayan bir akarisit ve kontak bir fungusit olan Karathane LC (dinocap etken maddeli)'nin etkileri insan periferal lenfositlerinde KA, KKD, Mİ ve Rİ testleri ile değerlendirilmiştir. Karathane LC'nin 5; 10; 15 ve 20 µg/mL'lik konsantrasyonlarını kullanmışlar ve insan periferal lenfosit kültürüne 24 ve 48 saat boyunca uygulamışlardır. Karathane LC'nin insanlar için genotoksik, sitotoksik, klastojenik ve mutajenik olabileceği anlaşılmıştır (Çelik ve ark., 2005).

Feng ve ark. (2005), imidacloprid ve RH-5849 pestisitlerinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* MN ve KKD testleri ile genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Imidaclopridin 0,05; 0,1; 0,5 µg/mL'lik dozları, RH-5849'in 5, 25, 100 µg/mL'lik dozları kullanılmıştır. Feng ve ark., imidacloprid ve RH-5849'un insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik olduğunu belirtmişlerdir.

González ve ark. (2006), dicamba isimli fenoksi herbisitinin ve onun ticari formu olan Banvel®'in (57.71%) insan lenfosit kültüründe sitogenetik etkilerini ve KKD testi ile genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Dicamba ve Banvel®'in 10, 50, 100, 200 ve 500 µg/mL'lik dozları kullanılmıştır. González ve ark., dicamba herbisitinin insanlar için potansiyel tehlikeli madde olarak göz önüne alınması gerektiğini belirtmişlerdir.

Yüzbaşıoğlu ve ark. (2006), afugan isimli sistemik fungusitin genotoksik etkilerini insan periferal lenfositlerinde *in vitro* KA, KKD ve MN testleri ile araştırmışlardır. Lenfositler afugan fungusitinin 2,5; 5; 10 ve 20 µg/mL'lik dozları ile 24 ve 48 saat boyunca muamele edilmişlerdir. Yüzbaşıoğlu ve ark., afuganın insan lenfosit kültüründe klastojenik ve sitotoksik olduğunu belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada deltamethrin (Decis 2.8% EC) ve isoproturon (Arelon 5% WP)'un sitogenetik etkileri insan periferal lenfositlerinde araştırılmıştır. İnsan periferal lenfosit kültürü için deltamethrinin 2,5; 5; 10 ve 20 µM, isoproturonun 25, 50, 100 ve 200 µM ile deltamethrin ve isoproturonun 2,5+25; 5+50; 10+100 ve 20+200 µM lık dozları kullanılmış ve KA ve MN testi ile değerlendirme yapılmıştır. Araştırmacılar sadece deltamethrinin ticari formülasyonunun insan periferal lenfositlerinde genotoksik olabileceğini belirtmişlerdir (Chauhan ve ark., 2007).

Demsia ve ark. (2007), bir sistemik kloro-nikotinil insektisit olan imidacloprid ile bir sistemik benzenoid fungusit olan metalaxyl'in yalnız başlarına ve beraber kullanıldıklarında oluşturabilecekleri genotoksik etkileri, insan periferik lenfositlerinde *in vitro* MN ve KKD testi ile araştırmışlardır. İmidaclopridin insan periferik lenfositlerinde 0,1; 1; 5; 10; 50 ve 100 µg/mL'lik dozları, metalaxyl'in 0,1; 1; 5; 10; 50 ve 100 µg/mL'lik dozları ile imidacloprid+metalaxyl karışımının 5+5; 12,5+12,5; 25+25; 50+50; 100+100 µg/mL'lik dozları kullanılmıştır. Demsia ve ark., imidacloprid+metalaxyl karışımının insan periferik lenfositlerinde anlamlı derecede MN ve KKD frekansını artırması sonucu bu iki pestisit muhtemel sinerjistik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2007), %20 acetamiprid içeren Mosectam 20 SP insektisitinin potansiyel genotoksitesini araştırmak için insan periferik lenfositlerinde KA, KKD ve MN testleri yapmışlardır. Lenfositleri acetamipridin 25, 30, 35 ve 40 µg/mL'lik dozları ile 24 ve 48 saat boyunca muamele etmişlerdir. Sonuç olarak, acetamipridin ticari formunun *in vitro* insan periferik lenfositlerinde sitotoksik ve genotoksik olduğunu göstermişlerdir.

Yılmaz ve ark. (2008), triazol sınıfından bir fungusit olan hexaconazole'den 50 g/L içeren Conan 5FL fungusitinin genotoksik etkilerini insan periferik lenfositlerinde incelemişlerdir. Bu çalışmada Conan 5FL'nin 17,50; 35,0 ve 70,0 µg/mL dozları kullanılmıştır. Yılmaz ve ark., Conan 5FL'nin *in vitro* koşullarda insan periferik lenfositlerinde sitotoksik, klastojenik ve mutajenik olduğunu belirtmişlerdir.

Ennaceur ve ark. (2008), hexachlorobenzene (HCB) isimli bir organoklorlu insektisit ile dichlorobiphenyltrichloroetane (DDT) isimli organoklorlu insektisitinin bir metaboliti olan 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (DDE)'nin insan lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkilerini MN testi ile değerlendirmişlerdir. DDE insektisitinin 10, 20, 40 ve 80 mM'lık dozları, HCB insektisitinin 0,005; 0,01; 0,05 ve 0,1 mM'lık dozları kullanılmıştır. Ennaceur ve ark., DDE insektisitinin zayıf genotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Cyfluthrin insektisitinin genotoksik etkisi *in vitro* kültüre alınmış insan lenfositlerinde KA, KKD ve MN testleri ve Ames/mikrozom testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Buna göre cyfluthrinin S9 varlığında ve yokluğunda *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 mutant suşlarında mutajenik etkisinin olmadığı, insan lenfosit kültüründe de KKD'ye neden olmadığı ancak muhtemel klastojenik etkisinden KA ve MN'a neden olduğu ve sitotoksik etkisinden MI, PI ve NBI'yi düşürdüğü bulunmuştur (İla ve ark., 2008).

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2009), %10  $\alpha$ -cypermethrin içeren Fastac 100 EC insektisitinin potansiyel genotoksitesini araştırmak için insan periferal lenfositlerinde KA, KKD ve MN testleri yapmışlardır. Bunun için hücreleri  $\alpha$ -cypermethrinin 5, 10, 15 ve 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozlarıyla 24 ve 48 saat boyunca muamele etmişler ve  $\alpha$ -cypermethrinin ticari formunun *in vitro* insan periferal lenfositlerinde KKD, KA ve MN'a neden olduğu için yüksek ihtimal genotoksik riski olduğunu ve Pİ, Mİ ve NBI'ni düşürdüğu için sitotoksik/sitostatik etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Chakravarthi ve ark. (2009), organofosfat sınıfından monocrotophos isimli insektisitinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında monocrotophos uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı derecede ( $p < 0.05$ ) satellitleri bir araya getirdiği, kromozomlarda kırık ve gap oluşturduğu bulunmuştur.

Eroğlu (2009), dichlorvos isimli bir organofosfat insektisitinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkilerini incelemiştir. Dichlorvos insektisitinin 5, 10, 20, 40, 80 ve 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozları kullanılmıştır. Eroğlu, kromozom hasarı oluşturduğu ve hücre ölümüne neden olduğu için dichlorvos insektisitinin genotoksik olduğunu belirtmiştir.

Özkan ve ark. (2009), acephate isimli organofosforlu insektisitinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* KA, KKD, MN testi ve komet testi ile genotoksik etkisini araştırmışlardır. Acephate insektisitinin 12,5; 25; 50; 100 ve 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozları kullanılmıştır. Özkan ve ark., acephate insektisitinin klastojenik ve sitotoksik ajan olduğunu ve insan lenfosit kültüründe yüksek dozlarda DNA hasarına yol açtığını belirtmişlerdir.

Çelikler ve ark. (2010), thiocyclam (Evisect) insektisitinin genotoksik etkisini belirlemek için insan periferal lenfositlerinde KA testi yapmışlar aynı zamanda Mİ belirlemişlerdir. Bunun için thiocyclamın 0,1- 120,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik 14 farklı dozu kullanılmış ve hücreler 24 saat boyunca muamele edilmiştir. Thiocyclamın bu dozlarda insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik olmadığını ancak Mİ'i düşürdüğu için hücre proliferasyonuna toksik etkisi olduğunu saptamışlardır.

Jovtchev ve ark. (2010), paraquat isimli herbisitinin insan lenfositlerinde *in vitro* KA ve MN testleri ile genotoksitesini incelemişlerdir. Paraquatın  $10^{-6}$  mol/l'den  $10^{-4}$  mol/l'ye kadar olan beş dozu kullanılmıştır. Jovtchev ve ark., paraquatın insan lenfositlerinde sitotoksik ve klastojenik olduğunu belirtmişler ve insan lenfositleri test sisteminin bitki test

sistemine göre daha hassas olduğunu belirtmişlerdir.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2010), acetamiprid ve  $\alpha$ -cypermethrin karışımının genotoksik etkilerini, insan periferik lenfositlerinde acetamiprid+ $\alpha$ -cypermethrinin 12,5+2,5; 15+5; 17,5+7,5; 20+10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozlarında 24-48 saat muamele ederek KA, KKD ve MN testleri ile incelemişlerdir. Bu araştırmacılar acetamiprid+ $\alpha$ -cypermethrin karışımının insan periferik lenfositlerinde sinerjistik etki göstererek genotoksik ve sitotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Ünal ve ark. (2011), diclofop-metil isimli klorofenoksi herbisitinin insan periferik lenfositlerinde *in vitro* KA ve komet testi ile genotoksik etkilerini araştırmışlardır. İnsan periferik lenfositleri 24 ve 48 saat boyunca diclofop-metilin 15,63; 31,25; 62,5; 125 ve 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozları ile muamele edilmişlerdir. Ünal ve ark., diclofop-metilin memeli hücrelerinde *in vitro* genotoksik olduğunu belirtmişlerdir.

Yapılan başka bir araştırmada insan periferik lenfositlerinde thiabendazole fungusinin genotoksik etkisi, mikronükleus testi ile araştırılmıştır. Lenfositler 48 saat boyunca thiabendazole'un 0,5; 5 ve 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 'lik dozları ile 37°C'de inkübe edilmiştir. Thiabendazole fungusinin tüm dozlarda mikronükleus düzeyini arttırdığı ve potansiyel anojenik olabileceği belirtilmiştir (Santovito ve ark., 2011).

### **2.2.2. Pestisitlerin Hayvan Kemik İliği Etkileri Üzerine Yapılan Genotoksisite Çalışmaları**

Gebel ve ark. (1997), alachlor, atrazine, terbuthylazine, gluphosinate-ammonium, isoproturon, pendimethaline ve trifluraline herbisitlerinin genotoksisitesini test etmek için fare kemik iliğinde mikronükleus testini kullanmışlardır. Alachlor, terbuthylazine, gluphosinate-ammonium, isoproturon ve pendimethaline herbisitlerinin hem dişi hem de erkek farelerde genotoksik etkisi olmadığını bulmuşlardır.

Organofosfor sınıfından bir insektisit olan malathionun *in vivo* genotoksik etkisi KA ve KKD testi ile değerlendirilmiş ve malathionun 2,5; 5; 10 mg/kg akut dozları kullanılmıştır ve malathionun güçlü bir genotoksik ajan olarak değerlendirmişlerdir (Giri ve ark., 2002).

Karabay ve Oğuz (2005), neonikotinoid insektisit olan imidacloprid ile organofosfat insektisit olan methamidophosun tek başına ve karışım olarak kullanıldığında oluşturabilecekleri sitotoksik ve genotoksik etkileri araştırmışlardır. İmidaclopridin 50 ve 100 mg/kg'lık, methamidophosun ve methamidophos+imidacloprid karışımının 2,5 ve 5



mg/kg'lık dozları ile muamele edilmiş laboratuvar yemleri ile hergün beslenen Wistar albino sıçanların kemik iliklerinde meydana gelen KA ve MN frekansına bakılmıştır. Karabay ve Oğuz methamidophos ve imidaclopridin mutajenik ve genotoksik olduğunu ve ikisinin sinerjistik etkisinin hedef olmayan canlılar üzerinde meydana gelebilecek potansiyel hasarda artış meydana getirebileceğini vurgulamışlardır.

Dimitrov ve ark. (2006), Roundup (glyphosate), Stomp (pendimethaline) ve Reglone (diquat) adlı herbisitlerinin genotoksik etkilerini fare kemik iliği hücrelerinde KA ve MN testleri ile incelemişlerdir. Roundup herbisitinin fare kemik iliği hücrelerinde kromozom anormalliği veya mikronükleus meydana getirmediği saptanmıştır. Reglone herbisitinin ise fare kemik iliği hücrelerinde kromozom anormalliği meydana getirmediği ancak fare kemik iliği polikromatik eritrositlerinde, mikronükleus frekansında artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Stomp ise hem kromozom anormallikleri meydana getirmiş hem de mikronükleus frekansını arttırmıştır. Bu araştırmacılar, farelere Stomp uygulamasından sonra gözlemlenen kromozom anormalliklerindeki artışın nedeninin genotoksik metabolitlerin biyosentezinden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir. Farklı pestisitlerin sonuçlarının farklı çıkmasının nedeninin onların metabolizması ve mitotik iğ iğliklerine verdikleri zararlardan olabileceğini belirtmişlerdir.

Başka bir çalışmada deltamethrin (Decis 2,8% EC) ve isoproturon (Arelon 5% WP)'un sitogenetik etkileri fare kemik iliği hücrelerinde araştırılmıştır. Farelere 24 saat için oral gavaj yolu ile deltamethrinin 6,6 mg/kg, isoproturonun 670 mg/kg ile deltamethrin ve isoproturonun 6,6+670 mg/kg'lık dozları ve 30 gün için deltamethrinin 3,3 mg/kg/gün , isoproturonun 330 mg/kg/gün ile deltamethrin ve isoproturonun 3,3+330 mg/kg/gün'lük dozları verilmiş ve KA testi ile değerlendirme yapılmıştır. Araştırmacılar deltamethrinin ticari formülasyonunun memelilerde genotoksik olabileceğini belirtmişlerdir (Chauhan ve ark., 2007).

Demia ve ark. (2007), bir sistemik kloro-nikotinil insektisit olan imidacloprid ile bir sistemik benzenoid fungusit olan metalaxylin tek başlarına ve beraber kullandıklarında oluşturabilecekleri genotoksik etkileri sıçan kemik iliğinde *in vivo* MN testi ile araştırmışlardır. İmidaclopridin 100, 200 ve 300 mg/kg'lık, metalaxylin 75, 150 ve 300 mg/kg'lık, imidacloprid+metalaxyl karışımının ise 75+75, 100+100, 200+200 mg/kg'lık dozları kullanılmıştır. Demia ve ark., imidacloprid+metalaxyl karışımının MN frekansını arttırdığını ve bu iki pestisit muhtemel sinerjistik etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Cyfluthrin insektisitinin genotoksik etkisi ve sitotoksitesi *in vivo* sıçan (*Rattus*

*norvegicus* var. *Albinos*) kemik iliği hücrelerinde KA testi ile incelenmiştir. Cyfluthrinin akut uygulamalarda memeli test sistemlerinde sitotoksik ve genotoksik bulduklarını belirtmişlerdir (İla ve ark., 2008).

Yılmaz ve ark. (2008), fungusitlerin triazol sınıfından hexaconazole içeren (50 g/) Conan 5FL fungusitinin genotoksik etkilerini fare kemik iliği hücrelerinde incelemişlerdir. Bu çalışmada Conan 5FL'nin 17,50; 35,0 ve 70 mg/kg dozları kullanılmıştır. Yılmaz ve ark., Conan 5FL'nin *in vivo* fare kemik iliği hücrelerinde sitotoksik, klastojenik ve mutajenik olduğunu belirtmişlerdir.

Ünal ve ark. (2011), diclofop-metil isimli klorofenoksi herbisitinin fare kemik iliğinde *in vivo* KA testi ile genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Diclofop-metil pestisitinin 15,63; 31,25; 62,5 ve 125 mg/kg'lık dozları farelere intraperitoneal olarak verilmiş ve fareler 24 saat boyunca diclofop-metil ile muamele edilmişlerdir. Ünal ve ark., diclofop-metilin memeli hücrelerinde *in vivo* genotoksik olduğunu belirtmişlerdir.

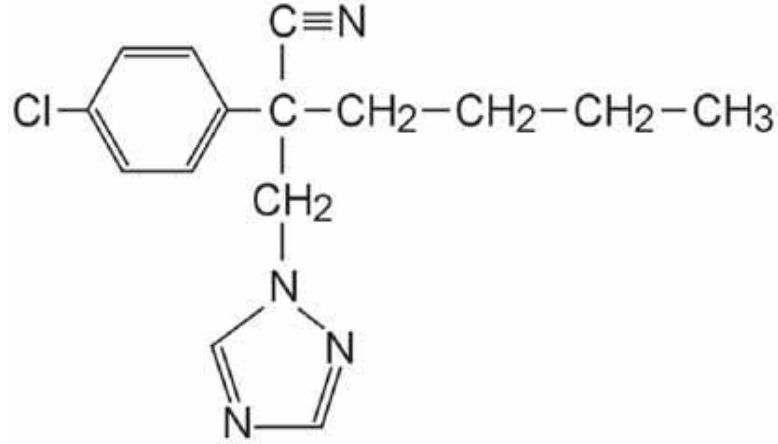
Şekeroğlu ve ark. (2011), bir  $\alpha$ -siyano piretroid insektisit olan deltamethrin (Decis 2,5 E.C., deltamethrin 25 g/L) ile bir kloropiridimetil neonikotinoid insektisit olan thiacloprid (Clyпсо OD 240, thiacloprid 240 g/L)'in tek başına ve karışım halinde kullanıldıklarında, Wistar sıçan kemik iliği hücrelerinde meydana getirdikleri genotoksik etkileri KA, MN ve Mİ testleri ile incelemişlerdir. Bunun için Wistar sıçanlarına 24 saatlik akut uygulama için deltamethrinin 15 mg/kg'lık dozu, thiaclopridin 112,5 mg/kg'lık dozu ile deltamethrin+thiacloprid 15+112,5 mg/kg'lık dozu ve 30 günlük subakut uygulama için günlük, deltamethrinin 3 mg/kg'lık dozu, thiaclopridin 22,5mg/kg'lık dozu ile deltamethrin+thiaclopridin 3+22,5 mg/kg'lık dozu kullanılmıştır. Şekeroğlu ve ark., deltamethrin ve thiaclopridin kromozomal anormallik frekansını arttırdığı için genotoksik ve mitotik indeksi düşürdüğü için sitotoksik olduğunu belirtmişlerdir.

### BÖLÜM 3

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Araştırmamızda materyal olarak, sigara, alkol ve ilaç kullanmayan, herhangi bir sağlık problemi ve genotoksik ajanlara maruz kalma öyküsü olmayan 24-25 yaşlarında bir bayan ve bir erkek donörden alınan periferik kan örnekleri kullanılmıştır. Genotoksik etkilerin incelenmesi amacı ile triazol sınıfından bir fungusit olan myclobutanil (Şekil 4) etken maddesini içeren ticari adı Külsil, moleküler formülü  $C_{15}H_{17}ClN_4$ , Kimyasal Adı (IUPAC): 2-p-chlorophenyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)hexanenitrile, 2-(4-chlorophenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) hexanenitrile, sıçanlarda akut oral  $LD_{50}$ :1600 mg/kg (EPA, 2009) olan pestisit kullanılmıştır. Külsil isimli 20.06.2006/5553 ruhsat tarihli ve numaralı pestisit Truva Tarım firmasından temin edilmiştir.



Şekil 4: Myclobutanil fungusitinin yapısal formülü.

#### *Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler;*

- Mitomisin-C (Sigma M0440),
- Kolşisin (Acros Organics 227125000),
- Sitokalsin-B (Sigma C 6762),
- Kromozom Medium B (Biochrom F 5023),
- $HNO_3$  (Merck 1.00450.1000),
- Methanol (Sigma 24229),

- Asetik asit (Glasiyel) (Sigma 27225),
- $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (Merck 1.04873.1000),
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (Merck 1.06580.1000),
- KCl (Sigma 12636) dir.

### **3.2. Yöntem**

#### **3.2.1. Kromozomal Anormallik Denemeleri**

Lenfosit kültürlerinin hazırlanması için sağlıklı, sigara içmeyen 24-25 yaşlarında bir bayan ve bir erkek bireyden alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş 0,2 mL periferik kan, steril şartlarda 2,5 mL'lik besi ortamına (Chromosome Medium B) ekilmiş ve kültür tüpleri, daha önceden 37°C'ye getirilmiş inkübatörde 72 saat boyunca inkübasyona alınmıştır. Kültür süresinin başlangıcından 24 ve 48 saat sonra Külsil'in 3,125; 6,25; 12,5; 25; 50 ppm'lik dozları ilave edilmiştir. Ayrıca bir negatif kontrol bir de pozitif kontrol (MMC, 0,20 µg/mL) kullanılmıştır. İnkübasyon süresinin bitiminden 2 saat önce yani kültürün 70. saatinde her tüpe, 0,06 µg/mL olacak şekilde kolşisin solüsyonu ilave edilmiştir.

İnkübasyon süresinin bitiminde tüpler 1200 rpm'de (dakikadaki devir sayısı) 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı (süpernatant) atılmıştır. Tüpün dibinde kalan ve hücreleri ihtiva eden 0,5-0,7 mL'lik kısmı vorteks yardımıyla iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Sonra bu tüplere, 37 °C'de bekletilen hipotonik solüsyondan (0,075 M KCl) 5'er mL vorteks üzerinde damla damla ilave edilmiştir. Tüpler 37 °C'deki etüvde 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra, tüplere önceden buzdolabında soğutulan 3:1 metanol:asetik asitten oluşan soğuk fiksatiften 5'er mL vorteks üzerinde damla damla ilave edilmiştir. Daha sonra tüpler buzdolabında 45 dakika bekletilmiştir. Bu tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant atılmıştır. Fiksatif ile yıkama işlemi üç kez tekrarlanmıştır.

Son fiksatif işleminden sonra tüpün dibinde kalan 0,5-0,7 mL'lik beyaz kan hücrelerini içeren çökelti pipetaj yapılarak homojen hale getirilmiştir. Pastör pipetine çekilen bu süspansiyon, önceden 1 N  $\text{HNO}_3$  (Nitrik asit)'te temizlenmiş ve % 70'lik etil alkolde -20 °C'de bekletilen nemli lamlar üzerine 40-50 cm yükseklikten farklı alanlara damlatılarak hücrelerin patlatılması ve kromozomların yayılmaları sağlanmıştır.

Hazırlanan bu preparatlar 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmışlardır.

### **3.2.2. Preparatların Boyanması**

Kuruyan preparatlar kurduktan sonra mitotik indeks, kromozomal anormallik tespiti için, Sorensen tamponu ile hazırlanmış %5'lik Giemsa ile (pH=6,8) 20-25 dakika boyanmıştır. Giemسادan çıkarılan preparatlar saf sudan geçirilerek, boyanın fazlasının akması sağlanmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan preparatlar DPX ile daimi hale getirilmiştir. Daimi hale gelen preparatlar Olympus BX51 markalı kameralı mikroskopta incelenmiştir.

### **3.2.3. Mitotik indeks ve kromozom anormalliklerinin saptanması**

Mitotik indeksin (Mİ) saptanmasında, bütün uygulamalar için kadın ve erkek bireye ait preparatların her birinden 1000'er hücre olmak üzere toplam 2000 hücre incelenmiştir. Bölünen hücre sayısının toplam hücreye oranı yüzde cinsinden hesaplanarak mitotik indeks belirlenmiştir (3.1). Kromozomal anormalliklerin saptanmasında, her bir uygulama için kadın ve erkek bireye ait preparatlarda  $46 \pm 1$  kromozomlu ve kromozomları iyi dağılmış olan 100'er hücre (toplam 200 hücre) değerlendirilerek kromozom anormallikleri tespit edilmiştir. İncelenen toplam hücre içindeki anormal hücrelerin yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormalliği (KA/Hücre) sayısı belirlenmiştir.

$$\text{Mitotik İndeks (\%)} = \frac{\text{Bölünen Hücre Sayısı} \times 100}{\text{Toplam Hücre Sayısı}}$$

**(3.1)**

### **3.2.4. Mikronükleus (MN) Denemeleri**

Mikronükleus çalışmasında, lenfosit kültürlerinin hazırlanmasında sağlıklı, sigara içmeyen 24-25 yaşlarında bir bayan ve bir erkek bireyden alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş 0,2 mL periferik kan, steril şartlarda 2,5 mL'lik besi ortamına (Chromosome Medium B) ekilmiştir. Daha sonra kültür tüpleri daha önceden 37°C'ye getirilmiş inkübatörde 72 saat boyunca inkübasyona alınmıştır. Kültür süresinin başlangıcından 24 saat sonra, Külsil'in 3,125; 6,25; 12,5; 25, 50 ppm'lik dozları ekilmiştir. Ayrıca bir negatif ve bir pozitif kontrol (MMC, 0,20 µg/mL) kullanılmıştır. İnkübasyonun

44. saatinde hücrelerin sitokinezini engellemek amacı ile ortama sitokalsin B (5,2 µg/mL) ilave edilmiştir. İnkübasyon süresinin bitiminde tüpler 1000 rpm'de (g değeri) 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Tüpün dibinde kalan ve hücreleri ihtiva eden 0,5-0,7 mL'lik kısmı vorteks yardımıyla iyice karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Sonra bu tüplere, 4°C'de bekletilen hipotonik solüsyondan (0,075 M KCl), vorteks üzerinde damla damla (5 mL) ilave edilmiş ve tüpler 4°C'de 5 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra, tüplere önceden buzdolabında soğutulan 3:1 metanol:asetik asitten oluşan soğuk fiksatif, vorteks üzerinde damla damla (5 mL) ilave edilmiş ve buzdolabında 10 dakika bekletilmiştir. Fiksatifle yıkama işlemi üç kez tekrarlanmıştır. Üçüncü fiksatife sitoplâzmalardan korunması amacı ile % 1'lik formaldehit ilave edilmiştir.

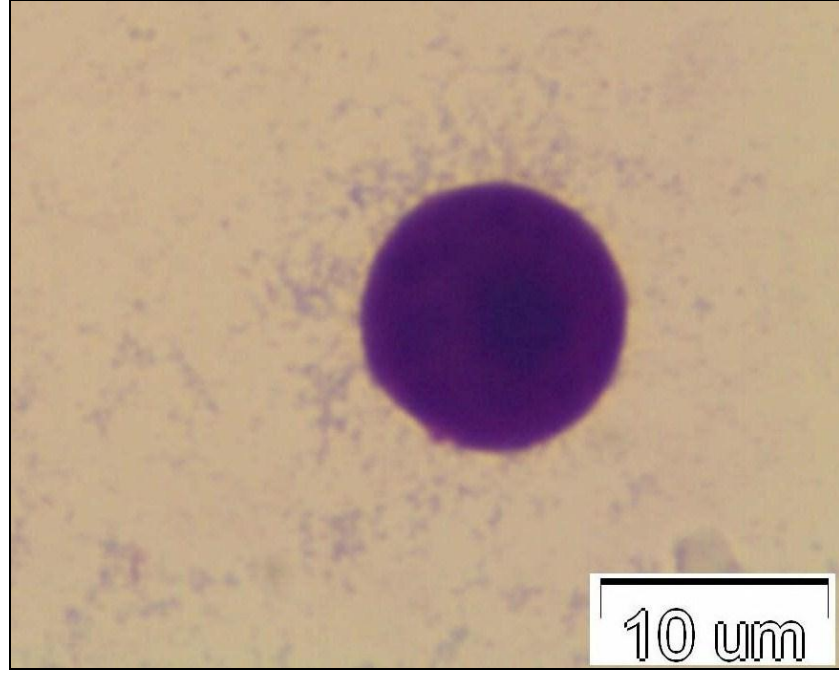
Son fiksatif işleminin sonunda tüpün dibinde kalan 0.5-0.7 mL'lik çökelti pipetleme yapılarak homojen hale getirilmiştir. Pastör pipetine çekilen bu süspansiyon, daha önceden 1 N HNO<sub>3</sub> (Nitrik asit)'te temizlenmiş ve % 70'lik etil alkolde -20 °C'de bekletilen nemli lamlar üzerine 10-15 cm yükseklikten farklı alanlara damlatılmıştır. Hazırlanan bu preparatlar 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmışlardır.

### **3.2.5. Preparatların Boyanması**

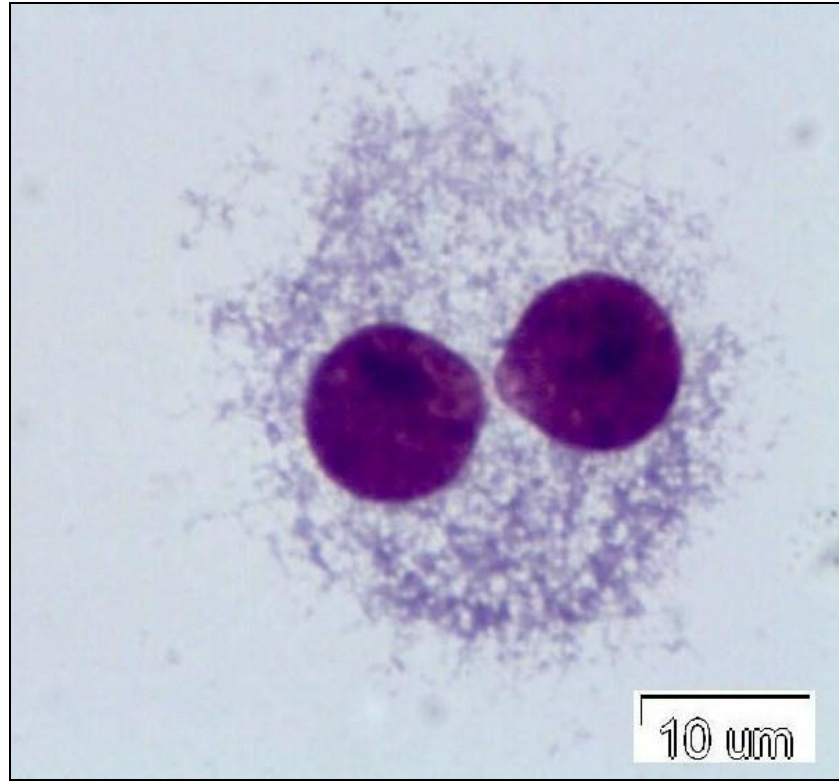
Mikronükleus oluşumlarının saptanması için, hazırlanan preparatlar Sorensen tamponu ile hazırlanmış % 5'lik Giemsa ile (pH=6,8) 10-15 dakika boyanmıştır. Giemسادan çıkarılan preparatlar saf sudan geçirilerek, boyanın fazlasının akması sağlanmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan preparatlar, DPX ile daimi hale getirilmiştir. Daimi hale gelen preparatlar Olympus BX51 markalı kameralı mikroskopta incelenmiştir.

### **3.2.6. Nükleer Bölünme İndeksi ve Mikronükleus Frekansının Saptanması**

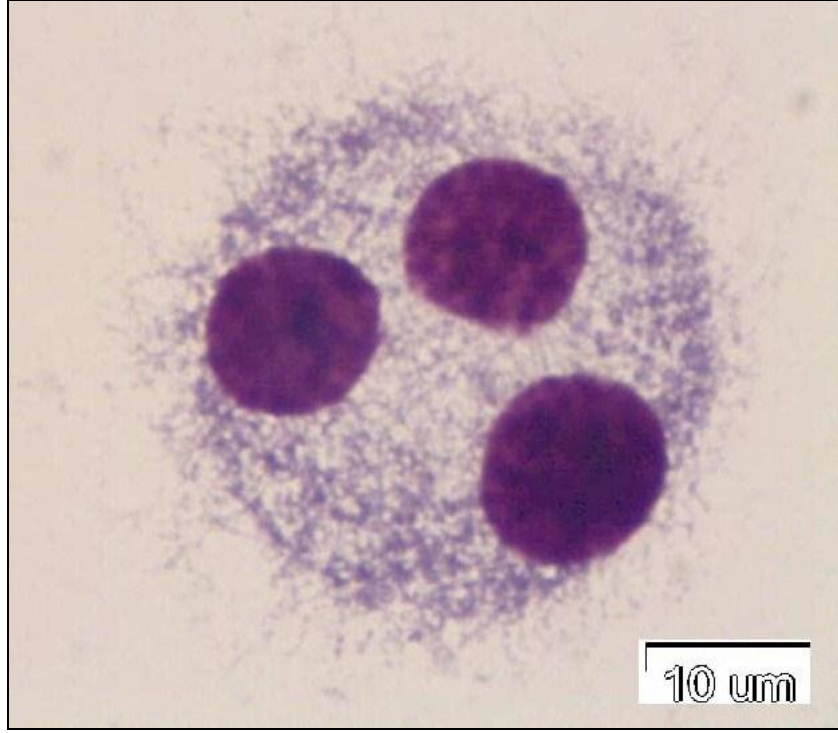
Daimi hale getirilmiş preparatlarda her bir doz ve süre için erkek ve dişi donörde toplam olarak 2000 binükleat hücrede mikronükleus frekansları belirlenmiştir. Nükleer bölünme indeksi belirlenirken, her bir donörden 500 hücre sayılmış ve  $1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times (N_3 + N_4) / N$  formülünden yararlanılarak 1, 2, 3, 4 çekirdekli hücrelerin sayısına göre nükleer bölünme indeksi tespit edilmiştir. Formüle göre N<sub>1</sub> bir nükleuslu (Şekil 5), N<sub>2</sub> iki nükleuslu (Şekil 6), N<sub>3</sub> üç nükleuslu (Şekil 7), N<sub>4</sub> ise dört nükleuslu (Şekil 8) hücrelerin sayısını göstermektedir. N ise toplam hücre sayısını göstermektedir.



**Şekil 5: Bir nükleuslu insan lenfosit (Özgün).**



**Şekil 6: İki nükleuslu insan lenfosit (Özgün).**



**Şekil 7: Üç nükleuslu insan lenfosit (Özgün).**



**Şekil 8: Dört nükleuslu insan lenfosit (Özgün).**



**3.2.7. İstatistiksel Analizler**

Yapılan araştırmada mitotik indeks, nükleer bölünme indeksi, kromozomal anormallik testi ve mikronükleus frekanslarının kontrole göre anlamlı olup olmadığının incelenmesi için z testi uygulanmıştır. Ayrıca doz-etki ilişkisine bakmak amacı ile 24 ve 48 saatlik her bir uygulamanın korelasyon katsayısına bakılmıştır.

## **BÖLÜM 4**

### **ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**

#### **4.1. Araştırma Bulguları**

Tamamlanan araştırma sonuçlarına göre, etken maddesi myclobutanil olan sistemik etkili Külsil fungusininin 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm olmak üzere 5 farklı dozu insan periferel lenfositlerine kültür ortamında uygulanmıştır. Uygulamalar neticesinde lenfosit kültürlerinde, kromozomal anormalliklerden altı yapısal, iki sayısal olmak üzere toplam sekiz farklı tipte anormalliğe rastlanmıştır. Bunlardan yapısal olanlar kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatid birleşmesi, disentrik ve kromatid değişimidir. Bu anormalliklerin rastlanma oranı sırası ile %43,6; % 24,2, % 17,4; %11,4; %0,4; %0,6'dır. Sayısal kromozom anormallikleri ise endoreduplikasyon ve poliploididir. Sayısal anormalliklerin rastlanma oranı ise sırası ile %0,6 ve %1,5'tir. Külsil'in uygulanan tüm dozlarında en sık rastlanan kromozom anormallik tipleri %43,6'lık rastlanma oranı ile kromatid kırığı ve %24,2'lik rastlanma oranı ile kromozom kırığıdır.

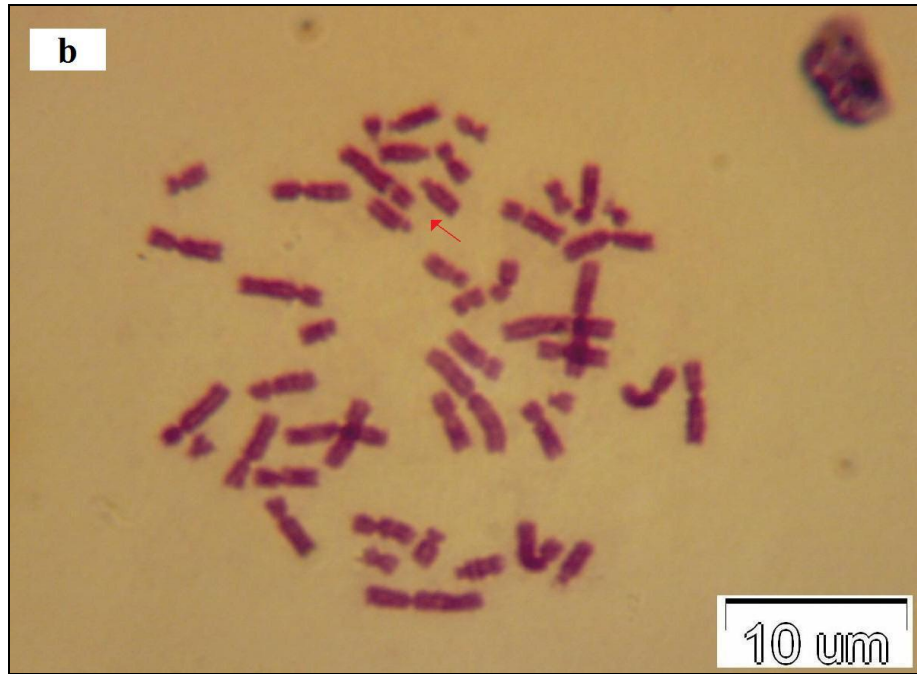
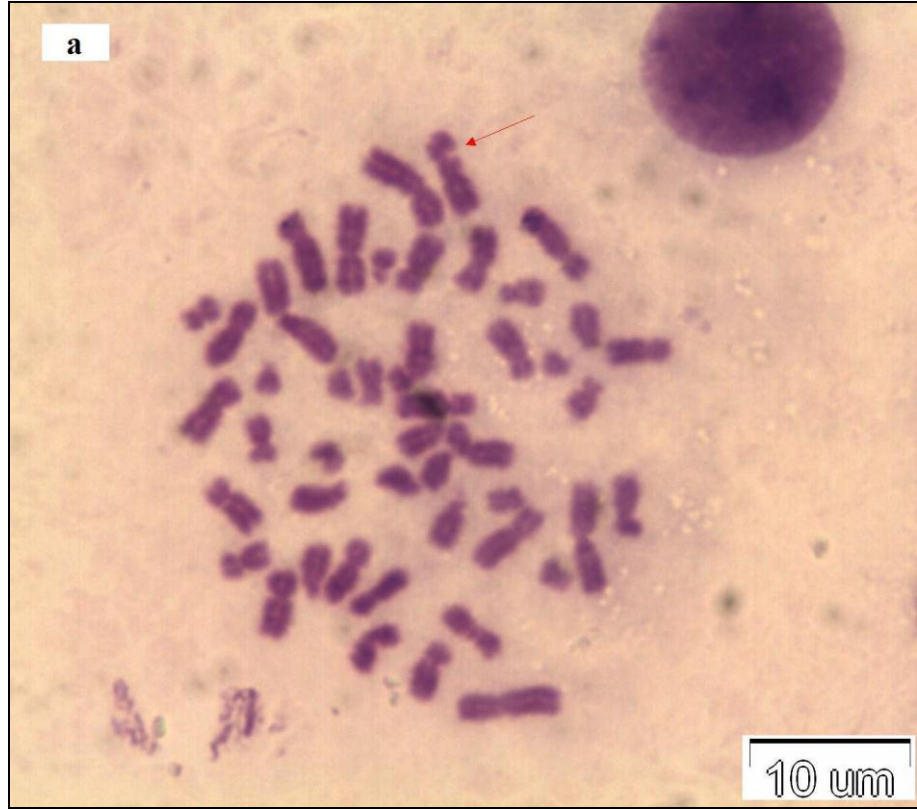
Yapılan analizlerde, kontrolle karşılaştırıldığında, Külsil'in 24 saatlik 3,125 ppm'lik en düşük dozu haricindeki 24 saatlik uygulamalar ile 48 saatlik tüm uygulamalar, anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormallik frekansını istatistiksel olarak anlamlı derecede arttırmıştır. Bu artış doza bağlı olarak gerçekleşmiştir (24 saat için  $r=0,96$  ve 48 saat için  $r=0,92$ ).

Aynı şekilde Külsil'in farklı dozlarının uygulanması sonucunda, 24 saatlik 3,125 ppm'lik en düşük dozu haricindeki 24 saatlik uygulamalar ile 48 saatlik tüm uygulamalarda kontrolle karşılaştırıldığında mitotik indeks istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüş göstermiş ve bu düşüşün doza bağlı olduğu tespit edilmiştir (24 saat için  $r=-0,83$  ve 48 saat için  $r=-0,88$ ). Mitotik indekste en fazla düşüş 24 saatlik ve 48 saatlik 25 ppm'lik dozda sırası ile %43.75 ve %78.47 olarak saptanmıştır.

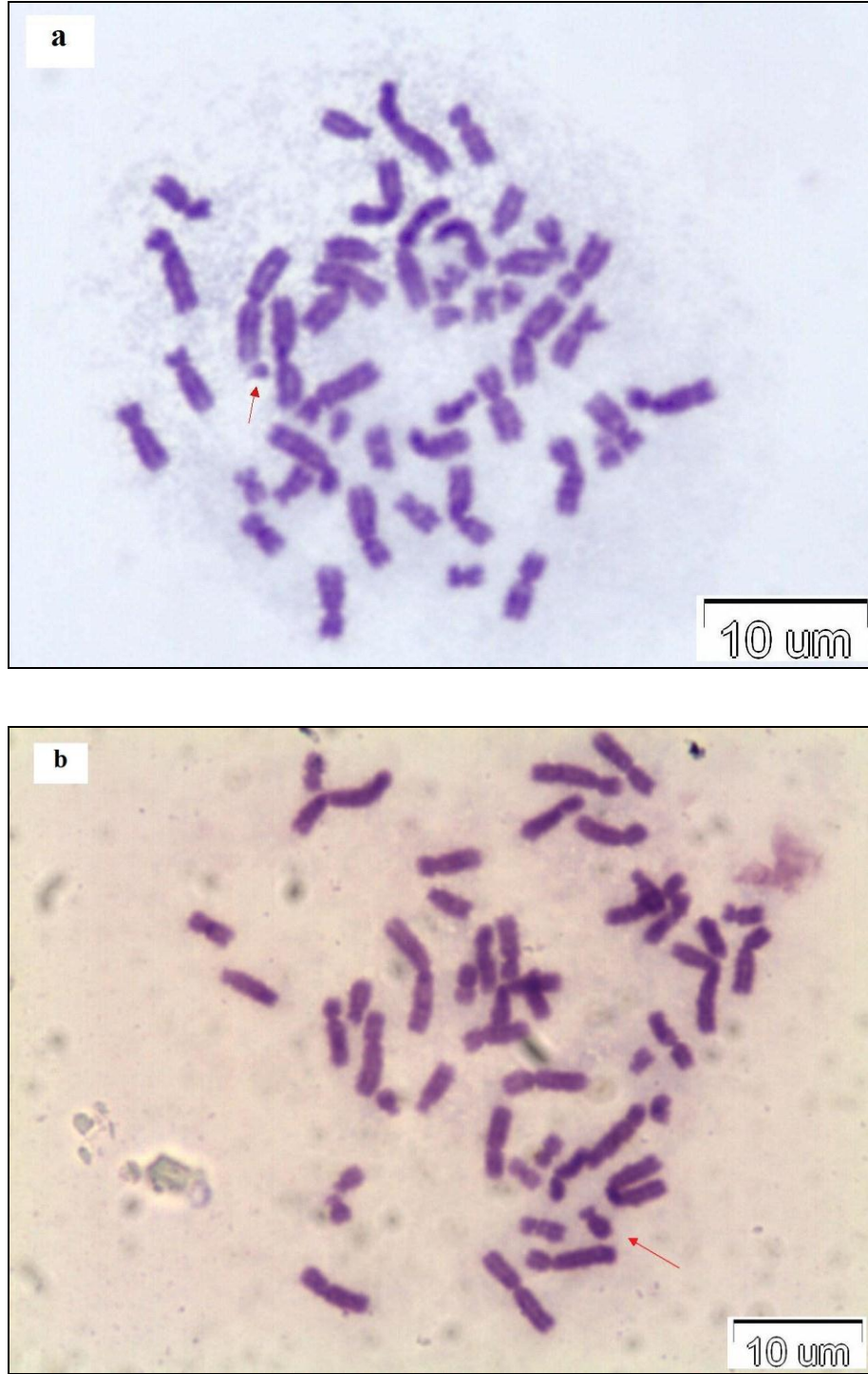
**Çizelge 1. Külsil uygulanması ile insan periferal lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler ve mitotik indeks frekansı değişimleri.**

Test Maddesi	Uygulama		Anormallikler								Anormal Hücre±SH (%)	KA/Hücre ±SH	Mitotik İndeks (%)
	Süre (Saat)	Doz (ppm)	Ktk	Kzk	Kkb	F	Ds	Ktd	Ed	P			
Kontrol Poz.Kon. (MMC) Külsil	24	0	8	4	1	3	-	-	1	-	8,0±1,92	0.085±0.020	7,2±0,58
		0,2µg/mL	27	32	5	8	1	-	-	-	33,0±3,32	0.365±0.034	5,1±0,49
		3,125	16	6	1	5	-	-	1	-	13,5±2,42	0.145±0.025	5,7±0,52
		6,25	22	4	7	5	-	-	-	-	17,5±2,69+	0.19±0.028+	4,9±0,48+
		12,5	20	13	4	6	-	-	-	1	18,5±2,75+	0.22±0.029*	4,4±0,46+
		25	21	16	12	9	-	-	1	4	27,5±3,16*	0.315±0.033*	4,05±0,44*
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Toksik	Toksik	Toksik
Kontrol Poz. Kon. (MMC) Külsil	48	0	8	4	1	3	-	-	1	-	8,0±1,92	0.085±0.020	7,2±0,58
		0,2µg/mL	32	35	13	21	2	-	-	1	44±3,51	0.52±0.035	4,8±0,48
		3,125	17	9	6	5	-	-	-	1	18,5±2,75+	0.19±0.028+	4,85±0,48*
		6,25	20	13	2	15	2	-	-	-	23,5±3,00*	0.26±0.031*	3,45±0,41*
		12,5	32	20	12	16	-	-	1	1	36,0±3,39*	0.41±0.035*	2,55±0,35*
		25	50	29	8	18	-	3	-	-	40,5±3,47*	0.54±0.035*	1,55±0,28*
	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Toksik	Toksik	Toksik

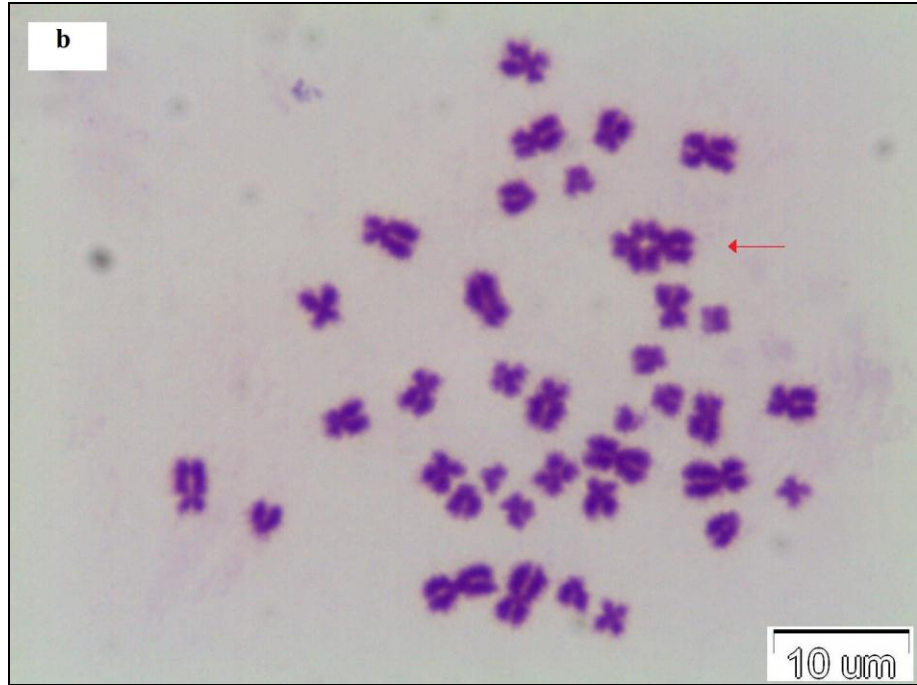
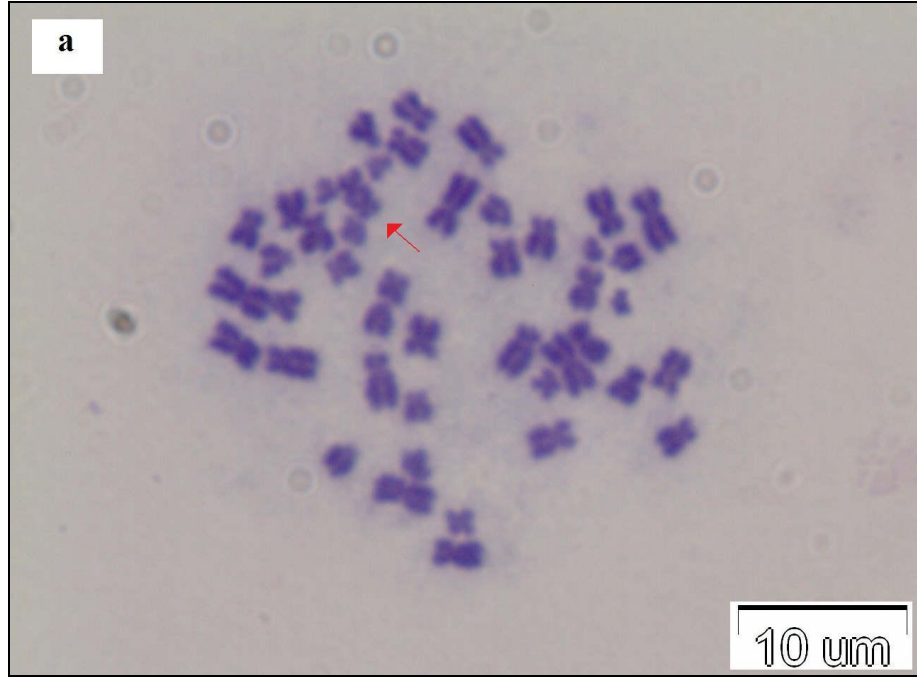
Ktk: kromatid kırığı, Kzk: kromozom kırığı, Kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, F: fragment, Ds: disentrik kromozom, Ktd: kromatid değişimi, P: poliploidi, Ed: endoreduplikasyon, +Kontrolle göre p<0.01 düzeyinde anlamlı (z testi), \* Kontrolle göre p<0.001 düzeyinde anlamlı (z testi).



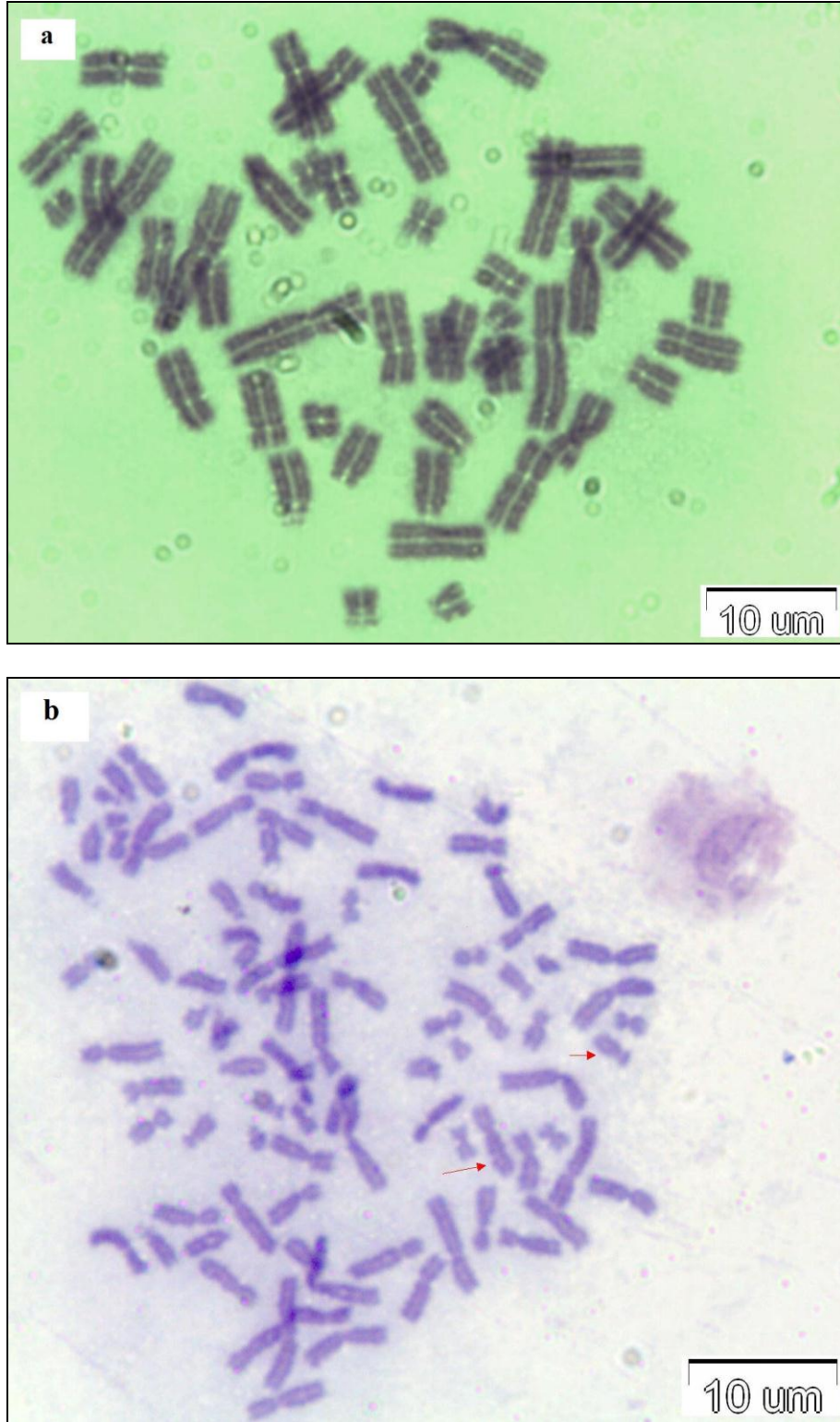
**Şekil 9: Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Kromatid kırığı b) Kromozom kırığı (Özgün).**



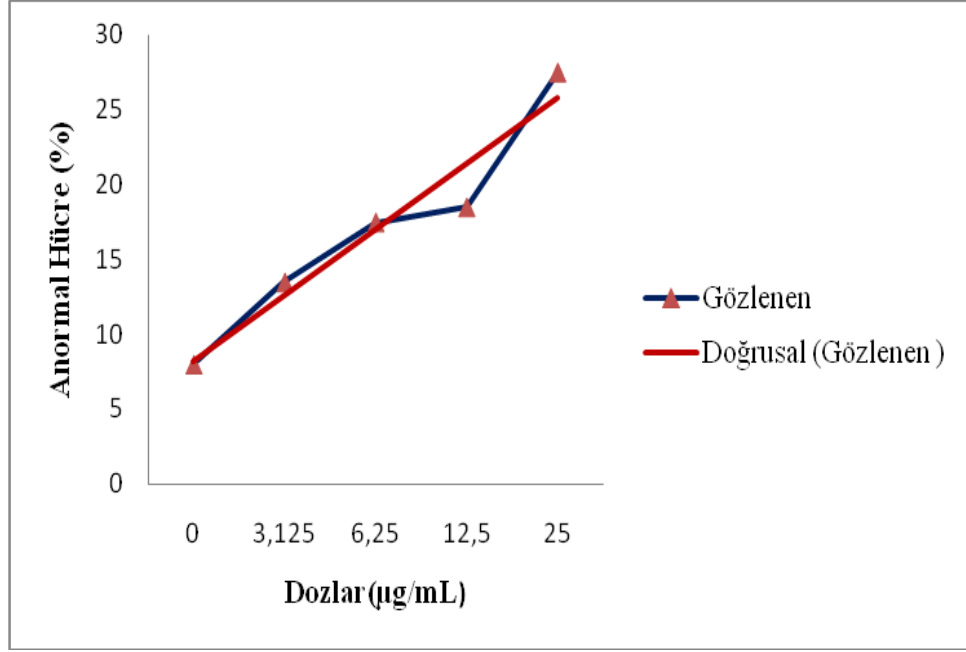
**Şekil 10: Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Fragment b) Kardeş kromatidlerde birleşme (Özgün).**



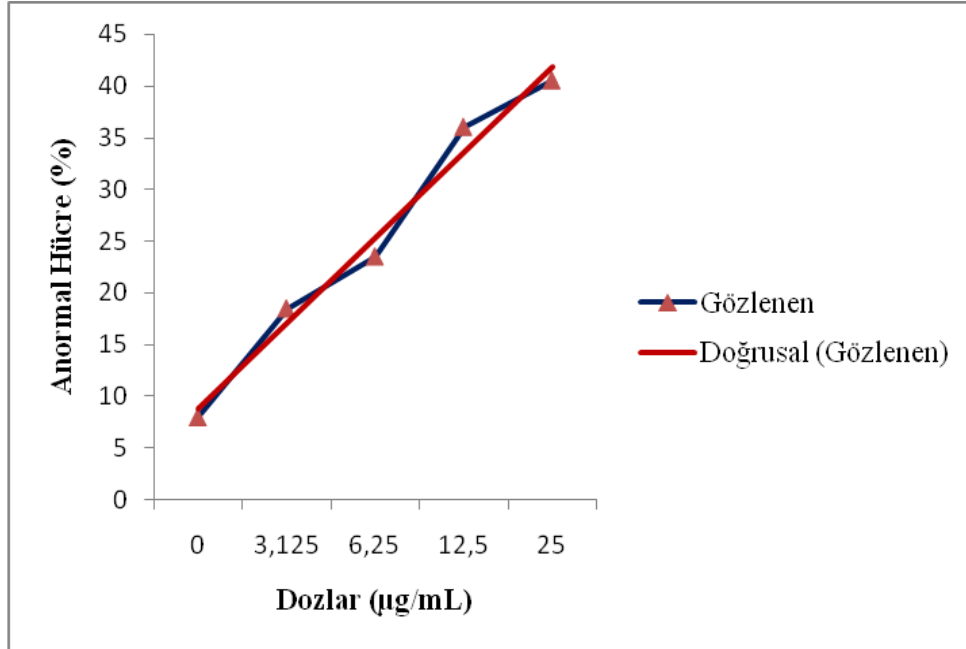
**Şekil 11: Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Disentrik kromozom b) Kromatid değişimi (Özgün).**



Şekil 12: Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Endoreduplikasyon b) Çeşitli anormallikler içeren poliploidi (Özgün).

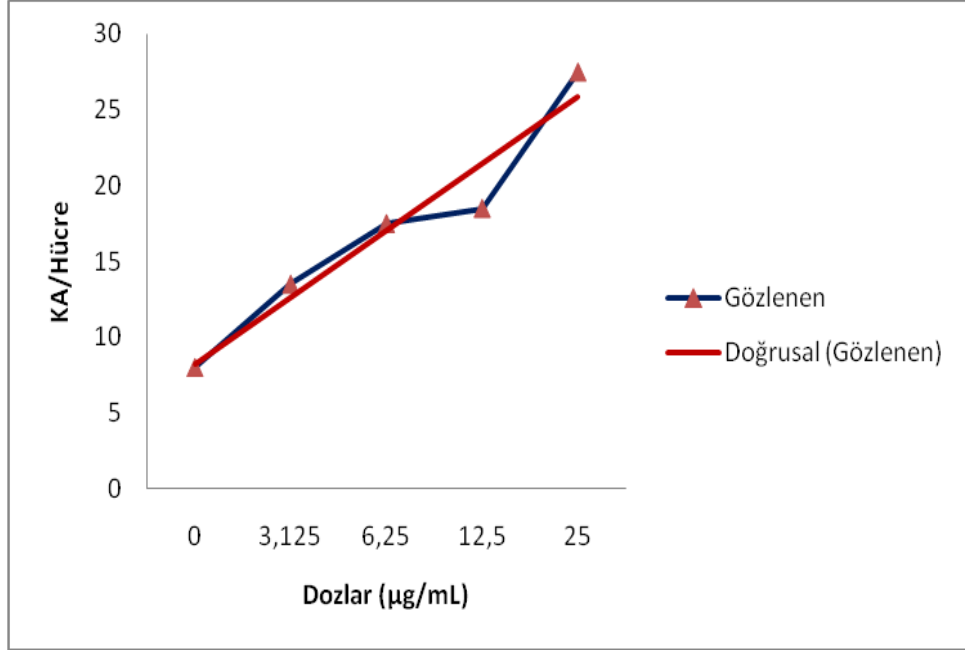


Şekil 13: Külsil fungusiti ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesinin doza bağlı değişimi.

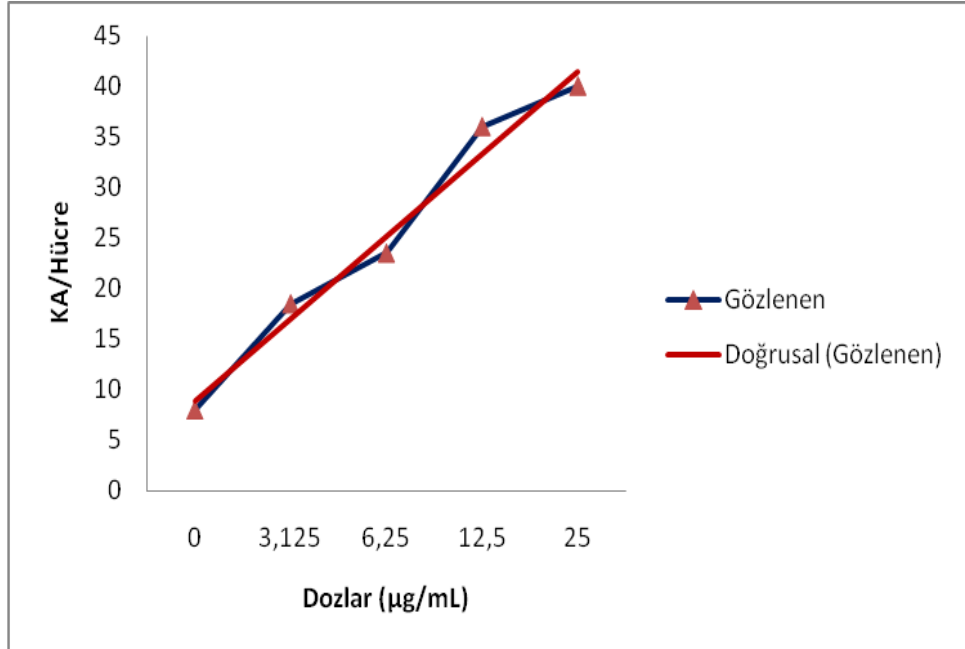


Şekil 14: Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesinin doza bağlı değişimi.

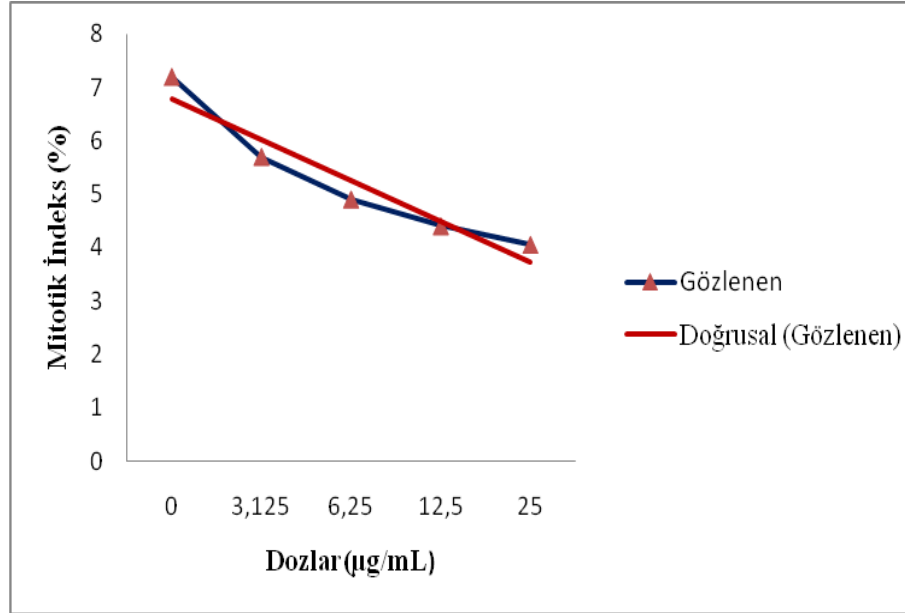




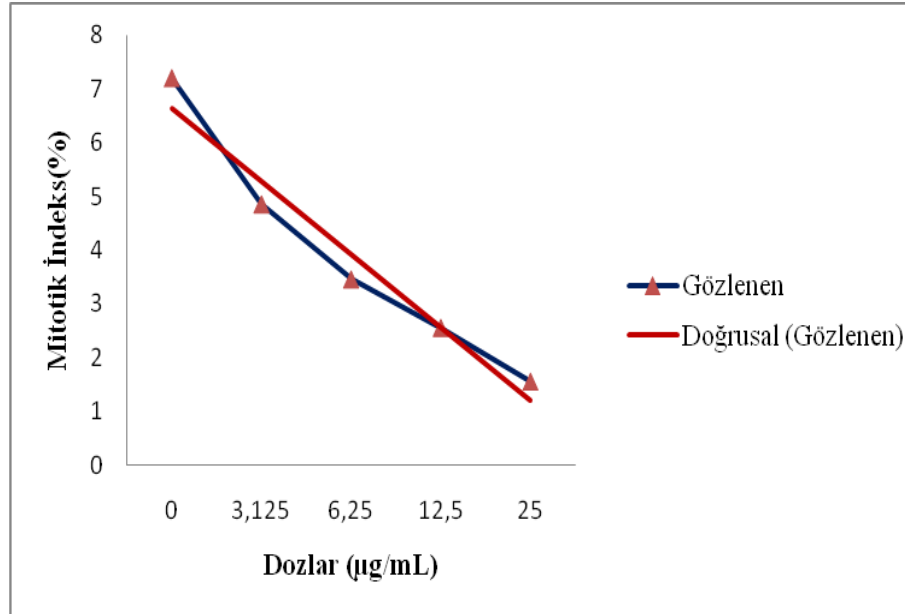
Şekil 15: Külsil fungusiti ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde doza bağlı KA/Hücre değişimi.



Şekil 16: Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde doza bağlı KA/Hücre değişimi.



Şekil 17: Külsil fungusiti ile 24 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı değişimi.



Şekil 18: Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı değişimi.

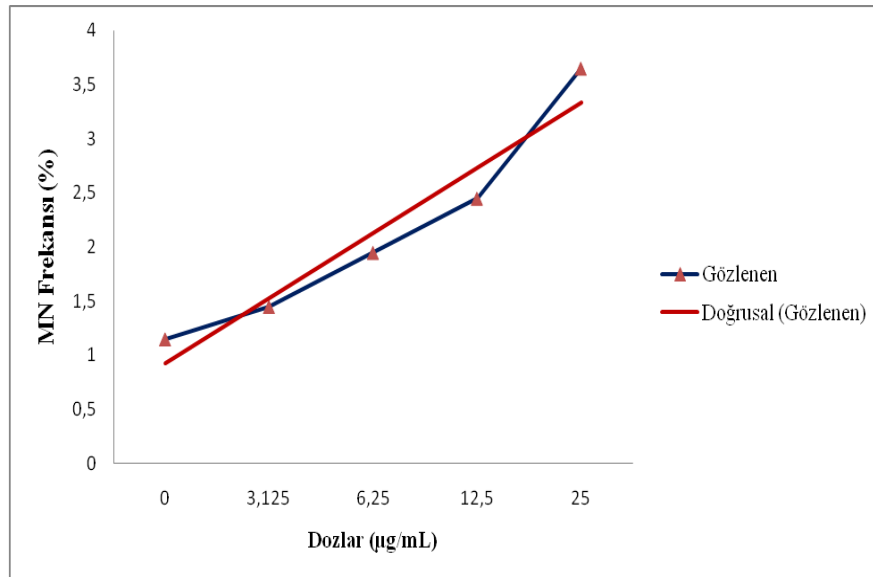
Bu çalışmada insan periferal lenfosit kültürlerine *in vitro* Külsil uygulaması sonucunda, Külsil fungusitinin dozlarının bir, iki, üç ve dört mikronükleus içeren binükleat hücreler meydana getirdiği gözlenmiştir. Külsil'in insan lenfosit kültürleri üzerindeki

dozları kontrol ile karşılaştırıldığında, 3,125 ppm'lik dozun mikronükleus frekansını etkilemediği, buna karşın 6,25; 12,5 ve 25 ppm'lik dozlarda ise mikronükleus frekansının doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırdığı tespit edilmiştir ( $r=0,99$ ). Külsil'in 50 ppm'lik dozu ise insan periferal lenfosit kültürü üzerinde sitotoksik etki göstermiştir. Nükleer bölünme indeksinde ise doz arttıkça değerler azalmasına rağmen kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir.

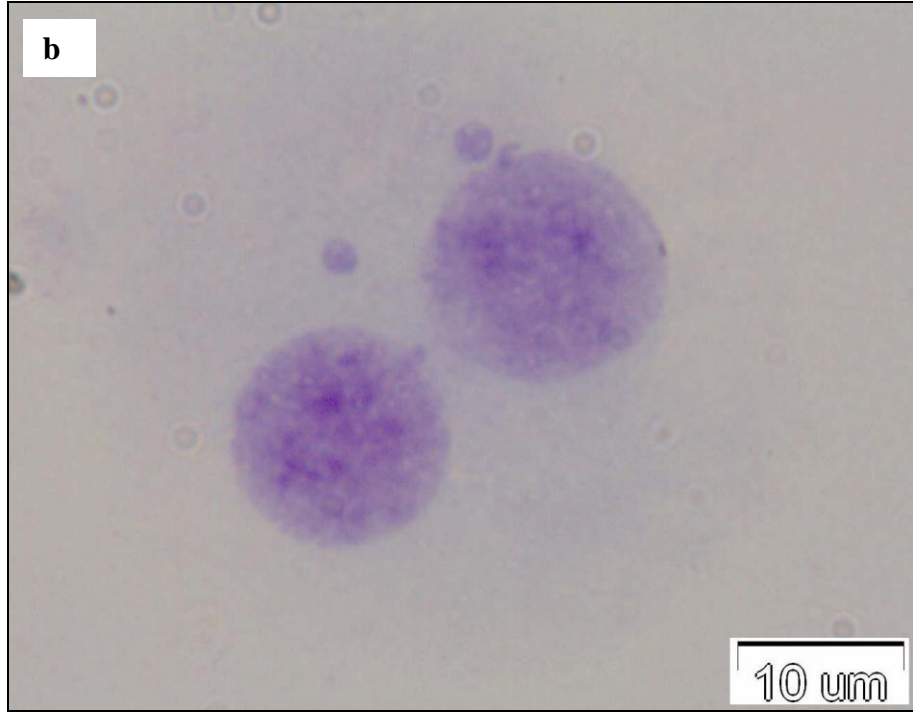
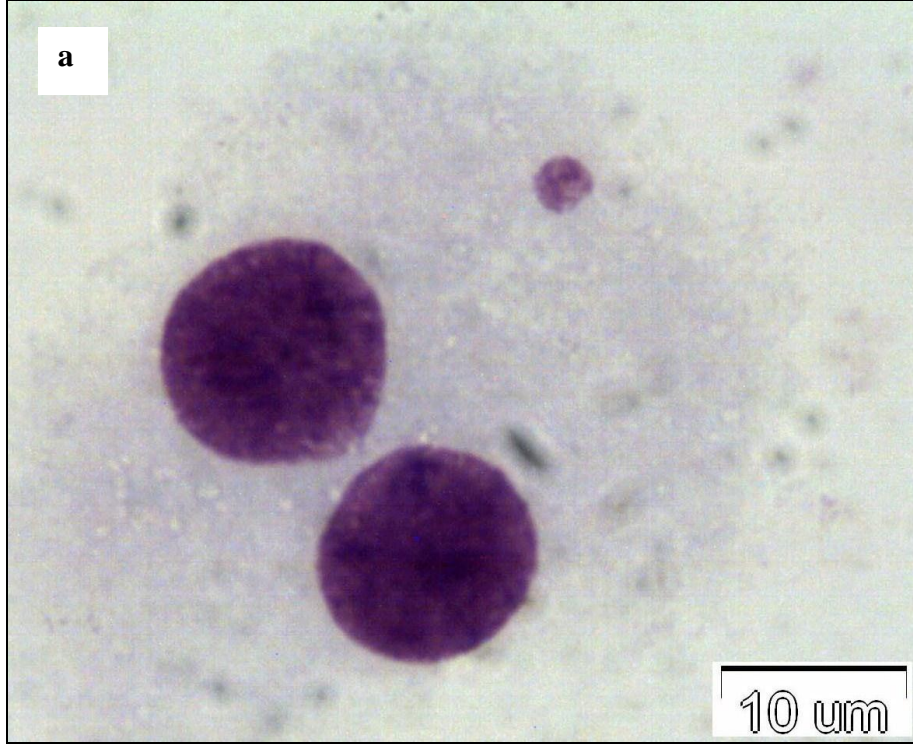
**Çizelge 2. Külsil'in insan lenfositlerinde mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi**

Test Maddesi	Uygulama		BN Hücreler İçinde Mikronükleus Frekansları				MN±SH (%)	Nükleer Bölünme İndeksi±SH (NBİ)
	Süre (Saat)	Doz (ppm)	(1)	(2)	(3)	(4)		
			Kontrol	48	0	19		
Poz. Kon. (MMC)		0,20µg/mL	44	10	2	-	3,5±0,410	1,654±0,403
Külsil		3,125	27	1	-	-	1,45±0,267	1,354±0,365
		6,25	25	5	-	1	1,95±0,309*	1,189±0,343
		12,5	38	1	3	-	2,45±0,346**	1,045±0,322
		25	51	9	-	1	3,65±0,419+	1,013±0,317
		50	-	-	-	-	Toksik	Toksik

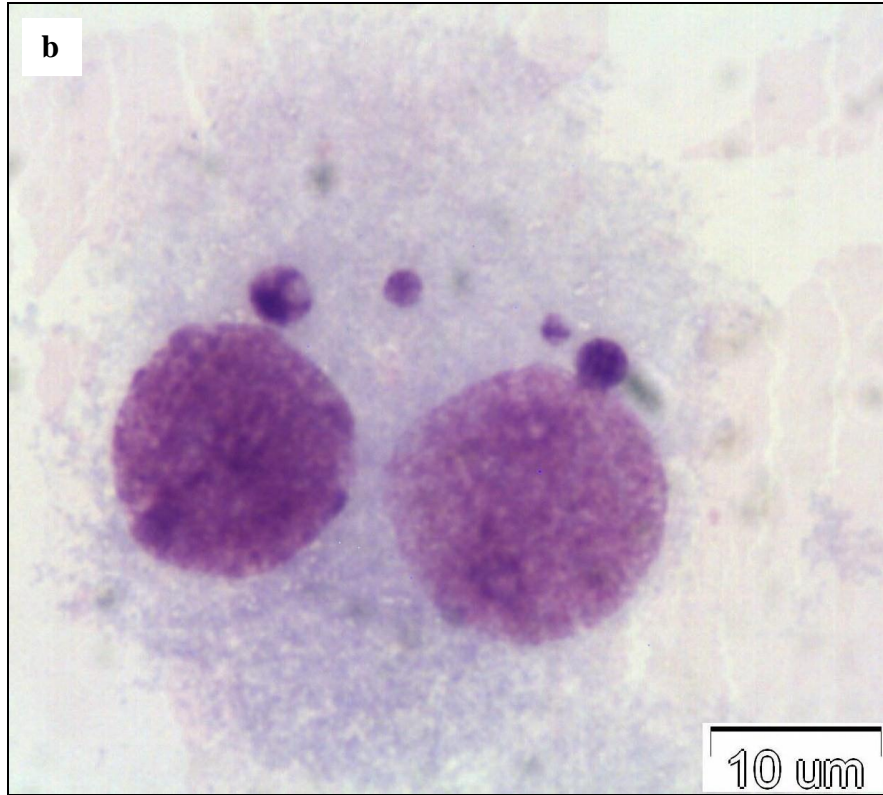
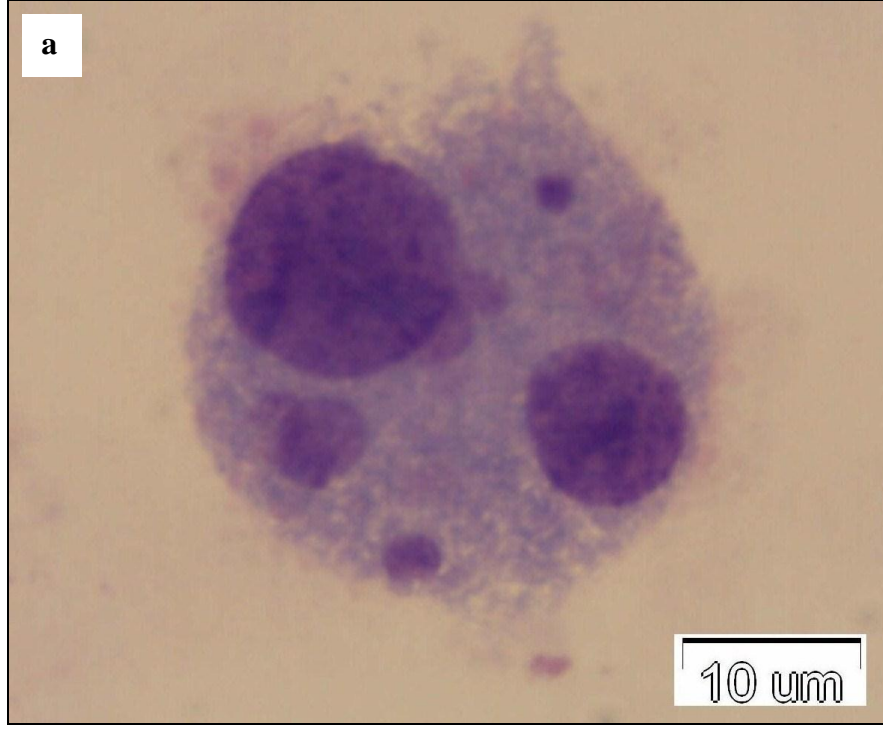
\*Kontrolle göre  $p<0,05$  düzeyinde anlamlı (z testi), \*\* Kontrolle göre  $p<0,01$  düzeyinde anlamlı (z testi), + Kontrolle göre  $p<0,001$  düzeyinde anlamlı (z testi)



**Şekil 19: Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde mikronükleus frekansı yüzdesinin doza bağlı değişimi.**



**Şekil 20: Küsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde görülen mikronükleuslu binükleat hücreler a) Bir mikronükleuslu binükleat hücre b) İki mikronükleuslu binükleat hücre (Özgün).**



**Şekil 21: Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde görülen mikronükleuslu binükleat hücreler a) Üç mikronükleuslu binükleat hücre b) Dört mikronükleuslu binükleat hücre (Özgün).**

#### 4.2. Tartışma

Çağımızda pestisitler sıklıkla, yoğun ve bilinçsizce kullanılmakta, dolayısıyla içinde yaşadığımız çevre kirlenmektedir. Bu durum insanlar dahil çevrenin barındırdığı tüm canlıları tehdit etmektedir. Bundan dolayı pestisitlerin diğer toksik etkilerinin yanında genotoksik ve sitotoksik etkilerinin de olup olmadığının belirlenmesi sağlığımızın korunması için gerekmektedir. Çünkü genotoksik etki kanser başlatıcı bir mekanizma olarak kabul edilmekte bu nedenle de geliştirilen çeşitli yöntemler ile DNA'daki hasarın saptanması kanser riskinin belirlenmesinde yardımcı olabilmektedir (Salama ve ark., 1999). Bunun için çeşitli testler uygulanmaktadır. Bu testler arasında ucuz olmaları ve kısa sürede sonuç vermeleri nedeni ile *in vitro* testler sıklıkla kullanılmaktadır. Bu testlerden de en sık kullanılanların başında kromozomal anormallik ve mikronükleus testi gelmektedir.

Bu araştırmada *in vitro* testlerden kromozomal anormallik testi; kromozom anormalliklerinin farklı dokularda benzerlik göstermesinden dolayı, kansere eğilimli dokulardaki anormallik seviyesini gösterdiği ve böylece kanser riskininin de göstergesi olduğu düşünülen insan periferel lenfositlerinde uygulanmıştır. İnsan lenfositlerinde hücre siklusu yaklaşık olarak 24 saat olduğundan, genotoksisite çalışmalarında inkübasyon süresi 2. ve 3. mitozların gözlenebilmesi için 72 saat olarak belirlenmiştir (Timoroğlu, 2009). İnsan lenfosit kültüründe genotoksik etkisi araştırılacak olan kimyasalların uygulama süreleri, hücre siklusu dikkate alınarak 24 ve 48 saat olarak belirlenmiştir (Hrelia ve ark., 1996).

Tamamlanan araştırmamızda triazol sınıfına ait bir fungusit olan myclobutanilin ticari formunun (Külsil) insan periferel lenfositlerinde *in vitro* kromozomal anormallikler (KA) çalışılmış ve bu test yardımı ile bu maddenin insanlar üzerine genotoksik etkisi olup olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Bunun için insan periferel lenfositleri üzerine Külsil'in 3,125; 6,25; 12,5; 25 ve 50 ppm'lik dozları 24 ve 48 saat boyunca uygulanmıştır. KA testinde deneysel birim hücre olduğundan, anormallik taşıyan hücrelerin yüzde oranları hesaplanarak Külsil'in klastojenitesi değerlendirilmiştir. Her bir doz ve muamele süresi için 100 adet metafaz plağı sayılmıştır ve çıkan sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Araştırmamızda Külsil'in 24 saatlik en düşük dozu olan 3,125 ppm'lik dozu dışında kalan tüm uygulama süreleri ve dozlarda Külsil anormal hücre yüzdesini ve hücre başına

düşen kromozom anormallik frekansını doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırmıştır (24 saat için  $r=0,96$  ve 48 saat için  $r=0,92$ ).

Kültüre alınmış insan lenfositlerinde çeşitli fiziksel ve kimyasal ajanlarla oluşan kromozomal anormalliklerin belirlenmesi oldukça önemlidir. Çünkü hücrelerde ortaya çıkan kromozomal anormalliklerinin kanser riskinin göstergesi olduğu düşünülmektedir (Hagmar ve ark., 1998; Obe ve ark., 2002; Bonassi ve ark., 2005, 2007). Kromozom anormallikleri testinde gözlenen yapısal kromozom anormallikleri kromozom tip ve kromatid tip olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Eğer anormallik tek bir kromatidde gözleniyorsa buna kromatid tip, her iki kromatidde birden gözleniyorsa buna kromozom tip anormallik adı verilmektedir (Natarajan ve Obe, 1982; Üstüner, 2011).

Araştırmamızda Küsil insan periferik lenfositlerinde kromozomal anormalliklerden sekiz farklı tipte anormalliğe neden olmuştur. Bunlar kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, kardeş kromatid birleşmesi, disentrik, kromatid değişimi, endoreduplikasyon ve poliploididir. Küsil uygulaması sonucunda en sık rastlanan kromozom anormallik tipi (%43,6) kromatid kırığıdır. Kromatid kırığı, DNA'da meydana gelen çift zincir kırıkları sonucu oluşan ve bir kromozoma ait iki kromatitten bir tanesinde kırık olması durumudur. Kromatid kırıkları uygulanan maddelerin çoğunlukla geç S veya G<sub>2</sub> aşamasında etkili olduğunu göstermektedir (Natarajan, 2002). Araştırmamızda en sık rastlanan ikinci anormallik tipi ise (%24,2) kromozom kırığıdır. Kromozom kırığı ise her iki kromatitte uç kısımda gözlenen tamir edilmemiş çift zincir kırıklarıdır (Savage; 1993; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Eğer G<sub>1</sub> fazında yalnız bir kromatitte bir kırık meydana gelir ve S fazı boyunca devam ederse, metafazdan sonra her iki kromatitte de kırık oluşur ve böylece kromozom kırığı meydana gelir (Üstüner, 2011). Araştırmamız sırasında en sık rastlanan üçüncü anormallik ise (%17,4) fragmenttir. Fragmentler kromozomlardan kopan parçaların kromozomdan ayrı bir yerde bulunmasıdır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Asentrik fragmentler kromozomda terminal delesyonlar sonucu oluşabilmektedir (Yılmaz ve ark., 2008). Bunların dışında araştırmamızda kardeş kromatitlerde birleşme (%11,4), disentrik kromozom (%0,4), kromatid değişimi (%0,6), poliploidi (%1,5) ve endoreduplikasyon (%0,6) da rastlanan anormallik tiplerindedir. Bunlardan; kardeş kromatitlerde birleşme kromozom kolları arasında karşılıklı birleşme olarak gözlenir ve çoğunlukla kromozom uçlarında meydana gelen terminal delesyonlar sonucunda oluşabilir (Yüzbaşıoğlu ve ark., 2006). Disentrik kromozomlar, iki kromozomun her iki kromatidinin birden kırılması ve bu sentrik fragmentlerin kopuk uçlarından birbirleri ile birleşmesi sonucu meydana gelir

(Coşkun ve Coşkun, 2003; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Kromatid değişimi, üç kollu konfigürasyonla sonuçlanan çift kromatidlerdeki triradyal kromatid değişimi, dört kollu konfigürasyonla sonuçlanan çift kromatidlerdeki kuadriradyal kromatid değişimi olan kromozomlar arası değişimlerdir (Sato ve ark., 2002). Poliploidi, diploid bir hücrede kromozom sayısının en az o canlının gametinde bulunan kromozomlar kadar artması olayıdır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Dört kromatit içeren diplokromozomlar olarak da adlandırılan endoreduplikasyon ise kromatid ayrılması olmaksızın art arda iki DNA replikasyonunu takiben ortaya çıkmaktadır. Endoreduplikasyonun oluşmasında iğ ipliklerinin bozulması ve DNA'da meydana gelen hasarlar önemli rol oynamakla beraber, mitoz bölünmede anafazda kromatit ayrılmasında önemli görev alan DNA topoizomerazlarda meydana gelebilecek bozukluklar da endoreduplikasyonun ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Cortes ve Pastor, 2003). Metafaz plağında iki kromozom ve dört kromatitten oluşmuş yapılar şeklinde gözüktürler (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010).

Ribas ve ark. (1996), alachlor herbisitinin 20 µg/mL'lik en yüksek dozunda her iki donörde toplam anormallik frekansında anlamlı artışa neden olduğu ve alachlorun kromatid kırığı, kromozom kırığı, kromatid değişimi, kromozom değişimi, kromatid gap ve kromozom gap meydana getirdiğini bulmuşlardır. Maleik hidrazid herbisitinin ise sadece bir donörde ve 1000 µg/mL'lik en yüksek dozunda toplam anormallik frekansında anlamlı olduğunu ve maleik hidrazid'in de kromatid kırığı, kromozom kırığı, kromatid değişimi, kromozom değişimi, kromatid gap ve kromozom gap meydana getirdiğini bulmuşlardır. Gökalp ve Kaymak (2002)'da maleik hidrazid herbisitinin insan periferik lenfositlerinde meydana getirdiği kromozomal anormallikleri incelemişler ve onlar da Ribas ve ark. (1996) gibi maleik hidrazid herbisitinin kromatid gap, kromatid kırık, izokromatid gap ve izokromatid kırık gibi kromozom anormallikleri meydana getirdiğini saptamışlardır.

Rencüzoğulları ve ark. (2004), etoxazole adlı akarisitinin 24 saatlik tüm dozlar ile 48 saatlik 20 µg/ml'lik dozda anlamlı derecede KA frekansını arttırdığını ve kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme, kromatid değişimi, disentrik kromozom, halka kromozom ve poliploidi anormalliklerine neden olduğunu bulmuşlardır. Bunların içinden en sık görülen anormalliklerin, bizim araştırmamızda olduğu gibi, kromatid kırığı, kromozom kırığı olduğunu, bu anormalliklerden sonra en sık rastlanan diğer anormalliklerin ise kardeş kromatidlerde birleşme ve kromatid değişimi olduğunu belirtmişlerdir.



Zeljezic ve Garaj-Vrhovac (2004), 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) etken maddesinden 500mg/ml içeren Deherban A® herbisitinin insan lenfositlerinde kromatid kırığı, kromozom kırığı ve asentrik fragmentlerin sayısını anlamlı derecede arttırdığını bulmuşlardır.

Çelik ve ark. (2005), bir kontak fungusit ve sistemik olmayan bir akarisit olan Karathane LC (dinocap etken maddeli)'nin insan lenfositlerinde KA frekansını anlamlı derecede arttırdığını ve Karathane LC'nin insan lenfositlerinde kromatid kırığı, fragment, kardeş kromatidlerde birleşme, disentrik, gap, halka kromozom, kromatid değişimi ve poliploidiye neden olduğunu bulmuşlardır.

Yüzbaşıoğlu ve ark. (2006), afugan isimli sistemik fungusitin insan lenfositlerinde 48 saatlik uygulamada 5, 10 ve 20 µg/mL'lik dozlarının kromozom anormallik frekansını anlamlı derecede arttırdığını ve insan lenfositlerinde kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme, poliploidi, disentrik kromozom ve halka kromozom oluşturduğunu bulmuşlardır. Bunların için en çok gözlenen anormalliklerin sırasıyla kardeş kromatidlerde birleşme, poliploidi ve kromatid kırığı olduğunu belirtmişlerdir.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2007), %20 acetamiprid içeren Mosemam 20 SP insektisitinin insan lenfosit kültüründe kontrole ve çözücü kontrole göre kromozom anormalliklerini anlamlı derecede arttırdığını ve Mosemam 20 SP insektisitinin insan lenfositlerinde kromatid ve kromozom tip anormalliklere neden olduğunu belirtmişlerdir.

Yılmaz ve ark. (2008), triazol sınıfından hexaconazole içeren Conan 5FL (50 g/L) fungusitinin insan lenfositlerinde kromozomal anormallik frekansını anlamlı derecede arttırdığını ve kromatid kırığı, kromatid değişimi, kromozom kırığı, kardeş kromatid değişimi, disentrik kromozom, asentrik fragment, halka kromozom ve poliploidiye neden olduğunu bulmuşlardır.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2009), %10  $\alpha$ -cypermethrin içeren Fastac 100 EC insektisitinin 24 ve 48 saatlik tüm uygulamalarının insan periferal lenfositlerinde kontrol ve çözücü kontrolle karşılaştırıldığında kromozomal anormallik frekansını anlamlı derece arttırdığını ve insan lenfositlerinde kromatid tip ve kromozomal tip anormallik meydana getirdiğini belirtmişlerdir.

Chakravarthi ve ark. (2009), insan periferal lenfositlerinde organofosfat sınıfından monocrotophos isimli insektisit uygulamasının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede satellitleri bir araya getirdiği, kromozomlarda kırık ve gap oluşturduğu bulunmuştur.

Özkan ve ark. (2009), acephate adlı bir organofosfat insektisitinin insan periferal lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik tüm uygulamalarda doza bağlı olarak kromozomal anormallik frekansını arttırdığını ve insan periferal lenfositlerinde kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme, fragment, kromatid değişimi ve poliploidi meydana getirdiğini belirtmişlerdir.

Ünal ve ark. (2011), diclofop-metil isimli klorofenoksi herbisitinin insan periferal lenfositlerinde 15,63 µg/mL'lik en düşük doz dışındaki tüm dozlarda KA frekansını doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırdığını ve insan lenfositlerinde tamamı ile bizim araştırmamızda da gözlenen kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme, kromatid değişimi, disentrik kromozom, fragment, endoreduplikasyon ve poliploidi anormalliklerini meydana getirdiğini belirtmişlerdir.

Yapılan diğer araştırmalarda da görüldüğü üzere insan lenfositleri üzerinde pestisitlerin farklı grupları ile ilgili tamamlanan araştırma sonuçları ile araştırmamızda elde ettiğimiz doza bağlı genotoksisite artışı sonuçları ile farklı araştırmalarda pestisitlerin meydana getirdiği anormallikler ile araştırmamızda elde ettiğimiz anormallikler paralellik göstermektedir.

Araştırmamızda Külsil'in sitotoksitesini ölçmek için mitotik indeks kullanılmıştır. Külsil'in 24 saatlik 3,125 ppm'lik dozu haricinde tüm uygulamalarında ve 48 saatlik tüm uygulamalarda mitotik indeks doza bağlı olarak anlamlı derecede düşüş göstermiştir (24 saat için  $r=-0,83$  ve 48 saat için  $r=-0,88$ ). Mitotik indekste en fazla düşüş 24 saatlik ve 48 saatlik 25 ppm'lik dozda sırası ile %43.75 ve %78.47 olarak saptanmıştır. Mitotik indeksin düşmesi, mitoza girecek olan hücrede  $G_2$  aşamasının bloke edilmesinden (Van't Hof, 1968) veya ATP seviyesinin düşüşüne bağlı olarak enerji üretim merkezlerinin baskılanmasından (Epel, 1963) ya da DNA polimeraz gibi mitotik iş ipliklerinde etkili olan çeşitli enzim yapılarının bozulmasından kaynaklanmış olabilir (Yüzbaşıoğlu ve ark., 2006).

Gökalp ve Kaymak (2002), insan periferal lenfositlerini bir herbisit olan maleik hidrazidin çeşitli dozları ile 24 ve 48 saat boyunca muamele etmişler ve maleik hidrazid herbisitinin artan doz ve muamele süresine bağlı olarak mitotik indeksi düşürdüğünü bulmuşlardır.

Araştırma sonuçlarımıza paralel olarak, Rencüzoğulları ve ark. (2004), etoxazole akarisitinin, Çelik ve ark. (2005), sistemik olmayan akarisit ve bir kontak fungusit olan Karathane LC (dinocap etken maddeli)'nin 24 saatlik en düşük dozları hariç 24 saatlik

diğer dozlarda ve 48 saatlik tüm dozlarda mitotik indeksi anlamlı derecede düşürdüğünü bulmuşlardır.

González ve ark. (2006), dicamba isimli fenoksi herbisit ve onun ticari formu olan Banvel®'in (57,71%) insan lenfosit kültüründe sitogenetik etkilerini incelenmişler ve mitotik indeksi 100 µg/mL'lik konsantrasyonun üstündeki konsantrasyonlarda kontrole göre anlamlı derece düşürdüğünü bulmuşlardır.

Yüzbaşıoğlu ve ark. (2006), afugan isimli sistemik fungusitin sitotoksik etkilerini insan periferal lenfositlerinde *in vitro* incelemişler ve 24 ve 48 saatlik uygulamalarda 2,5 µg/mL'lik konsantrasyon hariç tüm konsantrasyonlarda mitotik indeksi anlamlı derecede düşürdüğünü saptamışlardır.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2007), *in vitro* koşullarda insan periferal lenfositlerinde incelenen %20 acetamiprid içeren Mosetam 20 SP insektisitinin kontrole ve çözücü kontrole karşılaştırıldığında mitotik indeksi tüm uygulama süreleri ve konsantrasyonlarında anlamlı derecede düşürdüğünü saptamışlardır.

Yılmaz ve ark. (2008), triazol sınıfından hexaconazole içeren Conan 5FL (50 g/L) fungusitin genotoksik etkilerini insan periferal lenfositlerinde incelemişlerdir. Conan 5FL'nin mitotik indeksi anlamlı derecede düşürdüğü tespit edilmiştir.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2009), %10 α-cypermethrin içeren Fastac 100 EC insektisitinin *in vitro* insan periferal lenfositlerinde mitotik indeksi 24 ve 48 saatlik her iki uygulama süresinde de doza bağlı olarak düştüğü tespit edilmiştir.

Özkan ve ark. (2009), acephate isimli organofosforlu insektisit insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik ve sitotoksik etkilerini araştırmışlar ve mitotik indeksi 24 saatlik 50, 100 ve 200 µg/mL'lik konsantrasyonlar ile 48 saatlik 12.5 µg/mL'lik konsantrasyon hariç bütün konsantrasyonlarda doza bağlı olarak anlamlı derecede düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Çelikler ve ark. (2010), thiocyclam (Evisect) insektisitinin, Jovtchev ve ark. (2010), paraquat isimli herbisit insan periferal lenfositlerinde mitotik indeksi düşürdüğünü saptamışlardır.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2010), acetamiprid ve α-cypermethrin karışımının sitotoksik etkilerini incelemişler ve mitotik indeks 24 ve 48 saatlik her iki uygulama süresinde ve tüm konsantrasyonlarda anlamlı derecede düşüş gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Ünal ve ark. (2011), diclofop-metil isimli klorofenoksi herbisitinin insan periferik lenfositlerinde *in vitro* sitotoksik etkilerini araştırmışlar ve 24 saatlik 250 µg/mL'lik ve 48 saatlik 62,5 ve 125 µg/mL'lik dozlarda mitotik indeksin anlamlı derecede düştüğünü belirtmişlerdir.

Görüldüğü gibi; pestisitlerle yapılan diğer çalışmalarda da pestisitlerin mitotik indeksi düşürdüğü gözlenmiştir. Araştırmamız bu açıdan diğer araştırmalarla paralellik göstermektedir.

Araştırmamızda ayrıca hızlı, hassas ve güvenilir bir test olan mikronükleus testi de uygulanmıştır. İnsan periferik lenfosit kültürlerine *in vitro* Külsil uygulaması sonucunda Külsil'in farklı dozlarında bir, iki, üç ve dört mikronükleus içeren binükleat hücreler meydana getirdiği gözlenmiştir. Külsil'in insan periferik lenfosit kültürleri üzerindeki dozları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 3,125 ppm'lik dozun mikronükleus frekansını etkilemediği buna karşın 6,25; 12,5 ve 25 ppm'lik dozlarda ise mikronükleus frekansının doza bağlı olarak anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir ( $r=0,99$ ). Külsil'in 50 ppm'lik dozu ise insan periferik lenfosit kültürü üzerinde toksik etki göstermiştir.

Mikronükleuslar, spontan olarak ya da genotoksik maruziyete yanıt olarak (Falck ve ark., 1997) esas çekirdeğe dahil olmayan asentrik fragmentlerden (sentromeri eksik kromozom fragmentleri) köken alan veya anafazda sentrik elementler kutuplara çekilirken iğ ipliklerine bağlanamayan bir veya birkaç kromozomun daha sonra etrafında çekirdek zarı teşekkül etmesi ile oluşurlar (Ford ve ark., 1988; Fenech, 1993, 1998 ve 2000; Feng ve ark., 2005; Pala ve ark., 2008; Eroğlu ve ark., 2010).

Araştırma sonuçlarımıza göre Külsil'in MN oluşumunu arttırması bu maddenin klastojenik etkiye sahip olduğunun göstergesi olabilir. Külsil fungusitinin KA testinde sayısal anormalliklerden çok yapısal anormalliklere, özellikle kromatid kırıklarına neden olması, MN oluşumunun Külsil'in anöjenik etkilerinden çok klastojenik etkilerinden kaynaklandığı düşündürmektedir.

Guadaño ve ark. (1998), rotenone isimli bir insektisitinin insan periferik lenfositlerinde *in vitro* S9 varlığında ve yokluğunda MN testi uygulamışlardır. S9 yokluğunda 48 saatlik ve 2 saatlik kültürlerde mikronükleus frekansında artış gözlenirken, S9 fraksiyonunun eklenmesi rotenone insektisitinin etkisini azaltmıştır.

Rencüzoğulları ve ark. (2004), etoxazole akarisitinin insan lenfositlerinde *in vitro* mikronükleus testi ile genotoksik etkileri incelenmiştir. Etoxazole 48 saatlik en düşük dozu

olan 5 µg/mL'lik doz hariç tüm uygulamalarda doza bağımlı olarak MN frekansını arttırmıştır.

Zeljezic ve Garaj-Vrhovac (2004), 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) etken maddesinden 500 mg/mL içeren Deherban A® herbisitinin insan lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkisini nükleusa ait tomurcukları da sayarak MN testi ile değerlendirmişlerdir. Deherban herbisitinin her iki dozu kontrolle karşılaştırıldığında toplam mikronükleus sayısını ve nükleusa ait tomurcukları anlamlı derecede arttırmıştır. S9 fraksiyonu olmayan uygulama ile karşılaştırıldığında, S9 fraksiyonu varlığı Deherban herbisitinin test edilen her iki dozunda da anlamlı derecede mikronükleusa neden olmuştur.

Feng ve ark. (2005), imidacloprid ve RH-5849 pestisitlerinin sırasıyla en düşük dozları olan 0,05 µg/mL ve 25 µg/mL'lik dozları hariç diğer dozlarda MN frekansını doza bağlı olarak arttırdığını tespit etmişlerdir.

Yüzbaşıoğlu ve ark. (2006), afugan isimli sistemik fungusitin genotoksik etkilerini insan periferik lenfositlerinde *in vitro* MN testi ile araştırmışlardır. Afuganın tüm dozlarda doza bağlı olarak MN oluşumunu arttırdığı tespit edilmiştir.

Başka bir çalışmada deltamethrin (Decis %2,8 EC) ve isoproturon (Arelon %5 WP)'un sitogenetik etkileri insan periferik lenfositlerinde MN testi ile araştırılmıştır. İnsan periferik lenfosit kültürü için deltamethrinin 2,5; 5; 10 ve 20µM, isoproturonun 25; 50; 100 ve 200µM ile deltamethrin ve isoproturonun 2.5+25; 5+50; 10+100 ve 20+200µM lik dozları kullanılmıştır. Deltamethrinin 5µM ve 10µM'lık dozu, isoproturonun 100µM'lık dozu ile deltamethrin+isoproturonun 5+50µM ve 10+100µM'lık dozları MN frekansında anlamlı artışa neden olmuştur (Chauhan ve ark., 2007).

Demsia ve ark. (2007), bir sistemik kloro-nikotinil insektisit olan imidacloprid ile bir sistemik benzenoid fungusit olan metalaxylin yalnız başlarına ve beraber kullanıldıklarında oluşturabilecekleri genotoksik etkileri, insan periferik lenfositlerinde *in vitro* MN testi ile araştırmışlardır. İnsan lenfosit kültürlerinde sadece metalaxylin 50 µg/mL'lik dozu MN frekansını anlamlı derecede artırırken, imidacloprid ve imidacloprid+metalaxyl karışımının herhangi bir etki yaratmadığı tespit edilmiştir.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2007), %20 acetamiprid içeren Mosemam 20 SP insektisitinin en düşük dozu olan 24 µg/mL'lik dozu hariç diğer dozlarda MN frekansını anlamlı derecede arttırdığını belirtmişlerdir.

Ennaceur ve ark. (2008), hexachlorobenzene (HCB) isimli bir organoklorlu insektisit ile dichlorobiphenyltrichloroetane (DDT) isimli organoklorlu insektisitinin bir metaboliti

olan 1,1-dichloro-2,2-bis(*p*-chlorophenyl)ethylene (DDE)'nin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkilerini MN testi ile değerlendirmişlerdir. DDE insektisitinin 10, 20, 40 ve 80mM'lık dozları, HCB insektisitinin 0.005, 0.01, 0.05 ve 0.1mM'lık dozları kullanılmıştır. HCB insektisiti mikronükleus frekansını etkilemezken, DDE insektisiti en yüksek dozda MN frekansını anlamlı derecede arttırmıştır.

İla ve ark. (2008), cyfluthrin insektisitinin genotoksik etkisi *in vitro* kültüre alınmış insan periferal lenfositlerinde MN testi ile araştırmışlardır. Cyfluthrin insektisitinin 500, 1000 ve 2000µg/ml'lik dozları kullanılmıştır. Cyfluthrin insektisiti 24 saatlik 1000µg/ml'lik uygulaması ile 48 saatlik tüm uygulamalarında kontrol grubu ile karşılaştırıldığında mikronükleus frekansında anlamlı artışa neden olmuştur.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2009), %10  $\alpha$ -cypermethrin içeren Fastac 100 EC insektisitinin genotoksik etkisini insan periferal lenfositlerinde MN testi ile araştırmışlardır. Bunun için hücreleri  $\alpha$ -cypermethrinin 5, 10, 15 ve 20 µg/mL'lik dozları ile 24 ve 48 saat boyunca muamele etmişler ve acetamipridin kontrol ve çözücü kontrole göre mikronükleus frekansını 5, 10 µg/mL'lik dozlarda anlamlı derecede arttırdığını bulmuşlardır.

Eroğlu, (2009) dichlorvos isimli bir organofosfat insektisitinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* genotoksik etkilerini incelemiştir. Dichlorvos insektisitinin 5, 10, 20, 40, 80 ve 100 µg/mL'lik dozları kullanılmıştır. Dichlorvosun mikronükleus frekansını arttırdığı tespit edilmiştir.

Özkan ve ark. (2009), acephate isimli organofosforlu insektisitinin insan periferal lenfositlerinde *in vitro* MN testi ile genotoksik etkisini araştırmışlardır. Acephate insektisitinin 12,5; 25; 50; 100 ve 200 µg/mL'lik dozları kullanılmıştır. Acephate insektisitinin tüm dozları MN frekansını doza bağlı olarak arttırmıştır.

Jovtchev ve ark. (2010), paraquat isimli herbisitinin insan lenfositlerinde *in vitro* MN testi ile genotoksitesini incelemişlerdir. Paraquatın  $10^{-6}$  mol/l'den  $10^{-4}$  mol/l'ye kadar olan beş dozu kullanılmıştır. Paraquatın tüm dozlarının MN frekansını doza bağlı olarak anlamlı derecede arttırdığı tespit edilmiştir.

Yavuz-Kocaman ve Topaktaş (2010), acetamiprid ve  $\alpha$ -cypermethrin karışımının genotoksik etkilerini, insan periferal lenfositlerinde, acetamiprid+ $\alpha$ -cypermethrinin 12,5+2,5; 15+5; 17,5+7,5; 20+10 µg/mL'lik dozları ile 24 ve 48 saat muamele ederek MN testi ile incelemişlerdir. Kontrol ile karşılaştırıldığında 12,5+2,5; 15+5; 17,5+7,5 µg/mL'lik dozlarda MN frekansında artış gözlenmiştir.

Santovito ve ark. (2011), insan periferal lenfositlerinde thiabendazole fungusitinin genotoksik etkisini mikronükleus testi ile araştırmışlardır. Thiabendazole fungusitinin 0,5; 5 ve 50 µg/mL’lik dozları kullanılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında thiabendazole’un tüm dozlarda mikronükleus düzeyini arttırdığı tespit edilmiştir.

Yapılan diğer araştırmalarda da görüldüğü üzere insan lenfositleri üzerinde pestisitlerin farklı grupları ile ilgili tamamlanan mikronükleus testine ait olan araştırma sonuçları ile araştırmamızda elde ettiğimiz sonuçlar paralellik göstermektedir.

Tamamlanan araştırmada Külsil’in nükleer bölünme indeksini düşürdüğü ancak bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

EPA (2008)’nın raporuna göre daha önceden köpek ve sıçanlar üzerinde yapılmış çalışmaların sonucuna göre Külsil’in etken maddesi olan myclobutanilin kanserojenik etkisi olmadığı belirtilmiştir. Ancak tamamlanan araştırmamızda myclobutanil etken maddesini içeren Külsil pestisitinin genotoksik olduğu saptanmıştır. Myclobutanil ile ilgili insan periferal lenfosit kültürleri üzerinde daha önceden yapılmış herhangi bir genotoksisite araştırması yoktur. Bu nedenle saptanan genotoksik etki myclobutanilin insan periferal lenfositleri üzerine etkisinden ya da saf etken madde yerine myclobutanilin ticari formülasyonu olan Külsil’i kullanmamızdan kaynaklanmış olabilir. Holland ve ark. (2002) çalışmalarında adjuvanların, ticari pestisitlerin çözünürlüğünü arttırmak ve aktif içeriğini güçlendirmek üzere onlara ilave edilen kimyasallar olduğunu, bu kimyasalların polivinil bileşikler, polioksietilenler, parafin yağları içerdiklerini ve özel olarak belirtilmediğini fakat “katkı maddeleri” kategorisi altında ticari pestisitlerin bu maddeleri içerdiğini belirtmişlerdir. Zeljezic ve Garaj-Vrhovac (2004) ise pestisit formülasyonlarında etken maddenin yanı sıra üreticilerin gizli tuttuğu bu çok sayıdaki yan ürünlerin (çözücü, seyreltici, emülgatör vb) de etken maddeler kadar genotoksik riskleri olabildiğini belirtmişlerdir. Nitekim Gökalp-Muranlı ve Kaymak (2004), triasulfuron etken maddesi içeren Logran herbisitinin 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 ve 256 µg/ mL’lik dozlarının genotoksik etkisini insan periferal lenfosit kültürleri üzerinde incelemişler ve Logran herbisitinin 16 ve 256 µg/mL’lik dozlarında *in vitro* sitotoksik ve klastojenik olduğunu belirtmişlerdir. Ancak aynı araştırmacılar 2008 yılında triasulfuron saf etken maddesinin insan periferal lenfosit kültüründe klastojenik olmadığını belirtmişlerdir (Gökalp-Muranlı ve Kaymak, 2008). Aynı şekilde Rank ve ark. (1993) Roundup herbisiti ve onun etken maddesi olan glyphosphate isopropylamine in genotoksik etkilerine Allium testi ile bakmışlar ve glyphosphate isopropylamine’in herhangi bir etkisi olmadığını buna rağmen Roundup’ın

KA frekansını arttırdığını tespit etmişlerdir. Scassellati-Sforzolini ve ark. (1997), bir üreik herbisit olan linuronun saf ve ticari formunun genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Çalışmaları bizim araştırmamızla uygunluk göstermiştir. Ayrıca insanlardaki gerçek hasarı tespit edebilmek için saf etken maddelerin yanı sıra tarımda kullanılan pestisit formülasyonlarının da tespit edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir.



## **BÖLÜM 5 SONUÇ VE ÖNERİLER**

Tamamlanan araştırmada myclobutanil etken maddeli bir pestisit olan Külsil'in genotoksik ve sitotoksik etkileri insan periferal lenfosit kültürlerinde *in vitro* koşullarda araştırılmıştır. Her ne kadar daha önceden başka canlılar üzerinde yapılmış çalışmalar myclobutanil etken maddesinin genotoksik etkisinin çok az olduğu yönünde olsa da daha önceden insan lenfosit kültürleri üzerinde bir araştırma yapılmamıştır. Bizim bu çalışmamızın sonucunda myclobutanil etken maddeli Külsil'in klastojenik, mutajenik ve anöjenik olabileceği gösterilmiştir. Bu yönü ile yapılan araştırma özgünlük göstermektedir.

Pestisitlerin tarımda çok büyük yararları olduğu yadsınamaz bir gerçektir. Ancak pestisitler tarımda yararlı olsalar dahi, bunların çevreye ve insanlar dahil hedef dışı başka canlılara genotoksik, kanserojenik, teratojenik etkiler gibi zararlı etkileri görülebilmektedir. Canlıların pestisitlere karşı direnç kazanımı ve duyarlılık azalışından dolayı, pestisitler giderek artan oranlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu durum insanların istemli veya istemsiz bir şekilde zararlı olan bu maddelere devamlı maruz kalmasıyla sonuçlanmakta dolayısıyla kanserojenik ve teratojenik gibi zararlı etkileri giderek artan oranlarda gözlenmektedir.

Özellikle tarım faaliyetlerinin yaygın olarak yapıldığı ve rüzgarın etkili olduğu Çanakkale gibi illerde çiftçilerin pestisitleri daha etkili olmaları açasından fazla miktarda kullandığı bilinmektedir. Bu kullanım sonucunda hedef organizmalar dışında insanların da içerisinde yer aldığı hedef olmayan diğer organizmalar da zarar görmektedir.

Pestisitlerin sebep olduğu bu zararları engeleyebilmek için; çiftçilerin ve diğer pestisit kullananların bilinçlendirilmeleri, toksik etkileri gözlenmiş pestisitlerin kullanımdan kaldırılmaları ya da daha az miktarda kullanılmasının sağlanması, organik tarımın teşvik edilmesi, geleneksel pestisitlerin yerine biyopestisit kullanımının teşvik edilmesi gerekmektedir. Bunların yanında sadece üretici kesimin değil tüketici kesimin de pestisitlerin zararları konusunda aydınlatılması gerekmektedir. Kısaca pestisitlerin zararlı yönlerinin de bulunması ile ilgili tüm toplum bilinçlendirilmeli ve bunun için bu konu ile ilgili çalışan kurumların ve üniversitelerin bilgilendirme seminerleri düzenlemeleri gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- Aguilar C., Borrull F. ve Marcé R.M., 1997. Determination of Pesticides in Environmental Waters by Solid-phase Extraction and Gas Chromatography with Electron Capture and Mass Spectrometry Detection. *Journal of Chromatography A*, 771 (1-2): 221-231.
- Akyıl D., 2006. Farklı Tipteki Fungusitlerin Muhtemel Mutajeniteleri Üzerine Bir Çalışma. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Albertini R.J., Anderson D., Douglas G.R., Hagmar L., Hemminki K., Merlo F., Natarajan A.T., Norppa H., Shuker D.E.G., Tice R., Waters M.D. ve Aitio A., 2000. IPCS Guidelines for the Monitoring of Genotoxic Effects of Carcinogens in Humans. *Mutation Research*, 463 (2): 111-172.
- Ames B.N., 1979. Identifying Environmental Chemicals Causing Mutation and Cancer. *Science*, 204 (4393): 587-593
- Ames B.N., Durston W.E., Yamasaki E. ve Lee F.D., 1973. Carcinogens are Mutagens: a Simple Test System Combining Liver Homogenates for Activation and Bacteria for Detection. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 70 (8): 2281-2285.
- Anonim 2005, *Zirai Mücadele İlaçları Üretimi Yapılan İşyerlerinde İş Sağlığı Ve Güvenliği Proje Denetimi Değerlendirme Raporu*, T.C., Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Teftiş Kurulu Başkanlığı, Haziran 2005.
- Atamanalp M. ve Yanık T., 2001. Pestisitlerin Cyprinidae'lere Toksik Etkileri. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi*, 18 (3-4): 555 -563.
- Athanasopoulos P.E., Pappas C.J. ve Kyriakidis N.V., 2003, Decomposition of Myclobutanil and Triadimefon in Grapes on the Vines and During Refrigerated Storage. *Food Chemistry*, 82 (3): 367-371.
- Babaoğlu M., Gürel E., ve Özcan S., 2002. *Bitki Biyoteknolojisi I. Doku Kültürü ve Uygulamaları* (2. Baskı). Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, Konya. 1-2.
- Baltacı V. ve Zeyneloğlu H.B., 2004. Increased Frequency of Sister-Chromatid Exchange and Altered Alkaline Comet Assay Scores in Superovulation Cycles for Unexplained Infertility. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 113 (1): 73-77.

- Barış A., 2007. Farklı Tipteki Pestisitlerin Muhtemel Mutajenitelerinin Ames/Salmonella/Mikrozom Test Yöntemiyle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Afyon.
- Barton H.A., Tang J., Sey Y.M., Stanko J.P., Murrell R.N., Rockett J.C. ve Dix D.J., 2006. Metabolism of Myclobutanil and Triadimefon by Human and Rat Cytochrome P450 Enzymes and Liver Microsomes. *Xenobiotica*, 36(9): 793-806.
- Batça-Kayhan F.E., Koç N.D., Contuk G., Muşlu M.N. ve Sesal N.C., 2009. Sıçan Böbrek Dokusunda Endosulfan ve Malathion' un Oluşturduğu Yapısal Değişiklikler. *Çankaya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Journal of Arts and Sciences*, 12: 43-52.
- Blair A. ve Zahm S.H., 1995. Agricultural Exposures and Cancer. *Environmental Health Perspectives*, 103(8): 205-208.
- Boffetta P., Van Der Hel O., Norppa H., Fabianova E., Fucic A., Gundy S., Lazutka J., Cebulska-Wasilewska A., Puskaierova D., Znaor A., Kelecsenyi Z., Kurtinaitis J., Rachtan J., Forni A., Vermeulen R. ve Bonassi S., 2006. Chromosomal Aberrations and Cancer Risk: Result of a Cohort Study from Central Europe. *American Journal of Epidemiology*, 165 (1): 36-43.
- Boller K. ve Schmid W., 1970. Chemical Mutagenesis in Mammals. The Chinese Hamster Bone Marrow as an *in vivo* Test System. Hematological Findings After Treatment with Trenimon. *Humangenetic*, 11 (1): 35-54.
- Bolognesi C., 2003. Genotoxicity of Pesticides: a Review of Human Biomonitoring Studies. *Mutation Research*, 543(3): 251-272.
- Bonassi S., Hagmar L., Strömberg U., Montagud A.H., Tinnerberg H., Forni A., Heikkilä P., Wanders S., Wilhardt P., Hansteen I-L., Knudsen L.E. ve Norppa H., 2000. Chromosomal Aberrations in Lymphocytes Predict Human Cancer Independently of Exposure to Carcinogens. *Cancer Research*, 60: 1619–1625.

- Bonassi S., Fenech M., Lando C., Lin Y.P., Ceppi M., Chang W.P., Holland N., Kirsch-Volders M., Zeiger E., Ban S., Barale R., Bigatti M.P., Bolognesi C., Jia C., Giorgio M.D., Ferguson L.Y., Fucic A., Lima O.G., Hrelia P., Ktishnaja A.P., Lee T.K., Migliore L., Mikhalevich L., Mirkova E., Mosesso P., Müller W.U., Odagiri Y., Scarf M.R., Szabova E., Vorobtsova I., Vral A. ve Zijno A., 2001. Human Micronucleus Project: International Database Comparison for Results with Cytokinesis -Block Micronucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 37(1): 31-45.
- Bonassi S., Ugolini D., Kirsch-Volders M., Strömberg U., Vermeulen R., Tucker J.D., 2005. Human Population with Cytogenetic Biomarkers: Review of the Literature and Future Prospectives. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 45:258–270.
- Bonassi S., Znaor A., Ceppi M., Lando C., Chang W.P., Holland N., Kirsch-Volders M., Zeiger E., Ban S., Barale R., Bigatti M.P., Bolognesi C., Cebulska-Wasilewska A., Fabianova E., Fucic A., Hagmar L., Joksic G., Martelli A., Migliore L., Mirkova E., Scarfi M.R., Zijno A., Norppa H. ve Fenech M., 2007. An increased Micronucleus Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes Predicts the Risk of Cancer in Humans. *Carcinogenesis*, 28 (3): 625–631.
- Bordajandi L.R., Gómez G., Fernández M.A., Abad E., Rivera J. ve González M.J., 2003. Study on PCBs, PCDD/Fs, Organochlorine Pesticides, Heavy Metals and Arsenic Content in Freshwater Fish Species from the River Turia (Spain). *Chemosphere*, 53(2): 163–171.
- Brenneke H.P.U.H., 1937. Die Ursache Des Herabgesetzten Wurfgröße Bei Mäusen Nach Röntgenbestrahlung Des Samens, Z.A.V.
- Brown L.M., Blair A., Gibson R., Everett G.D., Cantor K.P., Schuman L.M., Burmeister L.F., Van Lier S.F. ve Dick F., 1990. Pesticide Exposures and Other Agricultural Risk Factors for Leukemia Among Men in Iowa and Minnesota. *Cancer Research*, 50: 6585-6591.
- Çelik M., Ünal F., Yüzbaşıoğlu D., Ergün M.A., Arslan O. ve Kasap R., 2005. *In vitro* Effect of Karathane LC (Dinocap) on Human Lymphocytes. *Mutagenesis*, 20 (2): 101-104.

- Çelikler S., Saleh K. ve Sarhan M.A.A., 2010. Thiocyclam Does Not Induce Structural Chromosome Aberrations in Human Lymphocytes *in vitro*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17 (3): 215-217.
- Chakravarthi B.K., Naravaneni R., Philip G.H. ve Reddy C.S., 2009. Investigation of Monocrotophos Toxic Effects on Human Lymphocytes at Cytogenetic Level. *African Journal of Biotechnology*, 8 (10): 2042-2046.
- Chauhan L.K.S., Kumar M., Paul B.N., Goel S.K. ve Gupta S.K., 2007. Cytogenetic Effects of Commercial Formulations of Deltamethrin and/or Isoprotruron on Human Peripheral Lymphocytes and Mouse Bone Marrow Cells. *Enviromental and Molecular Mutagenesis*, 48 (8): 636-643.
- Chiu B. C.-H., Weisenburger D.D., Zahm S.H., Cantor K.P., Gapstur S.M., Holmes F., Burmeister L.F. ve Blair A., 2004. Agricultural Pesticide Use, Familial Cancer and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *Cancer Epidemiology, Biomarkers &Prevention*, 13 (4): 525-531.
- Chiu B.C.-H. ve Blair A., 2009. Pesticides, Chromosomal Aberrations, and Non-Hodgkin's Lymphoma. *Journal of Agromedicine*, 14 (2): 250-255.
- Çömelekoğlu Ü., Mazmancı B. ve Arpacı A., 2000. Pestisidlerin Kronik Etkisine Maruz Kalan Tarım İşçilerinde Eritrosit Süperoksit Dismutaz ve Katalaz Aktiviteleri, *Turkish Journal of Biology*, 24: 483-488.
- Cortes F. ve Pastor N., 2003. Induction of Endoreduplication by Topoisomerase II Catalytic Inhibitors. *Mutagenesis*, 18 (2): 105-112.
- Coşkun M. ve Coşkun M., 2003. Biyolojik Dozimetri ve İlgili Gelişmeler. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 34 (4): 207-218.
- Countryman P.J. ve Heddle J.A., 1976. The Production of Micronuclei from Chromosome Aberrations in Irradiated Cultures of Human Lymphocytes. *Mutation Research*, 41: 321-332.
- Dasika G.K., Lin S.J., Zhao S., Sung P., Tomkinson A. ve Lee E.Y., 1999. DNA Damage-Induced Cell Cycle Checkpoints and DNA Strand Break Repair in Development and Tumorigenesis. *Oncogene*, 18 (55): 7883-7899.
- Delen N., 2008. *Fungusitler*. Nobel Yayınevi, İzmir. 318 s.
- Demirci F. ve Maden S., 2006. Triazole Grubu Fungusitlerin Buğday Tohumlarında Çimlenme ve Çıkışa Etkileri. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 12 (2): 144-150.

- Demirel Ş. ve Zamani A.G., 2002. Mikronükleus Tekniği ve Kullanım Alanları. *Genel Tıp Dergisi*; 12 (3): 123-127.
- Demsia G., Vlastos D., Goumenou M. ve 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.
- Dimitrov B.D., Gadeva P.G., Benova D.K., Bineva M.V., 2006. Comparative Genotoxicity of the Herbicides Roundup, Stomp and Reglone in Plant and Mammalian Test Systems. *Mutagenesis*, 21 (6): 375-382.
- Eke D., 2007. Thimerosal'ın İnsan Lenfosit Hücre Kültürlerinde Genotoksik, Mutajenik ve Toksik Etkilerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Ekebaş S., Çakır Ş., Ertuğrul O. ve Kence A., 2000. Bazı Kimyasal Maddelerin (Azametifos, Diklorvos, Metil parathion, Aflatoksin B<sub>1</sub>) Mutajenik Etkisinin *Drosophila melanogaster*'de SMART Yöntemi ile Araştırılması. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24 (6): 563-569.
- Ennaceur S., Ridha D. ve Marcos R., 2008. Genotoxicity of the Organochlorine Pesticides 1,1-dichloro-2,2- bis(p-chlorophenyl)ethylene (DDE) and Hexachlorobenzene (HCB) in Cultured Human Lymphocytes. *Chemosphere*, 71 (7): 1335-1339
- EPA, 2000. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs-Pesticide Registration (PR) Retrieved June 6, 2012, from <http://www.epa.gov/pesticides/about/index.htm>
- EPA, 2008. Environmental Protection Agency, Myclobutanil; Pesticide Tolerance, Federal Register. 73 (59): 15930-15937. Retrieved June 6, 2012, from <https://federalregister.gov/a/E8-6205>
- EPA, 2009. *Risks of Myclobutanil Use to Federally Threatened California Red-legged Frog Pesticide Effects Determination*, Environmental Fate and Effects Division Office of Pesticide Programs, Washington. Retrieved June 6, 2012. from <http://nepis.epa.gov/Exe/ZyPDF.cgi?Dockey=P10063TE.PDF>
- Epel D., 1963. The Effects of Carbon Monoxide Inhibition on ATP Level and The Rate of Mitosis In the Sea Urchin Egg. *The Journal of Cell Biology*, 17: 315-319.
- Eroğlu H.E., 2009. Toxic Nuclear Effects of the Organophosphorus Insecticide Dichlorvos (DDVP) In Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Acta Biologica Hungarica*, 60(4): 409-416.

- Eroğlu H.E., Hamzaoğlu E., Aksoy A., Budak Ü. ve Albayrak S., 2010. Cytogenetic Effects Of *Helichrysum Arenarium* İn Human Lymphocytes Cultures, *Turkish Journal of Biology*, 34: 253-259.
- Evans H.J., Neary G.J. ve Williamson F.S., 1959. The Relative Biological Efficiency of Single Doses of Fast Neutrons and Gamma Rays in *Vicia faba* Roots and the Effect of Oxygen. Part II. Chromosome Damage; the Production of Micronuclei. *International Journal of Radiation Biology*, 1 (3): 216-229.
- Falck G., Catalán J. ve Norppa H., 1997. Influence of Culture Time on the Frequency and Contents of Human Lymphocyte Micronuclei with and without Cytochalasin-B. *Mutation Research*, 392 (1-2): 71-79.
- Fenech M. ve Morley A.A., 1985. Measurement of Micronuclei in Lymphocytes. *Mutation Research*. 147 (1-2): 29 -36.
- Fenech M., 1993. The Cytokinesis-Block Micronucleus Technique: A Detailed Description of the Method and Its Application to Genotoxicity Studies in Human Populations. *Mutation Research*. 285(1): 35 -44.
- Fenech M., 1998. Important Variables that Influence Base-Line Micronucleus Frequency in Cytokinesis-Blocked Lymphocytes- a Biomarker for DNA Damage in Human Populations. *Mutation Research*. 404 (1-2): 155 -165.
- Fenech M., 2000. The *in vitro* Micronucleus Technique, *Mutation Research*, 455 (1-2): 81-95.
- Fenech M., 2002. Biomarkers of Genetic Damage For Cancer Epidemiology. *Toxicology*, 181-182: 411-416.
- Fenech M., 2006. Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Evolves into a “Cytome” Assay of Chromosomal Instability, Mitotic Dysfunction and Cell Death, *Mutation Research*, 600 (1-2): 58-66.
- Fenech M., Aiyken C. ve Rinaldi J., 1998. Folate, Vitamin B12, Homocysteine Status and DNA Damage in Young Australian Adults. *Carcinogenesis*. 19 (7): 1163 -1171.
- Fenech M., Holland N., Chang W. P., Zeiger E. ve 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 (1-2): 271-283.

- Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S. ve Zeiger E., 2003. HUMN Project: Detailed Description of the Scoring Criteria for the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Using Isolated Human Lymphocyte Cultures. *Mutation Research*, 534(1-2): 65 -75.
- Feng S., Kong Z., Wang X., Peng P. ve Zeng E.Y., 2005. Assessing the Genotoxicity of Imidacloprid and RH-5849 in Human Peripheral Blood Lymphocytes *in vitro* with Comet Assay and Cytogenetic Tests. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61 (2): 239-246.
- Fındıklı Z. ve Türkoğlu Ş., 2010. Glyphos ve DDVP'nin *Allium cepa* L.'da Mitoz Bölünme ve Kromozomlar Üzerine Etkisi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31 (2): 49-62.
- Fishel F.M., 2005. *Pesticide Toxicity Profile: Triazole Pesticides*. Pesticide Information Office, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Retrieved June 6, 2012, from <http://edis.ifas.ufl.edu/pi105>.
- Fiskesjö G., 1985. The *Allium* Test as a Standard in Environmental Monitoring, *Hereditas*, 102 (1): 99-112.
- Ford J.H., Schultz C.J. ve Correll A.T., 1988. Chromosome Elimination in Micronuclei: a Common Cause of Hypoploidy. *The American Journal of Human Genetics*, 43 (5): 733-740.
- Garcia A.M., Benavides F.G., Fletcher T. ve Orts E., 1998. Paternal Exposure to Pesticides and Congenital Malformations. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 24 (6): 473-480.
- Gebel T., Kevekordes S., Pav K., Edenharder R. ve Dunkelberg H., 1997. *In vivo* Genotoxicity of Selected Herbicides in Mouse Bone-Marrow Micronucleus Test. *Archives of Toxicology*, 71: 193-197.
- Ghannoum M.A. ve Rice L.B., 1999. Antifungal Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 501-517.
- Giri S., Prasad S.B., Giri A. ve Sharma G.D., 2002. Genotoxic Effects of Malathion, an Organophosphorus Insecticide, Using Three Mammalian Bioassays *in vivo*. *Mutation Research*, 514 (1-2): 223-231.



- Goetz A.K. ve Dix D.J., 2009a. Toxicogenomic Effects Common to Triazole Antifungals and Conserved Between Rats and Humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238 (1): 80-89.
- Goetz A.K. ve Dix D.J., 2009b. Mode of Action for Reproductive and Hepatic Toxicity Inferred From a Genomic Study of Triazole Antifungals. *Toxicological Sciences*, 110 (2): 449-462.
- Goetz A.K., Ren H., Schmid J.E., Blystone C.R., Thillainadarajah I., Best D.S., Nichols H.P., Strader L.F., Wolf D.C., Narotsky M.G., Rockett J.C. ve Dix D.J., 2007. Disruption of Testosterone Homeostasis as a Mode of Action for the Reproductive Toxicity of Triazole Fungicides in the Male Rat. *Toxicological Sciences*, 95 (1): 227-239.
- Gökalp F.D. ve Kaymak F., 2002. The Cytogenetic Effects of Maleic Hydrazide in Human Lymphocyte Culture. *Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Dergisi B Serisi*, 3 (2): 141-147.
- Gökalp-Muranlı F.D. ve Kaymak F., 2004. The Cytogenetic Effects of Logran on Human Lymphocyte Culture. *Cytologia*, 69 (4): 467-473.
- Gökalp-Muranlı F.D. ve Kaymak F., 2008. Genotoxic Effects of Triasulfuron in Cultured Human Lymphocytes. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17 (8): 1007- 1013.
- González N.V., Soloneski S. ve Larramendy M.L., 2006. Genotoxicity Analysis of the Phenoxy Herbicide Dicamba in Mammalian Cells *in vitro*. *Toxicology In Vitro*, 20 (8): 1481-1487.
- Guadaño A., González-Coloma A. ve Peña E.D.L., 1998. Genotoxicity of the Insecticide Rotenone in Cultured Human Lymphocytes. *Mutation Research*, 414 (1-3): 1-7.
- Güler Ç. ve Çobanoğlu Z., 1997. *Pestisitler* (1. Baskı), Sağlık Bakanlığı Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, Ankara. 173 s.
- Güven G.S., Cuna T., Birinci N., Güven M., Onaran İ., Hacıhanefioğlu S. ve Ulutin T., 2006. 17- $\beta$  Estradiol ile İndüklenen İnsan Lenfositlerindeki Mikronükleus Sıklığının İncelenmesi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37: 10-13.
- Hagmar L., Brögger A., Hansteen I-L., Heim S., Högstedt B., Knudsen L., Lambert B., Linnainmaa K., Mitelman F., Nordenson I., Reuterwall C., Salomaa S., Skerfving S. ve Sorsa M., 1994. Cancer Risk in Humans Predicted by Increased Levels of Chromosomal Aberrations in Lymphocytes: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. *Cancer Research*, 54: 2919-2922.

- Hagmar L., Bonassi S., Strömberg U., Brøgger A., Knudsen L.E., Norppa H. ve Reuterwall C., 1998. Chromosomal Aberrations in Lymphocytes Predict Human Cancer: a Report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Research*, 58 (18): 4117-4121.
- Hagmar L., Strömberg U., Tinnerberg H., Mikoczy Z., 2001. The Usefulness of Cytogenetic Biomarkers as Intermediate Endpoints in Carcinogenesis. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 204 (1): 43-47.
- Heddle J.A., 1973. A Rapid Test for Chromosome Damage, *Mutation Research*, 18: 187-190.
- Heddle J.A., Cimino M.C., Hayashi M., Romagna F., Shelby M.D., Tucker J.D., Vanparys Ph. ve MacGregor J.T., 1991. Micronuclei as an Index of Cytogenetic Damage: Past, Present and Future. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 18 (4): 277-291.
- Hester S.D., Wolf D.C., Nesnow S. ve Thai S.F., 2006. Transcriptional Profiles in Liver from Rats Treated with Tumorigenic and Non-Tumorigenic Triazoles Conazole Fungicides: Propiconazole, Triadimefon, and Myclobutanil. *Toxicologic Pathology*, 34 (7): 879–894.
- Hill A.B., Jefferies P.R., Quistad G.B. ve Casida J.E., 1997. Dialkylquinoneimine Metabolites of Chloroacetanilide Herbicides Induce Sister Chromatid Exchanges in Cultured Human Lymphocytes. *Mutation Research*, 395 (2-3): 159-171.
- Holland N., Duramad P., Rothman N., Figgs L.W., Blair A., Hubbard A. ve Smith M.T., 2002. Micronucleus Frequency and Proliferation in Human Lymphocytes After Exposure to Herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid *in vitro* and *in vivo*. *Mutation Research*, 521 (1-2): 165-178.
- Hrelia P., Maffei F., Fimognari C., Vigagni F. ve Cantelli-Forti G., 1996. Cytogenetic Effects of Metalaxyl on Human and Animal Chromosomes. *Mutation Research*, 369 (1-2): 81-86.
- İla H.B., Topaktaş M., Rencüzoğulları E., Kayraldız A., Dönbak L. ve Dağlıoğlu Y.K., 2008. Genotoxic Potential of Cyfluthrin. *Mutation Research*, 656 (1-2): 49-54.
- Isubikalı P., Erbaugh J.M., Semana A.R. ve Adipala E., 1999. Influence of Farmer Production Goals on Cowpea Pest Management in Eastern Uganda: Implications for Developing IPM Programmes. *African Crop Science Journal*, 7 (4): 539-548.

- Jamil K., Shaik A.P., Mahboob M. ve Krishana D., 2004. Effect of Organophosphorus and Organochlorine Pesticides (Monocrotophos, Chlorpyrifos, Dimethoate and Endosulfan) on Human Lymphocytes *in-vitro*. *Drug and Chemical Toxicology*, 27 (2):133–144.
- Jenner P., 2001. Parkinson's Disease, Pesticides And Mitochondrial Dysfunction. *Trends In Neurosciences*, 24 (5): 245-246.
- Ji B.T., Silverman D.T., Stewart P.A., Blair A., Swanson G.M., Baris D., Greenberg R.S., Hayes R.B., Brown L.M., Lillemoe K.D., Schoenberg J.B., Pottern L.M., Schwartz A.G. ve Hoover R.N., 2001. Occupational Exposure to Pesticides and Pancreatic Cancer. *American Journal of Industrial Medicine*, 39 (1): 92-99.
- Jovtchev G., Gateva S., Stergios M. ve Kulekova S., 2010. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Paraquat in *Hordeum vulgare* and Human Lymphocytes *in vitro*. *Environmental Toxicology*, 25 (3): 294-303.
- Karabay N.Ü. ve Oğuz M.G., 2005. Cytogenetic and Genotoxic Effects of the Insecticides, Imidacloprid and Methamidophos. *Genetics and Molecular Research*, 4(4): 653-662.
- Kırımlı R., 2007. Bazı Fungusit ve İnsektisitlerin *Vicia faba* L. ve *Capsicum annuum* L. Türlerinin Kök Ucu Mitozu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Kirsch-Volders M., Elhajouji A., Cundari E. ve Van Hummelen P., 1997. The *in vitro* Micronucleus Test: a Multi-Endpoint Assay to Detect Simultaneously Mitotic Delay, Apoptosis, Chromosome Breakage, Chromosome Loss and Non-Disjunction. *Mutation Research*, 392 (1-2): 19-30.
- Kirsch-Volders M., Fenech M., 2001. Inclusion of Micronuclei in Nondivided Mononuclear Lymphocytes and Necrosis/Apoptosis May Provide a More Comprehensive Cytokinesis Block Micronucleus Assay for Biomonitoring Purposes. *Mutagenesis*. 16 (1): 51-58.
- Kirsch-Volders M., Sofuni T., Aardema M., Albertini S., Eastmond D., Fenech M., Ishidate M., Kirchner S., Lorge E., Morita T., Norppa H., Surralles J., Vanhauwaert A. ve Wakata A., 2003. Report from the *in vitro* Micronucleus Assay Working Group. *Mutation Research*, 540 (2): 153-163.
- Kocataş A., 2006. *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi* (9.baskı), E.Ü. Su Ürünleri Fakültesi yayınları ders kitapları dizisi No: 51, İzmir. 597 s.

- Lambert B., Hansson K., Lindsten J., Sten M. ve Werelius B., 1976. Bromodeoksyuridine-Induced Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocytes. *Hereditas*. 83 (2): 163-173.
- Madle S., Von der-Hude W., Broschinski L. ve Jänig G., 2000. Threshold Effects in Genetic Toxicity: Perspective of Chemicals Regulation in Germany. *Mutation Research*, 464 (1): 117-121.
- Majer B.J., Laky B., Knasmüller S. ve Kassie F., 2001. Use of the Micronucleus Assay with Exfoliated Epithelial Cells as a Biomarker for Monitoring Individuals at Elevated Risk of Genetic Damage and in Chemoprevention Trials. *Mutation Research*, 489: 147–172.
- Mamur S., 2009. Gıda Katkı Maddesi Olarak Kullanılan Sodyum Sorbat ve Potasyum Sorbat'ın İnsan Periferik Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Mansour S.A., 2004. Pesticide Exposure- Egyptian Scene, *Toxicology*, 198 (1-3): 91-115.
- Maron D.M. ve Ames B.N., 1983. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutation Research*, 113 (3-4): 173-215.
- Mazet A., Keck G. ve Berny P., 2005. Concentrations of PCBs, Organochlorine Pesticides and Heavy Metals (Lead, Cadmium and Copper) in Fish from the Drôme River: Potential Effects on Otters (*Lutra lutra*). *Chemosphere*, 61 (6): 810-816.
- Migliore L., Nieri M., Amodio S. ve Loprieno N., 1989. The Human Lymphocyte Micronucleus assay: A Comparison Between Whole-Blood and Separated-Lymphocyte Culture. *Mutation Research*, 227(3): 167-172.
- Mürk A. G. ve Cireli A., 2003. *Koruyucu Giysilerde Pestisid Penetrasyonu Ve Test Yöntemleri*. Türkiye VI. Pamuk, Tekstil ve Konfeksiyon Sempozyumu Bildirileri Kitabı, Antalya. 214-227.
- Natarajan A.T. ve Obe G., 1982. Mutagenicity Testing with Cultured Mammalian Cells. Cytogenetic Assays. Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology. Copyright 1982 by Academic Press, Inc. ISBN:0-12-336180-X.
- Natarajan A.T., 2002. Chromosome Aberrations: Past, Present and Future. *Mutation Research*, 504 (1-2): 3-16.
- Nesheim O.N., Fishel F.M. ve Mossler M., 2005. Toxicity Of Pesticides. Retrieved June 5, 2012, from <http://edis.ifas.ufl.edu/pi008>.

- Norppa H. ve Falck G.C., 2003. What Do Human Micronuclei Contain?. *Mutagenesis*, 18 (3): 221-233.
- Norppa H., Bonassi S., Hansteen I.L., Hagmar L., Strömberg U., Rössner P., Boffetta P., Lindholm C., Gundy S., Lazutka J., Cebulska-Wasilewska A., Fabiánová E., Šrám R.J., Knudsen L.E., Barale R. ve Fucic A., 2006. Chromosomal Aberrations and SCEs 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., Martinez-López W., Folle G.A. ve Drets M.E., 2002. Chromosomal Aberrations: Formation, Identification and Distribution. *Mutation Research*, 504 (1-2): 17-36.
- Osaba L., Rey M.J., Aguirre A., Alonso A. ve Graf U., 2002. Evaluation of Genotoxicity of Captan, Maneb and Zineb in the Wing Spot Tests of *Drosophila melanogaster*: Role of Nitrosation. *Mutation Research*, 518 (1): 95-106.
- Özkan D., Yüzbaşıoğlu D., Ünal F., Yılmaz S. ve Aksoy H., 2009. Evaluation of the Cytogenetic Damage Induced by the Organophosphorous Insecticide Acephate. *Cytotechnology*, 59: 73-80.
- Öztürk İ. ve Tosun N., 2004. Famoxadone ve Cymoxanil Etkili Maddeli Bir Fungusitin Domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Bitkisi Üzerine Fizyolojik Etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41 (3): 77-87.
- Pala F.S., Alkaya F., Tabakçioğlu K., Tokatlı F., Uzal C., Parlar Ş. ve Algüneş Ç., 2008. The Effects of Micronuclei with Whole Chromosome on Biological Dose Estimation. *Turkish Journal of Biology*, 32: 283-290.
- Parry E.M., Ballantine J.A., Ellard S., Evans S., Evans W.E., Jones C., Kilic N., ve Lewis R.I., 1997. Biomonitoring Study of Group of Workers Potentially Exposed to Traffic Fumes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 30 (2):119-130.
- Peace B.E. ve Succop P., 1999. Spontaneous Micronucleus Frequency and Age: What Are Normal Values?. *Mutation Research*, 425 (2): 225-230.
- Poletta G.L., Larriera A., Kleinsorge E. ve Mudry M.D., 2008. *Caiman latirostris* (Broad Snouted Caiman) as a Sentinel Organism for Genotoxic Monitoring: Basal Values Determination of Micronucleus and Comet Assay. *Mutation Research*, 650 (2): 202-209.
- Rank J. ve Nielsen M.H., 1993. A Modified *Allium* Test as a Tool in the Screening of the Genotoxicity of Complex Mixtures. *Hereditas*, 118 (1): 49-53.

- Rank J., Jensen A.G., Skov B., Pedersen L.H. ve Jensen K., 1993. Genotoxicity Testing of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient Glyphosate Isopropylamine Using the Mouse Bone Marrow Micronucleus Test, Salmonella Mutagenicity Test, and Allium Anaphase-Telophase Test. *Mutation Research*, 300 (1): 29-36.
- Reigart J.R. ve Roberts J.R., 1999. *Recognition and Management of Pesticide Poisonings* (5<sup>th</sup> Ed.), United States Environmental Protection Agency, Washington.137-138. Retrieved June 6, 2012, from <http://www.epa.gov/pesticides/safety/healthcare>.
- Rekha B., Naik S.N. ve Prasad R., 2006. Pesticide Residue in Organic and Conventional Food-Risk Analysis. *Journal of Chemical Health and Safety*, 13 (6): 12-19.
- Rencüzoğulları E., İla H.B., Kayraldız A., Arslan M., Budak-Diler S. ve Topaktaş M., 2004. The Genotoxic Effect of the New Acaricide Etoxazole. *Russian Journal of Genetics*, 40 (11): 1300-1304.
- Ribas G., Surrallés J., Carbonell E., Xamena N., Creus A. ve Marcos R., 1996. Genotoxicity of the Herbicides Alachlor and Maleic Hydrazide in Cultured Human Lymphocytes. *Mutagenesis*, 11 (3): 221-227.
- Ribeiro C.A., Vollaire Y., Sanchez-Chardi, A. ve Roche H., 2005. Bioaccumulation and the Effects of Organochlorine Pesticides, PAH and Heavy Metals in the Eel (*Anguilla anguilla*) at the Camargue Nature Reserve, France. *Aquatic Toxicology*, 74 (1): 53-69.
- Salama S.A., Serrana M. ve Au W.W., 1999. Biomonitoring Using Accessible Human Cells for Exposure and Health Risk Assessment. *Mutation Research*, 436: 99-112.
- Santovito A., Cervella P. ve Delperio M., 2011. *In vitro* Aneugenic Effects of the Fungicide Thiabendazole Evaluated in Human Lymphocytes by the Micronucleus Assay. *Archives of Toxicology*, 85 (6): 689-693.
- Sataloğlu N., Aydın B. ve Turla A., 2007. Pestisit Zehirlenmeleri. *TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni*, 6 (3): 169-174.
- Sato S. ve Tomita I., 2001. Short-Term Screening Method for the Prediction of Carcinogenicity of Chemical Substances: Current Status and Problems of an *in vivo* Rodent Micronucleus Assay. *Journal of Health Science*, 47 (1): 1-8.
- Satoh T., Hatanaka M., Yamamoto K., Kuro-o M. ve Sofuni T., 2002. Application of mFISH for the Analysis of Chemically-Induced Chromosomal Aberrations: A Model for the Formation of Triradial Chromosomes. *Mutation Research*, 504 (1-2): 57-65.

- Savage J.R., 1993. Update on Target Theory as Applied to Chromosomal Aberrations. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 22 (4): 198-207.
- Scarpato R., Migliore L. ve Barale R., 1990. The Micronucleus Assay in *Anodonta cygnea* for the Detection of Drinking Water Mutagenicity. *Mutation Research*, 245 (4): 231-237.
- Scassellati-Sforzolini G., Pasquini R., Moretti M., Villarini M., Fatigoni C., Dolara P., Monarca S., Caderni G., Kuchenmeister F., Schmezer P. ve Pool-Zobel B.L., 1997. *In vivo* Studies on Genotoxicity of Pure and Commercial Linuron. *Mutation Research*, 390 (3): 207-221.
- Şekeroğlu V. ve Atlı-Şekeroğlu Z., 2011. Genotoksik Hasarın Belirlenmesinde Mikronükleus Testi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 68 (4): 241-252.
- Şekeroğlu V., Atlı-Şekeroğlu Z. ve Kefelioğlu H., 2011. Cytogenetic Effects of Commercial Formulations of Deltamethrin and/or Thiacloprid on Wistar Rat Bone Marrow Cells. *Environmental Toxicology*, DOI 10.1002/tox.20746.
- Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R. ve Schneider E.L., 1988. A Simple Technique for Quantitation of Low Levels of DNA Damage in Individual Cells. *Experimental Cell Research*, 175 (1): 184-191.
- Sivikova K. ve Dianovsky J., 1999. Genotoxic Activity of the Commercial Herbicide Containing Bifenox in Bovine Peripheral Lymphocytes. *Mutation Research*, 439 (2): 129-135.
- Soyöz M. ve Özçelik N., 2003. Zirai Mücadelede Kullanılan Pestisitlerin Sitogenetik Etkileri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10 ( 1 ): 6-9.
- Sürmeli A., 2003. Organik Tarım: Gelişimi ve İlkeleri, Dev.Maden-Sen, Ankara.
- Sun X.H., Liu Y.F., Tan Z.C., Jia Y.Q., Wang M.H. ve Di Y.Y., 2005. Heat Capacity and Thermodynamic Properties of Myclobutanil. *Chinese Journal of Chemistry*, 23 (1): 23-27.
- Tezcan H., 2009. Arılara Dost Fungisit Kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 9 (1): 32- 38.
- Thoday J.M., 1951. The Effect of Ionizing Radiation on the Broad Bean Root. Part IX. Chromosome Breakage and the Lethality of Ionizing Radiations to the Root Meristem. *British Journal of Radiology*, 24 (287): 622-628.

- Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C. ve Sasaki Y.F., 2000. Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for *in vitro* and *in vivo* Genetic Toxicology Testing. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35 (3): 206–221.
- Timoroğlu İ., 2009. Trichlorfon ve Phorate İnektisitlerinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Tomanin R., Ballarin C., Nardini B., Mastrangelo G. ve Sarto F., 1991. Influence of Smoking Habit on the Frequency of Micronuclei in Human Lymphocytes by Cytokinesis Block Method. *Mutagenesis*, 6 (2):123-126.
- Topaktaş M. ve Rencüzoğulları E., 2010. *Sitogenetik* (2. Baskı), Nobel Yayın Dağıtım, Ankara. 75-85.
- Tucker J.D. ve Preston R.J., 1996. Chromosome Aberations, Micronuclei, Aneuploidy, Sister Chromatid Exchanges and Cancer Risk Assessment. *Mutation Research*, 365 (1-3): 147-159.
- Ünal F., Yüzbaşıoğlu D., Yılmaz S., Akıncı N. ve Aksoy H., 2011. Genotoxic Effects of Chlorophenoxy Herbicide Diclofop-Methyl in Mice *in vivo* and in Human Lymphocytes *in vitro*. *Drug and Chemical Toxicology*, 34 (4): 390-395.
- Üstüner D., 2011. Kromozom Kırıkları ve Mikronükleus-Apoptoz Bağlantısı. *Tüfav Bilim Dergisi*, 4(1): 64-69.
- Van't Hof J., 1968. The Action of IAA and Kinetin on the Mitotic Cycle of Proliferative and Stationary Phase Excised Root Meristem. *Experimental Cell Research*, 51 (1): 167-176.
- Viel J.F. ve Challier B., 1995. Bladder Cancer Among French Farmers: Does Exposure to Pesticides in Vineyards Play A Part? *Occupational and Environmental Medicine*, 52 (9): 587-592.
- Vural N., 2005. *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:73, Ankara. 659 s.
- Waddel B.L., Zahm S.H., Baris D., Weisenburger D.D., Holmes F., Burmeister L.F., Cantor K.P., Blair A., 2001. Agricultural Use of Organophosphate Pesticides and The Risk of Non- Hodgkin's Lymphoma Among Male Farmers (United States). *Cancer Causes and Control*, 12 (6): 509-517.



- Weizman Z. ve Sofer S., 1992. Acute Pancreatitis in Children with Anticholinesterase Insecticide Intoxication. *Pediatrics*, 90 (2): 204-206.
- Wolf D.C., Allen J.W., George M.H., Hester S.D., Sun G., Moore T., Thai S.F., Delker D., Winkfield, E., Leavitt S., Nelson G., Roop B.C., Jones C., Thibodeaux J. ve Nesnow S., 2006. Toxicity Profiles in Rats Treated with Tumorigenic and Nontumorigenic Triazole Conazole Fungicides: Propiconazole, Triadimefon, and Myclobutanil. *Toxicologic Pathology*, 34 (7): 895-902.
- Wultsch G., Miřík M., Nersesyan A., Knasmueller S., 2011. Genotoxic Effects Occupational Exposure Measured in Lymphocytes of Waste-Incinerator Workers. *Mutation Research*, 720 (1-2): 3-7.
- Yavuz-Kocaman A. ve Topaktaş M., 2007. *In vitro* Evaluation of the Genotoxicity of Acetamiprid in Human peripheral Blood Lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48 (6): 483-490.
- Yavuz-Kocaman A. ve Topaktaş M., 2009. The *in vitro* Genotoxic Effects of Commercial Formulation of  $\alpha$ -cypermethrin Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50 (1): 27-36.
- Yavuz-Kocaman A. ve Topaktaş M., 2010. Genotoxic Effects of a Particular Mixture of Acetamiprid and Alpha-cypermethrin on Chromosome Aberration, Sister Chromatid Exchange, and Micronucleus Formation in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Environmental Toxicology*, 25 (2): 157-168.
- Yavuz-Kocaman A., 2007. Acetamiprid ve Alpha-Cypermethrin Pestisidlerinin Tek Başına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman İnsan Periferik Lenfositlerindeki *In Vitro* Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Yeşil S. ve Ögür E., 2011. Ziraî Mücadelede Pestisit Kullanımının Türkiye ve Konya Ölçeğinde Değerlendirilmesi ve Pestisit Kullanımının Olası Sakıncaları. *I. Konya Kent Sempozyumu Bildiriler Kitabı*, Konya. 439-450.
- Yılmaz S., Aksoy H., Ünal F., Çelik M. ve Yüzbaşıoğlu D., 2008. Genotoxic Action of Fungicide Conan 5FL on Mammalian Cells *in vivo* and *in vitro*. *Russian Journal of Genetics*, 44 (3): 273-278.
- Yılmaz, S., 2008. Bazı Gıda Katkı Maddelerinin Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Yücer M.M., 2008. *Ruhsatlı Tarım İlaçları*. Hasad Yayıncılık. İstanbul. 52-82.

- Yüzbaşıoğlu D., Çelik M., Yılmaz S., Ünal F. ve Aksoy H., 2006. Clastogenicity of the Fungicide Afugan in Cultured Human Lymphocytes. *Mutation Research*, 604 (1-2): 53-59.
- Zeljezic D. ve Garaj-Vrhovac V., 2004. Chromosomal Aberrations, Micronuclei and Nuclear Buds Induced in Human Lymphocytes by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid Pesticide Formulation. *Toxicology*, 200 (1): 39-47.
- Zheng T., Zahm S.H., Cantor K.P., Weisenburger D.D., Zhang Y. ve Blair A., 2001. Agricultural Exposure to Carbamate Pesticides and Risk of Non-Hodgkin Lymphoma. *Journal of Occupational & Environmental Medicine*, 43 (7): 641-649.

## ÇİZELGELER

## Sayfa No

Çizelge 1. Külsil uygulanması ile insan periferal lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler ve mitotik indeks frekansı değişimleri.....	41
Çizelge 2. Külsil'in insan lenfositlerinde mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi.....	49

## ŞEKİLLER

## Sayfa No

Şekil 1. Sitotoksik ve genotoksik ajanların etkisi ile mikronükleus oluşumu, apoptozis ve nekroz.....	20
Şekil 2. Sitokinezin bloklanması yöntemiyle MN içeren binükleat hücrenin oluşumu.....	22
Şekil 3. Klastojen ve anojenler tarafından uyarılan hücrelerdeki mikronükleuslar.....	23
Şekil 4. Myclobutanil fungusinin yapısal formülü.....	33
Şekil 5. Bir nükleuslu insan lenfosit.....	37
Şekil 6. İki nükleuslu insan lenfosit.....	37
Şekil 7. Üç nükleuslu insan lenfosit.....	38
Şekil 8. Dört nükleuslu insan lenfosit.....	38
Şekil 9. Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Kromatid Kırığı b) Kromozom Kırığı.....	42
Şekil 10. Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Fragment b) Kardeş Kromatidlerde Birleşme.....	43
Şekil 11. Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Disentrik Kromozom b) Kromatid değişimi.....	44
Şekil 12. Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler a) Endoreduplikasyon b) Çeşitli anormallikler içeren poliploidi.....	45
Şekil 13. Külsil fungusiti ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesinin doza bağlı değişimi.....	46
Şekil 14. Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesinin doza bağlı değişimi.....	46
Şekil 15. Külsil fungusiti ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde doza bağlı KA/Hücre değişimi.....	47
Şekil 16. Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde doza bağlı KA/Hücre değişimi.....	47
Şekil 17. Külsil fungusiti ile 24 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı değişimi.....	48
Şekil 18. Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferel lenfositlerinde mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı değişimi.....	48

Şekil 19. Külsil fungusiti ile 48 saat muamele edilmiş insan periferal lenfositlerinde mikronükleus frekansı yüzdesinin doza bağlı değişimi.....	49
Şekil 20. Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde görülen mikronükleuslu binükleat hücreler a) Bir mikronükleuslu binükleat hücre b) İki mikronükleuslu binükleat hücre.....	50
Şekil 21. Külsil uygulaması sonucu insan lenfositlerinde görülen mikronükleuslu binükleat hücreler a) Üç mikronükleuslu binükleat hücre b)Dört mikronükleuslu binükleat hücre.....	51

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER:

Adı Soyadı: Nihan AKINCI

Doğum Yeri: Tokat

Doğum Tarihi: 05.11.1986

### EĞİTİM DURUMU:

Lisans Öğrenimi: Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü.

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ:

a) Yayınlar-SCI- Diğer:

Ünal F., Yüzbaşıoğlu D., Yılmaz S., **Akinci N.**, Aksoy H., 2011. Genotoxic effects of chlorophenoxy herbicide diclofop-methyl in mice *in vivo* and in human lymphocytes *in vitro*. Drug and Chemical Toxicology. 34(4): 390-395.

b) Bildiriler- Uluslararası- Ulusal:

Ünal F., Yüzbaşıoğlu D., Yılmaz S., **Akinci N.**, Aksoy H., 2009. Genotoxic Effects Of Diclofop Methyl On Mammalian Cells *In Vivo* and *In Vitro*. X International Conference on Environmental Mutagens. 20-25 August 2009, Florence/ITALY.

**Akinci N.**, Polat E, Çetin M, Akı C., 2010. *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Capsicum annuum* L. Türlerinde Hüyük Asitin Total Protein ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkileri. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 21-25 Haziran 2010, Denizli/TÜRKİYE.

Polat E, **Akinci N.**, Çetin M, Akı C., 2010. *Lycopersicon esculentum* Mill. ve *Capsicum annuum* L. Türlerinde AminoQuelant-Ca Uygulamasının Total Protein ve Peroksidaz Aktivitesi Üzerine Etkileri. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi (Uluslararası Katılımlı). 21-25 Haziran 2010, Denizli/TÜRKİYE.

### İŞ DENEYİMİ:

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

Gazi Üniversitesi Sağlık Kültür ve Spor Dairesi Başkanlığı Mediko Birimi Haziran 2005- Temmuz 2009.

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi 2009-...

İLETİŞİM: e-posta: akincinihan@gmail.com - nakinci@comu.edu.tr

