



**İMİDAKLOPRİD ve ASETAMİPRİD'İN BAĞIŞIK YANIT ve LİPİD  
PEROKSİDASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

**ŞEYDA KAYA**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI  
Dr. Öğr. Üyesi Emel CANPOLAT  
Ağustos - 2019  
Her hakkı saklıdır**

T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İMİDAKLOPRİD ve ASETAMİPRİD'İN BAĞIŞIK YANIT ve LİPİD  
PEROKSİDASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

ŞEYDA KAYA

TOKAT  
Ağustos - 2019

Her hakkı saklıdır



**Bu tez çalışması;**

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından 2018/48 nolu proje ile desteklenmiştir.

Şeyda KAYA tarafından hazırlanan “İmidakloprid ve Asetamiprid’in Bağışık Yanıt ve Lipid Peroksidasyonu Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 23 AĞUSTOS 2019 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği / Oy Çokluğu ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Dr. Öğr. Üyesi Emel CANPOLAT

Üye  
Doç. Dr. Ferda ESER  
Amasya Üniversitesi

Üye  
Dr. Öğr. Üyesi Yaşar GÜLMEZ  
Gaziosmanpaşa Üniversitesi

ONAY

Prof. Dr. Çetin ÇEKİCİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



## TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.



**ŞEYDA KAYA**

**23 Ağustos 2019**

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

# İMİDAKLOPRİD ve ASETAMİPRİD'İN BAĞIŞIK YANIT ve LİPİD PEROKSİDASYONU ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

ŞEYDA KAYA

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ EMEL CANPOLAT)

Neonikotinoidler yeni bir insektisit sınıfı olup son yıllarda özellikle tarım alanında ekinleri ve yapraklı sebzeleri etkileyen yaprak bitleri, yaprak pireleri, böcekler, güve ve haşereler ile mücadelede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu çalışmada, özellikle tarım ve veterinerlikte böcekleri öldürmek için kullanımı olan ancak maruz kaldığı zaman diğer organizmalarda da potansiyel tehdit olabileceği belirlenen neonikotinoid grubu insektisitlerden imidakloprid ve asetamipridin bağışık yanıt ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, imidakloprid ve asetamiprid canlı ağırlığına göre 5 mg/kg ve 10 mg/kg olacak şekilde iki farklı dozda hazırlanarak 30 gün boyunca oral gavaj yoluyla farelere verilmiştir. İsektisitlerin verilmesinden sonra 7. ve 17. günlerde farelere antijen olarak ovalbumin (OVA) verilmiştir. İmmünizasyonlardan sonra elde edilen serum örneklerinde OVA-spesifik antikor cevabı ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. İmidaklopridin 10 mg/kg'lık dozunun 5 mg/kg'lık dozla karşılaştırıldığında anti-OVA spesifik IgG, IgG1 ve IgG2a seviyesini belirgin ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Asetamipridin farklı dozlarının ise IgG, IgG1 ve IgG2a seviyelerinde değişikliğe neden olmadığı görülmüştür. IgM seviyelerinde ise belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. Sonuçlar imidaklopridin asetamipridle karşılaştırıldığında doza bağlı olarak bağışık yanıtı baskıladığını göstermektedir. İmidakloprid ve asetamiprid verilen farelerin karaciğer dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki dozda da (5 mg/kg ve 10 mg/kg ) MDA seviyelerinde belirgin şekilde artış gözlenmiştir.

2019, 52 SAYFA

**ANAHTAR KELİMELELER:** Neonikotinoid, İmidakloprid, Asetamiprid, Ovalbumin (OVA), ELISA, Bağışık yanıt, Lipid peroksidasyonu

## **ABSTRACT**

### **MASTER THESIS**

#### **DETERMINATION OF THE EFFECTS OF IMIDACLOPRID AND ACETAMIPRID ON IMMUNE RESPONSE AND LIPID PEROXIDATION**

**ŞEYDA KAYA**

**TOKAT GAZIOSMANPASA UNIVERSITY  
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOLOGY**

**(SUPERVISOR: ASST. PROF. DR. EMEL CANPOLAT)**

Neonicotinoids are a new class of insecticides and have been used extensively in the fight against aphids, leaf fleas, insects, moths and pests affecting crops and leafy vegetables in recent years. Imidacloprid and acetamiprid are insecticides from neonicotinoid group, which are widely used for killing insects especially in agriculture and veterinary, but which can be a potential threat to other organisms. The aim of this study was to determine the effects of imidacloprid and acetamiprid on immune response and lipid peroxidation. For this purpose, imidacloprid and acetamiprid were prepared in two different doses at 5 mg/kg and 10 mg/kg according to the body weight and were given to the mice by oral gavage for 30 days. After administration of insecticides, mice were immunized with ovalbumin (OVA) as antigen on days 7 and 17 OVA-specific antibody response was determined by ELISA in serum samples obtained after immunizations. 10 mg/kg dose of imidacloprid was found to significantly reduce the amount of anti-OVA specific IgG, IgG1 and IgG2a when compared to 5 mg/kg dose. However different doses of acetamiprid did not cause significant changes in IgG, IgG1 and IgG2a levels. There was no significant changes in IgM levels. The results show that imidacloprid suppresses immune response in a dose-dependent manner when compared to acetamiprid. It has been shown that MDA levels were significantly increased in livers of mice exposed to 5 mg/kg ve 10 mg/kg doses of imidacloprid and acetamiprid when compared to control groups.

2019, 52 PAGE

**KEYWORDS:** Neonicotinoid, Imidacloprid, Acetamiprid, Ovalbumin (OVA), ELISA, Immune response, Lipid peroxidation

## ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmam konusunun araştırılmasında ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emel CANPOLAT'a teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve tecrübesini her zaman tatlı bir dille aktaran Gaziosmanpaşa Üniversitesi Genel Biyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Sayın Elif KAYMAK ÜSTÜN'e, Yüksek lisans eğitimim boyunca emeği geçen tüm Gaziosmanpaşa Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölüm hocalarıma ve arkadaşlarıma, deney hayvanlarının bakımını üstlenen Gaziosmanpaşa Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Birimi (DETAB)'nde görev alan Veteriner Teknikeri Sayın Yılmaz ÖZCAN' a teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca yapmış oldukları maddi manevi yardımlarla, büyük sabır ve fedakârlık ile bugünlere gelmemi sağlayan annem Sevgi KAYA ve babam Turgay KAYA'a her zaman yanımda olan sevgilerini her daim hissettiğim abilerim Orhan KAYA ve Erhan KAYA'a çok teşekkür ederim.

**ŞEYDA KAYA**

**23 Ağustos 2019**



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>ii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER</b> .....	<b>vi</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGE LİSTESİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİ</b> .....	<b>3</b>
2.1. Pestisitler.....	3
2.2. Pestisitlerin Yapısı .....	3
2.3. Pestisitlerin Vücuda Alınma Yolları .....	4
2.3.1. Gözle temas yolu .....	4
2.3.2. Ağızla temas yolu .....	4
2.3.3. Solunum ile temas yolu.....	5
2.3.4. Deri ile temas yolu .....	5
2.4. Pestisitlerin Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri .....	5
2.4.1. Pestisitlerin çevre üzerindeki etkileri.....	5
2.4.2. Pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri .....	6
2.5. Pestisitlerin Kullanımı .....	7
2.5.1. Dünyada pestisit kullanımı .....	7
2.5.2. Türkiye'de pestisit kullanımı.....	8
2.6. Pestisitlerin Zehirlilik Sınıflandırması.....	9
2.7. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	10
2.7.1. Formülasyon şekillerine göre.....	10
2.7.2. Etkiledikleri zararlı gruplarına göre.....	11
2.7.3. Kullanma tekniğine göre.....	11
2.7.4. Etkiledikleri zararlıların biyolojik dönemine göre.....	11

2.7.5. Zararlılara etki yollarına göre .....	11
2.7.6. Toksik özelliklerine göre .....	12
2.7.7. Kontrol ettiği zararlıların bulunduğu yere göre .....	12
2.7.8. İlacın fiziki haline göre .....	12
2.7.9. Bileşimindeki etkili madde grubuna göre .....	12
2.8. Neonikotinoidler .....	13
2.8.1. İmidakloprid.....	15
2.8.2. Asetamiprid.....	16
2.9. Bağışıklık Sistemi (İmmün Sistem).....	16
2.9.1. Doğal bağışıklık.....	17
2.9.2. Sonradan kazanılan (edinsel) bağışıklık .....	17
2.10. Lipid Peroksidasyonu (MDA Tayini) .....	22
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>	<b>24</b>
3.1. Materyal .....	24
3.1.1. Deney hayvanları .....	24
3.1.2. İnsektisitler.....	24
3.1.3. Antikorlar .....	26
3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler .....	26
3.1.5. Kullanılan diğer malzemeler.....	26
3.1.6. Kullanılan cihazlar .....	27
3.2. Yöntem.....	28
3.2.1. Oral yoldan madde uygulamaları ve enjeksiyonlar .....	28
3.2.2. Serum örneklerinin elde edilmesi .....	29
3.2.3. ELISA testleri .....	29
3.2.4. MDA deneyleri için doku homojenatlarının hazırlanması .....	30
3.2.5. Malondialdehit (MDA) tayini .....	31
3.2.6. Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz.....	32
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>33</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>40</b>
<b>6. KAYNAKLAR .....</b>	<b>44</b>
<b>7. EKLER .....</b>	<b>48</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>52</b>

## SİMGELER

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
°C	Celsius
g	Gram
kD	Kilodalton
kg	Kilogram
mg	Miligram
mL	Mililitre
ng	Nanogram

## KISALTMALAR

<b>Kısaltmalar</b>	<b>Açıklama</b>
ACE	Asetamiprid
ACh	Asetilkolin
AE	Aerosoller
BSA	Bovine Serum Albumin
CHO	Çin Hemsteri Yumurtalık Hücresi
DEA	Dietanolamin
DETAB	Deneyel Tıp Araştırma Birimi
dk	Dakika
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DP	Toz ilaçlar
DS	Kuru tohum ilaçları
ELISA	Enzim Bağlı İmmüno Sorbent Deneyi
Fab	Antijen bağlayıcı kısım
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
Fc	Kuyruk kısmı
GR	Granüller
HADYEK	Hayvan Deneyleti Etik Kurulu
HCl	Hidroklorik asit
IgA	İmmünoglobulin A
IgD	İmmünoglobulin D
IgE	İmmünoglobulin E
IgG	İmmünoglobulin G
IgG1	İmmünoglobulin G1
IgG2	İmmünoglobulin G2
IgG2a	İmmünoglobulin G2a
IgG3	İmmünoglobulin G3
IgG4	İmmünoglobulin G4
IgGb	İmmünoglobulin Gb
IgM	İmmünoglobulin M

IMI	İmidakloprid
KCl	Potasyum klorür
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Potasyum dihidrojen fosfat
LC50	Öldürücü konsantrasyon
LD50	Öldürücü doz
LOO•	Lipid peroksit radikali
MDA	Malondialdehit
$\text{MgCl}_2$	Magnezyum klorür
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Magnezyum klorür hekza hidrat
MÖ	Milattan önce
MSS	Merkezi sinir sistemi
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	Sodyum karbonat
NaCl	Sodyum klorür
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	Sodyum dihidrojen fosfat
$\text{NaHCO}_3$	Sodyum bikarbonat
$\text{NaN}_3$	Sodyum azit
OVA	Ovalbumin
pH	Hidrojen gücü
PL	Pelletler
PNPP	Para nitrofenil fosfat
sRBC	Koyun Kırmızı Kan Hücresi
TB	Tabletler
TBA	Tiyobarbütirik asit
TCA	Triklorasetik asit
Th	Yardımcı T hücreler
Th1	Yardımcı T1 hücreler
Th2	Yardımcı T2 hücreler
TİSİT	Tarım İlaçları Sanayici, İthalatçı ve Temsilcileri Derneği
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

## ŞEKİL LİSTESİ

<b><u>Şekil</u></b>	<b><u>Sayfa</u></b>
Şekil 2.1. Pestisit gruplarına göre dünyada tarım ilacı kullanımı .....	8
Şekil 2.2. Ülkemizde tarımsal ilaç kullanımı (ton)* tahmini değer .....	8
Şekil 2.3. Ülkemizdeki pestisitlerin % kullanım payları .....	9
Şekil 2.4. Neonikotinoid çeşitleri .....	14
Şekil 2.5. İmidakloprid ve nikotinin kimyasal yapıları .....	15
Şekil 2.6. Asetamipridin kimyasal yapısı. ....	16
Şekil 2.7. Bağışıklık sisteminde bağışıklık savunma hatları .....	18
Şekil 2.8. Antijene karşı birincil ve ikincil yanıt .....	18
Şekil 2.9. Hümorale bağışık yanıtın oluşması .....	19
Şekil 2.10. Bir IgG molekülün şematik modeli .....	20
Şekil 2.11. İmmünoglobulin çeşitleri.....	21
Şekil 3.1. İmidaklopridin açık formülü.....	25
Şekil 3.2. Asetamipridinin açık formülü.....	25
Şekil 3.3. Oral gavaj ile imidakloprid ve asetamiprid (5 mg/kg ve 10 mg/kg) uygulaması.....	28
Şekil 3.4. İntraperitoneal olarak OVA (ovalbumin-T-bağımlı antijen) uygulaması .....	28
Şekil 3.5. Serum örneklerinin elde edilmesi .....	29
Şekil 3.6. Substrat eklenmiş ELISA mikropalakası .....	30
Şekil 3.7. Farelerden diseksiyon yöntemiyle karaciğer dokusunun alınması ...	31
Şekil 3.8. MDA'nın TBA ile oluşturduğu renkli kompleks .....	31
Şekil 4.1. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgG antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri .....	35
Şekil 4.2. Asetamipridin (ACE) anti-OVA IgG antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri .....	35
Şekil 4.3. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgG1 antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri.....	36
Şekil 4.4. Asetamipridin (ACE) anti-OVA IgG1 antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri.....	36
Şekil 4.5. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgG2a antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri.....	37

Şekil 4.6. Asetamiprid (ACE) anti-OVA IgG2a antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri.....	37
Şekil 4.7. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgM antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri.....	38
Şekil 4.8. Asetamipridin (ACE) anti-OVA IgM antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri.....	38
Şekil 4.9. İmidakloprid ve asetamipridin (5 mg/kg ve 10 mg/kg) karaciğerdeki lipid peroksidasyon seviyeleri.....	39



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Çizelge

### Sayfa

Çizelge 2. 1. Neonikotinooidlerin fiziksel özellikleri.....	14
Çizelge 4. 1. Deneyde kullanılan farelerin haftalara göre ağırlık tablosu .....	34





## 1. GİRİŞ

Dünya nüfusu günümüzde giderek artmakta ve buna paralel olarak nüfusun beslenme ihtiyacını karşılamak için birim alandan daha fazla ürün elde edilmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalar kapsamında sebzeçilik, meyvecilik ve bağcılık gibi topraktan ürün alınması esasına dayalı uygulamalarda ürünlerin zararlılardan korunması, bol ve kaliteli ürün elde edilmesi için kimyasal mücadele yöntemleri geliştirilip kullanılmaya başlanmıştır. Tarım ürünlerinde ekonomik kayba neden olan zararlı organizmaların etkisini ortadan kaldıran, sentetik veya doğal yollar ile elde edilen kimyasal madde ya da maddelerden oluşan karışımlara pestisit adı verilir (Açar, 2015). Kimyasal mücadele kapsamında kullanılan pestisitler uygulama sonrası belirli bir süreç içerisinde toprakta birikmekte ve zamanla toprak mikroorganizmaları ve bazı hayvansal zararlıların yok olmasına neden olmaktadır. Bitkiler tarafından alınabilen pestisitlerden bazıları ağır metaller (alüminyum, bakır, kalay vb.) içerdikleri için yarılanma ömürleri uzundur ve insanlarda bazı sağlık sorunlarını da peşinden getirmektedir (Menzer ve ark., 1986).

Dünyada ve ülkemizde kaliteli ürünler elde etmek amacıyla zararlıların yok edilmesi için pestisit kullanımı devam etmektedir. İnsanların besin kalitesini artırmak ve daha kolay uygulamalarla ürünleri üretip tüketmek amacıyla kullanılan pestisitler, hedef organizmaları yok etmek için tasarlanmış olsa da hedef dışı canlılarda da zararlı etkileri tespit edilmiştir (McEwen ve ark., 1989). Daha önce yapılan çalışmalarda pestisit uygulamalarında gerekli koruyucu önlemlerin alınmaması durumunda pestisitlerin bir kısmı hedef canlıya etki ederken diğer kısmı doğada besin zincirine katılarak akut ve kronik toksik etkiye neden olmaktadır. Kullanılan birçok pestisit türünde atmosfer kirliliğine neden olan maddeler bulunmaktadır. Yapısında bulunan bu zararlı maddeler hedef dışı organizmaların sinir, endokrin, gastrointestinal ve immün (bağışıklık) sistemini etkileyebilmektedir (Guest ve ark., 1991).

Böceklerin kontrolü amacıyla kullanılan pestisitlere insektisit adı verilir. Neonikotinoidler yeni bir insektisit sınıfı olup son yıllarda özellikle tarım alanında ekinleri ve yapraklı sebzeleri etkileyen yaprak bitleri, yaprak pireleri, böcekler, güve ve haşereler ile mücadelede yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Etki sürelerinin uzun

olması, düşük dozlarda böceklere yüksek etkinlik göstermeleri, memelilerde zehirliliklerinin orta derecede olması, organik fosforlu ve karbamatlı insektisitlere karşı oluşan dayanıklı popülasyonların mücadelesinde etkili olmaları nedeniyle kullanım alanları her geçen gün artmaktadır.

Neonikotinoidler, böceklere karşı yüksek toksisiteye sahip olmalarına rağmen memelilere ve suda yaşayan organizmalara karşı düşük seviyede akut ve kronik toksisiteye sahip insektisitler olarak kabul edilmektedirler (Arfat ve ark., 2014).

İmidakloprid ve asetamiprid neonikotinoid grubu insektisitler grubuna dahil olup, özellikle hem ülkemizde hem de diğer pek çok ülkede zararlılarla mücadelede yaygın kullanıma sahiptirler. Yapılan çalışmalarda imidakloprid ve asetamipridin memelilerde düşük toksisiteye sahip olduğu şeklinde görüşler belirtilmiştir fakat son yıllarda elde edilen verilere göre imidaklopridin gastrointestinal irritasyona ve beyin, kalp, böbrek ve karaciğer gibi organlarda hasara neden olduğu belirtilmiştir (Yeh ve ark., 2010; Kammon ve ark., 2012). Asetamipridin de kullanım dozlarında ki farklılıklara bağlı olarak organizmanın bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (Singh ve ark., 2012; Mondal ve ark., 2008). Pestisitlerin immünosupresyona neden olduğu ve özellikle immünosupresyonun da enfeksiyon hastalıklarına karşı duyarlılığı arttırdığı ve yabancı antijenlere karşı bağışık yanıtı azalttığı dikkate alındığında bu pestisitlerin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin anlaşılması önem arz etmektedir.

Bu çalışmada hem imidakloprid hem de asetamipridin belirli dozlarda uygulandığı zaman özellikle antijenlere karşı hümorale bağışık yanıt üzerindeki etkilerine ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkisine bakılmıştır. Özellikle imidakloprid ve asetamiprid ile daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak bu çalışmamızda, her iki insektisit türü belirli dozlarda deney hayvanlarına verilerek T-bağımlı bir antijene (ovalbumin) karşı hümorale bağışık yanıtın nasıl şekillendiği belirlenerek yaygın olarak kullanılan bu insektisitlerin bağışık yanıt üzerindeki etkileri tespit edilmeye çalışılmıştır.

## **2. GENEL BİLGİ**

### **2.1. Pestisitler**

Tarım ürünlerini zararlılardan korumak amacıyla zararlı organizmaların (haşere, mikroorganizma ve diğer zararlılar) etkisini ortadan kaldıran, sentetik veya doğal yollardan elde edilerek üretilen maddelere pestisit adı verilir (Kaygısız, 2003). Pestisitler, kimyasal bir madde olabileceği gibi virüs veya bakteri gibi canlı formları veya kapalı gibi herhangi bir araç da olabilir. Kullanımı çok eski zamanlara dayanan pestisitlerin çeşitli haşerelere karşı korunmak için hazırlanan kimyasalların kayıtları M.Ö. 1500 yıllarına ait bir papirüs üzerinde bulunmuştur. Pestisitlerin insanlar ve hedef olmayan diğer canlılar üzerinde olumsuz etkileri görülmektedir (Arfat, 2014). İnsan vücudunda pestisitlerin kalıntılarının bulunması sonucunda zirai ilaçların zararlarına dikkat çekilmiş ve insanlarda ki etkilerinin araştırılması için çalışmalar başlamıştır.

Akut ve kronik pestisit zehirlenmeleri sonucunda insanlarda kanser, alerjik reaksiyonlar ve sinir sistemi tahribatının yanında öğrenme güçlüğü, hafıza kaybı ve bilişsel beceriler de etkilenmektedir (Anonim, 2015). İnsan ve diğer birçok canlı türü için hayati öneme sahip olan DNA da mutasyona ve enzim fonksiyonlarında da bozulmalara neden olmaktadır (Anonim, 2011). Pestisitlerde bulunması gereken maksimum kalıntı değeri 1960 yılında Gıda Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ortaklığı ile geniş çaplı araştırmalar sonucunda kurulan “Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi” tarafından bilimsel verilere dayandırılarak açıklanmıştır (Anonim, 2008). Ancak, pestisitlerin aşırı ve bilinçsiz kullanılması çevreyi ve insan sağlığını olumsuz etkileyerek pek çok sorunu da beraberinde getirmiştir. Tüm dünyada tarımın temel taşı haline gelen pestisitlerin, tarımsal ürünlerdeki kalıntıları sonucu insan sağlığına ve çevreye olan riskleri göz önüne alınmalıdır ve pestisit kullanımı kontrol altında tutularak takibi yapılmalıdır.

### **2.2. Pestisitlerin Yapısı**

Zararlı anlamına gelen ve Latince bir kök olan “pest” ile öldüren veya öldürme eylemi anlamına gelen “cide” kelimelerinin birleşmesiyle oluşan pesticide (pestisit) terimi haşere

ilaçlarını, organizmayı biyolojik olarak kontrol edici maddeleri ve çevre koruma ilaçlarını da kapsamaktadır. Bu kapsamda kullanılan pestisitlerin üretimi sentetik olarak veya bitkilerden elde edilerek yapılmaktadır. Bir pestisit saf olarak kullanılması uygun değildir ve pestisitler saf olarak uygulandıklarında düşük etki gösterebilirler (Öncüer, 2000). Bu nedenle pestisitler formülasyon adı verilen yaygın olarak tarım ilacı yapımında kullanımı olan aktif maddeler ile karıştırılarak kullanılırlar (Güler ve ark., 1997; Anonim, 2005). İnsan ve çevre sağlığını korumak amacıyla toksik etki gösteren aktif maddeler ile yardımcı maddeler karışım haline getirilerek beraber kullanılmaktadır (Anonim, 2005).

Pestisitlerin yapısını oluşturan üç ana kısım; etkili madde, dolgu maddesi ve diğer maddelerdir. Öldürücü etkiye sahip en temel kısım etkili maddedir. Dolgu maddesi, bitkilerle veya herhangi bir kimyasal bileşikle kimyasal olarak etkileşime girmeyip etkili maddenin olduğu kısımdır. Diğer maddeler ise bitkiler için zehirliliği azaltan bileşikler, pestisit tesirini ve dayanma süresini artıran kısım olarak tanımlanmaktadır (Öncüer, 2000).

### **2.3. Pestisitlerin Vücuda Alınma Yolları**

#### **2.3.1. Gözle temas yolu**

Pestisitlerin sentetik veya bitkisel olarak üretiminde, sıvı ve toz ilaçların paketlenmesi, tanklara doldurulması sırasında meydana gelmektedir. Olası bu tehlikeleri önlemek amacıyla kontak lens veya koruyucu gözlük gibi araçlar kullanılmaktadır.

#### **2.3.2. Ağızla temas yolu**

Pestisitlerin ağız yoluyla vücuda alınması, pestisit kullanan tarım çalışanlarının uygulama sonrasında ellerini yıkamadan yiyecekleri yemesi ya da sigara içmesi sonucunda maruziyet ve yine pestisit uygulaması yapanların veya üreticilerinin üretim yerlerindeki kaza veya dikkatsizlik sonucunda teması ile gerçekleşmektedir (Anonim, 2016).

### **2.3.3. Solunum ile temas yolu**

Sıvı ve toz ilaçların imalatı veya uygulanmaları sırasında bir kısım pestisit havada asılı kalmaktadır. Bu havanın solunması ile birlikte ağız yolu ile pestisit maruziyeti gerçekleşmektedir. Solunum ile maruziyet en fazla fumigant ilaçlarda görülür çünkü buharlaşma özelliği en yüksek olan ilaçlar olarak belirlenmiştir (Açar, 2015).

### **2.3.4. Deri ile temas yolu**

Pestisitlerin herhangi bir yolla deriye temas etmesi durumunda absorpsiyon pestisitinin emilme özelliğine ve vücudun değişik kısımlarına bağlı olarak farklı sürelerde gerçekleşmektedir. Deride emilimin en çok gerçekleştiği yer ön kol (bilek-dirsek) olarak belirtilmiş ve kasık bölgesine oranla 11 kat daha hızlı emilimin gerçekleştiği kanıtlanmıştır (Anonim, 2005). İnsan ve canlıların tümü risk altında olmasına rağmen özellikle hamile kadınlar ve vücut yağ oranı fazla olan kişiler deri ile gerçekleşen emilim için hassas olan gruplardır (Anonim, 2016).

## **2.4. Pestisitlerin Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri**

### **2.4.1. Pestisitlerin çevre üzerindeki etkileri**

Tarım ürünlerinden verim almak için tüm dünyada pestisit kullanılmasının sonucunda insan, hayvan ve çevre sağlığı olumsuz şekilde etkilenmektedir. Pestisitler tarım alanlarında veya bahçe uygulamalarında kullanıldıklarında ekolojik döngüye katılarak havaya, suya ve toprağa karışıp oradan da canlılara geçmektedir. Bir pestisitinin kullanımından sonra çevredeki hareketlerini iklim ve tarımsal koşullar, pestisitinin fiziksel ve kimyasal yapısı, formülasyon tipi ve uygulama şekli etkilemektedir (Yıldırım, 2008).

Pestisit uygulaması yapıldıktan sonra sadece o bölgedeki toprak ve suya karışmayıp aynı zamanda uygulama dışındaki bölgelere taşınarak o bölgelerde de olumsuz etkilere sebep olmaktadır (Vural, 2005). Tarımsal uygulama sırasında pestisitlerin bir bölümü buharlaşma ve dağılma ile havaya karışıp rüzgârla taşınmakta ve yağmur, sis veya kar

gibi doğa olayları ile tekrar yeryüzüne dönmektedir. Diğer bölümü ise uygulama sonrasında bitki ve toprak yüzeyinde bulunmaktadır.

Dünyanın var olduğu günden bu yana toprak, insanlar, hayvanlar, bitkiler ve mikroorganizmalar için oldukça önemli bir yere sahiptir ve zararlı maddelere karşı filtre görevi yapmaktadır (Yıldırım, 2008). Pestisitlerin toprağa karışmasında topraktaki kil oranı, organik ve inorganik madde miktarı, toprağın pH ve mikroorganizma türlerinin baskınlığı etkilidir.

Su, dünyanın en önemli yaşam kaynaklarının başında yer alır. Su kaynaklarının içinde bulunan veya kenarındaki bitki ve böceklerle mücadelede kullanılan tarım ilaçları yeraltı suyunun kirliliğine neden olabilmektedir. Sularda bulunan ve zamanla biriken insektisit kalıntıları çözünmeden uzun süre suda kalabilirler ve plankton gibi canlılara tutunup birikebilmektedirler (Altıkat ve ark., 2009). Pestisitler bu şekilde besin zincirine katılarak, suda yaşayan canlılara zarar vererek dolaylı yollardan insan sağlığına olumsuz etkilere neden olurlar.

#### **2.4.2. Pestisitlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri**

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre akut ve kaza olarak gerçekleşen zehirlenme oranının dünyada 3.5-5 milyon civarında olduğu tahmin edilerek bunun yaklaşık yirmi bininin ölümlle sonuçlandığı belirtilmiştir. Kronik zehirlenmeler ise iki milyon civarında olup, bunların da iki yüz binin ölümlle sonuçlandığı tahmin edilmektedir (Anonim, 1989). Pestisite maruz kalan insanlarda akut etki olarak deride alerjik döküntüler, solunum rahatsızlıkları ve kardiyovasküler sistem hastalıkları görülmektedir. Pestisitlere kronik etki olarak maruz kalan kişilerde kanser, doğum kusurları, sinir sisteminde toksik etkiler, sinir sistemini etkileyen davranışsal bozuklar ve fizyolojik değişiklikler, üreme sistemi üzerinde istenilmeyen etkiler görülmektedir (Güler ve ark., 1997).

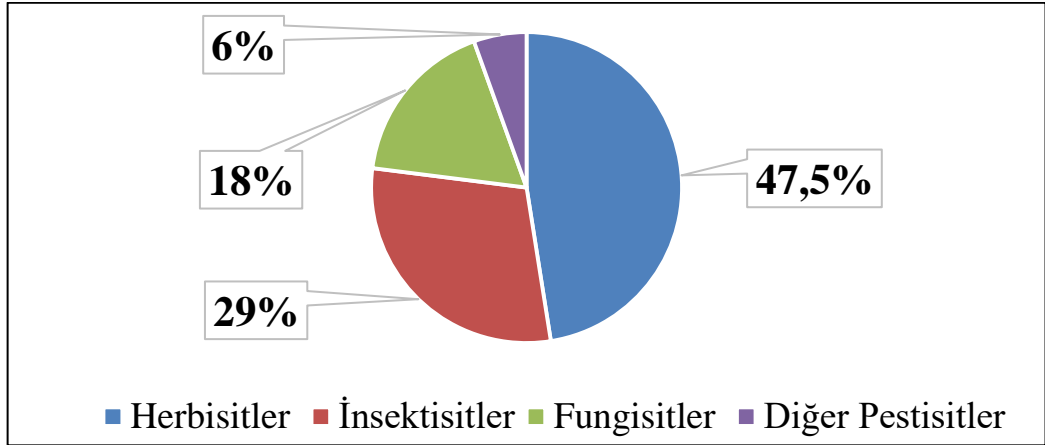
## 2.5. Pestisitlerin Kullanımı

Dünya nüfusunun hızla artmasıyla birlikte kullanılabilir tarım alanları hızla azalmıştır. Dünyada ekilebilir tarım alanlarının azalması açlık sorunlarını da beraberinde getirmiştir. Artan nüfusun ihtiyacını karşılamak ve tarımsal ürünlerden en yüksek derecede verim alabilmek amacıyla bitkisel ürünlere zarar veren böcekler ve hastalık etmenleriyle mücadele önemli bir zorunluluk haline gelmiştir. Zararlıların yol açtığı sorunlara mücadeleye ilk olarak 1600'lü yıllarda rastlanmıştır (Kaygısız, 2003). 25 000 den fazla pestisit çeşidi 1600'lü yıllardan başlayarak günümüze kadar sentezlenip piyasaya sürümü gerçekleşmiş ve üretilen pestisitlerin %75-80'inin herbisit ve insektisit olarak kullanımı hala devam etmektedir (Tekbaş, 2010). Başlıca kullanım alanları şu şekilde özetlenebilir;

- Tarımsal üretim
- Bahçecilik-Hayvancılık-Ormancılık
- Balık yetiştiriciliği-Balık tarımı
- Boyalar (parklar, bahçeler, oyun alanları)
- Duvar kâğıdı yapıştırıcıları
- Endüstriyel böcek kontrolü
- Deniz böcek kontrolü
- Gıdaların uzun süre saklanması

### 2.5.1. Dünyada pestisit kullanımı

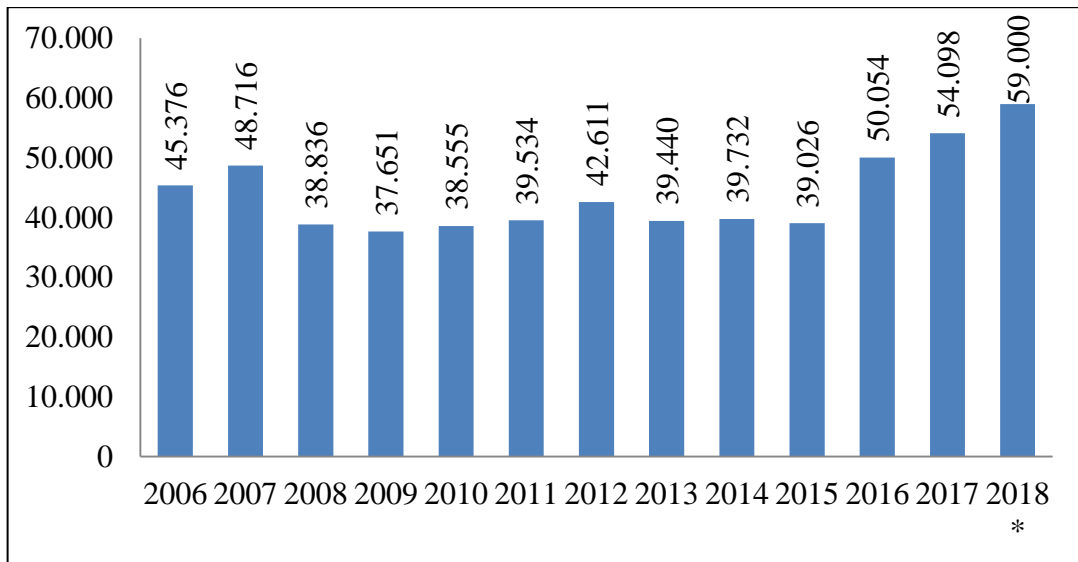
Dünyadaki ülkelerin gelişmişlik durumu, iklim koşulları, zararlıların çeşitleri, tarım alanlarının oranı gibi birçok faktör pestisit kullanımını etkilemektedir. Dünyadaki yıllık tarım ilacı üretimi miktarının 3 milyon ton civarında olduğu tahmin edilerek üretilen bu pestisitlerin (bkz. Şekil 2.1) %47.5'ini herbisitler, %29.5'ini insektisitler, %17.5'ini fungusitler, %5.5'ini ise diğer grup pestisitlerin oluşturduğu belirtilmiştir (Anonim, 2016).



Şekil 2. 1. Pestisit gruplarına göre dünyada % tarım ilacı kullanımı (Anonim, 2016)

### 2.5.2. Türkiye'de pestisit kullanımı

Pestisit tüketimi artan nüfusla doğru orantılı olarak tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de giderek artış göstermektedir. Şekil 2.2' de belirtildiği üzere 2018 yıl sonu itibariyle dünyada pestisit kullanımı yıllık 3.8 milyon ton iken ülkemizde tüketilen pestisit miktarı 59 000 ton, satış tutarı dünyada 58 milyar dolar iken Türkiye'de 2.5 milyar TL dir (Anonim, 2019).

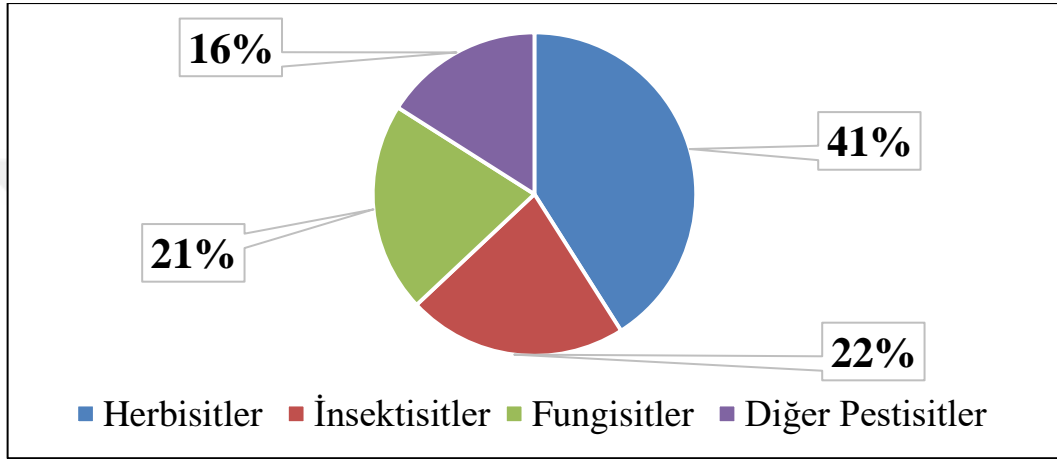


Şekil 2. 2. Ülkemizde tarımsal ilaç kullanımı (ton)\* tahmini değer (Anonim, 2019)

Ülkemizde ruhsatlı pestisit kullanım sayısının 418 olduğu ancak AB mevzuatına göre olumsuz etkilerinden dolayı 01.01.2009 tarihinden sonra sayısı 75 adet olarak



belirlenmiş, 31.08.2009 tarihinden sonra da 49 adet pestisitın üretim ve satışının durdurulmasına karar verilmiştir (Tiryaki ve ark., 2010). Türkiye de kullanılan pestisitlerin (bkz. Şekil 2.3) %41'ini herbisitler, %22'sini insektisitler, %21'ini fungusitler, %16'sını ise diğer grup pestisitler oluşturmaktadır. Bu pestisitlerin 101 etkili çeşidi hala piyasada bulunmasına rağmen AB'de kullanımı yasaklanıp piyasadan kaldırılmıştır (Anonim, 2016).



Şekil 2. 3. Ülkemizdeki pestisitlerin % kullanım payları (Anonim, 2019)

## 2.6. Pestisitlerin Zehirlilik Sınıflandırması

Hedef organizmalarda pestisitlerin etki etme mekanizmaları farklı şekillerde gerçekleşmektedir. Bu farklılık kimyasalın formülasyonuna ve alınan miktara göre değişiklik göstermektedir. Eğer hedef canlı insan ise yaş, cinsiyet, immün sistem, maruz kalma süresi gibi faktörler toksisiteye etki etmektedir. Kimyasal maddelerin yapılan bilimsel çalışmalar sonucunda akut ve kronik olmak üzere iki şekilde toksik etki oluşturduğu belirtilmiştir. Akut toksisite, pestisit uygulaması yapıldıktan hemen sonra hızlı bir şekilde ortaya çıkan etki olarak tanımlanır. Kronik toksisite uzun süreli pestisit uygulamaları sonucunda bir birikim sonucunda oluşan etki olarak tanımlanmaktadır (Yıldız ve ark., 2015).

Pestisit maruziyetlerinde, pestisit üretimi veya uygulaması yapılırken çalışanların kaza ile yutması, üzerine dökülmesi, uygulama sonrası el temizliği yapılmadan yeme veya ağız yoluyla pestisitli yiyeceklerin tüketilmesi sonucunda akut toksisite görülmektedir. LD50

(öldürücü doz), ağız yolu ve deri yolu ile oluşan akut toksik maruziyetleri, LC50 (öldürücü konsantrasyon) ise solunum yoluyla ortaya çıkacak akut toksik etkileri ifade etmekte kullanılmaktadır. Birim olarak ifadesi LD50 de mg/kg, LC50 de ise mg/l ifade edilen zehirlilik değerleri deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalar ile tek dozluk uygulamalarda canlıların yarısını öldüren doz olarak tanımlanmaktadır (Yılmaz ve ark., 2018). Bu değerlerin birim olarak rakamsal ifadeler ile küçük olarak gösterilmesi pestisitlerin zehirlilik özelliğinin arttığının göstergesidir (Anonim, 2015).

## **2.7. Pestisitlerin Sınıflandırılması**

Pestisitlerde sınıflandırma farklı şekillerde yapılmaktadır. Pestisitlerin genel sınıflandırılmasında görünüş özellikleri, fiziksel yapıları ve formüle edilme şekilleri gibi özellikler esas alınmaktadır. Fakat etkiledikleri zararlı ve hastalık grupları ile bunların biyolojik dönemleri, içerdikleri aktif maddenin cins ve grubu, zehirlilik derecesi ve kullanım tekniğine göre de değişik şekillerde sınıflandırılırlar. Sınıflandırmada en yaygın olarak yapılan sınıflandırma şekli etkili oldukları zararlı grubuna göre ve formülasyon şekillerine göre olan sınıflandırmadır. Sınıflandırma yapılırken en önemli pestisit grupları etki ettikleri hastalık gruplarına ya da hedef alınan organizmaya göre yapılan sınıflandırmada insektisit, fungusit ve herbisitlerdir (Öncüer, 2000). Pestisitler özellikleri dikkate alınarak Tarım İlaçları Sanayici, İthalatçı ve Temsilcileri Derneği (TİSİT) tarafından hazırlanan raporda aşağıdaki şekilde sınıflandırılmıştır.

### **“2.7.1. Formülasyon şekillerine göre**

- Toz ilaçlar (DP)
- Kuru tohum ilaçları (DS)
- Tabletler (TB)
- Granüller (GR)
- Pelletler (PL)
- Aerosoller (AE)
- Diğerleri

### **2.7.2. Etkiledikleri zararlı gruplarına göre**

- İnektisit (Böcekleri öldüren)
- Akarasit (Akarları öldüren)
- Nematisit (Nematodları öldüren)
- Mollussisit (Yumuşakçaları öldüren)
- Rodentisit (Kemirgenleri öldüren)
- Avisit (Kuşları öldüren)
- Afisit (Yaprak bitlerini öldüren)
- Fungisit (Fungusları öldüren)
- Bakterisit (Bakterileri öldüren)
- Herbisit (Otları öldüren)
- Algisit (Algleri öldüren)

### **2.7.3. Kullanma tekniğine göre**

- Doğrudan kullanılan ilaçlar, toz ilaçlar, granüller
- Su veya organik çözücü seyreltilerek kullanılan ilaçlar

### **2.7.4. Etkiledikleri zararlıların biyolojik dönemine göre**

- Larvasit (Larva öldüren)
- Ovisit (Yumurta öldüren)
- Ovalarvasit (Hem yumurta hem larva öldürenler)

### **2.7.5. Zararlılara etki yollarına göre**

Zararlılarda; bu tip sınıflandırmada pestisitlerin organizmaya giriş yolu dikkate alınır.

- Mide zehirleri
- Değme zehirleri
- Solunum (teneffüs) zehirleri

Bitkilerde;

- Sistemikler
- Yarı sistemikler
- Sistemik olmayanlar

#### **2.7.6. Toksik özelliklerine göre**

- Fiziksel zehirliler
- Protoplazma zehirlileri (Stoplazma ve çekirdeği zehirleyenler)
- Sinir sistemi zehirleri
- Solunum zehirleri
- Antikoagülanlar (Kanın pıhtılaşmasını engelleyenler)

#### **2.7.7. Kontrol ettiği zararlıların bulunduğu yere göre**

- Kültür bitkilerindeki zararlılara karşı kullanılanlar
- Orman zararlılarına karşı kullanılanlar
- Kerestelerin korunmasında kullanılanlar
- Depodaki ürüne zarar verenlere karşı kullanılanlar
- Ev böceklerine karşı kullanılanlar
- Hastalık vektörlerine karşı kullanılanlar
- Hayvan ve insanlardaki dış parazitlere karşı kullanılanlar

#### **2.7.8. İlacın fiziki haline göre**

- Katı formülasyonlar
- Likit formülasyonlar

#### **2.7.9. Bileşimindeki etkili madde grubuna göre**

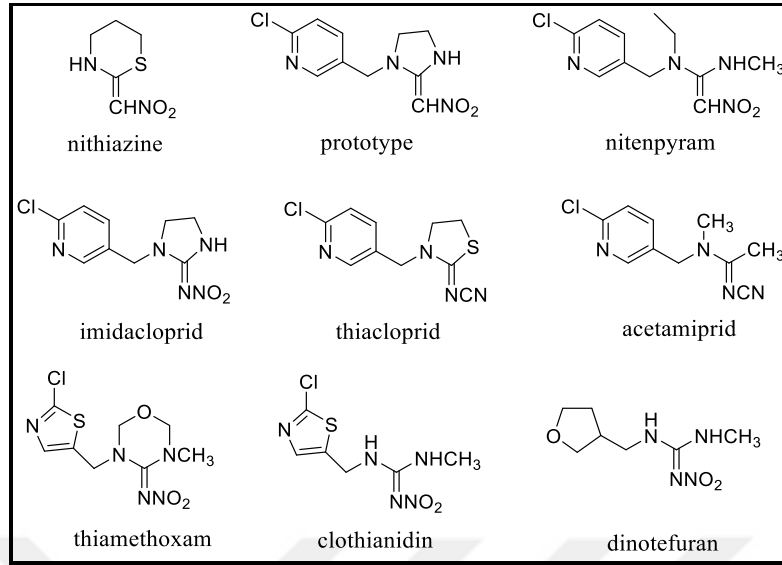
- İnsektisitler (Neonikotinoidler – Organik Fosforlar – Karbamatlar – Diğerleri)
- Akarisitler (Amin ve Hidrazin Türevleri – Diğerleri)

- Fumigantlar, nematisitler ve toprak fumigantları
- Rodentisitler ve mollussitler
- Fungusitler
- Herbisitler
- Bitki korumada kullanılan diğer maddeler (Demirli Bileşikler – Böcek Cezbediciler – Feromonlar – Diğerleri)”

## **2.8. Neonikotinoidler**

Pestisitler yukarıda da belirtildiği gibi özellikleri ve yapıları dikkate alınarak sınıflandırılmaktadır. Neonikotinoidler bileşimindeki etkili madde gruplarına göre yapılan sınıflandırmada yer almaktadır. Neonikotinoid grubu pestisitler, 1970 yılında Kaliforniya'daki bir araştırma merkezinde kurşun bileşikleri üzerinde yapılan çalışma sırasında tesadüfen keşfedilmiştir. Bu bileşiklerinden sentezi yapılan ilk neonikotinoid pestisit türü nitiazindir (Kollmeyer ve ark., 1999). 1990'ların ortalarında Bayer firması imidaklopridi tarımsal mücadelede zararlı böcek türlerine karşı insektist olarak kullanım için piyasaya sürmüştür (Mencke ve ark., 2002).

En yeni insektisit sınıfı olarak tanımlanan neonikotinoidler sistemik bir etkiye sahiptirler. Neonikotinoid pestisitler arasında yaygın olarak kullanılanlar asetamiprid, klotiyamid, dinotefuran, imidakloprid, nitenpiram, nitiazin, tiyakloprid ve tiyametoksamdır. Neonikotinoidlerin çeşitleri ve kimyasal yapısı Şekil 2.4'te gösterilmiştir (Tomizawa ve ark., 2005).



Şekil 2. 4. Neonikotinoid çeşitleri

Neonikotinoid grubu pestisitler, böceklerde nikotin benzeri uyarıcı bir etki göstererek merkezi sinir sistemindeki (MSS) nikotinic asetilkolin reseptörlerine bağlanırlar. Bu bağlanma geri dönüşümsüz ve oldukça sıkı bir şekilde gerçekleşir ve bundan dolayı neonikotinoid grubu pestisitlerin böceklerdeki toksik etkileri diğer canlı türlerine göre daha şiddetlidir (Kazuhiko ve ark., 2001). Neonikotinoid grubu insektisitlerin fiziksel özellikleri Çizelge 2.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 1. Neonikotinoidlerin fiziksel özellikleri (Tomizawa ve ark., 2005)

Neonikotinoidler	Molekül Ağırlıkları (g/mol)	Suda Çözünürlükleri (g/l)
Asetamiprid	222.7	4.25
Klotiyamid	249.7	0.30-0.34
Dinotefuran	202.2	54.3
İmidakloprid	255.7	0.61
Nitenpiram	270.7	>590
Nitiazin	160.1	200
Tiyakloprid	252.7	0.185
Tiyametoksam	291.7	4.1

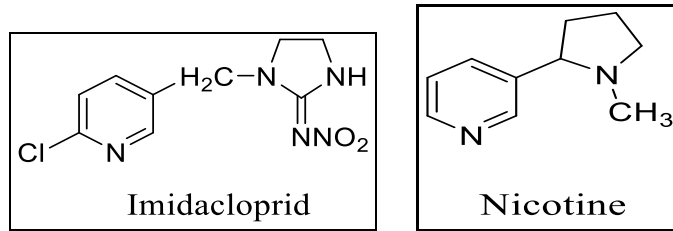
Dünya genelinde yıllık olarak tüketilen neonikotinoid grubu pestisitler toplam insektisit pazarının yaklaşık olarak %11-%15'ini kapsamaktadır. Her pestisit türü hedefe özgü olarak tasarlanmaktadır ve tohumlar için tasarlanan pestisitlerin %80'lik oranını

neonikotinoidler oluşturmaktadır (Mencke ve ark., 2002). Küresel pestisit pazarı 2015 yılında 58.5 milyar dolar değerinde iken 2016 yılında 60.2 milyar dolara kadar çıkmıştır. Bu veriler ışığında küresel pestisit pazarının 2021 yılına kadar %5.5 oranında artması planlanarak 78.7 milyar dolar olması beklenmektedir (Anonim, 2017).

Ülkemizde ruhsatlı olarak satışı yapılan asetamiprid, klotiyamid, imidakloprid, tiametoksam ve tiyakloprid gibi neonikotinoid türlerinin Avrupa Birliği'nin ilgili kurum ve kuruluşları, sivil toplum örgütleri ve arı üreticileri birliği tarafından zehirli oldukları ve arı kolonilerini öldürdükleri gerekçesiyle yasaklanması gerektiği belirtilmiştir. Bunun sonucunda gerekli araştırmalar yapılarak 19.12.2018 tarihinde Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından neonikotinoid grubu aktif maddelerin bir kısmının yasaklanmasına ve kısıtlanmasına karar verilmiştir (Ek 1).

### 2.8.1. İmidakloprid

Kimyasal adı N-[1-[(6-Chloro-3-pyridinyl)methyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl]nitramide olan, yaygın olarak imidakloprid adıyla bilinen neonikotinoid grubundan nikotine benzeyen sistemik bir insektisit türüdür (Şekil 2.5). Nikotin ve tütün içeren birçok bitkide doğal olarak bulunmaktadır ve böcekler için toksik etkiye sahiptir. İmidakloprid de nikotin gibi sinir sistemini etkileyerek faaliyet göstermektedir. Dünya genelinde en fazla oranda kullanılan insektisit türlerinden birisidir.



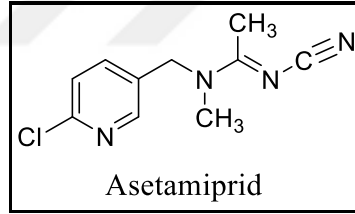
Şekil 2. 5. İmidakloprid ve nikotinin kimyasal yapıları

Kimyasal sınıflandırması ilk olarak 1994 yılında Bayer CropScience tarafından yapılmıştır. Günümüzde birçok marka tarafından üretimi ve pazarlaması yapılmaktadır. İmidakloprid tarım, evcil hayvanlar ve ev zararlılarında oldukça geniş kullanım alanına sahiptir.

İmidakloprid ve nikotinoid ailesindeki diğer insektisitler, bir tütün toksini olan doğal nikotinden benzer şekilde modellenmiştir (Ware, 2000). Molekül şekilleri, büyüklükleri ve yükleri nedeniyle nikotin ve nikotinoidler sinir sisteminde asetilkolin (ACh) gibi davranarak nikotinik ACh reseptörlerine bağlanırlar. Asetilkolin, bir sinir hücresinden diğerine veya bir sinir hücresinden bir sinirin kontrol ettiği dokuya sinir uyarılarını taşımakla görevli bir nörotransmitterdir. İmidakloprid ve diğer nikotinoidler asetilkolin reseptörlerine bağlanarak bunları geri dönüşümsüz biçimde bloke ederler (Ware, 2000).

### 2.8.2. Asetamiprid

Kimyasal adı N-((6-Chloro-3-pyridinyl)methyl)-N'-cyano-N-methylethanimidamide olan, yaygın olarak asetamiprid olarak adlandırılan tarımda çeşitli zararlı böcekleri kontrol etmek için kullanılan neonikotinoid grubu bir insektisittir (Şekil 2.6). Asetamiprid, imidakloprid gibi asetilkolin reseptörlerine bağlanarak böcekler için hayati açıdan güçlü nörotoksik etkileri bulunan insektisit türüdür (Tomizawa ve ark., 1993).



Şekil 2. 6. Asetamipridin kimyasal yapısı

### 2.9. Bağışıklık Sistemi (İmmün Sistem)

Bağışıklık (immünite), Latince “immunitas” kelimesinden köken almaktadır. Bağışıklık sistemi ise vücuda giren antijen (mantar, bakteri, virüs, polen vs. gibi immün sistemi harekete geçirebilen yabancı yapılar) özelliğindeki maddelere karşı vücudu koruyan doku ve organların tamamını kapsamaktadır. Antijenlerin tanınması ve vücutta bunların yok edilmesi olayında yer alan moleküller ve hücreler (makrofaj, nötrofil, lenfosit vb.) bağışıklık sisteminin önemli elemanlarıdır. Bağışıklık sistemi sadece vücuda giren yabancı patojenleri tanımakla kalmamalı aynı zamanda vücuttaki normal hücreler ile bu yabancı molekülleri de ayırt etmelidir. Vücutta belli aralıklarla ortaya çıkan anormal hücre ve molekülleri saptayıp bunlara yanıt vermek ve kanser gibi hastalıkların



gelişmesine engel olmak da bağışıklık sisteminin görevlerindedir (Chinen, 2006; Porth, 2004).

İnsan vücudu bakteri, virüs gibi yabancı maddelere karşı farklı mekanizmalarla bağışıklık oluşturmaktadır. Bu bağışıklık doğal bağışıklık ve sonradan kazanılan (edinsel) bağışıklık olmak üzere ikiye ayrılır. Bu iki bağışıklık arasında sürekli bir etkileşim söz konusudur. Antijenlere karşı ilk savunma basamağını doğal bağışıklık sağlarken her zaman savunmada yeterli olmayabilir. Böyle durumlarda edinsel bağışıklık devreye girmektedir.

### **2.9.1. Doğal bağışıklık**

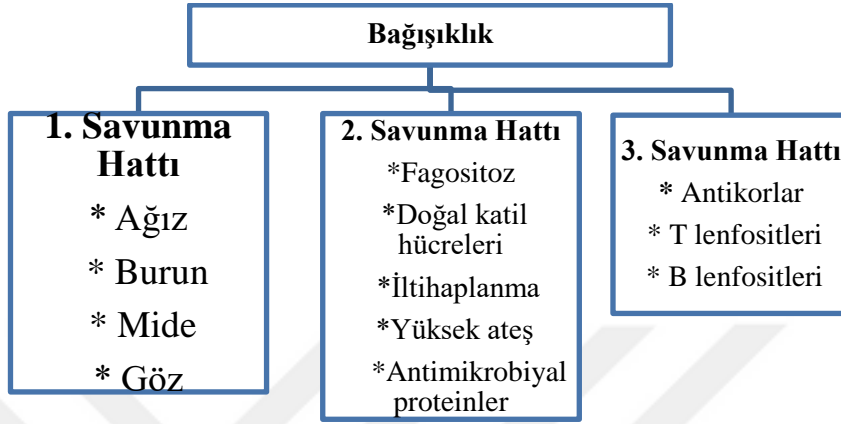
Doğal bağışıklık, canlılarda doğal olarak bulunan ve bir patojenle karşılaşınca organizmanın vücut savunmasının ilk aşamasını oluşturan, doğumdan itibaren oluşabilen bağışıklık tipi olarak tanımlanır. Organizmaya ait olan hücreler ile patojen özellikteki yabancı hücreleri ayırt ederek organizmanın yanıt oluşturmalarını sağlar. Bu yanıtın oluşmasında organizmanın yapısal, anatomik, fizyolojik, genetik ve çevre faktörleri etkin rol oynamaktadır (Agerberth ve ark., 2006).

### **2.9.2. Sonradan kazanılan (edinsel) bağışıklık**

Doğal bağışıklığın yetersiz kaldığı durumlarda edinsel bağışıklık devreye girmektedir. Doğal bağışıklıktan farklı olarak, edinsel bağışıklık enfeksiyonlara neden olan ajanlarla karşılaşma sonucunda uyarılan ve lenfosit (beyaz kan hücresi) adı verilen hücrelerin aracılık ettiği ve organizmada antikorların şekillenmesi ile meydana gelen bir bağışıklık tipidir. Bireyin yaşam süresince gelişen bu bağışıklıkta belirli bir antijene özgü olarak tekrarlayan karşılaşmalarda daha hızlı ve güçlü bir cevap oluşması sağlanmaktadır. Edinsel bağışık yanıt hümmoral ve hüccresel bağışık yanıt olmak üzere iki tür bağışık yanıtta oluşur. Her iki tip bağışık yanıtta da antijen ile başlatılmakta ancak hümmoral bağışık yanıtta B lenfositleri, hüccresel bağışık yanıtta ise T lenfositleri görevlidir.

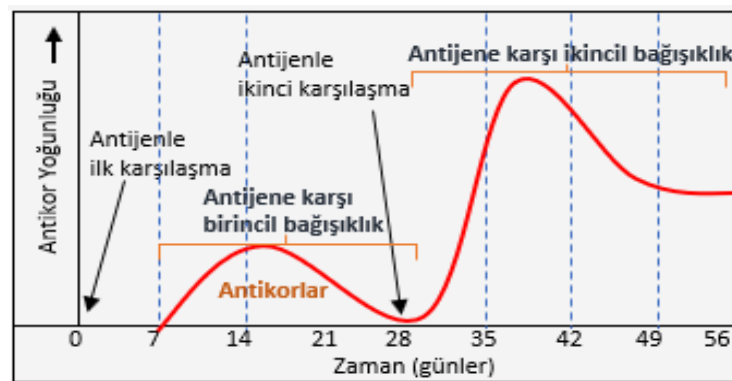
Şekil 2. 7’de özet olarak gösterilen bağışıklık sistemi, yabancı moleküllere karşı üç savunma hattı oluşturmaktadır. Savunmanın birinci hattında ağız, burun, mide, göz gibi anatomik yapılar ve organlar görev almaktadır. Savunmanın ikinci hattında fagositöz

yapma özelliğine sahip makrofaj ve nötrofil gibi fagositik hücreler doğal katil hücreleri, iltihaplanma, yüksek ateş ve antimikrobiyal proteinler savunma sağlamaktadır. Üçüncü hattında ise antikorlar, T lenfositleri ve B lenfositleri rol oynamaktadır (Anonim, 2018).



Şekil 2. 7. Bağışıklık sisteminde bağışıklık savunma hatları (Anonim, 2018)

Vücuda girdiğinde yabancı olarak kabul edilen ve antikor oluşumuna neden olan her türlü molekül antijen olarak tanımlanmaktadır. Bir organizmada farklı yapıdaki antijenleri tanıyabilecek özellikte B lenfosit popülasyonu bulunmaktadır. B lenfositleri bir antijenle ilk kez karşılaştığında ortaya çıkan cevaba birincil yanıt, lenfositler aynı antijenle ikinci kez karşılaştığında ortaya çıkan cevaba ise ikincil yanıt adı verilmektedir.

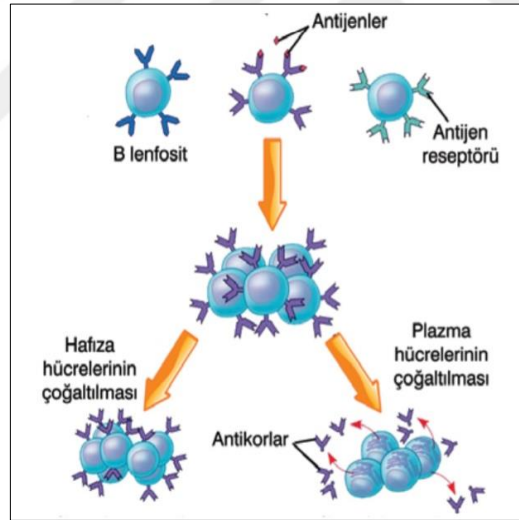


Şekil 2. 8. Antijene karşı birincil ve ikincil yanıt (Anonim, 2018)

Şekil 2.8' de görüldüğü gibi antijen ile ilk karşılaşma sonucunda oluşan bağışık yanıt düşük seviyededir ancak organizma aynı antijenle ikinci kez karşılaştığında daha hızlı ve etkin bir antikor cevabı ortaya çıkmaktadır.

### Hümmoral bağışık yanıt (Antikora bağışık yanıt)

Hümmoral bağışık yanıtta sorumlu hücreler B lenfositleridir. B lenfositleri tarafından üretilen ve hümmoral bağışıklığın gerçekleşmesinde görevli protein yapısındaki moleküllere immümglobulin (Ig) ya da antikora adı verilmektedir. B lenfositlerinin antijenle uyarılması sonucunda antikora üretimi gerçekleşmekte, oluşan özgül antikora kan ve doku sıvılarındaki bakterileri ve patojenleri yok ederek vücut savunmasında görev almaktadır. Hümmoral bağışık yanıtta antijenin vücuda girmesi ve sonrasında gelişen olaylar sonucunda plazma hücreleri ve bellek (hafıza) hücreleri olmak üzere iki tip hücre oluşmaktadır (Şekil 2.9). Plazma hücreleri antikora üretiminden, bellek hücreleri ise ikincil yanıtta daha hızlı bir yanıtın oluşmasından sorumlu hücrelerdir. Antikora üretildikten sonra kan ve lenf sıvısına verilmekte ve enfeksiyon bölgesine giderek antijenleri etkisiz hale getirmektedir (Anonim, 2018).

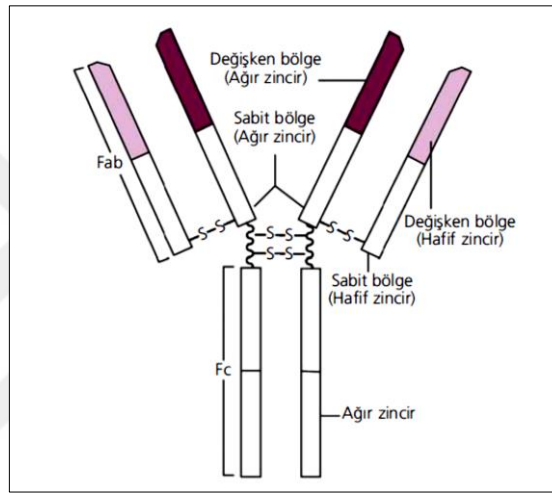


Şekil 2. 9. Hümmoral bağışık yanıtın oluşması (Anonim, 2018)

### İmmümglobulinler (Antikora)

İmmümglobulinler hümmoral veya antikora bağışık yanıtta sorumlu olan, az miktarda dokularda ve hücreler arası sıvılarda yer alan ancak çoğunlukla kan sıvısında bulunan ve kısaca Ig şeklinde adlandırılan moleküllerdir. İmmümglobulinler %90'ı polipeptid, %10 karbohidrattan oluşan bir glikoprotein yapısına sahiptir. İmmümglobulin Y harfi şeklinde bir molekül olup antijen bağlayan en az iki özdeş bölgeden oluşmaktadır.

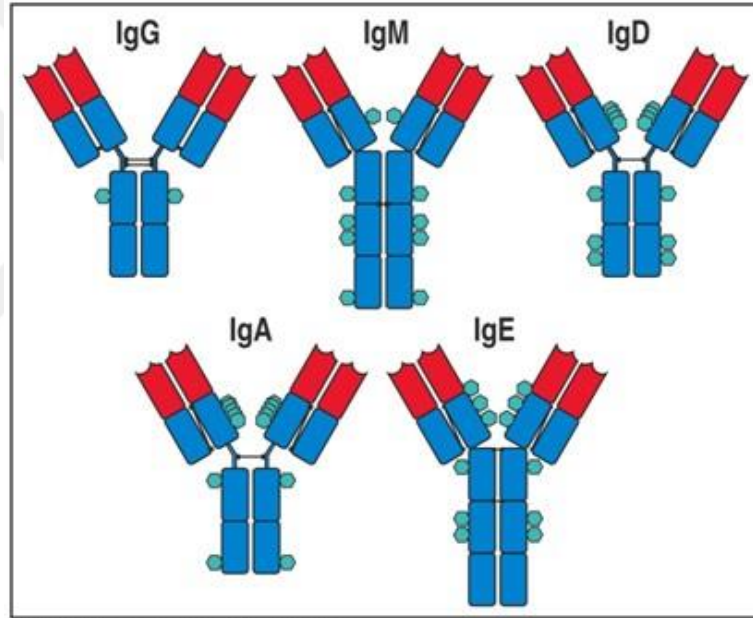
Her immüoglobulin molekülü iki tane ağır zincir (H) ve iki tane hafif zincir (L) olmak üzere toplam dört polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Y Harfi şeklindeki immüoglobulinlerin üst kısımları antijen bağlayıcı kısım (Fab) olarak, antikorların biyolojik aktivitesi ve işlevlerinden sorumlu olan kuyruk kısmı ise (Fc) bölgesi olarak adlandırılmaktadır. H ve L zincirlerindeki uç kısımların aminoasit dizisi değişebilir özelliğe sahip olduğundan bu bölgelere değişken bölgeler, polipeptid zincirlerinin diğer bölgelerinde değişiklik görülmediği için geri kalan kısmına sabit bölge denir (Şekil 2. 10).



Şekil 2. 10. Bir IgG molekülünün şematik modeli (Songu, 2012)

İmmüoglobulinler IgG, IgA, IgM, IgD, ve IgE olmak üzere beş temel gruba ayrılmaktadır (Şekil 2.11). IgG, serumda en fazla bulunan immüoglobulin çeşididir. Monomer yapıda (Y harfi şeklinde) olup molekül ağırlığı 150 kD'dur. Bakteri, virüs, parazit gibi enfeksiyöz ajanlara karşı bağışıklıktan sorumlu olan immüoglobulin çeşididir. İnsanlarda IgG1, IgG2, IgG3 ve IgG4 olmak üzere 4 alt sınıfı bulunurken farelerde IgG1, IgG2a, IgGb ve IgG3 şeklinde alt sınıfları bulunmaktadır. İnsan ve diğer primatlarda plasentadan geçiş yapabilen tek immüoglobulin sınıfıdır. Yeni doğan bir bebeğin kanında hamileliğin 3. ve 4. ayında geçiş yapmaya başlayan IgG ler dolaşır. IgG ler uzun ömürlü antikorlardır ve aynı antijenle ikinci kez karşılaşma sonucunda ortaya çıkan ikincil bağışık yanıtta çok yüksek seviyelere ulaşmaktadır. IgM, beş alt birimden oluşan pentamer yapısında olup 900 kD büyüklüğe sahiptir. Normal insan serumundaki immüoglobulinlerin %10 unu oluşturmaktadır. Organizma herhangi bir antijenle karşılaştığı zaman ilk sentezlenen antikor çeşididir. IgA, normal insan serumundaki

immünoglobulinlerin %15'ini oluşturmaktadır. Monomer (tek birim) veya dimer (iki birim) yapıda bulunabilir. Molekül ağırlığı monomer yapısı için 160, dimer yapısı için 400 kD dur. Tükürük, nazal ve bronşial salgı veya anne sütü gibi salgılarda bulunan ve bu bölgelerde koruma sağlayan bir antikor çeşididir. IgD, total immünoglobulinlerin %1 den daha azını oluşturmaktadır, molekül ağırlığı 180 kD olup B lenfositlerinin farklılaşmasında görev alan bir antikordur. IgE, immünoglobulinlerin %0,004'ünü oluşturmaktadır. Az miktarda bulunmasına rağmen mast ve bazofil hücrelerinin yüzeylerine bağlanarak alerjik ve parazitik enfeksiyonlarda görev alan önemli bir antikor çeşididir.



Şekil 2. 11. İmmünoglobulin çeşitleri (Janeway ve ark., 2001)

#### Hücrel bağışık yanıt (Hücre aracılı bağışık yanıt)

Edinsel bağışıklığın diğeri bir tipi hücrel bağışık yanıttır. Antikor içermeyen bir bağışıklık tepkisi olup, bu tip yanıtın T lenfositleri sorumludur. T lenfositlerinin sitotoksik T lenfositleri ve helper (yardımcı) T hücreleri (Th) olmak üzere 2 farklı tipi bulunmaktadır. Özellikle hücrel bağışık yanıtta rol oynayan lenfosit tipi sitotoksik T lenfositleridir. Bakteri ya da virüsle enfekte olmuş hücreler, kanser hücreleri sitotoksik T lenfositleri tarafından tespit edildikten sonra perforin-granzim adı verilen sistem aracılığı ile yok edilmektedir. Sadece antikorların rol aldığı hümmoral bağışık yanıt toksik

hastalıkların bazıları ile virüs ve bakteri enfeksiyonlarının az sayıdaki türlerinde bağışıklık sağlarken, hücresel bağışık yanıt pek çok parazit, bakteri, virüs, mantar gibi patojenlere karşı daha yüksek seviyede bir savunma sağlamaktadır.

Helper T lenfositlerinin Th1 (yardımcı T1 hücreler) ve Th2 (yardımcı T2 hücreler) olarak adlandırılan iki farklı tipi bulunmaktadır. Th1 hücreler salgıladıkları IL-2 ve IFN-g gibi sitokinlerle hücresel immün yanıtı güçlendirmekte, Th2 hücrelerini baskılamaktadır. Th2 hücreleri ise salgıladıkları IL-4, IL-10 gibi sitokinlerle B lenfositlerini aktive ederek Th1 hücrelerini baskılamaktadır. Özellikle IgG'nin alt tipleri olan IgG1 ve IgG2a antikoları, Th1 ve Th2 lenfositlerinin aktivasyonuna bağlı olarak sentezlenmektedir. Th2 aracılı yanıtın baskın olması durumunda IgG1, Th1 aracılı yanıtın baskın olması durumunda ise IgG2a antikör seviyelerinde artış görülmektedir.

## **2.10. Lipid Peroksidasyonu (MDA Tayini)**

Çok sayıda biyokimyasal ve fizyolojik tepkimelerin meydana geldiği canlı hücrelerde meydana gelen reaksiyonlar sonucunda elektron alıcı moleküller olarak bilinen serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller dış yörüngelerinde bir veya birden fazla sayıda eşleşmemiş elektrona sahip moleküllerdir (Nawar, 1996). Serbest radikaller son yörüngelerindeki eşleşmemiş elektron çiftini daha kararlı hale geçmek için başka bir maddenin elektronu ile eşleştirme eğilimindedir (Shinde ve ark., 2012). Bunun sonucunda serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği kazanırlar ve canlı yapısı için hayati öneme sahip birçok molekülün yapısında değişikliğe neden olurlar (Flora ve ark., 2007). Lipid peroksidasyonu sonucunda canlı vücudunda başta kanser olmak üzere birçok hastalık ve organlarda tahribat ortaya çıkar. Lipid peroksidasyonu hücre yaşlanmasının da başlıca nedeni olarak gösterilmektedir (Horton, 1987).

Lipidler serbest radikallerden en fazla etkilenen biyomoleküllerdir. Hücre membran yapısında bulunan fosfolipid tabakadaki hidrofobik kısımları hidrofilik hale getiren serbest radikaller zar akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak lipid peroksidasyonuna neden olurlar (Devasagayam ve ark., 2003). Lipid peroksidasyonu aşamalı olarak hücrelerde meydana gelir. Başlangıçta organizmada oluşan kuvvetli bir radikal etkiyle, doymamış yağ asidi zincirindeki  $\alpha$ -metilen karbonundan bir hidrojen atomunun

uzaklaşması gerçekleşir. Hidrojenin molekülüne ayrılması, ayrıldığı yağ asidi zincirinin radikalleşmesine neden olur. Oluşan lipid radikali dayanıksız bir yapıya sahip olduğu için spontan değişikliğe uğramaktadır. Lipid radikalının moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu bir lipid peroksit radikali (LOO•) meydana gelir. Bu radikallerde membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşmasına sebep olur ve açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipid hidroperoksitlerinin aldehit (malondialdehit), aklenler, lipid epoksit ile etan ve pentan gibi maddelere dönüşmesi ile sonlanır (Pham-Huy ve ark., 2008).

Kimyasal olarak aktif bir yapıda olan ve lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), çevresindeki hücre ve dokulara rahat bir şekilde difüze olabilen ve özellikle lipidler üzerinde zararlı etkiler meydana getirebilen bir moleküldür (Parantainen ve ark., 1986). MDA oluşumu üç veya daha fazla sayıda çift bağa sahip olan yağ asitlerinin yapısının bozulması sonucunda oluşur (Cochrane, 1991). Yağ asitlerinin uğramış olduğu tahribatlarda MDA direkt bir indikatör olarak kullanılmamasına rağmen lipid peroksidasyonunda iyi bir bağıntı gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde malondialdehit (MDA) ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin bir belirteci olarak kullanılır (Devasagayam ve ark., 2003).

Lipid peroksidasyonunu ölçmek için kullanılan en kolay ve yaygın spektrofotometrik yöntem olan MDA testi, TBA'nın MDA ile reaksiyona girerek 532 nm'de pembe renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanır (Uchiyama ve ark.,1978).

Bu çalışmada, özellikle tarım ve veterinerlik alanında böcekleri öldürmek için yaygın kullanımı olan ancak sadece böceklere özgü etki mekanizmasına sahip olduğu öne sürülen ve aktif kullanımı olan insektisitlerden imidakloprid ve asetamipridin bağışık yanıt üzerindeki etkilerinin *in vivo* olarak belirlenmesi ve antikor cevabında ortaya çıkabilecek doza bağılı değişikliklerin karşılaştırmalı olarak tespit edilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, insektisitlere maruz kalan farelerde ortaya çıkabilecek oksidatif hasar ise lipid peroksidasyonunun önemli bir belirteci olan MDA seviyelerine bakılarak belirlenmeye çalışılmıştır.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Deney hayvanları

Bu çalışmada 55 adet 20-25 g ağırlığında 8-12 haftalık inbred BALB/c cinsi dişi fareler kullanıldı. Fareler Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda üretilerek oda sıcaklığının 21°C olduğu ve 12 saat aydınlık/karanlık siklusunun sağlandığı odalarda barındırıldı. Deneyde kullanılacak hayvanlar her grupta aynı yaşta ve aynı ağırlıkta 5 tane fare olacak şekilde 6 farklı gruba ayrıldı ve kafesteki fareleri birbirinden ayırt etmek için fare numaralandırma sistemine göre farelerin kulakları delindi. Deney hayvanları üzerinde yapılan bütün işlemler için Gaziosmanpaşa Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (HADYEK No: 04) gerekli izinler alındı.

##### 3.1.2. İnsektisitler

###### İmidakloprid

Çalışmamızda kullanılan neonikotinoid grubu insektisit olan imidakloprid (analytical standard) Sigma-Aldrich firmasından satın alındı.

Fiziksel özellikleri:

Kimyasal Adı: N-[1-[(6-Chloro-3-pyridinyl)methyl]-4,5-dihydroimidazol-2-yl]nitramide

Kimyasal Formülü : C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>

Molekül Ağırlığı : 255.66

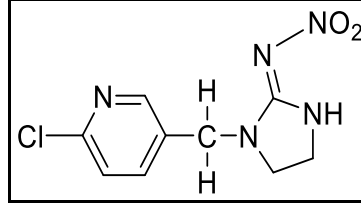
Renk Görünümü : Beyaz (beyaza yakın açık sarı ve soluk bej)

Yapısal Görünümü : Toz veya Kristal

Erime Noktası : 141 – 146 °C



Açık Formülü:



Şekil 3. 1. İmidaklopridin açık formülü

### Asetamiprid

Çalışmamızda kullanılan neonikotinoid grubu insektisit olan asetamiprid (analytical standard) Sigma-Aldrich firmasından satın alındı.

Fiziksel özellikleri:

Kimyasal Adı : N-((6-Chloro-3-pyridinyl)methyl)-N'-cyano-N-methylethanimidamide

Kimyasal Formülü : C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>4</sub>

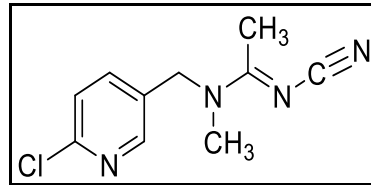
Molekül Ağırlığı : 222.67

Renk Görünümü : Beyaz (Renksiz veya beyaz )

Yapısal Görünümü : Toz veya Kristal

Erime Noktası : 95 – 102 °C

Açık Formülü:



Şekil 3. 2. Asetamipridinin açık formülü

### 3.1.3. Antikorlar

ELISA testleri için Southern Biotech firmasından satın alınan goat anti-mouse IgM, goat anti-mouse IgG, goat anti-mouse IgG1, goat anti-mouse IgG2a antikorları kullanıldı.

### 3.1.4. Kullanılan kimyasal maddeler

<b>Kullanılan Kimyasal Madde/Malzeme</b>	<b>Firma</b>
Albumin from chicken egg White	Sigma
BSA (bovine serum albumini)	Sigma
DEA (Diethanolamin)	Merck
Gelatin from cold water fish	Sigma
KCl (potasyum klorür)	Merck
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (potasyum dihidrojen fosfat)	Merck
MgCl <sub>2</sub> (magnezyum klorür)	Merck
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O (magnezyum klorür hekza hidrat)	Merck
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (sodyum karbonat)	Merck
NaCl (sodyum klorür)	Sigma
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (sodyum dihidrojen fosfat)	Merck
NaHCO <sub>3</sub> (sodyum bikarbonat)	Merck
NaN <sub>3</sub> (sodyum azit)	Sigma
PNPP (para nitrofenil fosfat) tabletleri	Sigma
Tiyobarbütirik asit	Sigma
Triklorasetik asit	Sigma
Triton-X	Sigma
Tween 20	Sigma

### 3.1.5. Kullanılan diğer malzemeler

<b>Malzemenin Adı</b>	<b>Firma</b>
8 kanallı otomatik pipet	Axypet
96 kuyucuklu düz tabanlı mikropalakalar	Corning Costar

Cam şişeler (100 mL-500 mL-1000 mL)	Isolab
Diseksiyon aletleri	Tıp Kim San
Eppendorf tüpleri (1.5 mL)	Isolab
Fare kulak delme aparatı	Interlab
Heparinsiz hematokrit kapiler tüpler	Isolab
Oral gavaj kanülü	Excusivet Yaşam Bilimleri
Otomatik pipetler (2-20 µL-20-200 µL-1000µL)	Rainin
Parafilm	Interlab
Pipet ucu (2-10 µL-200 µL-1000 µL )	Isolab
Serolojik pipetler (5 mL-10 mL)	Corning Costar
Steril enjektörler (1 mL-5 mL)	Set Medikal
Vida kapaklı santrifüj tüpleri (15 mL ve 50 mL)	Corning Costar

### 3.1.6. Kullanılan cihazlar

Cihazın Adı	Firma
-20°C derin dondurucu	Vestel
-80°C derin dondurucu	New Brunswick Scientific
Buz makinesi	Scotsman AF80
Buzdolabı	Vestel
Hassas terazi	Radwag
İnkübatör	Binder
Mikroplaka okuyucu	Thermo Scientific
Otoklav	Hirayama HMC
pH metre	Hanna HI 2211
Santrifüj	Hettich Universal 320 R
Sıvı azot tankı	Air Liquide GT11
Spektrofotometre	Thermo Scientific
Ultra saf su cihazı	Mes-MP Minipure Basic M
Vorteks	Biosan

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Oral yoldan madde uygulamaları ve enjeksiyonlar

Farelere enjekte edilecek insektisit (imidakloprid ve asetamiprid) miktarını belirlemek için ilk olarak fareler tartılarak ağırlıkları belirlendi. İmidakloprid ve asetamiprid steril %0.85'lik salin çözeltisi içerisinde canlı ağırlıklarına göre dozları ayarlanarak hazırlandı ve kontrol grupları (Grup 1 ve Grup 2) dışındaki farelere günde 1 kez 30 gün boyunca belirlenen dozlarda (5 mg/kg ve 10 mg/kg) oral olarak (ağız yoluyla) gavaj kanülü aracılığıyla verildi (Şekil 3.3).



Şekil 3. 3. Oral gavaj ile imidakloprid ve asetamiprid (5 mg/kg ve 10 mg/kg) uygulaması

İnsektisitler verildikten 7 gün sonra deney hayvanları intraperitoneal (karın boşluğu içerisine) olarak OVA (ovalbumin-T-bağımlı antijen) ile enjekte edildi (Şekil 3.4). Enjeksiyon 10 gün sonra 17. günde ikincil antikor cevabı için tekrarlandı.



Şekil 3. 4. İntraperitoneal olarak OVA (ovalbumin-T-bağımlı antijen) uygulaması

### 3.2.2. Serum örneklerinin elde edilmesi

Herhangi bir madde enjekte edilmeden önce farelerin hepsinin göz çukuru (orbital sinüs) veninden mikrohematokrit kapiler tüpler aracılığı ile kan numuneleri alındı (Şekil 3.5) ve enjeksiyon öncesi serum örnekleri hazırlandı. Enjeksiyon sonrası serum örneklerini elde etmek için ilk enjeksiyondan 7 gün sonra yani 14. günde, ikinci enjeksiyondan sonrada 20, 23, 27 ve 30. günlerde farelerin orbital sinüs veninden kan alınarak serum örnekleri hazırlandı. Alınan kanlar 1 saat oda sıcaklığında ardından da 1 saat 4°C'de bekletildikten sonra 4°C'de, 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüjleme işleminin ardından elde edilen serum örnekleri 1.5 mL'lik ependorf tüplere aktararak -86°C'de test edilinceye kadar saklandı ve serum örneklerinde OVA spesifik antikorların (IgM, IgG, IgG1 ve IgG2a) miktarı ELISA yöntemiyle test edildi.



Şekil 3. 5. Serum örneklerinin elde edilmesi

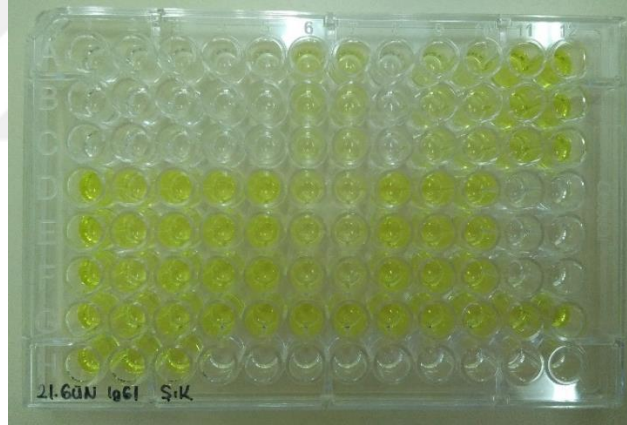
### 3.2.3. ELISA testleri

Çalışmamızda antijen (OVA) ile tek başına ya da imidakloprid ve asetamiprid verildikten sonra belirli günlerde (7 ve 17) OVA ile enjekte edilen farelerden alınan enjeksiyon öncesi ve enjeksiyon sonrası serum örneklerindeki OVA-spesifik antikor miktarları ELISA yöntemiyle tespit edildi.

#### Anti-OVA IgM, IgG, IgG1 ve IgG2a ELISA

Antijen (OVA) kaplama çözeltisi (%1.57 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, %2.93 NaHCO<sub>3</sub>, %0.2 sodium azide, pH 9.7) içerisinde hazırlandı ve 96 kuyucuklu, düz tabanlı mikropalakadaki kuyucuklara

100 µL olacak şekilde eklendi. 37 °C’de 1 saat inkübe edildikten sonra mikrolaka 3 kez PBS (phosphat buffered saline) + (Tween 20 ve NaN<sub>3</sub>) çözeltisi ile yıkandı. Spesifik olmayan protein bağlanmasını bloke etmek için mikrolaka PBS+Tween 20 ve NaN<sub>3</sub> içerisinde çözdürülen %1’lik teleostean jelatini ile 37 °C’de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda mikrolaka tekrar yıkandı ve fare serumunun dilüsyonları hazırlanarak uygun kuyucuklara eklendi ve 1 saat 37°C’de inkübe edildi. Yıkama işleminden sonra mikrolaka %1’lik BSA (sığır serum albümini) çözeltisi içerisinde hazırlanan sekonder antikor ile (alkalen fosfataz ile konjuge edilmiş goat anti-mouse IgM, IgG, IgG1 ve IgG2a) 1 saat 37°C’de inkübe edildi. Mikrolaka tekrar yıkandıktan sonra PNPP tabletleri (1 tablet/5 mL) substrat çözeltisi (%9.7 diethanolamine, %0.02 NaN<sub>3</sub>, ve %0.01 MgCl<sub>2</sub>, pH 9.8) içerisinde çözdürüldü ve her bir kuyucuğa 100 µL eklendi. Mikrolaka ELISA okuyucusuna (Thermo Multiskan GO) konularak 405 nm’de okutuldu ve kinetik renk değişimine bağlı absorbans değerleri belirlendi (Şekil 3.6).



Şekil 3. 6. Substrat eklenmiş ELISA mikrolakası

### 3.2.4. MDA deneyleri için doku homojenatlarının hazırlanması

Deney bitiminde öldürülen farelerden diseksiyon yöntemiyle (Şekil 3.7) karaciğer dokusu alınarak hemen -86 °C’de donduruldu. Test edilecekleri zaman dokular uygun tampon solüsyonu içerisinde homojenize edildikten sonra doku homojenatlarında malondialdehit (MDA) seviyeleri tespit edildi.



Şekil 3. 7. Farelerden diseksiyon yöntemiyle karaciğer dokusunun alınması

### 3.2.5. Malondialdehit (MDA) tayini

Kontrol ve uygulama gruplarından alınan 0.25 g karaciğer numunesi %0.5 lik (w/v) TCA (trikloroasetik asit) ile homojenize edildikten sonra 10000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlardan 1mL alınarak üzerine 1 mL %0.6 lık TBA (tiyobarbütürik asit) ilave edildi. Numuneler 100°C'de 10 dakika inkübe edildikten sonra buz banyosunda soğutularak reaksiyon durduruldu. Kör olarak 1mL TBA ve 1mL saf su kullanıldı. 1mL numune örneği ve 1 mL TBA kullanılarak renkli kompleks elde edilerek (Şekil 3.8) 532 nm'de absorpsiyon ölçüldü. Tüp içerisindeki karaciğer dokusu, ayıraçlarla sulandırılmış olduğundan, bulunan değer sulandırma katsayısı (dilüsyon faktörü) ile çarpılır. 2 mL toplam hacimde 1 mL numune olduğundan sulandırma katsayısı 2'dir. Böylece 1 litre örnekte, maddenin  $\mu\text{mol}$  cinsinden konsantrasyon değerlerine ulaşıldı (Uchiyama ve ark.,1978).



Şekil 3. 8. MDA'nın TBA ile oluşturduğu renkli kompleks

### **3.2.6. Sonuçların değerlendirilmesi ve istatistiksel analiz**

Sonuçlar ELISA plate okuyucusu ve spektrofotometrik ölçümlerden elde edilen verilere (absorbans değerlerine) bakılarak değerlendirildi ve gerekli yazılım ve grafikler için Word ve Excel programları kullanıldı. İstatistiksel analizler için GraphPad Prism 7 software kullanıldı. Çalışmada gruplar arasındaki farklılık varyans analizi (ANOVA) ile belirlendi.





#### 4. BULGULAR

Badgужour ve ark., yaptığı çalışmada imidaklopridin oral yoldan 2.5, 5 ve 10 mg/kg'lık doz uygulamalarında 10 mg/kg'lık dozunun farelerin vücut ağırlıklarını çok az miktarda azalttığı, ancak farklı doz grupları arasında vücut ağırlıkları açısından belirgin farklılıklar olmadığını tespit edilmiştir (Badgужour ve ark., 2013). Çalışmamızda literatürde ki bu bilgiden yola çıkarak deneye başlamadan önce ve deney süresi boyunca haftalık olarak farelerin ağırlıkları tartılarak not edilmiştir (Çizelge 4.1). Çizelgede görüldüğü üzere kontrol grubu ve OVA ile enjekte edilen gruplarda bulunan farelerin ağırlıklarında genel olarak bir değişim gözlemlenmemiştir. Pestisit uygulanan gruplarda ise birinci ve ikinci haftalarda farelerin 2 g alıp, son haftada geri verdikleri gözlemlenmiştir. Sonuç olarak, deney süresince farelerin vücut ağırlığında belirgin değişiklikler gözlemlenmemiştir. Bunların yanı sıra imidakloprid uygulanan farelerin gaita (dışkı)larında uygulamanın ilk haftasında renk değişimi ve ishal belirtileri gözlemlenmiştir. Bu gözlem imidaklopridin 10 mg/kg'lık dozunun sindirim sistemini az da olsa etkilediği ve doz artımında fare dışkılarında uzun süreli etkisi olup olmadığı hakkında başka bir çalışmada tartışılmalıdır.

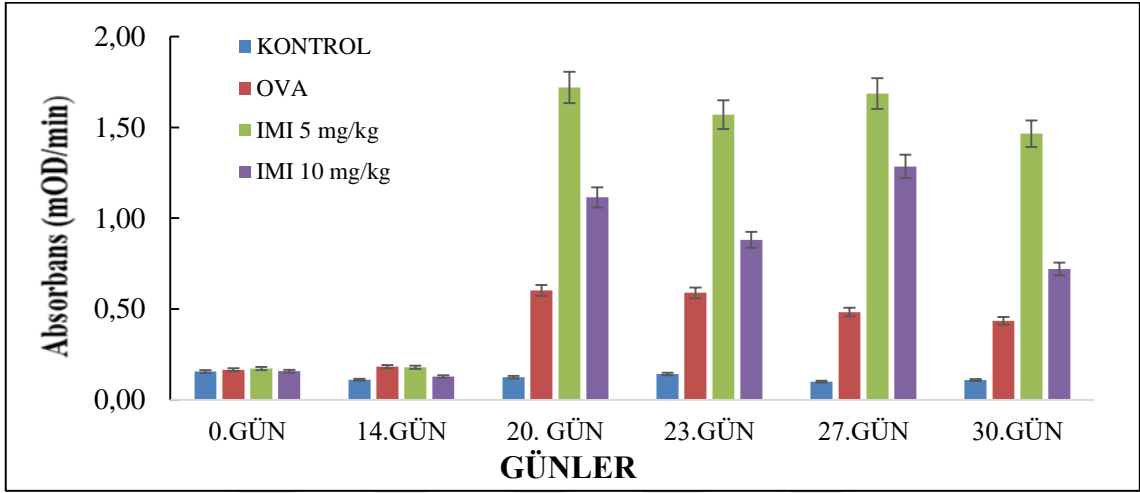
Çizelge 4. 1. Deneyde kullanılan farelerin haftalara göre ağırlık tablosu

Enjeksiyon Öncesi Gruplar ( İlk Tartım )		1. Hafta	2. Hafta	3. Hafta	4. Hafta
<b>Kontrol</b>					
1	26 g	26 g	26 g	26 g	26 g
2	24 g	24 g	24 g	24 g	26 g
3	24 g	24 g	24 g	24 g	32 g
4	24 g	24 g	24 g	24 g	26 g
5	28 g	28 g	28 g	28 g	28 g
<b>OVA</b>					
1	26 g	26 g	26 g	26 g	28 g
2	28 g	28 g	28 g	28 g	28 g
3	28 g	28 g	28 g	28 g	30 g
4	24 g	24 g	24 g	24 g	26 g
5	26 g	26 g	26 g	26 g	28 g
<b>Imi (5 mg/ kg)</b>					
1	28 g	28 g	30 g	30 g	28 g
2	22 g	22 g	24 g	24 g	24 g
3	28 g	28 g	30 g	30 g	28 g
4	26 g	26 g	28 g	28 g	26 g
5	26 g	26 g	28 g	28 g	26 g
<b>Imi (10 mg / kg)</b>					
1	22 g	22 g	24 g	24 g	26 g
2	26 g	26 g	28 g	28 g	26 g
3	28 g	28 g	30 g	30 g	26 g
4	26 g	26 g	28 g	28 g	26 g
5	22 g	22 g	24 g	24 g	24 g
<b>Ace (5 mg / kg)</b>					
1	26 g	26 g	28 g	28 g	26 g
2	20 g	20 g	22 g	22 g	20 g
3	24 g	24 g	26 g	26 g	24 g
4	22 g	****	****	***	***
5	28 g	30 g	30 g	30 g	26 g
<b>Ace (10 mg / kg)</b>					
1	26 g	28 g	28 g	28 g	24g
2	24 g	26 g	26 g	26 g	24 g
3	24 g	26 g	26 g	26 g	24 g
4	24 g	26 g	26 g	26 g	22 g
5	28 g	30 g	30 g	***	***

\*\*\* Deney sırasında ölen fareleri temsil etmektedir.

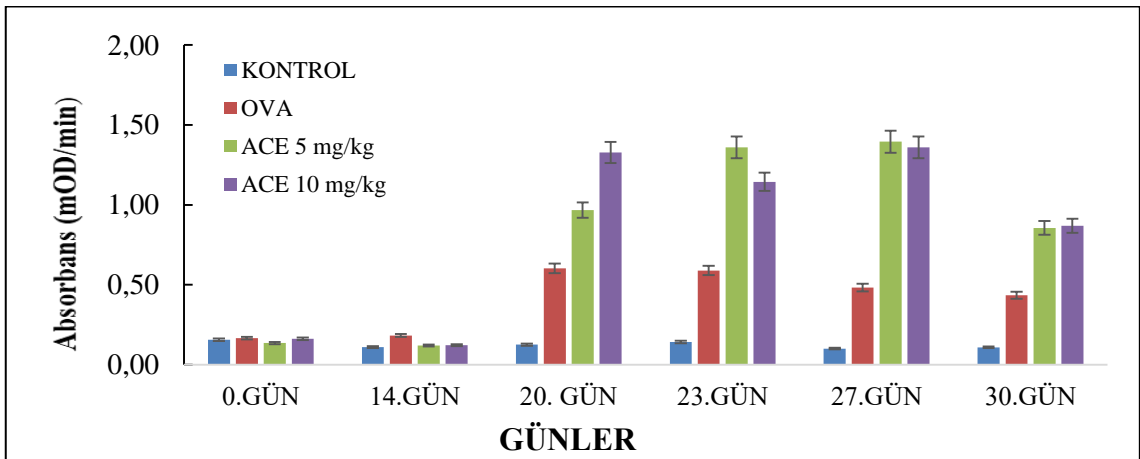
İmidakloprid ve asetamipridin bağışık yanıt üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla farelere insektisitlerin verilmesinden sonraki 7. ve 17. günlerde bir T-bağımlı antijen olan

OVA (ovalbumin) enjekte edilmiş ve antijen yani OVA-spesifik antikor cevapları (IgG, IgG1, IgG2a ve IgM) ELISA yöntemiyle test edilmiştir. Şekil 4.1’de gösterildiği gibi imidaklopridin 10 mg/kg’lık dozunun 5 mg/kg’lık dozla karşılaştırıldığında anti-OVA spesifik IgG miktarını belirgin ölçüde azalttığı tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ).



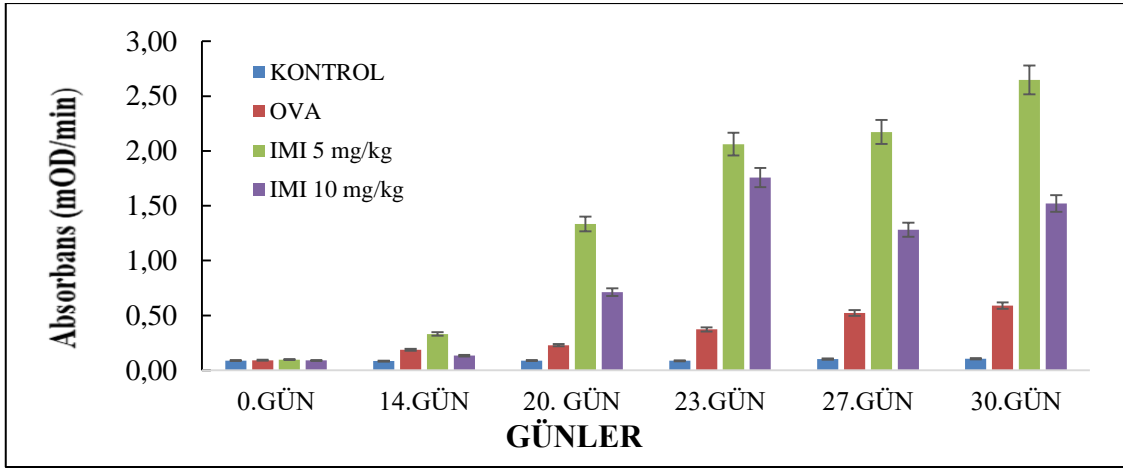
Şekil 4. 1. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgG antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri

İmidaklopridten farklı olarak, farelere aynı dozlarda (5 mg/kg ve 10 mg/kg) asetamiprid uygulandığında anti-OVA IgG cevabı üzerinde doza bağımlı farklılıklar gözlenmemiştir (Şekil 4.2).

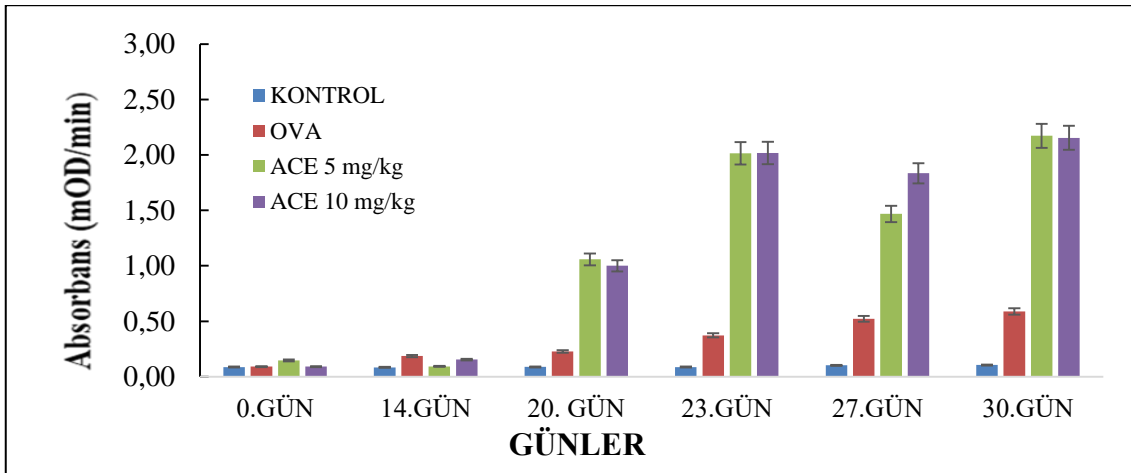


Şekil 4. 2. Asetamipridin (ACE) anti-OVA IgG antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri

Farelerde IgG antikorunun farklı Th hücreleri tarafından sentezi düzenlenen IgG1 ve IgG2a olmak üzere iki farklı izotipi bulunmaktadır. Şekil 4.3 ve Şekil 4.4’de görüldüğü gibi imidaklopridin 10 mg/kg’lık dozunun anti-OVA IgG1 antikor seviyelerini özellikle 20, 27 ve 30. günlerde belirgin şekilde azalttığı ( $p<0.05$ ), asetamipridin ise aynen IgG cevabında olduğu gibi antikor seviyeleri üzerinde belirgin bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür.

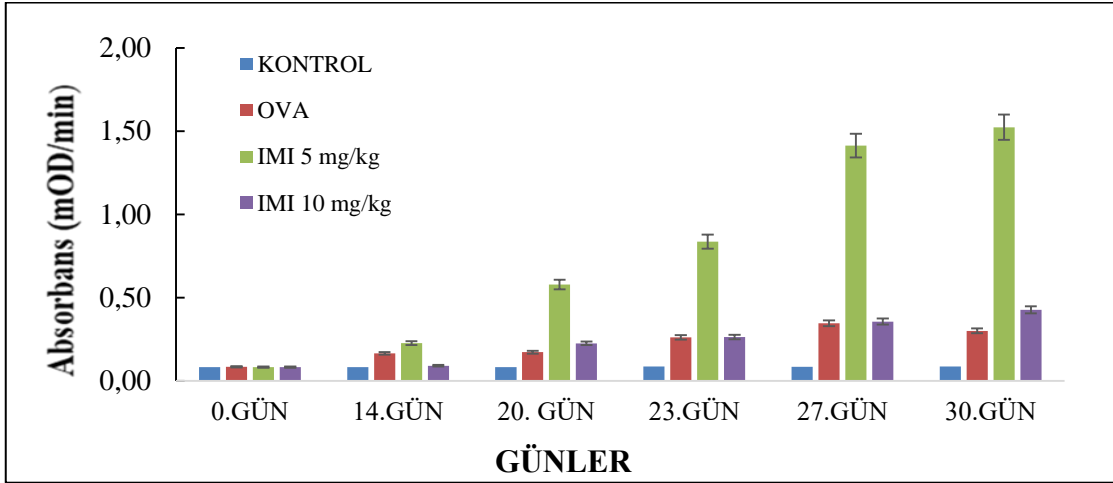


Şekil 4. 3. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgG1 antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri

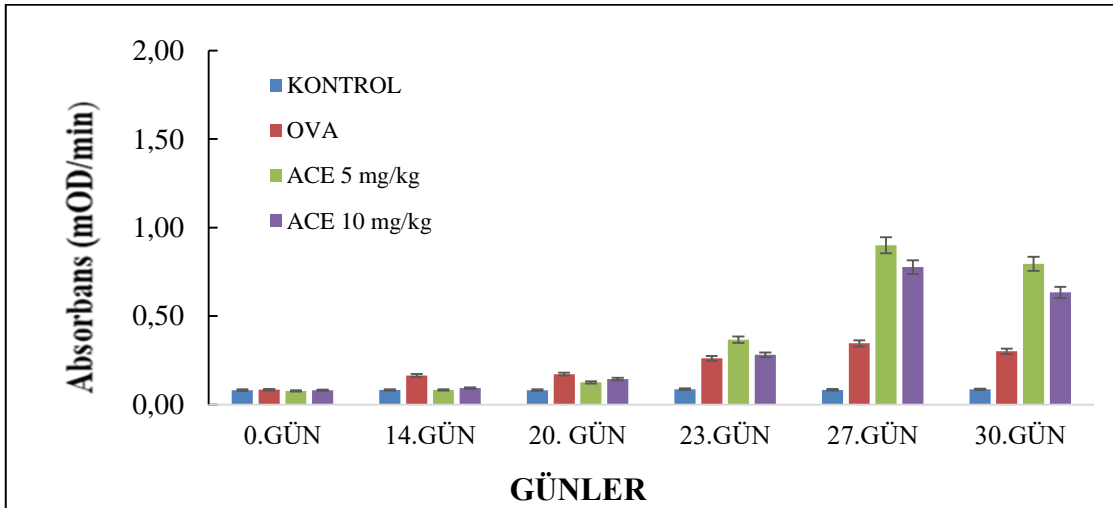


Şekil 4. 4. Asetamipridin (ACE) anti-OVA IgG1 antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri

Anti-OVA IgG2a sonuçları Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmektedir. Aynen anti-OVA IgG1 cevabında olduğu gibi imidaklopridin 10 mg/kg'lık dozunun anti-OVA IgG2a antikor seviyelerini de azalttığı asetamipridin ise IgG2a seviyesi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür.



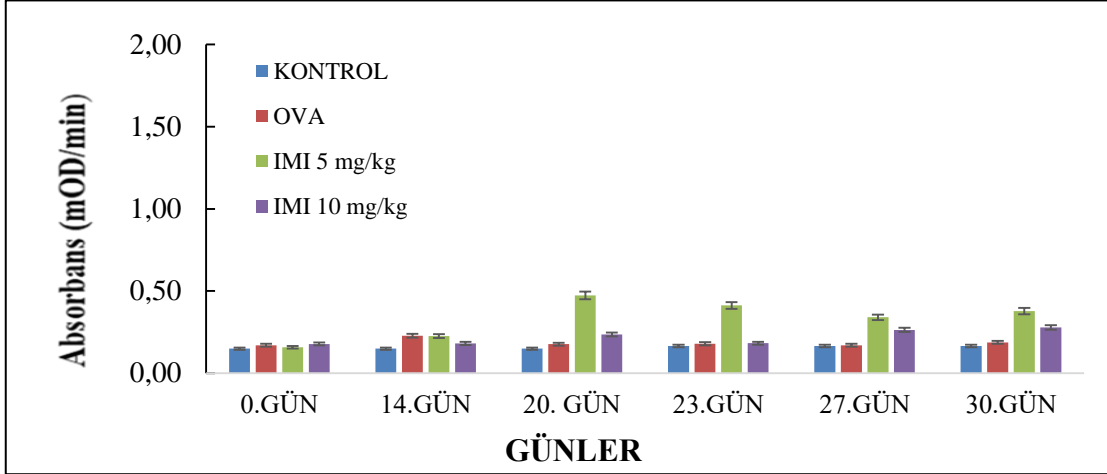
Şekil 4. 5. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgG2a antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri



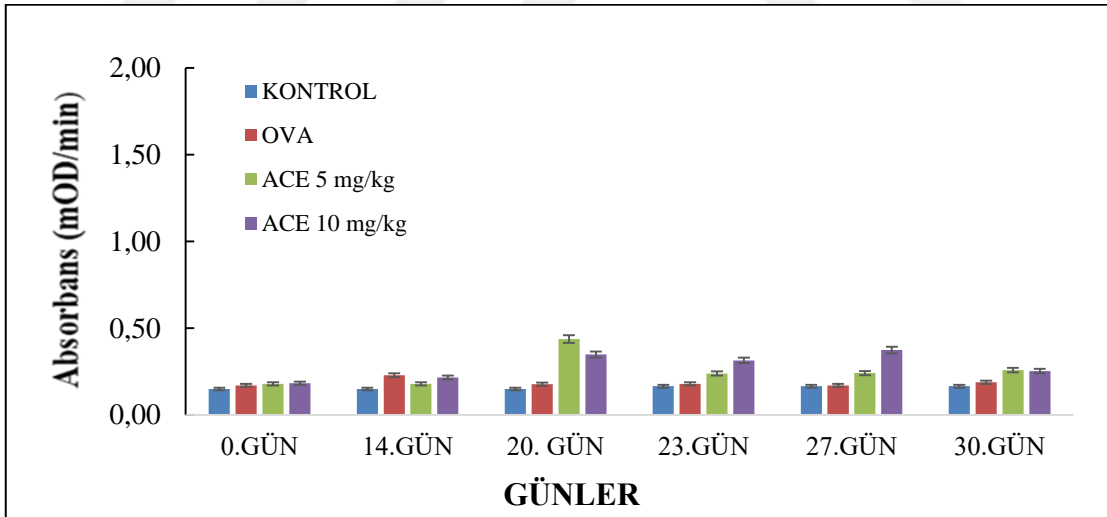
Şekil 4. 6. Asetamiprid (ACE) anti-OVA IgG2a antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri

Ancak genel olarak IgG1 ve IgG2a seviyeleri karşılaştırıldığında IgG1 cevabının daha IgG2a'ya göre daha baskın olduğu görülmektedir.

IgG, IgG1 ve IgG2a antikorları dışında ayrıca anti-OVA spesifik IgM seviyeleri de test edilmiştir. Şekil 4.7 ve Şekil 4.8’de gösterildiği gibi anti-OVA IgM cevabının diğer antikor tipleriyle karşılaştırıldığında oldukça düşük seviyede olduğu görülmüştür.

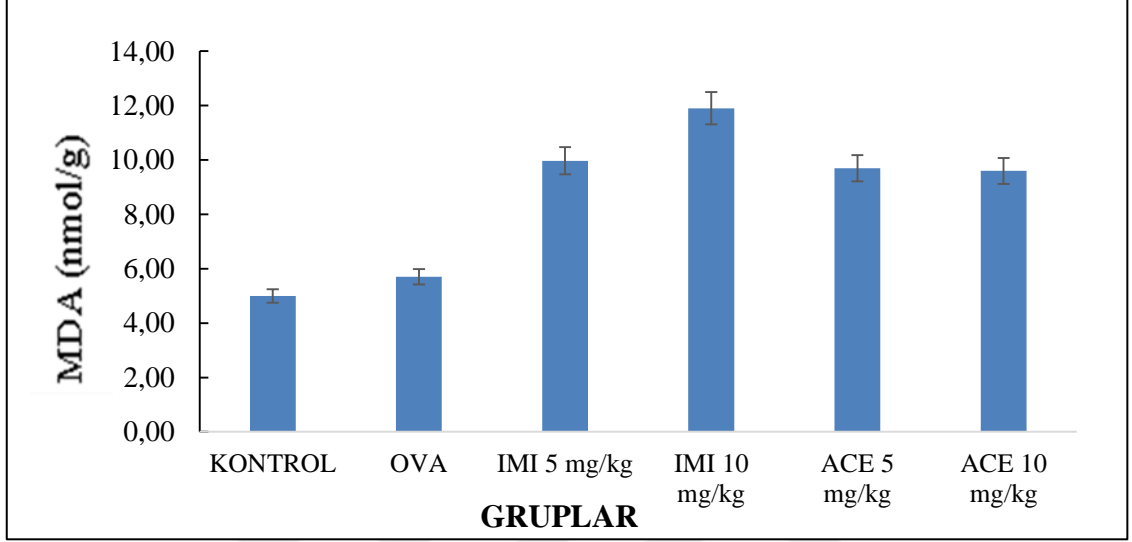


Şekil 4. 7. İmidaklopridin (IMI) anti-OVA IgM antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri



Şekil 4. 8. Asetamipridin (ACE) anti-OVA IgM antikor seviyeleri üzerindeki doza bağımlı (5 mg/kg ve 10 mg/kg) etkileri

İmidakloprid ve asetamiprid verilen farelerin karaciğer dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki dozda da (5 mg/kg ve 10 mg/kg ) MDA seviyelerinde belirgin şekilde ( $p<0.01$ ) artış gözlenmiştir (Şekil 4. 9).



Şekil 4. 9. İmidakloprid ve asetamipridin (5 mg/kg ve 10 mg/kg) karaciğerdeki lipid peroksidasyon seviyeleri

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde tarım alanında birçok zararlıdan korunmak için dünyada ve ülkemizde yaygın bir şekilde insektisitler kullanılmaktadır. İmidakloprid ve asetamiprid neonikotinoid grubu insektisit grubuna dâhil olup, zararlılarla mücadelede hızla artan bir kullanıma sahiptir ve memelilerde nörotoksik etkilerinin az olmasından dolayı popüler bir insektisit grubu olarak yaygın kullanıma sahiptir (Sarkar ve ark., 2001). Neonikotinoidler birçok farklı böcek türüne karşı koruma sağlamaktadır. Düşük konsantrasyonlarda etkili olup birçok farklı metotla uygulanmaktadır (Kapoor ve ark., 2011). Neonikotinoidler, böceklerle karşı yüksek toksisiteye sahipken memelilere ve sucul organizmalara karşı düşük akut ve kronik toksikolojik profile sahip insektisitler olarak kabul edilmektedir. Hem böceklerde hem de memelilerin sinir sisteminde asetilkolin reseptörü bulunmasına rağmen imidaklopridin böceklerde daha fazla toksik olduğu tespit edilmiştir. Bunun sebebi, asetilkoline duyarlı reseptörler böceklerde merkezi sinir sisteminde bulunurken memelilerde ise kaslarla ilişkili sinirlerde bulunmaktadır (Ware, 2000). Literatürdeki bu bilgiler doğrultusunda neonikotinoid grubu insektisitlerden imidaklopridin sadece tarımda zararlı organizmalar için toksik olduğu belirtilmiştir. Fakat son yıllarda yapılan çalışmalarda bal arılarında koloni kayıplarına (Karahana ve ark., 2018) neden olduğu belirtilmiştir. Bal arılarının da böcek sınıfında olduğu düşünülürse hedef dışı canlılara etkisinin olmadığı görüşü ortaya çıkabilir ancak imidaklopridin farklı dozları gebe Wistar cinsi sıçanların yavruları doğumdan erginleşinceye kadar incelendiğinde, oksidatif stres ile lipid peroksidasyon seviyelerinde önemli seviyede artışlar tespit edilmiştir (Ndonwi ve ark., 2019).

Asetamipridin de farklı dozlarda uygulandığı zaman bazı fizyolojik parametreler ve bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu belirtilmiştir (Singh ve ark., 2012; Mondal ve ark., 2008). Asetamiprid B hücre mitojenlerine karşı lenfosit proliferasyonunu belirgin şekilde baskılayarak immünosupresyona ve farelerin dalaklarında histopatolojik ve toksikolojik değişikliklere neden olmaktadır. İnsanlar için karsinojenik etkisinin olmadığı belirtilmesine rağmen, Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücrelerinde klastojen (kromozomda yapısal ve sayısal değişikliklere neden olan madde) olarak etkisinin görüldüğü belirtilmiştir (EPA, 2002).



Pestisitlerin birçok canlı parametresini etkilediği ve özellikle immünosupresyonunda enfeksiyon hastalıklarına karşı duyarlılığı arttırdığı ve yabancı antijenlere karşı bağışık yanıtı azalttığı dikkate alındığında bu pestisitlerin bağışıklık sistemi üzerindeki etkilerinin anlaşılması önem arz etmektedir.

İmidaklopridin immünotoksik etkilerini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada farelere 28 gün boyunca 2.5, 5 ve 10 mg/kg olacak şekilde imidakloprid oral olarak verilmiştir. Bu çalışmada özellikle imidaklopridin hücrel bağışık yanıtı baskıladığı, 2.5 mg/kg'lık dozun bağışık yanıt üzerinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, 5 mg/kg'ın üzerindeki dozlarda ise immünosupresif etkilerinin görüldüğü tespit edilmiştir. Özellikle 10 mg/kg'lık dozun T-hücre aracılı bağışık yanıtı baskıladığı, imidaklopridin T hücrelerine (özellikle Th hücrelerine) karşı direkt sitotoksik etkilerinin olduğu ve uzun süreli maruziyetin bağışıklık sistemine zararlı olabileceği belirtilmiştir (Badgouj, 2013). Aynı çalışmada yüksek imidakloprid dozlarının farelerin vücut ağırlıklarını çok az miktarda azalttığı, ancak farklı doz grupları arasında vücut ağırlıkları açısından belirgin farklılıkların olmadığı tespit edilmiştir.

Yukarıdaki çalışmaya benzer şekilde bizim çalışmamızda da insektisit uygulanan farelerin vücut ağırlıklarında belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. İmidaklopridin 10 mg/kg'lık dozunun immünosupresif olduğu ve B hücre aracılı hümorale bağışık yanıtı baskılayarak antijen yani OVA spesifik antikor seviyelerini (IgG, IgG1 ve IgG2a) belirgin şekilde azalttığı görülmüştür.

Mohany ve ark. tarafından yapılan başka bir çalışmada ise 4 hafta boyunca imidaklopride oral yoldan maruz kalan farelerde, total immünoglobulin özellikle de IgG seviyelerinde belirgin artış olduğu belirtilmiştir. Özellikle kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Ig ve IgG seviyelerinin belirgin şekilde arttığı, dördüncü haftada en yüksek seviyelerine ulaştığı tespit edilmiştir (Mohany ve ark., 2011). Bu çalışmada da özellikle imidaklopridin 5 mg/kg'lık dozunun antijen spesifik antikor seviyelerinde (IgG, IgG1 ve IgG2a) belirgin şekilde artışa neden olduğu, ancak 10 mg/kg'lık dozunun ise immünosupresif etkiye sahip olduğu ve antikor seviyelerini belirgin şekilde azalttığı tespit edilmiştir.

Yukarıda belirtilen çalışmalarda imidakloprid ve asetamipridin bağışıklık sistemi ve oksidatif stres üzerindeki etkileri ayrı ayrı çalışılmıştır. Bu çalışmada ise neonikotinoid grubundan daha fazla toksik özelliklere sahip imidakloprid ile memelilerde düşük toksisiteye sahip olduğu belirtilen asetamipridin özellikle hümmoral bağışık yanıt ve lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri karşılaştırmalı olarak test edilmiştir.

Asetamipridin bağışıklık sistemi üzerindeki etkileri ile ilgili olarak daha önce yapılan bir çalışmada asetamipridin üç farklı dozu (25, 100 ve 200 mg/kg) 28 gün boyunca dişi Wistar cinsi sıçanlara verildiğinde, özellikle 200 mg/kg'lık dozun uygulandığı sıçanlarda asetamipridin koyun kırmızı kan hücrelerine (sRBC) karşı hem hüccresel hem de hümmoral bağışıklığı baskıladığı gösterilmiştir (Mondal ve ark., 2009). Bu çalışmada kullanılan dozlar bizim çalışmamızda kullandığımız dozlarla karşılaştırıldığında çok yüksek olup, 5 ve 10 mg/kg'lık dozların kullanıldığı çalışmamızda asetamipridin hümmoral bağışıklığı baskılamadığı ve her iki doz da aynı etkinin ortaya çıktığı görülmüştür.

Araştırma sonucumuza göre imidaklopridin 10 mg/kg'lık dozunun 5 mg/kg'lık doza göre bağışık yanıtı daha çok baskıladığı, ve asetamipridle karşılaştırıldığında ise asetamipridin her iki dozundan da daha baskın şekilde bağışıklığı etkilediğı tespit edilmiştir.

Asetamipridin genotoksisite testleri sonucunda kromozom üzerinde yapısal değışiklikler oluşturduğu ve insan periferel kan lenfositlerinde yapılan testler ile kardeş kromatid değışimi sırasında hatalara neden olduğu belirtilmiştir (Kocaman ve ark., 2007). Asetamiprid diğere birçok insektisit türüne göre çevreye ve nitekim hedef dışı organizmalarda düşük riske sahiptir. Ayrıca asetamipridin balık ve sedimentlerde biyolojik olarak birikmediğı görülmüştür (EPA, 2002).

Bizim çalışmamızda da asetamipridin düşük dozda maruziyetinde herhangi bir immünsupresif özellik tespit edilmemiştir. Buna paralel olarak ileride yapılacak olan çalışmalarda asetamipridin daha yüksek dozlarda uygulanarak bağışık yanıtı nasıl etkilediğı tartışılmalıdır.

Sonuç olarak, imidakloprid ve asetamipride kronik olarak 30 gün boyunca maruz kalan farelerde imidaklopridin asetamipridle karşılaştırıldığında, doza bağlı olarak bağışık yanıtı baskıladığı yani immünoşpresyona neden olduğu gözlenmiştir. Özellikle IgG1 ve IgG2a seviyelerine bakıldığı zaman IgG1 cevabının daha baskın olduğu görülmektedir ki bu durum Th2 aracılı yanıtın baskın olduğunun göstergesidir.

Lipid peroksidasyonu canlı dokusunda meydana gelen hasarın önemli bir belirteçidir. Karaciğer dokusunda MDA seviyelerinin artması doku hasarını belirtip, hücre fonksiyonlarında değişikliğe neden olmaktadır. (Slatter ve ark., 2000). İmidaklopridin karaciğerde MDA seviyelerini belirgin şekilde arttırdığı görülmüştür. Yapılan bir çalışmada imidaklopridin 10, 20 ve 45 mg/kg'lık dozları 60 gün boyunca Wistar cinsi sıçanlara verildiğinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bütün deneysel gruplarda MDA seviyelerinde belirgin artışlar görülmüştür (Chakroun ve ark., 2017).

Başka bir çalışmada ise imidakloprid 19 mg/kg ve 38 mg/kg'lık dozlarda oral olarak 20 ve 30 gün boyunca uygulandığında hem karaciğer hem de böbrek dokusunda özellikle 38 mg/kg'lık dozun MDA seviyelerini belirgin şekilde arttırdığı görülmüştür (Lohiya ve ark., 2017).

Bu çalışmada ise, daha önceki çalışmalarla benzer şekilde, imidakloprid ve asetamiprid verilen farelerin karaciğer dokusunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında her iki dozda da (5 mg/kg ve 10 mg/kg) MDA seviyelerinde belirgin şekilde artış gözlenmiştir. Ancak imidakloprid ve asetamipridin 5 mg/kg ve 10 mg/kg'lık dozları karşılaştırıldığında doza bağlı farklılıklar ortaya çıkmamıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar imidaklopridin asetamipridle karşılaştırıldığında doza bağlı olarak bağışık yanıtı baskıladığını ve özellikle yüksek dozlarda immünoşpresif olduğunu göstermektedir. Ayrıca insektisitlerin oksidatif stresin bir belirteci olarak lipid peroksidasyonu üzerindeki etkilerine bakıldığında ise hem imidakloprid hem de asetamipridin MDA seviyelerinde artışa neden olduğu görülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

- Açar, Ç.Ö., 2015. Pestisit Analizleri. T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Kalıntı/ Pestisit Birimi Eğitim Notu, Ankara.
- Agerberth, B. and Gudmundsson, G., 2006. Host antimicrobial defence peptides in human disease, *Curr Top Microbiol Immunol*, s. 67-90.
- Altıkat, A., Turan, T., Torun, E, F. ve Bingül, Z., 2009. Türkiye’de Pestisit Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri Atatürk Üniv. Ziraat Fak.Dergisi, 40 (2), 87-92.
- Anonim, 1989. Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture, Report of WHO/UNEP Working Group, WHO, Geneva.
- Anonim, 2001. İmidacloprid. *Journal of Pesticide Reform*, Yayın No:21-1.
- Anonim, 2008. Pestisitlerin İnsan ve Çevre Üzerine Etkileri. [http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/afd8346a677af9d\\_ek.doc?tipi=40&turu=X&sube=\(21.07.2019\)](http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/afd8346a677af9d_ek.doc?tipi=40&turu=X&sube=(21.07.2019)).
- Anonim, 2011. Kullanılan pestisitlerin etkileri. Teknik Arıcılık Bilgi Paylaşma Forumu, <https://www.aricilik.gen.tr/index.php?topic=3365.0> (25.06.2019).
- Anonim, 2015. International Agency for Research on Cancer, WHO,240., Lyon .
- Anonim, 2016. International Labour Organization. Safety and Health in Agriculture.Code of practice [http://www.ilo.org/global/publications/ilo-bookstore/orderonline/books/WCMS\\_159457/lang--en/index.htm](http://www.ilo.org/global/publications/ilo-bookstore/orderonline/books/WCMS_159457/lang--en/index.htm) (01.07.2019).
- Anonim, 2016. Worldwide Pesticide Use. [ww.springer.com/.../9788132216889-c2.pdf](http://www.springer.com/.../9788132216889-c2.pdf), (12.03.2019).
- Anonim, 2017. Global Markets for Biopesticides. bcc research chemical report.
- Anonim, 2018. Bağışıklık (İmmun Sistem) ve Çeşitleri. <http://www.biyolojiportali.com-> (21.07.2019).
- Anonim, 2018. Özgül Bağışıklık (Hücrel ve Hümorale Bağışıklık). <https://www.yenibiyoloji.com/ozgul-bagisiklik-hucresel-ve-humoral-bagisiklik-3909/>. (20.07.2019).
- Anonim, 2019. Ülkemizde bitki koruma ürünleri ve buna bağlı konular üzerine değerlendirme. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, [http://www.zmo.org.tr/genel/bizden\\_detay.php?kod=30892&tipi=5&sube=0](http://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=30892&tipi=5&sube=0) (30.06.2019).
- Arfat, Y., Mahmood, N. and Tahir M.U., 2014. Effect of Imidacloprid on Hepatotoxicity and Nephrotoxicity in Male Albino Mice. *Toxicology Reports*, 1, 554-561. *Biochemistry Biophysics*. 40(5), 300-308.
- Badgujar, P.C., Jaina, S.K., Singhb, A., Puniaa, J.S., Guptac, R.P. and Chandratre, G. A., 2013. Immunotoxic effects of imidacloprid following 28 days of oral exposure İn BALB/c mice. *Environmental toxicology and pharmacology* 35 (1), 408-418.
- Chakroun, S., Grissa, I., Ezzi1, L., Ammar, O., Neffati, F., Kerkeni, E., Najjar, M. F., Haouas, Z. and Cheikh, H. B., 2017. Imidacloprid enhances liver damage in Wistar rats: Biochemical, oxidative damage and histological assessment. *Journal of Coastal Life Medicine*, 5 (12), 540-546.
- Chinen, J., Finkelman, F. and Shearer, W.T., 2006. Advances in basic and clinical immunology. *J Allergy Clin Immunol*, s. 489-495.
- Cochrane, C.G., 1991. Cellular injury by oxidants. *Am J Med*, 91(3), 23-30.
- Costa, L., 2008. Klaassen CD. Toxic Effects of Pesticides, Toxicology The Base, University of Kansas, Kansas, 833-921.

- Devasagayam, TPA., Bolor, K.K. ve Ramsarma, T., 2003. Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). Indian J. Dekker, New York, 225-319.
- Eken, A., 2018. Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. Journal of Clinical and Analytical Medicine, 69-73.
- EPA, 2002. United States Office of Prevention, Pesticides Environmental Protection and Toxic Substances Agency Pesticide Fact Sheet Name of Chemical: Acetamiprid Reason for Issuance: Conditional Registration Date Issued. [https://www3.epa.gov/pesticides/chem\\_search/reg\\_actions/registration/fs\\_PC-099050\\_15-Mar-02.pdf](https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-099050_15-Mar-02.pdf) (04. 05. 2016).
- Flora, S.J., 2007. Role of free radicals and antioxidants in health and disease. Cell Moleculer Biology, 53(1), 1-2.
- Guest, J.A., Copley, M.P. and Hormenic, K.L., 1991. Carsinogenic effects of pesticides. Pathol Pharmacol, 71(3), 387-390.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z., 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. Ankara, s.18.
- Güler, Ç. ve Çobanoğlu, Z., 1997. Pestisitlerin Kronik Sağlık Etkileri. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi. Ankara, s.39.
- Horton, A.A., 1987. Fairhurst S.Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. Crit Rev Toxicol. 18(1), 27-79.
- Janeway, C. A., Travers, Jr. P., Walport, M. and Shlomchik, M. J., 2001. Immunobiology, 884p, Garland Science, New York, USA.
- Kammon, A.M., Brar, R. S., Banga, H.S. and Sodhi, S., 2012. Ameliorating Effects Of Vitamin E and Selenium on Immunological Alterations Induced by Imidacloprid Chronic Toxicity in Chickens. Environ Anal Toxicol, s. 164-180.
- Kapoor, U., Srivastava, M.K. and Srivastava, L.P., 2011. Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology hormones and antioxidant enzymes in female rats. Food Chem. Toxicol. 49, 3086–3089.
- Karahan, A., Gül, A., Kutlu, M.A. ve Karaca, İ., 2018. Imidacloprid'in bal arılarının (*Apis mellifera anatoliaca* ve *Apis mellifera caucasica*) vücut fonksiyonları üzerine etkisinin araştırılması. Türk Doğa ve Fen Dergisi, 7 (1), 24-28.
- Kaygısız, H., 2003. Tarımda İlaçlı Mücadelenin Temel Prensipleri, 2. Baskı. İstanbul, Hasad Yayıncılık, s. 65-67.
- Kazuhiko, M., Buckingham, S.D., Kleier, D., Rauh, J.J., Grausoand, M. and Sattelle, D.B., 2001. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *TRENDS in Pharmacological Sciences* 22 (11), 573-580.
- Kocaman, AY. ve Topaktas, M., 2007. In Vitro evaluation of the genotoxicity of acetamiprid in human peripheral blood lymphocytes. Environmental and Molecular Mutagenesis, 48, 483-490.
- Kollmeyer W.D., Flattum R.F., Foster J.P., Powell J.E., Schroeder M.E. and Soloway S., 1999. Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides, in Neonicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor, ed. by Yamamoto I and Casida JE. Springer, New York, NY, 71–89.
- Lohiya, A., Kumar, V. and Punia, J.S., 2015. Imidacloprid induced oxidative stress and histopathological changes in liver of rats. Agricultural Research Communication Centre, 51(3), 531-536.

- McEwen, F.L. and Stephenson, G.L., 1989. The use and significance of pesticides in the environment. John Wiley & Sons Pub, New York, USA.
- Mencke N. and Jeschke P., 2002. Therapy and prevention of parasitic insects in veterinary medicine using imidacloprid. *Curr Top Med Chem*, 2(7), 701–715.
- Menzer, R.E. and Nelson, J.O., 1986. Water and soil pollutants. Casarett and Doull's Toxicology, 3rd., Ed: Klaassen, C.D., Amdur, M.O., Doull J. Macmillan Publishing Company, New York, 835-838.
- Mohany, M., Badr, G., Refaat, I. and El-Feki, M., 2011. Immunological and histological effects of exposure to imidacloprid insecticide in male albino rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (18), 2016-2114.
- Mondal, S., Ghosh, R.C. and Karmakar, D.B., 2009. Effects of Acetamiprid on Immune System in Female Wistar Rats. *Prog. Zool. Soc.* 62(2), 109-117.
- Nawar, W.W., 1996. Lipids. In "Food Chemistry". 3nded., O.R. Fennema (Ed). Marcel, New York, 225-314.
- Ndonwi, E. N., Atogho-Tiedeu, B., Lontchi-Yimagou, E., Shinkafi, T. S., Nanfa, D., Balti, E.V., Indusmita, R., Mahmood, A., Katte, J., Mbanya, A., Matsha, T., Mbanya, J.C., Shakir, A. and Sobngwi, E., 2019. Gestational Exposure to Pesticides Induces Oxidative Stress and Lipid Peroxidation in Offspring that Persist at Adult Age in an Animal Model. *Toxicological Research*, 35 (3), 241-248.
- Öğüt, S. ve Seçilmiş, H., 2009. Tarım İlaçlarının (Pestisitler) Olası Çevre Etkileri. International Davraz Congress on Social and Economic Issues Shaping the World's Future: New Global Dialogue, Isparta.
- Öncüler C., 2000. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları, 4. Baskı., Adnan Menderes Üniversitesi Yayınları, Aydın, s. 118-48.
- Parantainen, J., Vapaatalo, H. and Hokkanen, E., 1986. Clinical aspects of prostaglandins and leukotrienes in migraine. *Cephalalgia*, 6(4), 95-101.
- Pham-Huy, LA., He, H. and Pham-Huy, C., 2008. Free Radicals, Antioxidants in Disease Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int. J. Biomed Sci.* 4 (2), 89-96.
- Porth, C.M., 2004. Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States, Lippincott Williams&Wilkins, Philadelphia, s. 134-149.
- Sarkar, M.A., Roy, S., Kole, R. and Chowdhury, A., 2001. Persistence and metabolism of imidacloprid in different soils of West Bengal. *Pest Manag. Sci.* 57, 598–602.
- Shinde, A., Ganu, J. and Naik, P., 2012. Effect of free radicals and Antioxidants on oxidative stress, A review. *J Dental Allied Sciences.* 1(2), 63-66.
- Singh, T.B., Mukhopadyhayhay, S.K., Sar, T.K. and Gangguly S., 2012. Induced acetamiprid toxicity in mice: a review. *J Drug Metab Toxicol.*, 3-6.
- Slatter, D. A., Bolton, C.H. and Bailey, A.J., 2000. The importance of lipidderived malondialdehyde in diabetes mellitus. *Diabetologia.* 43 (1), 550-557.
- Sofuoğlu, S.C., 2009. Hava ve Sudaki Kirleticilere Maruziyet ve İnsan Sağlığı Riskleri- İzmir İli Deneyimi. 7. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi, Ankara.
- Songu, M. and Katılmış, H., 2012. Enfeksiyondan korunma ve immün sistem. *J Med Updates*, 2(1), 31-42.
- T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Teftiş Kurulu Başkanlığı., 2005. Zirai Mücadele İlaçları Üretimi Yapılan İşyerlerinde İş Sağlığı ve Güvenliği Proje Denetimi Değerlendirme Raporu, Ankara.

- Tekbaş, Ö.F., 2010. Çevre Sağlığı. GATA, Ankara, 313-20.
- Templar, J., Kon, S.P., Milligan, T.P., Newman, D.J. and Raftery, M.J., 1999. Increased plasma malondialdehyde levels in glomerular disease as determined by a fully validated HPLC method. *Neprol Dial Transplant.* 14 (1), 946-51.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 2010. Tarım ilaçlarının kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniv. Fen Bilimleri Enst. Dergisi*, 26(2), 155-169.
- Tomizawa, M. and Casida, J.E., 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanism of selective action. *Annu.Rev.Pharmacol. Toxicol.* 45, 247-268.
- Tomizawa, M. and Yamamoto, I., 1993. Structure-activity relationships of nicotinoids and imidacloprid analogs. *Nihon Noyaku Gakkaishi (J. Pestic. Sci.)*, 18: 91-98.
- Uchiyama, M. and Mihara, M., 1978. Determination of Malondialdehyde Precursor in Tissues by Thiobarbituric Acid Test. *Analytical Biochemistry*, 86, 271-278.
- Vural N., 2005. Çevremizde ve Endüstride Bulunan Önemli Toksik Maddeler. *Toksikoloji*, Ankara, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, s. 195-393.
- Wallace, R.B., 1992. MSc Maxcy Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine Moses, 13nded., NewYork, 5-7.
- Ware, G.W., 2000. The pesticide book. Fresno CA: Thomson Publications, 5nded., 180-184.
- Yeh, I.J., Lin, T.J. and Hwang, D.Y., 2010. Acute Multiple Organ Failure With Imidacloprid and Alcohol Ingestion. *Am. J. Emerg. Med.* 255 (24), 1-3.
- Yıldırım, E., 2008. Tarımsal Zararlılarla Mücadele Yöntemleri ve Kullanılan İlaçlar. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Yayınları*, No:219, Erzurum, s. 350.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut C., Kaya, Ü. ve Ünal, G., 2015. Tarımsal Savaşmada Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları. [http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197\\_ek.pdf](http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/dd7a04804967197_ek.pdf) ; (30.06.2019).
- Yılmaz, A., Kodan, M. ve Güler, Y., 2018. Pestisitlerin İnsan Sağlığına ve Çevreye Olan Etkileri. *Teoriden Pratiğe Kimyasal Mücadele*, Editör: Birişik. N., Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, 198 - 229.
- Zamora, A., Narvaez, M. E., Martinez, M,C,C. and Merkoçi, A., 2017. Nanomaterials connected to antibodies and molecularly imprinted polymers as bio/receptors for bio/sensor applications. *ReaearchGate*.

## **7. EKLER**

Ek 1.Tarım ve Orman Bakanlığı'nın neonikotinoid grubu pestisitlerin yasaklanması ile ilgili bildirisi







T.C.  
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI  
Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü

ÇOK İVEDİ  
19.12.2018

Sayı : 81466379-320.04.02-E.3768012  
Konu : Neonicotinoid Grubu Aktif  
Maddelerin Yasaklanması ve  
Kısıtlanması Hk.

- Antepfıstığı, Armut, Biber, Domates (tarla), Elma, Fındık, Hıyar (tarla), Karpuz, Lahana, Marul, Mısır, Nar, Pamuk, Patlıcan (tarla), Şeftali, Tütün ve Zeytin tavsiyelerinin Avrupa Birliği'nde olduğu gibi **19 Aralık 2018** tarihi itibari ile iptal edilmesi ve bu tarih itibari ile bu ürünlerdeki kullanımının ülkemizde sonlandırılması,
- Avrupa Birliği'nde söz konusu aktif maddenin, **Nisan 2019** tarihine kadar sadece seralarda kullanımının devam edecek olması ve aynı tarih itibari ile Avrupa Birliği'nce yeniden değerlendirme yapılacak olmasına rağmen ülkemizde seradaki kullanımı ve tohum ilacı olarak kullanımının, **Aralık 2019** tarihinde Bakanlığımızca yeniden yapılacak değerlendirmeye kadar devam etmesi,
- Eski etiketlerle piyasaya arz edilmiş olan bu aktif maddeyi içeren bitki koruma ürünlerinin etiketlerinde firmasınca **07 Mart 2019** tarihine kadar gerekli düzeltmelerin yapılması,
- Bitki koruma ürünlerinin kullanımı esnasında arı maruziyetlerini önlemek maksadıyla tavsiye kullanımlarına müsaade edilen ürünlerin etiketlerinde ekte Bakanlığımızca belirlenmiş olan "***Bu ürün arılara çok zehirlidir. Özellikle çok kuru ve rüzgarlı hava koşullarında, ilaçlı tohum uygulaması sırasında ortaya çıkan tozlar sürüklenme ile taşınarak, çevredeki çiçekli bitkiler ve sularda kalıntı oluşturabileceğinden dolayı, arılar ve diğer polinatör böcekler ilaçlı tohum tozlarına maruz kalabilirler. Bu sebeple çok kuru ve rüzgarlı hava koşullarında ilaçlı tohum ekimi yapılmamalıdır. Tozlaşma amacıyla Bombus arısı kullanılan seralarda kullanmayınız.***" uyarı ifadelerine yer verilmesi kararları alınmıştır.

Bilgi ve gereğini rica ederim.

 e-imzalıdır

Dr. Yunus BAYRAM  
Bakan a.  
Genel Müdür Yardımcısı V.

Dağıtım:  
81 İl Müdürlüğüne

Not: 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Eskişehir Yolu 9. Km. Lodumlu Mevkii 06800 Çankaya/ Ankara  
Tel: (0312) 287 33 60 Faks:

Bilgi için: Mehmet Ali TEKE  
Mühendis



T.C.  
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI  
Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü

Sayı : 81466379-320.04.02-E.3768012  
Konu : Neonicotinoid Grubu Aktif  
Maddelerin Yasaklanması ve  
Kısıtlanması Hk.

**ÇOK İVEDİ**  
19.12.2018

- Antepfıstığı, Armut, Biber, Domates (tarla), Elma, Fındık, Hıyar (tarla), Karpuz, Lahana, Marul, Mısır, Nar, Pamuk, Patlıcan (tarla), Şeftali, Tütün ve Zeytin tavsiyelerinin Avrupa Birliği'nde olduğu gibi **19 Aralık 2018** tarihi itibari ile iptal edilmesi ve bu tarih itibari ile bu ürünlerdeki kullanımının ülkemizde sonlandırılması,
- Avrupa Birliği'nde söz konusu aktif maddenin, **Nisan 2019** tarihine kadar sadece seralarda kullanımının devam edecek olması ve aynı tarih itibari ile Avrupa Birliği'nce yeniden değerlendirme yapılacak olmasına rağmen ülkemizde seradaki kullanımı ve tohum ilacı olarak kullanımının, **Aralık 2019** tarihinde Bakanlığımızca yeniden yapılacak değerlendirmeye kadar devam etmesi,
- Eski etiketlerle piyasaya arz edilmiş olan bu aktif maddeyi içeren bitki koruma ürünlerinin etiketlerinde firmasınca **07 Mart 2019** tarihine kadar gerekli düzeltmelerin yapılması,
- Bitki koruma ürünlerinin kullanımı esnasında arı maruziyetlerini önlemek amacıyla tavsiye kullanımlarına müsaade edilen ürünlerin etiketlerinde ekte Bakanlığımızca belirlenmiş olan "**Bu ürün arılara çok zehirlidir. Özellikle çok kuru ve rüzgarlı hava koşullarında, ilaçlı tohum uygulaması sırasında ortaya çıkan tozlar sürüklenme ile taşınarak, çevredeki çiçekli bitkiler ve sularda kalıntı oluşturabileceğinden dolayı, arılar ve diğer polinatör böcekler ilaçlı tohum tozlarına maruz kalabilirler. Bu sebeple çok kuru ve rüzgarlı hava koşullarında ilaçlı tohum ekimi yapılmamalıdır. Tozlaşma amacıyla Bombus arısı kullanılan seralarda kullanmayınız.**" uyarı ifadelerine yer verilmesi kararları alınmıştır.

Bilgi ve gereğini rica ederim.

 e-imzalıdır

Dr. Yunus BAYRAM  
Bakan a.  
Genel Müdür Yardımcısı V.

Dağıtım:  
81 İl Müdürlüğüne

Not: 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Eskişehir Yolu 9. Km. Lodumlu Mevkii 06800 Çankaya/ Ankara  
Tel: (0312) 287 33 60 Faks:

Bilgi için: Mehmet Ali TEKE  
Mühendis



T.C.  
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI  
Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü

ÇOK İVEDİ  
19.12.2018

Sayı : 81466379-320.04.02-E.3768012  
Konu : Neonicotinoid Grubu Aktif  
Maddelerin Yasaklanması ve  
Kısıtlanması Hk.

- Antepfıstığı, Armut, Biber, Domates (tarla), Elma, Fındık, Hıyar (tarla), Karpuz, Lahana, Marul, Mısır, Nar, Pamuk, Patlıcan (tarla), Şeftali, Tütün ve Zeytin tavsiyelerinin Avrupa Birliği'nde olduğu gibi **19 Aralık 2018** tarihi itibarı ile iptal edilmesi ve bu tarih itibarı ile bu ürünlerdeki kullanımının ülkemizde sonlandırılması,
- Avrupa Birliği'nde söz konusu aktif maddenin, **Nisan 2019** tarihine kadar sadece seralarda kullanımının devam edecek olması ve aynı tarih itibarı ile Avrupa Birliği'nce yeniden değerlendirme yapılacak olmasına rağmen ülkemizde seradaki kullanımı ve tohum ilacı olarak kullanımının, **Aralık 2019** tarihinde Bakanlığımızca yeniden yapılacak değerlendirmeye kadar devam etmesi,
- Eski etiketlerle piyasaya arz edilmiş olan bu aktif maddeyi içeren bitki koruma ürünlerinin etiketlerinde firmasınca **07 Mart 2019** tarihine kadar gerekli düzeltmelerin yapılması,
- Bitki koruma ürünlerinin kullanımı esnasında arı maruziyetlerini önlemek amacıyla tavsiye kullanımlarına müsaade edilen ürünlerin etiketlerinde ekte Bakanlığımızca belirlenmiş olan "**Bu ürün arılara çok zehirlidir. Özellikle çok kuru ve rüzgarlı hava koşullarında, ilaçlı tohum uygulaması sırasında ortaya çıkan tozlar sürüklenme ile taşınarak, çevredeki çiçekli bitkiler ve sularda kalıntı oluşturabileceğinden dolayı, arılar ve diğer polinatör böcekler ilaçlı tohum tozlarına maruz kalabilirler. Bu sebeple çok kuru ve rüzgarlı hava koşullarında ilaçlı tohum ekimi yapılmamalıdır. Tozlaşma amacıyla Bombus arısı kullanılan seralarda kullanmayınız.**" uyarı ifadelerine yer verilmesi kararları alınmıştır.

Bilgi ve gereğini rica ederim.

 e-imzalıdır

Dr. Yunus BAYRAM  
Bakan a.  
Genel Müdür Yardımcısı V.

Dağıtım:  
81 İl Müdürlüğüne

Not: 5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu gereği bu belge elektronik imza ile imzalanmıştır.

Eskişehir Yolu 9. Km. Lodumlu Mevkii 06800 Çankaya/ Ankara  
Tel: (0312) 287 33 60 Faks:

Bilgi için: Mehmet Ali TEKE  
Mühendis

## 8. ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Şeyda KAYA  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Yeri ve Tarihi** : Sivas / 28.09.1993  
**Telefon** : 0 (531) 836 1993  
**e-mail** : sydkaya58@gmail.com

### EĞİTİM

Derece	Alan	Okul	Yıl
Y. Lisans	Moleküler Biyoloji	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2016-2019
Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2012-2016