

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ASETAMİPRİDİN FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE
KA (KROMOZOMAL ABERASYON) VE MN (MİKRONÜKLEUS)
TEST YÖNTEMLERİ İLE GENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Şafak SANDAYUK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

Ocak 2019

KARS



T.C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



ASETAMİPRİDİN FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE
KA (KROMOZOMAL ABERASYON) VE MN (MİKRONÜKLEUS)
TEST YÖNTEMLERİ İLE GENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Şafak SANDAYUK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

Bu tez çalışması 2017-FM-30 nolu proje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.

Ocak 2019

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Şafak SANDAYUK'un Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Asetamipridin Fare Kemik İliği Hücrelerinde KA (kromozomal aberasyon) ve MN (mikronükleus) Test Yöntemleri ile Genotoksik Etkisinin Araştırılması"adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

07 / 01 /2019

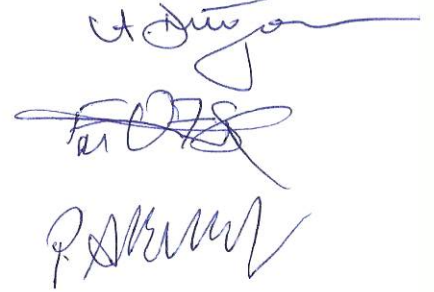
Adı ve Soyadı

imza

Başkan : Prof. Dr. Abdullah DOĞAN

Üye : Doç. Dr. Furkan ORHAN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2019 gün ve/
..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Doç. Dr. Fikret AKDENİZ


Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Şafak SANDAYUK

07.01.2019

ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

ASETAMİPRİDİN FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE KA (KROMOZOMAL ABERASYON) VE MN (MİKRONÜKLEUS) TEST YÖNTEMLERİ İLE GENOTOKSİK ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Şafak SANDAYUK

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

Bu çalışmada, neonikotinoid grubu insektisitlerin bir üyesi olan asetamipridin fare kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon ve mikronükleus test sistemleri ile potansiyel genotoksik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışma için dört grup oluşturuldu; I. grup: negatif kontrol, II. grup: 5 mg/kg asetamiprid, III. grup: 10 mg/kg asetamiprid, IV. grup: 15 mg/kg asetamiprid. Asetamiprid, 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. Uygulamadan sonra, disloke edilen farelerin kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon, mitotik aktivite ve mikronükleus oranları belirlenmiştir. İncelemeler sonucunda, kontrol grubundaki hayvanların ve farklı dozlarda asetamiprid uygulanan hayvan gruplarının genotoksik parametreleri incelendiğinde, 15 mg/kg asetamipridin uygulanan gruptaki hayvanlara ait kromozomal aberasyon oranının en yüksek olduğu ($p<0.001$), 15 mg / kg asetamiprid uygulanan grubun, mitotik aktiviteyi ve polikromatik eritrosit/normokromatik eritrosit (PCE/NCE) oranını düşürdüğü; mikronükleuslu polikromatik eritrosit (MNPCE) oranları incelendiğinde, 5 mg/kg ve 10 mg/kg

asetamiprid grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı, Ancak sadece 15 mg/kg asetamiprid uygulanan grupta, MNPCE oranlarında artış gözlemlendi ($p<0.001$). Sonuç olarak, 5 mg/kg ve 10 mg/kg asetamiprid uygulanan gruplarda genotoksik semptom gözlemlenmedi. 15 mg/kg asetamiprid uygulanan grubun kromozomal aberasyon ve mikronükleus oranlarını arttırdığı, mitotik aktivite ile birlikte PCE/NCE oranlarını düşürerek genotoksik-sitotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Neonikotinoid, Asetamiprid, Kromozomal aberasyon, Mikronükleus, Mitotik aktivite.

2019, 83 Sayfa



ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

INVESTIGATION of GENOTOXIC EFFECT of ACETAMIPRID in MOUSE BONE MARROW CELLS by CA (CHROMOSOMAL ABERRATION) and MN (MICRONUCLEUS)TEST METHODS

Öğrenci Adı ve SOYADI

Şafak SANDAYUK

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assistant Professor Pinar AKSU KILIÇLE

In this study, it was aimed to investigate the potential genotoxic effect of acetamiprid, which is a member of neonicotinoid group insecticides, in mouse bone marrow cells by chromosomal aberration and micronucleus test systems. Four groups were formed for this study; I group: negative control, II. group: 5 mg/kg acetamiprid, III. group: 10 mg/kg acetamiprid, IV. group: 15 mg/kg acetamipride. Acetamiprid was administered by oral gavage for 14 days. After the administration, chromosomal aberration, mitotic activity and micronucleus ratios were determined in the bone marrow cells of the dislocated mice. At the end of the examinations, the genotoxic parameters of the animals in the control group and the animal groups which different doses of acetamiprid were examined, the

chromosomal aberration rate of the 15 mg/kg acetamipridin applied group animals was found to be the highest ($p < 0.001$), 15 mg/kg acetamiprid applied group was found to have reduced mitotic activity and polychromatic erythrocyte /normochromatic erythrocyte (PCE/NCE) ratio; when the micronucleated polychromatic erythrocyte (MNPCE) ratios examined, there was no statistically significant difference between 5 mg/kg and 10 mg/kg acetamiprid groups, but only 15 mg/kg acetamiprid applied group showed increased MNPCE ratios ($p < 0.001$). As a result, no genotoxic symptoms were observed in 5 mg/kg and 10 mg/kg acetamiprid applied groups. It was determined that chromosomal aberration and micronucleus ratios were increased in 15 mg/kg acetamiprid of group and decreased PCE/NCE ratios with mitotic activity and showed genotoxic-cytotoxic effect.

Key Words: Neonicotinoid, Acetamiprid, Chromosomal aberration, Micronucleus, Mitotic activity.

2019, 83 pages

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE danışmanlığında hazırlanarak Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca bana her zaman destek olan, her konuda bana yol gösteren, bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE'ye, çalışmamın laboratuvar aşamasında bana yardımcı olan doktora öğrencisi Yağmur YILDIZ ASKER'e, tezimin düzenlenmesinde ve diğer aşamalarında bana destek olan yüksek lisans öğrencisi Erhan ULUMAN'a teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Hayatım boyunca benden sevgi ve desteklerini esirgemeyen her daim bana güç veren sevgili eşim Selçuk SANDAYUK'a, en değerli varlığım olan aileme ve can dostum Betül KAVAS'a sonsuz teşekkür ederim.


Şafak SANDAYUK

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK BEYAN	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xii
SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. GİRİŞ.....	1
1.2. Pestisitler	4
1.2.1. Pestisitlerin Olası Zararları	5
1.2.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	9
1.2.2.1. İnsektisitler.....	13
Organoklorlu İnsektisitler.....	15
Organofosforlu İnsektisitler.....	16
Karbamat İnsektisitler	17
Piretroid İnsektisitler	17
Neonikotinoid İnsektisitler	18
Asetamiprid.....	23
1.3. Genotoksisite	24
1.3.1. Genotoksisite Testleri	26
1.3.1.1. AMES Testi.....	26
1.3.1.2. COMET Testi.....	27
1.3.1.3. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Testi	29
1.3.1.4. Kromozomal Aberasyon (KA) Testi	30

1.3.1.5. Mikronükleus (MN) Testi	32
2. MATERYAL ve METOT	35
2.1. Materyal.....	35
2.1.1. Hayvan Materyali (Deney Hayvanları).....	35
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	35
2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları	38
2.2. Metot	39
2.2.1. Kromozomal İnceleme ve Mitotik İndeksin Tespiti	39
2.2.2. Mikronükleus Testi	40
3. BULGULAR	42
3.1. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları	42
3.2. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları.....	46
3.2.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları	47
3.2.2. 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları	48
3.2.3. 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları	48
3.2.4. 15 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları	49
3.3. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Frekansı Üzerindeki Etkileri.....	50
3.3.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	53
3.3.2. 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	54
3.3.3. 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	54
3.3.4. 15 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	55
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	57
5. KAYNAKLAR	64

ÖZGEÇMİŞ.....83



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Pestisitlerin Ekosistemdeki (Toprak-bitki-çevre-atmosfer sistemindeki) Davranışlar.	9
Şekil 1.2. Pestisit Gruplarına Göre Dünyada Tarım İlacı Kullanımı	12
Şekil 1.3. Pestisit Gruplarına Göre Türkiye'de Tarım İlacı Kullanımı	13
Şekil 1.4. İnsektisitlerin Hücrede Etkileşime Girdikleri Primer Hedef Bölgeler ve Etki Biçimleri	14
Şekil 1.5. Yaygın Olarak Kullanılan İnsektisit Grupları, Organizmada Etki Ettikleri Hedef Molekül ve Hedef Bölgede Meydana Gelen Fonksiyon Değişimi.....	15
Şekil 1.6. Neonikotinoid İnsektisitlerin Kimyasal Formülasyonu.	20
Şekil 1.7. Kloronikotinil Bileşiklerde Bulunan Ortak Kimyasal Yapı	20
Şekil 1.8. Thianikotinil Bileşiklerde Bulunan Ortak Kimyasal Yapı	21
Şekil 1.9. Furanikotinil Bileşiklerde Bulunan Ortak Kimyasal Yapı	21
Şekil 1.10. Neonikotinoid İnsektisitlerin Öncü Molekülü Olan Nithiazin ve Neonikotinoid İnsektisitlerin Kimyasal Yapıları	22
Şekil 1.11. Asetamipridin Kimyasal Yapısı	23
Şekil 1.12. Genotoksin Kaynaklarının DNA Üzerindeki Etkileri ve Sonuçları	25
Şekil 1.13. Ames Testinin Uygulaması ve Mutajeniteyi Gösteren Koloniler	27
Şekil 1.14. A: DNA Hasarı Olmayan Çekirdek (Kuyuksuz) ve B: DNA Hasarı Olan Çekirdek (Comet ile)	28
Şekil 1.15. BrdU İçeren Ortamda Mitoz Sonucu Oluşan Kromatidlerin Boyanmasının Şematik Gösterimi.....	30
Şekil 1.16. Kromozom Anomalileri İçeren Metafazlar	31
Şekil 1.17. Yapısal Kromozom Aberasyonları	32
Şekil 1.18. Mikronukleus Oluşum Aşamaları	34
Şekil 3.1. Negatif Kontrol Grubu ve Test Gruplarına ait Kromozomal Aberasyon Oranları.....	43
Şekil 3.2. Negatif Kontrol ve Test Gruplarına ait Mitotik Aktivite Oranları.....	47
Şekil 3.3. Negatif Kontrol Grubu ve Test Gruplarına ait MNPCE Oranları.....	51
Şekil 3.4. Negatif Kontrol Grubu ve Test Gruplarına ait PCE/NCE Oranları	52

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1. Negatif Kontrol ve Test Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları	42
Tablo 3.2. Negatif Kontrol ve Test Gruplarına Ait Kromozomal Aberasyon İstatistik Sonuçları	43
Tablo 3.3. Negatif Kontrol ve Test Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları	46
Tablo 3.4. Negatif Kontrol ve Test Gruplarına ait Mitotik Aktivite İstatistik Sonuçları	46
Tablo 3.5. Negatif Kontrol Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları	47
Tablo 3.6. 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları	48
Tablo 3.7. 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları	49
Tablo 3.8. 15mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları	49
Tablo 3.9. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Mikronukleus Test Sonuçları	50
Tablo 3.10. Negatif Kontrol ve Test Gruplarına ait Mikronükleus ve PCE/NCE Oranlarının İstatistikî Sonuçları	51
Tablo 3.11. Negatif Kontrol Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları.....	53
Tablo 3.12. 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları	54
Tablo 3.13. 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları	55
Tablo 3.14. 15 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları	55

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1. Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kardeş Kromatid Birleşimi Görüntüsü (KKB) (x1000).	44
Resim 3.2. Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromozom Kırığı Görüntüsü (KK) (x1000).....	44
Resim 3.3. Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromatid Kırığı Görüntüsü (Kk) (x1000).....	45
Resim 3.4. Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Fragment Görüntüsü (F) (x1000).	45
Resim 3.5. Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliğinde 2 Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit (MNPCE) Görüntüsü (x1000).....	52
Resim 3.6. Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliğinde Tek Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit (MNPCE) Görüntüsü (x1000).....	53

SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Ach	: Asetil kolinesteraz
BrdU	: Bromo deoksiuridin
C	: Karbon
CAT	: Katalaz
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DDT	: Dikloro difenil trikloro ethan
EFSA	: European Food Safety Authority
EPA	: Enviromental Protection Agency
F	: Fragment
FAO	: Food Agriculture Organization
GABA	: Gama aminobütirik asit
H	: Hidrojen
HCH	: Hekza kloro siklo hekzan
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
KA	: Kromozomal aberasyon
KCL	: Potasyum klorid
Kg	: Kilogram
KKB	: Kardeş kromatid birleşimi
KK	: Kromozom kırığı
Kk	: Kromatid kırığı
LD ₅₀	: Letal doz

Mg	: Miligram
MN	: Mikronükleus
MNPCE	: Mikronükleuslu polikromatik eritrosit
N	: Azot
NCE	: Normokromatik eritrosit
PCE	: Polikromatik eritrosit
SCE	: Kardeş kromatid değişimi
SOD	: Süperoksit dismutaz
WHO	: World Health Organization
%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece

1. GENEL BİLGİLER

1.1. GİRİŞ

Sınırlı olan dünya yüz ölçümüne karşın dünya nüfusu her geçen gün artmaktadır. Bu artış beraberinde gıda ihtiyacının artmasına neden olmaktadır. Food and Agriculture Organization (FAO), tespitine göre insanoğlu her yıl 15-20 milyon ton gıda maddesine ihtiyaç duymaktadır [1]. Ancak tarımsal alandaki sınırlılık ve hayvansal üretimin kısıtlılığı artan nüfusun besin ihtiyacını karşılayamaz hale gelmiştir. Ayrıca insanlar, zaman zaman tarımsal ürünlerini hastalık ve zararlılara karşı koruyamadıklarından sağlıklı gıda elde edememişlerdir [2]. Bu durum insanoğlunu tarih boyunca gıda ihtiyacını karşılamak, tarımsal verimliliği arttırmak ve sınırlı olan gıdasal kaynakları korumak için çeşitli arayışlar içerisine sokmuştur. Bu arayış neticesinde bir tarımsal savaş başlamıştır [3].

Tarımsal savaş, tarımsal ürünlerin hastalık, yabancı otlar ve diğer zararlılardan korunarak tarımsal verim ve kaliteyi arttırmak amacıyla çevre ve insan sağlığı göz önünde bulundurularak yapılan uygulamaların tümüdür. Bu uygulamalardan birisi kimyasal maddeler kullanılarak yapılan mücadele yöntemidir. Kimyasal mücadelenin temelini tarım ilaçları (pestisitler) oluşturmaktadır [2, 4]. Environmental Protection Agency (EPA) tanımına göre pestisit, bir haşerenin önlenmesi, imha edilmesi, bastırılması veya zararlı etkilerinin hafifletilmesi için kullanılan herhangi bir madde ya da madde karışımlarıdır [5]. Pestisitlerle yapılan kimyasal mücadele, etkinliğinin yüksek olması, hızlı sonuç vermesi, ekonomik olması gibi avantajlarından dolayı günümüzde en fazla kullanılan yöntemlerden birisidir [4]. Bu avantajlarından dolayı pestisitler, uygun dozda ve bilinçli kullanıldığı takdirde oldukça yararlı olmaktadır. Fakat pestisitlerin yoğun ve bilinçsiz kullanımı pestisit kalıntısı sorununu gündeme getirmektedir [6]. Üreticilerin daha fazla ve kaliteli ürün elde edebilmek için gereğinden fazla pestisit tüketmeleri, bilinçsiz ve hatalı uygulamalar, gıda maddelerinde yüksek düzeyde pestisit kalıntılarının sebep olmaktadır. Kullanılan pestisitler, hava, su ve toprak yoluyla besin zincirinde bir döngü halinde dolaşarak çevre ve insan sağlığı açısından tehdit unsuru olmaktadır. Bazı pestisitlerin zararlı etkileri bulunmazken, bazı pestisitlerin kanserojenik, sinir sistemini olumsuz etkileyici ve mutasyon oluşturuca etkilerinin olduğu bildirilmiştir [3, 7, 8].

Pestisitler, etki şekillerine, görünüşüne, etki hızlarına, elde edildikleri kaynağa, etkili kimyasal bileşenlerine, formülasyonlarına, zehirliliklerine ve etkiledikleri parazit çeşidine göre farklı biçimlerde gruplandırılabilir [9-11].

Neonikotinoidler emici tür böcekleri, kın kanatlı zararlıları ve bazı kelebekleri kontrol altında tutmak için kullanılan, nikotin türevi yeni nesil insektisitler olarak kabul edilmektedir [12]. Asetamiprid, thiacloprid, imidacloprid ve thiamethoxam bu grupta yer alan türlerdir [13]. Hedef seçici özelliğinden dolayı neonikotinoidler bitki korumada yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzey sularında birikme özelliği gösteren neonikotinoidler, World Health Organization (WHO) ve EPA tarafından yapılan sınıflandırmada 2. ve 3. grup toksinler grubunda yer almıştır [14-16].

Asetamiprid, bitkilere zarar veren böcekleri ve akarları kontrol altında tutmak için Nipon Soda Co. Ltd. tarafından geliştirilmiş neonikotinoid grubu insektisitlerin oldukça yeni bir üyesidir [17]. Suda birikme özelliği gösteren asetamiprid yoğun ve bilinçsiz kullanımı insan ve çevre sağlığını olumsuz etkilemektedir [11, 18]. Asetamiprid memelilerde sitotoksik ve genotoksik özellik gösterir [19]. Ayrıca asetamiprid insan periferik lenfosit kültürlerinde kardeş kromatid değişimlerine, kan lenfositlerinde mikro çekirdek oluşumuna ve kromozomal anomalilere sebep olduğu belirtilmiştir. Memelilerde düşük dozlarda bile nörotoksik olarak lökomotor aktiviteyi indirdiği bildirilmiştir [20].

Kimyasal maddelerin, mutajenik ve kanserojenik etkilerinin belirlenmesi genotoksisite testleri kullanılarak yapılmaktadır. Bu testler genetik materyalde doğrudan ya da dolaylı etkiler sonucunda oluşan hasarları belirlemek amacıyla geliştirilmiş *in vivo* ve *in vitro* testlerden oluşmaktadır. Yaygın kullanılan *in vivo* ve *in vitro* genotoksisite testleri; kromozom anomalileri (KA) testi, mikronükleus (MN) testi, ames testi, comet testi ve kardeş kromatid değişimi (KKD) testidir [21-24].

Kromozomlarda kendiliğinden veya çeşitli mutajenlerin etkisi ile meydana gelen sayısal ve yapısal değişiklikler, kromozomal aberasyon testi ile belirlenmektedir. Kromozomal aberasyon testi, Perry ve Evans'ın 1975 yılında bilinen mutajen ve kanserojenlerin Çin hamsteri ovaryum hücrelerinde KA'yı uyardığını bulmalarından sonra sıklıkla kullanılan bir test haline gelmiştir [25].

Kimyasal ajanların karserojenik ve genotoksik etkisinin belirlenmesinde kullanılan bir diğer yöntem mikronükleus testidir. Periferal kan lenfositlerinde kromozomal hasarların belirlenmesi için kullanılan mikronükleus testi, ilk kez 1976 yılında Heddle ve Countryman tarafından bulunmuştur [26].

Yapılan literatür incelemelerinde asetamipridin fare kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon ve mikronükleus oluşumuna etkisinin çalışılmadığı tespit edilmiştir. Bu çalışma ile neonikotinoid grubuna dahil olan asetamipridin fare kemik iliği hücrelerinde meydana getirdiği genotoksisiteyi kromozomal aberasyon ve mikronükleus test sistemini kullanarak belirlenmesi amaçlanmıştır.



1.2. Pestisitler

Bitkiler, bakteriler, böcekler, mantarlar ve diğer canlılar çevrenin doğal parçalarıdır. Canlı organizmaların bazıları insanlara çeşitli şekillerde yarar sağlarken bazıları da insanlar için zararlı olabilmektedir. İnsanoğlu zararlı olan bu organizmaları kontrol altında tutmak için değişik alanlarda çeşitli yöntemler geliştirip kullanmışlardır. Tarım alanındaki zararlılarla mücadelede, pestisit adı verilen kimyasal maddeler kullanılmaktadır [27]. Pestisitler, tarımsal ürünlerin üretimi, depolanması, taşınması, pazarlanması veya tüketimi sırasında karşılaşılan ve bu uygulamaları olumsuz etkileyerek verimi düşüren haşereleri, mikroorganizmaları, yabancı otları ve diğer zararlıları öldürmek, çoğalmalarını engellemek, ortamdaki uzaklaştırmak veya etkilerini azaltmak için kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik aktif maddelerdir [2, 28, 29]. EPA'nın tanımına göre pestisit, bir haşerenin önlenmesi, imha edilmesi, bastırılması veya zararlı etkilerinin hafifletilmesi için kullanılan herhangi bir madde ya da madde karışımlarıdır [5].

İnsanoğlu, tarih boyunca gıda ihtiyacını karşılamak, tarımsal verimliliği artırmak ve sınırlı olan gıdasal kaynakları korumak için çeşitli arayışlar içerisine girmiştir. Yapılan bilinçli arayışlar veya rastlantılar sonucunda elde edilen kimyasallar tarımsal ürünlere zarar veren canlılara karşı kullanılmıştır. Pestisit kavramı yeni olmayıp tarih öncesi devirlerden günümüze kadar çeşitli maddeler bu amaçla kullanılmıştır. M.Ö. 1500'li yıllarda Eski Mısır'da bulunan bir parşömende bitkileri haşerelerden korumak amacıyla hazırlanıldığı düşünülen bir karışımın tarifi bulunmuştur. Tarihte bilinen ilk pestisit, 4500 yıl önce kullanılan elemental kükürt tozu ve arseniktir [30]. O dönemlerde Sümerler kükürt tozunu vücutlarındaki akar ve böcekleri uzaklaştırmak için kullanmıştır. M.Ö. 1000 yıllarında fungusit ve insektisit özelliği keşfedilen kükürdün, Antik Yunanistan'da böceklere karşı fumigasyon halinde kullanıldığı bildirilmiştir. 15. yüzyıla kadar haşerelerle mücadelede arsenik, civa, kurşun gibi inorganik yapıdaki pestisitler, 17. yüzyılda ise yabancı otları öldürmek amacıyla tütün yapraklarından elde edilen nikotin sülfat kullanılmıştır. Modern anlamda pestisitlerin halk sağlığı ve tarım alanında kullanımı 19. yüzyılda başlamıştır. Bu dönemlerde doğal bir pestisit olan rotenon, ABD'de balıkları yakalamak için kullanılmıştır. 1860'lı yıllarda hidrojen siyanürün, fumigant olarak kullanıldığı bilinmektedir [31-33]. 1940'lı yıllardan sonra haşerelerle mücadelede

kullanılan kararsız ve yüksek maliyetli doğal bileşikler yerine daha etkili olan yapay bileşikler kullanılmaya başlanmıştır [34]. Sentetik organik pestisitlerin ilki olan dikloro difenil trikloroetan (DDT), Alman bilim adamı Ziedler tarafından 1873 yılında üretilmiştir. 1939 yılında İsveçli bilim adamı Paul Muller, DDT'nin insektisit özelliğini bulmuştur [35]. Almanya'da Schrader önderliğindeki bir grup kimyager tarafından sentezlenen ve toksik olduğu anlaşılan organik insektisitlerin bir kısmı, Naziler tarafından II. Dünya Savaşı sırasında kimyasal silah olarak kullanılmıştır. Savaşın bitmesi ile silah endüstrisinde kullanılan organik pestisitler, sivil endüstride kullanılmaya başlanmıştır. Bu durum organik pestisitlerin üretim ve kullanımının yaygınlaşmasına neden olmuştur [31, 36, 37].

Suda çözünmediklerinden dolayı toksik olmadığı düşünülen sentetik pestisitlerin kullanımı 1960 ve 1970'li yıllara kadar hızla artmıştır [38]. 1962 yılında ilk kez Rachel Carson yazdığı Sessiz İlkbahar adlı kitabında bilinçsiz pestisit kullanımı ve oluşturduğu risklere eleştirel bir bakış açısı getirmiştir. Carson kitabında özellikle dieldrin, aldrin ve DDT gibi organoklorlu pestisitlerin hedef dışı organizmalar üzerindeki etkilerinden, DDT'ye karşı gelişen direnç gelişiminden bahsetmiştir [39]. Kamuoyunda büyük yankı uyandıran bu kitaptan sonra Amerikan Çevre Koruma Ajansı (Environmental Protection Agency, EPA), 1972 yılında DDT'nin kullanımı yasaklanmıştır [40]. Pestisit kullanımı 1990'lardan sonra azalmaya başlamıştır [38]. Bugüne kadar 6000 kadar patenti alınan sentetik pestisitlerden sadece 600 kadarı ticari olarak satılmaktadır [41].

1.2.1. Pestisitlerin Olası Zararları

Modern tarım, pestisitlerin gerekli olduğu zaman çevreye ve canlılara zarar vermeyecek şekilde kullanılması gerektiğini savunmaktadır. Birçok gelişmiş ülkede özellikle ABD'de pestisitler 'doğa dostu' veya 'düşük risk' adı altında birleştirilmiştir. ABD Çevre Koruma Örgütü, böyle pestisitlerin ruhsatlandırılmasını kolaylaştırarak kullanımlarını teşvik etmeye başlamıştır [13].

Pestisitleri sadece etki ettiği organizmayla değil uygulandığı alandaki bitkiyle, insanla ve o çevredeki diğer organizmalarla birlikte değerlendirmek gerekir. Kullanım talimatları ve teknik tavsiyelere uyulmadan tüketilen pestisitler, uygulandıkları ürünler üzerinde ya da

çevrede (su ve toprak gibi) kalıntı bırakmaktadır. Bu nedenle üretim, formülasyon ve uygulama aşamasını gerçekleştirenler ve bu ürünleri tüketenler tarım ilacının zararlı etkisine maruz kalabilmektedir. Pestisitlerin gerektiğinde doğru ve uygun dozda kullanımı tarımda verimi arttırırken, yanlış ve bilinçsiz kullanımı doğrudan ya da dolaylı olarak insan ve çevre sağlığını olumsuz etkilemektedir. Yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı sonucunda toprakta, gıdalarda, havada ve suda pestisit ya kendisi ya da bileşenleri kalabilmektedir. 1948 ve 1951 yıllarında yapılan çalışmalarda organik klorlu pestisidin insan vücudunda tespit edilmesi ile pestisit kalıntılarının önemi anlaşılmıştır. Bazı pestisitlerin zararlı etkileri bulunmazken, bazı pestisitlerin kanserojenik, sinir sistemini olumsuz etkileyici ve mutasyon oluşturucu etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Pestisit kalıntılarının kaynağını gıdalar oluşturmaktadır. Bu nedenle WHO ve FAO, 1960 yılında Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi'ni kurmuşlardır. Komite çalışmaları sonucunda konu ile ilgili gerekli bilgi ve tanımlamalar yapılarak, bilimsel araştırmalar neticesinde gıdalarda bulunmasına müsaade edilen maksimum kalıntı miktarları belirlenmiştir. Ülkemizde tarım ürünlerine uygulanan pestisitlerin gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değeri ürün ve ilaç bazında saptanmıştır [42, 43].

Pestisit kullanımının dezavantajları:

- Pestisitlerin kalıntı yoluyla alınmaları sinir sistemi zararları, doğum anormallikleri, kanser ve uzun zamanda meydana gelebilen yan etkilerin oluşmasına neden olur.
- Pestisit kendisi ya da parçalanma ürünleri toksik maddeleri içerir.
- Pestisitlerin bazı parçalanma ürünleri, pestisit kendisinden daha kalıcı ve toksiktir.
- Uygulanan pestisit çeşidine ve uygulanma koşullarına bağlı olarak pestisitler, çevre kirliliği meydana getirmektedir.
- Aşırı buharlaşma özelliği gösteren pestisitler solunan havayı kirletmektedir.
- Pestisitlerin aşırı kullanımı sonucunda uygulanan pestisite karşı organizmalarda direnç oluşabilmektedir.
- Hedef organizmalar ve bunların dışında diğer organizmalarda ölümler meydana getirerek yeni salgınların oluşmasına neden olmaktadır [44].

Pestisitler, genelde spesifik olmadıkları için hedef organizmalar dışında diğer omurgalı ve omurgasız canlıları da etkilerler. Bu etkinin şiddeti kullanılan pestisidin çeşidine, pestisidin uygulandığı tarımsal arazinin tipine, uygulanma şekline ve uygulanış sıklığına

bağlı olarak değişiklik göstermektedir. En sık görülen yan etkiler; mikroorganizmalar, balıklar, kuşlar, arılar ve omurgasızlar gibi hedef olmayan organizmalarda üreme potansiyelinin azalması ya da bu organizmalarda ölümlerin meydana gelmesidir. Ayrıca hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşturmaları, ekosistemdeki dengeyi bozarak insanlara hastalık bulaştıran parazit ve böceklerin kontrolden çıkmasına neden olmaktadır. Ekosistem dengesinin bozulması mevcut tür sayısının değişmesine de neden olmaktadır [13, 42].

Doğada tüm insanlar doğrudan ya da dolaylı yollarla pestisitlerin zararlı etkilerine maruz kalabilmektedir. Pestisit etkisine en çok maruz kalanlar pestisit üretiminde çalışan işçiler ve pestisit uygulanmış gıdaları tüketen insanlardır. Pestisit üretiminde çalışan işçiler devamlı genotoksik etkiye sahip olan formaldehit, toluen, benzen gibi pestisit ham maddelerine maruz kalmaktadır [45].

Pestisitlerin insanlarda etki oluşturabilmesi için öncelikle vücuda alınması gerekir. Pestisitlerin vücuda giriş yolları şunlardır:

Ağız yoluyla: Pestisitlerin ağız yoluyla vücuda alınması kaza ile ya da dikkatsizlik sonucunda meydana gelmektedir. Örneğin; pestisit kullanımından sonra ellerin yıkanmadan yemek yenilmesi, pestisite maruz kalmış gıdaların yıkanmadan tüketilmesi pestisitlerin ağız yoluyla vücuda girmesine neden olabilmektedir [46].

Deri yoluyla: Buharlaşıma özelliği göstermeyen pestisitleri kullanan insanların % 90'ı deri yoluyla pestisite maruz kalmaktadır. Örneğin; pestisit karıştırılması veya uygulanması esnasında deri ile teması sonucunda vücuda alınabilir. Sıvı pestisitler kadar pudra, toz ve granül şeklindeki kuru nitelikteki pestisitler de deri yoluyla vücuda alınabilmektedir. Pestisitlerin dermal toksisitesi, kontamine derinin büyüklüğü, deriye bulaşan pestisitlerin miktarı, maddenin deride kalma süresi ve deri tarafından absorbe edilme oranı, bu maddelerin zararlı etkiler göstermesinde önemli etkenlere sahiptir [46].

Solunum yoluyla: Buharlaşıma özelliği gösteren pestisitler başta olmak üzere toz ya da partikül niteliğindeki pestisitlerde solunum yoluyla vücuda alınabilir [46].

Vücuda alınan pestisitlerin kendisi ya da parçalanma ürünleri, kolin esteraz enziminin inhibisyonu yoluyla vücutta asetil kolin birikimine neden olmaktadır. Son yıllarda gıda ürünlerindeki ilaç kalıntılarının insanlarda kronik toksisitesi iki şekilde ele alınmaktadır:

Kabul edilebilir günlük alım: Bir insanın bir gün boyunca alabileceği kabul edilebilir günlük ilaç miktarını mg/kg olarak ifade eden değerdir [13].

Maksimum kalıntı limitleri: Gıda ürünlerinde bulunmasına izin verilen maksimum ilaç miktarını (ppm) ifade eden değerdir [13].

Tarımsal ürünlerin dış pazarlanmasında bu değerlerin önemi oldukça büyüktür. Tolerans gösterilen miktarı aşan değerlerde pestisit kalıntısı belirlenen tarımsal ürünler, ihraç edilen ülkeler tarafından geri çevrilmektedir. Pestisitlerin kronik toksisiteleri dışında bazı pestisitlerin insanlarda teratojenik, mutajenik ve kanserojenik etkileri olduğu da belirlenmiştir [3, 7, 13].

İnsanlar omnivor bir canlı olduğu için bugün dünyada her insanın bünyesinde pestisit kalıntılarının rastlanılmaktadır. Kalıcılık etkisi gösteren pestisitlerin, toprakta ve suda bıraktığı kalıntılarının insan ve hayvan sağlığını etkilediği bilinmektedir. Pestisitlere maruz kalan insanlarda yapılan araştırmalar, bu kişilerde yapısal ve sayısal kromozom anomalileri ve kardeş kromatid değişiminde artma olduğunu göstermiştir. Ayrıca pestisite maruz kalan insanlarda genetik hasar dışında böbrek, karaciğer ve kas yapılarında bozukluklar olduğu gözlenmiştir. Pestisitlerin canlı üzerindeki etkisi fetal dönemden itibaren başlamaktadır. Yapılan bir çalışmada radyoaktif maddeyle işaretlenerek anneye verilen pestisitlerin, beş saat sonra plasenta aracılığıyla fetüse ulaştığı ve fetüsün göz, karaciğer ve sinir sistemine yerleştiği gözlenmiştir [3].

Günümüzde başta pestisitler olmak üzere kullanılan birçok kimyasal madde, hem çevre hem de sağlık açısından tehlike oluşturmaktadır. Pestisitlerin oldukça geniş kullanım alanına sahip olması canlılara ve çevreye zararlarının artmasına neden olmaktadır. Pestisitlerin toksik etkileri doğrudan belirli bir organizma üzerine olmadığından sosyal ve kimyasal olarak ayrı bir sınıfta tutulur [37].

Tarımsal alanlarda kullanılan pestisitler hava, su ve toprağa karışıp bu ortamlarda yaşayan canlılara geçerek dönüşüme uğramaktadır. Bir pestisitinin çevredeki etkinliği; pestisitinin

kimyasal yapısına, fiziksel özelliklerine, formülasyon tipine, pestisit uygulama şekline ve sıklığına, tarımsal koşullar ve iklim gibi faktörlere bağlıdır. Uygulama sırasında püskürtülen pestisitlerin bir kısmı dağılma ve buharlaşma gibi sebeplerle kaybolurken, bir kısmı bitki ve toprak üzerinde kalmaktadır. Buharlaşarak havaya karışan pestisitler sis, yağmur ve kar yağışıyla birlikte yeryüzüne geri dönmektedir. Bu şekilde hedef olmayan organizmalara ulaşan pestisitler bu türler üzerinde kalıntı ve toksisiteye neden olmaktadır [47].



Şekil 1.1: Pestisitlerin Ekosistemdeki (Toprak-bitki-çevre-atmosfer sistemindeki) Davranışları [48].

1.2.2. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler, etki yollarına göre, çevrede dayanıklılıklarına göre, görünüşüne, etki hızlarına, farmasötik şekillerine göre, elde edildikleri kaynağa, etkili kimyasal bileşenlerine, zehirliliklerine ve etkiledikleri canlı çeşidine göre farklı biçimlerde gruplandırılabilir [9-11].

Etki yollarına göre pestisitler: Solunum, deri ve oral yolla kullanılan pestisitler olarak sınıflandırılmaktadır [9].

Etki hızlarına göre pestisitler: Pestisitler, uygulandıkları alanda kısa süreli kalıp etkisini çabuk gösteriyorsa, bu pestisitlere hızlı etkili pestisitler denilmektedir. Eğer pestisitler uygulandıklarında etkilerini uzun sürede gösteriyorsa bu pestisitler, yavaş etkili pestisitler ya da kalıcı etkili pestisitler olarak adlandırılmaktadır [9].

Çevrede dayanıklılıklarına göre pestisitler: Pestisitler çevrede parçalanıp kalıcı olma durumlarına göre de sınıflandırılmaktadır. Uzun kalıcılar, 2 yıldan fazla olanlar orta derecede kalıcılar, 3 ay ve 2 yıl arasındakiler kalıcı olmayanlar ve 3 aya kadar şeklinde sınıflandırılmaktadır. Uzun kalıcı olan pestisitlerin besin zincirine katılması, insan ve çevre sağlığı açısından tehlike arz etmektedir [9].

Farmasötik şekillerine göre: Pestisitler; toz, kapsül, pasta, pellet, granül, kuru tohum ilaçları, yağlı çözelti, yoğun çözelti, tuzak yemi vs farmasötik şekillerde bulunmaktadır [3, 9].

Elde edildikleri kaynağa göre pestisitler: Sık kullanılan bu sınıflandırma şekline göre pestisitler; mineral, mikrobik, bitki ve sentetik bileşikler olarak adlandırılırlar [9].

Kimyasal yapılarına göre pestisitler: Kimyasal yapılarına göre pestisitler, inorganik ve organik bileşikler olarak sınıflandırılmaktadır [9].

Zehirliliklerine göre pestisitler: Pestisitlerin etki şekilleri, birbirinden farklılık göstermektedir. Pestisitlerin zehirliliklerine göre sınıflandırılması, diğer zehirlerde olduğu gibi sınıf 1a, sınıf 1b, sınıf 2, sınıf 3, zehirsiz olanlar vb şekilde yapılmaktadır [9].

Etki mekanizmasına göre pestisitler: Antikolinesterazlar, gabaerjikler, nikotinerjikler, enerji metabolizmasını bozanlar vb şekilde sınıflandırılmaktadır [9].

Etki ettikleri canlılara göre pestisitler:

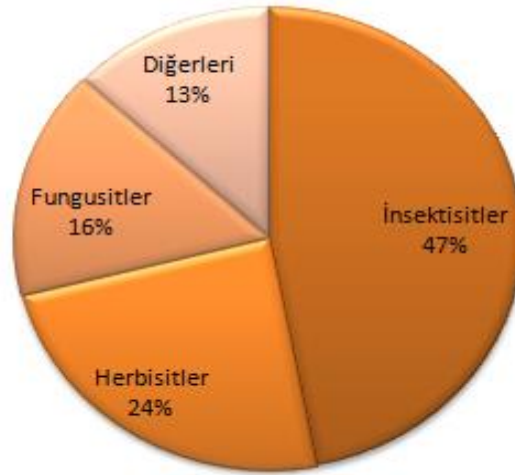
- *Afisitler*: Yaprak bitlerine karşı kullanılan pestisitlerdir [9].
- *Akarisitler*: Akarlar arachnida sınıfına ait eklem bacaklı canlılar olup, bitki ve hayvanlar üzerinde yaşamaktadırlar. Kene, akrep, uyuz, örümcek vs bu gruba dahil olan canlılardır. Genel olarak vücutları tek parçalı olup, altı adet bacağı sahiptirler. Akarları kontrol altında tutmak için kullanılan pestisitlere de akarisit denilmektedir [9, 13].

- *Algisitler*: Göl, yüzme havuzu, su tankları, kanal vb alanlarda yaşayan alglere karşı kullanılan pestisitlerdir [9, 13].
- *Avisitler*: Kuşlara karşı kullanılan pestisit grubu ilaçlardır [9].
- *Fungusitler*: Bitkisel üretim kayıplarına neden olan mantarları ya da mantar sporlarını kontrol altında tutmak veya öldürmek amacıyla kullanılan kimyasal maddelerdir. Tekstil, boya, ahşap, deri, oymacılık gibi çeşitli alanlarda koruyucu madde olarak kullanılmaktadır. Fungusitler, kimyasal yapılarından dolayı oldukça toksik olup biyolojik parçalanma göstermeyebilirler. Parçalanmayan fungusit kalıntılarının topraktan besin zincirine geçmesi canlı ve çevre sağlığını olumsuz etkilemektedir [53, 54].
- *Herbisitler*: Tarım ve bahçe alanlarında üretimi yapılan bitkilerin suyuna ve besin maddelerine ortak olup bu bitkilerle rekabete girerek üretim ve kalitenin düşmesine neden olan bitkilere yabancı ot denilmektedir. Yabancı otlarla mücadelede kullanılan kimyasal maddeler, herbisit olarak adlandırılmaktadır. Herbisitlerin yapısında C, H ve O atomları bulunmaktadır. Tarımda yabancı otlarla mücadelede kullanılan herbisitler, modern tarımın uygulandığı ülkelerde mekanik metotların yerini almaktadır. Herbisitler yabancı otların kontrolünde toprağı işleme, elle çekme ve çapalama gibi manuel işlemlere göre daha ekonomik ve etkili bir yöntemdir. Dünyadaki herbisit kullanımı pestisitlerin % 50'sini oluşturmaktadır [50, 51, 52].
- *İnsektisitler*: İnspekt adı verilen böceklere karşı kullanılan ilaçlardır [9].
- *Molluskisitler*: Sümüklü böcek, istiridye, salyangoz vb yumuşakcalara karşı kullanılan pestisitlerdir [9, 13].
- *Nematositler*: Nematod adı verilen solucanları kontrol altında tutmak için kullanılan pestisitlerdir. Bitkilerde parazit olarak yaşayan solucanlar, bitkilerin köklerinde veya toprakta bulunmaktadır. Bu nedenle kimyasal maddelerin buraya ulaşmaları oldukça zordur. Ayrıca solucanların beslenme alışkanlıklarından dolayı kimyasal maddeleri ağız yolu ile almaları da oldukça zordur. Bu nedenle fumigant nematositler, parazit solucanlara karşı kullanılmaktadır. Nematositler, enzim etkinliği yoluyla solunum ve sinir sistemini inhibe ederek etki gösterirler [55, 56].

- *Ovisitler*: Zararlı canlıların yumurtalarını öldürmek amacıyla kullanılan ilaçlardır [9, 13].
- *Rodentisitler*: Rodentisitler, kemirgenleri kontrol altında tutmak için kullanılan pestisitlerdir. Rodentisitler daha çok ambar, depo ve evlerde kullanılırlar. Kemirgenler tarım ürünlerine zarar vermenin yanı sıra birçok hastalığın taşınmasına aracılık ederek canlı sağlığını da olumsuz etkilemektedirler. Kemiriciler biyolojik açıdan insanlara ve diğer memelilere benzerlik göstermektedir. Bu nedenle rodentisitler hedef olmayan organizmaları da olumsuz etkilemektedir [54].
- *Larvisitler*: Larvalar üzerinde öldürücü etki gösteren pestisitlerdir.
- *Maturisit*: Yetişkin pestleri etkileyerek öldüren pestisit grubu ilaçlardır.
- *Repellent*: Pestleri kaçırıcı nitelikte olan pestisitlerdir.
- *Atraktan*: Pestleri çeken ilaçlardır [9, 49].



Şekil 1.2: Pestisit Gruplarına Göre Dünyada Tarım İlacı Kullanımı [48].



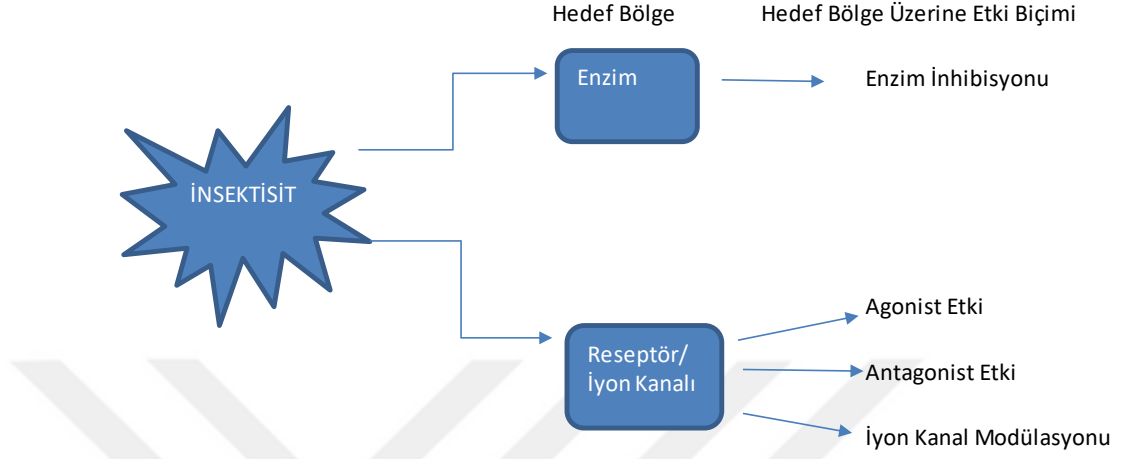
Şekil 1.3: Pestisit Gruplarına Göre Türkiye'de Tarım İlacı Kullanımı [48].

1.2.2.1. İnsektisitler

İnsektisitler, zararlı olan böcekleri öldürmek ya da üremelerini kontrol altında tutmak için kullanılan, böcek larvalarını, yumurtalarını ya da ergin böcekleri etkileyen kimyasal maddelerdir. İnsektisitler başta ziraat olmak üzere veteriner, ev içi ve endüstri gibi birçok alanlarda kullanılmaktadır. 20. yüzyıldan sonra insektisit kullanımının artması zirai üretimde verimi artıran en önemli faktörlerden birisi olmuştur 1930'lu yıllara kadar nikotin gibi bitkisel kaynaklı insektisitler kullanılırken 1930'dan sonra sentetik kaynaklı insektisitler üretilip kullanılmaya başlanılmıştır [37, 57].

İnsektisitler oldukça geniş bir grubu kapsamaktadır. Juvenil hormonu taklit eden insektisitler, ektizon reseptör agonistleri ve kitin sentez inhibitörleri gibi insektisitler böceğe özgü yapılar üzerine doğrudan etki ederek böcek gelişimini olumsuz etkilemektedirler. Bunların dışındaki insektisitlerin neredeyse tamamı nörotoksik maddeler olup canlıların sinir sistemi üzerine etkilidirler [37, 58]. İnsektisitlerin canlı organizmada etkileşime girdikleri fizyolojik ve biyokimyasal bölgeler hedef bölgelerini oluşturmaktadır. Nörotoksik etki gösteren insektisitler, böceklerde sinir sistemi enzimlerini, iyon kanalları ve reseptörlerini hedef alırlar. İnsektisitler enzim inhibisyonu, iyon kanallarını uyarma (agonist) veya bu kanalları inhibe ederek (antagonist) hedef bölgeyi etkilemektedir. Toksik etkinin şiddeti insektisit uygulama dozuna ve

uygulanış süresine, biyotransformasyon hızına ve absorpsiyonuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir [59, 60, 61].



Şekil 1.4: İnektisitlerin Hücrede Etkileşime Girdikleri Primer Hedef Bölgeler ve Etki Biçimleri [61].

İnektisitler, etki mekanizmalarına ve etkiledikleri hedef bölgelerine göre dört gruba ayrılmıştır:

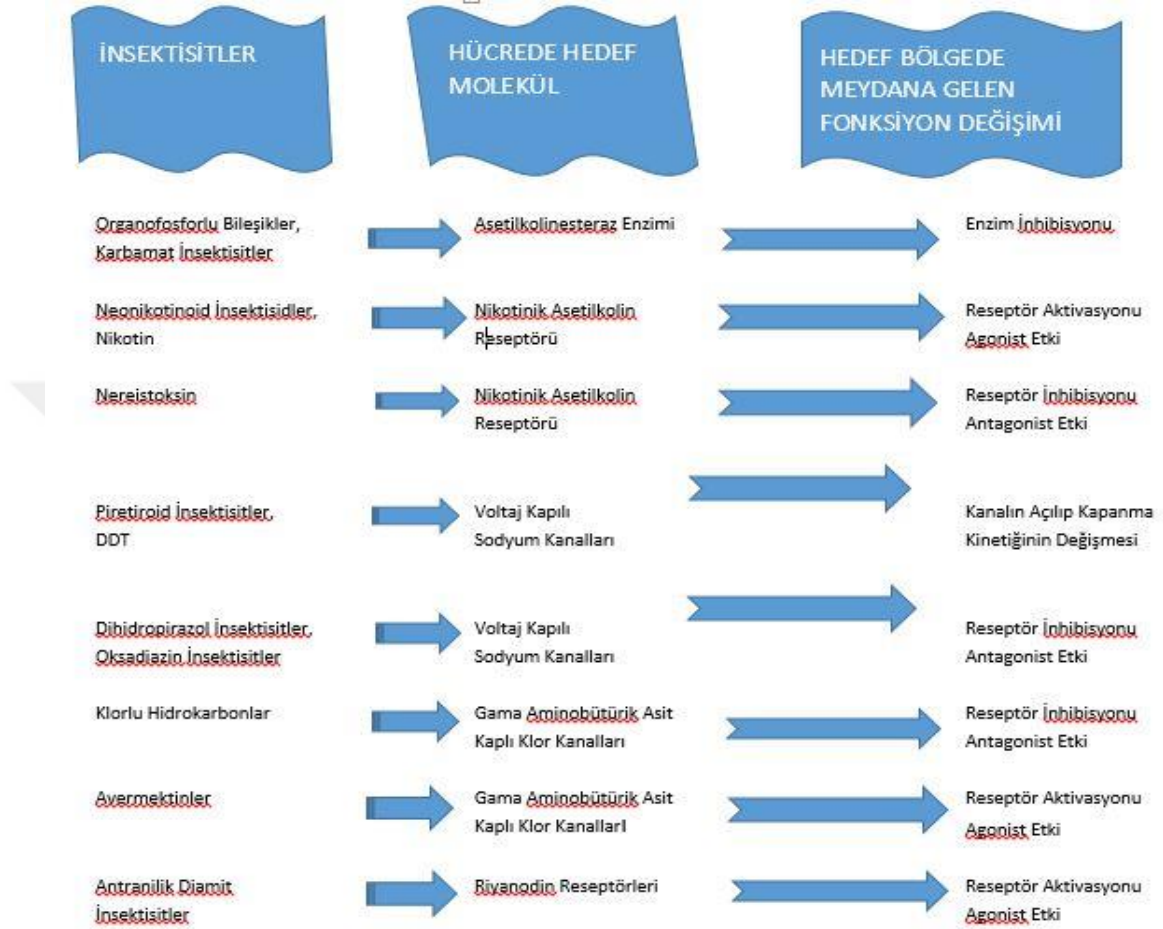
Sistemik ilaçlar: Bitkiler üzerine uygulanarak kullanılan ilaçlardır. Bu bitkilerle beslenen böcekler ilacı ağız yoluyla almış olurlar. Bu grup inektisitlere imidakloprid ve asetamiprid gibi nörotoksik etki gösteren pestisitler örnek olarak verilebilir [62, 63].

Temas inektisitleri: Böceklere doğrudan uygulanılarak kullanılan inektisitlerin oluşturduğu gruptur. Pestisitinin etkinliğini artırmak için genellikle küçük damlacıklar şeklinde ilaç uygulaması yapılmaktadır. Yaygın olarak kullanılan bir çeşit piretroid inektisit olan sipermetrin, temas inektisitlerine örnek olarak verilebilir [62].

Doğal inektisitler: Azadirachtin, pyrethrum, pyrethrin, nikotin gibi bitkilerden çeşitli yollarla elde edilen inektisitlerdir [64].

Organik inektisitler: Günümüzde en çok kullanılan inektisit grubudur [64].

İnsektisitler, ayrıca formülasyonlarına göre organoklorlu insektisitler, organofosforlu insektisitler, karbamatlar, piretinoidler ve neonikotinoid insektisitler olarak beş gruba ayrılırlar [65].



Şekil 1.5: Yaygın Olarak Kullanılan İnsektisit Grupları, Organizmada Etki Ettikleri Hedef Molekül ve Hedef Bölgede Meydana Gelen Fonksiyon Değişimi [61].

Organoklorlu İnsektisitler

Organik klorlu insektisitler, karbon-hidrojen içeren organik moleküllerin klorlanması ile elde edilen ilk sentetik insektisitlerdir [41, 65]. Bu grup insektisitler, gama-aminobütirik asit (GABA) klor kanallarını etkilemektedirler. GABA klor kanalları, sinir kas kavşağında hücre içerisine klor alınımını sağlayan reseptörlerdir. DDT olarak bilinen dikloro difenil trikloroetan, en iyi bilinen organoklorlu insektisittir. DDT ve HCH

(heksaklorosikloheksan), tifüs ve sıtma hastalıklarının önlenmesinde uzun süre kullanılan organoklorlu insektisitlerdir [66]. En kararlı insektisit grubunu oluşturan organoklorlu insektisitlerin kimyasal stabiliteleri ve yağda çözünürlükleri oldukça yüksek olup, biyofarmasyon ve yıkımları yavaştır. Yarılanma ömürleri 10-15 yıl arasındadır. DDT ve metabolitleri, vücuda alındığında sütte ve yağ dokusunda birikme özelliği göstermektedir. Aldrin ve dieldrin gibi oldukça toksik olan organoklorlu insektisitler, merkezi sinir sistemini uyararak etkisini gösterirler. Kalıntıları besin zincirine karışıp çevre sağlığını olumsuz etkilediklerinden kullanımları yasaklanmıştır. Bu durum karbamat ve organofosforlu insektisitlerin kullanımının yaygınlaşmasına neden olmuştur [67-69]. Organoklorlu insektisitler kimyasal yapılarına göre üç gruba ayrılmaktadır:

- a) Diklorodifeniletan yapısında (DDT, metoksiklor gibi)
- b) Klorlu siklodien yapısında (aldrin, dieldrin gibi)
- c) Klorlu benzen ve sikloheksan yapısında olanlar [70].

Organofosforlu İsektisitler

Organofosforlu insektisitler, kükürt ve fosfat içeren insektisitlerdir. Sıvı ya da toz halde bulunurlar. Yağ ve organik çözücülerde iyi çözünürken sudaki çözünürlükleri azdır. Çabuk parçalanma özelliği gösterdiklerinden dolayı çevrede uzun süre kalamazlar. Stabil değillerdir. Bu grup insektisitler hayvan ve insanların kardiyovasküler sistem ve merkezi sinir sistemini bozarak etki göstermektedirler [69, 71, 72].

Etki mekanizması şu şekildedir: Asetilkolin, sinir sisteminde uyarıların taşınmasında görev alan nörotransmitter bir maddedir. Taşıyıcılık yapan asetilkolin daha sonra asetik asit ve koline hidrolize olur. Bu şekilde sinir sistemi gelecek yeni bir uyarıya hazır hale getirilmiş olur. Hidroliz olayı, asetilkolin esteraz adı verilen enzim tarafından gerçekleşmektedir. Solunum, deri ya da sindirim gibi yollarla vücuda alınan organik fosforlu insektisitler, asetilkolin gibi davranarak sinir uçlarındaki asetilkolin esteraz enzimini inhibe edip sinapslarda asetilkolinin birikmesine neden olurlar. Bu durumda asetilkolin zehirlenmesi denilen olay gerçekleşir ve beraberinde sinirsel ileti bozulur. Asetilkolinin artışı vücutta birçok olumsuz sonuçlara sebep olur. Parasempatik sinir sistemi aşırı çalışır, çizgili kaslar kasılı kalır, salgı bezlerinin salgısı artar ve kalbe giden

uyarılarla birlikte kan basıncı artarak felçlere sebep olur. Organofosforlu insektisitlerin diğeri bir etkisi karaciğeri üzerinedir. Lipofilik yapıda oldukları için yağda büyük oranda depolanırlar. Bu nedenle ayrışmaları günlerce sürebilmektedir [27, 72-75].

Karbamat İsektisitler

Yapılarında karbamik asit bulunduran insektisit grubudur. Karbamatlı insektisitler, Calabar fasulyesinden 1865 yılında izole edilmiş olup sentezi 1935 yılında yapılmıştır. Karbamat grubu insektisitler de organofosforlu insektisitler gibi asetilkolin esteraz enzimini inhibe ederek etkisini gösterirler. Karbamat grubu insektisitler, asetilkolin esteraz enzimini geçici inhibe ederek kısa süreli toksik etki oluştururken organofosforlu insektisitler kalıcı inhibe ederler. Bu grup insektisitler nematosit, insektisit ve mollusit etkisine sahip çok yönlü pestisitlerdir [76]. Karbamat grubu insektisitler bitki korumasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Karbamil, en sık kullanılan karbamat grubu insektisittir. Karbamatlı insektisitlerin memelilerde toksisiteyi düşük olduğu için bilinçli kullanımı insan sağlığı için tehdit oluşturmamaktadır [27, 73, 74, 77].

Piretroid İsektisitler

Piretroid insektisitlerin kullanımı, 1880'li yıllarda Pyrethrum cinsine ait bazı çiçeklerden ekstre edilen pirethrin maddesinin insektisit özelliğinin bulunması ile başlamıştır. İsektisit etkileri ve yapısal özellikleri bakımından pirethrin bileşiklerine benzerlik gösteren sentetik maddelere, *piretroid* denilir. Isı ve sığağa karşı dayanıklı olmayan piretrumlar yerine kimyasal benzeri olan sentetik piretroidler üretilerek tarımsal alanda kullanılmaya başlanılmıştır [78, 79]. Allethrin, sentetik olarak üretilen ilk piretroid insektisittir [80, 81]. Toksisiteyi yüksek, suda çözünürlükleri az olup buharlaşma basınçları düşüktür. Piretrum ekstratının içinde insektisit özelliği yüksek olan Tip I (piretrin I) ve kısa sürede böceği sersemletme özelliği gösteren Tip II (piretrin II) maddeleri % 73 oranında bulunmaktadır. DDT'ye benzer etkiler gösterdiği tespit edilen Tip I piretroidler, sinirsel boşalmalarla kendini göstermektedir. Alfa-cyano grup, Tip II piretroidlerde mevcutken Tip I piretroidlerde yoktur. Tip I piretroidler canlılarda

koordinasyon bozukluğu, aşırı yorgunluk, hareketsiz kalma, felç kalma, agresif davranışlara ve vücutta titremelere neden olur. Tip II piretroidler ise tükürük salgısında artma, kontrolsüz davranışlar, titreme ve kasılmalara neden olur [6, 71, 74, 83].

Piretroidler en çok kullanılan ve en güvenilir insektisitler arasındadır. Hem evde hem de tarımsal alanlarda yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Enzimatik biyofarmasyonu, detoksifikasyonu, atılımının yüksek olması ve etkinliğinin sıcaklıkla azalmasından dolayı memelilerde düşük toksisiteye sahiptir. Vücut sıcaklığı düşük ve metabolizması yavaş olan böceklerde ise daha etkilidir [84].

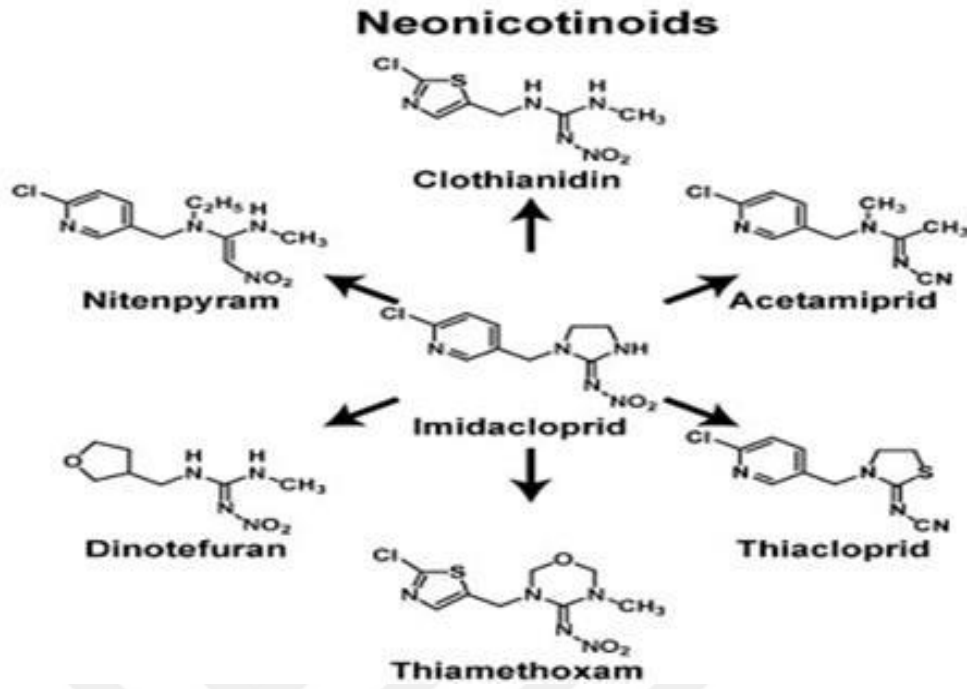
Piretroidlerin başlıca avantajları; geniş spektrumlu olması, böceklere karşı toksik etkilerinin yüksek olmasına karşın memelilerde zehir etkilerinin düşük olması ve toprakta birikim göstermemesidir. Bu avantajlarına rağmen piretroidlerin maliyetinin yüksek olması, kolay bozulması ve üretim sürekliliğinde sorunların olması gibi dezavantajları mevcuttur [74, 85].

Neonikotinoid İsektisitler

Nikotin, böcek öldürücü etkisi yıllardır bilinen oldukça toksik, sistemik olmayan ve uçucu nitelikte bir maddedir. Neonikotinoidler, nikotin etki mekanizması model alınarak geliştirilen yeni nesil insektisitlerdir [9]. Yaygın kullanılan pestisitlerin böcek popülasyonlarında direnç oluşturmaları ve diğer pestisitlerin çevreye zararlı etkilerinin belirlenerek kullanımlarının kısıtlanması yeni insektisit ihtiyacının doğmasına neden olmuştur. Neonikotinoidler, ilk defa 1970'li yıllarda Kaliforniya Modesto'da Shell Biyolojik Araştırma Merkezinde kurşun bileşikleriyle yapılan araştırmada tesadüf eseri bulunmuştur. Nithiazin, sentez edilen ilk neonikotinoid insektisittir. Nithiazin, böcek öldürücü aktivitesi yüksek ve memeliler için düşük toksisiteye sahiptir. Bununla birlikte nithiazin oldukça fotolabildir. Bu nedenle ticari olarak geliştirilememiştir [61, 87]. Kagabu, nithiazinin yapısını değiştirerek bir dizi yeni bileşik sentezlemiştir. Bu çalışmalar doğrultusunda, 1985 yılında ilk nesil neonikotinoid olan imidakloprid keşfedilmiştir [86]. 1991 yılında Bayer tarafından ticarileştirilen imidakloprid, nikotinden

12 kat daha fazla insektisidal etkinliğe sahip, sistemik ve fotostabil nitelikte bir insektisittir [61, 88].

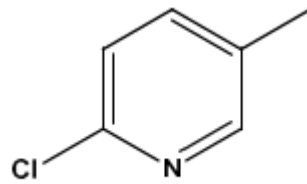
Neonikotinoidler, sistemik, katı, polar nitelikli maddelerdir. pH 5-9 aralığında iyonize olmazlar. Yüksek çözünürlükleri ve polariteleri nedeniyle hareketlidirler. Suda çözünen neonikotinoidler, bitki kökleri tarafından kolaylıkla alınır ve yaprak, çiçek, polen ve nektar gibi bölgelere taşınır. Çok düşük konsantrasyonlarda biyolojik olarak aktif oldukları için diğer insektisitlere nazaran daha düşük hacimlerde uygulaması yapılmaktadır. Yüzey sularında birikme özelliği gösteren neonikotinoidler, hedef dışı organizmalar için tehdit oluşturmaktadır [14, 89]. İmidakloprid ve asetamiprid gibi neonikotinoidlerin hepsi 6-kloro-3-piridinil kısmına sahip olup yapısal olarak nikotin ve epibatidine benzerlik göstermektedir [90, 91]. Hedef seçici özelliğinden dolayı neonikotinoidler son otuz yılda bitki korumada kullanılan en önemli insektisit sınıfı haline gelmiştir [92]. Dünyada kullanılan tüm insektisitlerin % 11-15'ini neonikotinoidler oluşturmaktadır [93]. Neonikotinoidler genellikle emici tür böcekleri, kın kanatlı zararlıları ve bazı kelebekleri kontrol altında tutmak için kullanılmaktadır [12]. Aynı zamanda hayvanlarda kene ve pire kontrolünü sağlamak amacıyla veteriner hekimlikte de kullanımı mevcuttur. Böceklere karşı yüksek toksisite özelliği göstermesine karşın memelilerde, kuşlarda ve balıklarda akut ve kronik toksisitesinin düşük olduğu bildirilmiştir [93]. Neonikotinoidlerin özellikle arıları olumsuz etkileyerek toplu ölümlere neden olduğu bildirilmiştir [9]. Ayrıca böceklerde daha az direnç gelişimine neden olmaktadır. Neonikotinoidler, WHO/EPA tarafından 2. ve 3. sınıf toksinler sınıfında gruplandırılmıştır [14-16].



Şekil 1.6: Neonikotinoid İnektisitlerin Kimyasal Formülasyonu [94].

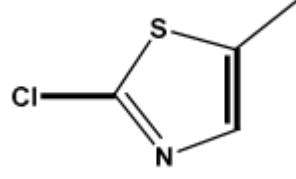
Neonikotinoidler kimyasal yapılarına göre üç gruba ayrılmaktadır:

a) *Kloronikotinil bileşikler:* İmidakloprid, asetamiprid, thiakloprid ve nitenpiram gibi ilk nesil neonikotinoidlerin bulunduğu gruptur. İmidakloprid ve asetamiprid toprakta kullanım için uygunken, thiakloprid sadece yapraklar için tescillidir [61, 84, 95].



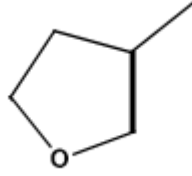
Şekil 1.7: Kloronikotinil Bileşiklerde Bulunan Ortak Kimyasal Yapı [61].

b) *Thianikotinil bileşikler*: İkinci nesil neonikotinoidler olup thiamethoxam ve clothianidin bu gruba girmektedir [61, 95].

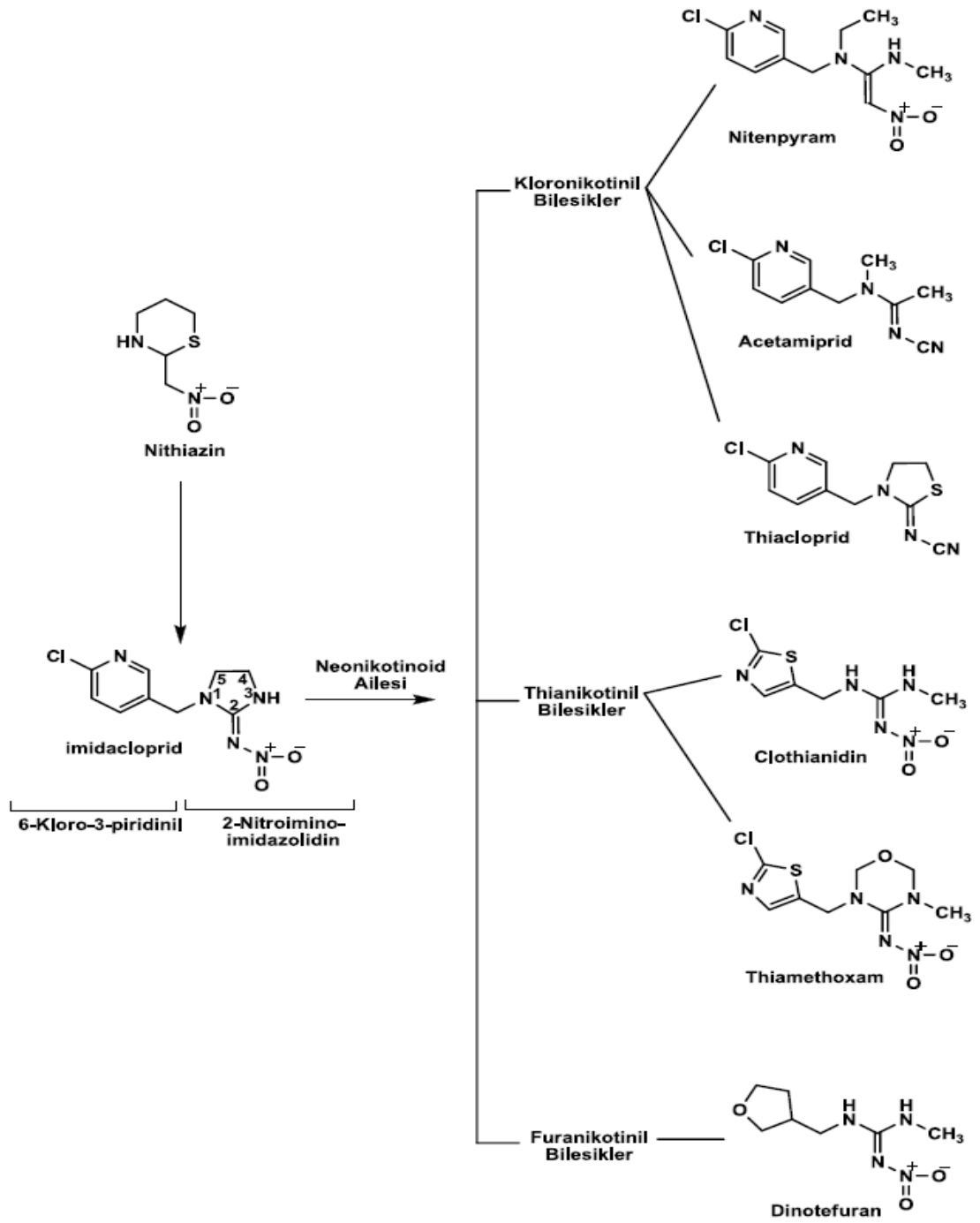


Şekil 1.8: Thianikotinil Bileşiklerde Bulunan Ortak Kimyasal Yapı [61].

c) *Furanikotinil bileşikler*: Üçüncü nesil neonikotinoidler olup tek üyesi dinotefuran insektisitidir. Dinotefuran, 2002 yılında Mitsui Chemical Company tarafından ticari hale getirilmiştir [61, 95].



Şekil 1.9: Furanikotinil Bileşiklerde Bulunan Ortak Kimyasal Yapı [61].

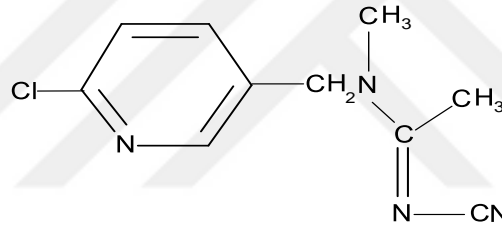


Şekil 1.10: Neonicotinoid İnektisitlerin Öncü Molekülü Olan Nithiazin ve Neonicotinoid İnektisitlerin Kimyasal Yapıları [61, 94].

Asetamiprid

Asetamiprid, neonikotinoid grubu insektisitlerin yeni bir üyesidir. Asetamiprid, ilk kez 1995 yılında Nippon Soda Co. Ltd. şirketi tarafından Mospilan ticari adıyla Japonya’da satışa sunulmuştur [17, 96, 97]. Daha sonra Mostar, Neoplan, Akira, Hekplan, Malcon gibi farklı ticari isimlerle piyasaya sürülmüştür [6]. Çiçek yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan asetamiprid, yapraklı meyveler ve sebzeler, turuncgiller, üzüm, pamuk ve narenciye gibi bitkilere zarar veren emici türden (yaprak bitleri, beyaz sinek vb) böcekleri kontrol altında tutmak için kullanılmaktadır [13, 98].

Asetamiprid ((E)-N1- (6-kloro-3-piridil) metil-N2-siyano-N1-metil asetamidin), yapısal olarak bir siyanoamid ve bir 6-kloro-3-piridilmetil olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. $C_{10}H_{11}ClN_4$ şeklinde kapalı formüle ve 222.68 g/mol molekül ağırlığına sahiptir [14].



Şekil 1.11: Asetamipridin Kimyasal Yapısı [27].

Saf halde beyaz renkli, kristal görünümde ve kokusuzdur. Erime noktası 98.9 °C olup 20 °C’de yoğunluk 1.330 g/cm³ olarak belirlenmiştir. pH 4-7 aralığında stabil durumda olan asetamiprid, pH 9 ve 45 °C’de yavaş yavaş bozunur. Aseton, su, metanol, diklorometan, tetrahidrofuran, asetonitril gibi çözücülerde çözünür. Düşük fotolitik reaksiyon hızına sahip olduğundan güneş ışığına karşı oldukça dayanıklıdır. Biyolojik olarak kolayca parçalanamayan asetamiprid, buhar halinde atmosferde fotokimyasal olarak üretilen hidroksil radikalleriyle reaksiyona girerek bozunur. Asetamipridin yarılanma ömrü havada 5 saat ve suda 34 gün olarak belirlenmiştir. Sudaki bozunma, oksijenli suda orta hızda olurken oksijensiz suda oldukça yavaş gerçekleşmektedir. Asetamiprid bozunması oksijenli toprak metabolizmasında daha hızlı gerçekleşir [99-102].

Yapılan çalışmalarda asetamipridin bozunma ürünü olan metil (6-kloro-3-piridil) metilaminin asetamipride göre daha dayanıklı olduğu ve yer altı sularına geçme potansiyelinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir [13, 102].

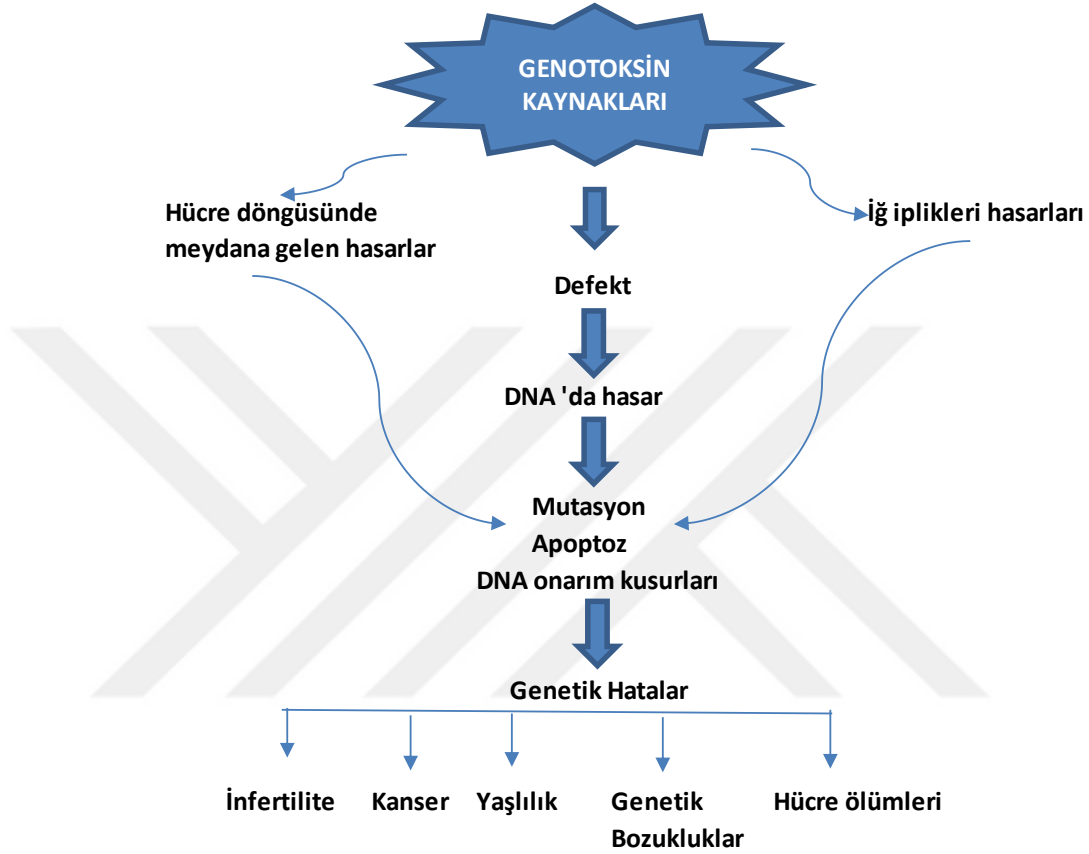
Asetamiprid, nikotidik asetilkolin agonisti olup merkezi sinir sistemini etkilemektedir. Aynı zamanda asetamiprid, kontakt ve mide zehiri etkili translaminal eylemli bir insektisittir. Asetamiprid ile yapılan çalışmalarda, oral yolla verilen asetamipridin hızlı bir şekilde absorbe olup, karaciğer, böbrek, adrenal ve tiroid bezlerine ulaşarak tüm vcoda yayıldığı ve uygulamadan 24 saat sonra da idrarla atıldığı gözlenmiştir [110]. EPA'nın yaptığı toksisite kategorisine göre; asetamiprid ratlarda yapılan oral çalışmalarda toksisite kategorisi II, ratlarda yapılan dermal ve inhalasyon çalışmalarında toksisite kategorisi III ve tavşanların derilerine yapılan uygulamalarda toksisite kategorisi IV olarak belirlenmiştir [104-105].

Farklı sıçan türleri kullanılarak yapılan çalışmalar sonucunda farelere uygulanacak asetamiprid medyan letal doz (LD₅₀) değeri oral çalışmalarda 146-217 mg/kg ve dermal çalışmalarda LD₅₀' si >2000 mg/kg olarak belirlenmiştir [106]. Doz miktarına bağlı olmakla birlikte görülen başlıca belirtiler; ilk dakikalarda kaşıntı, titreme ve konvülsiyon, 10 dk-3 saatlik süre içerisinde midriyazis ve lateral pozisyon, salivasyonda artış ve ataksi ile seyreden hassasiyet olup bu belirtilerin yaklaşık bir gün srdğu belirtilmiştir. Asetamipridin kanserojenik, mutajenik ve nörotoksik etki gösterdiğine dair bir kanıt bulunamamıştır [13, 101].

1.3. Genotoksisite

Genetik toksisite, hücrenin genetik materyali (DNA ve RNA) zerinde hasar meydana getiren maddelerin (genotoksinlerin) varlığını açıklamak için kullanılan bir kelimedir. Yani DNA, kromozom ve çekirdekte oluşan DNA eklentileri, kromozom anomalileri, gen mutasyonları, DNA kırıklarını kapsayan genel bir terimdir. Genotoksik maddelerin, genom veya DNA kopyalanmasında görev alan enzimlerle etkileşime girerek DNA'da hasar veya yapısında değişiklikler meydana getirmesi genotoksik etki olarak adlandırılır. DNA'da meydana gelen hasarlar birtakım mekanizmalar ile onarılmaya çalışılır. Genetik materyalde meydana gelen değişiklikler onarılmadığı takdirde doku hasarı, yaşlanma,

infertilite, kanser ve mutasyon oluşabilmektedir. Genetik materyalde meydana gelen kalıcı değişikliklerin tümü mutasyon olarak adlandırılmaktadır [21, 107, 108].



Şekil 1.12: Genotoksin Kaynaklarının DNA Üzerindeki Etkileri ve Sonuçları [109].

Tarım başta olmak üzere günümüzde neredeyse her alanda kimyasal madde kullanımı söz konusudur. Bu kimyasal maddelerin canlı genomunda mutasyona sebep olup olmadıklarının belirlenmesi oldukça önemlidir. Kimyasal mutajenez konusu, 1970'li yıllarda gen ve kromozom fonksiyonlarının belirlenmesinde önemli bir konu haline gelmiştir. 20. yüzyılın ortalarında Auerbach ve Robson'un çeşitli kimyasal maddelerin *Drosophila melanogaster*'de mutasyon oluşturduklarını bildirmeleri genetik toksikolojiye olan ilgiyi artırmıştır. Bu testin duyarlılığının düşük olması ve sonuçların güvenilir olmamasından dolayı mutajenite izleme prosedüründe yer almamıştır. 1950'li

yıllarda spesifik baz değişimine duyarlı olan plaka (spot) ve süspansiyon testleri *Escherichia coli*'de denenmiş fakat kalıp kaymasına neden mutajenlerin bu yöntemle saptanamadığı belirlenmiştir. 1971 yılında Bruce Ames spot test sistemini geliştirerek bakteriyel mutajenite testi olan ames testini bulmuştur. Bu test sisteminin geliştirilmesine paralel olarak memeli hücrelerinde gen mutasyon testi, kromozom aberasyon testi gibi *in vivo* testler ve daha sonra da *in vivo* kemik iliği aberasyon ve kardeş kromatid değişimi testleri geliştirilmiştir [21, 108, 110, 111]. Bu testlerin yerini zamanla Schmid tarafından bulunup geliştirilen kemik iliği mikronükleus testi almıştır [112].

1.3.1. Genotoksisite Testleri

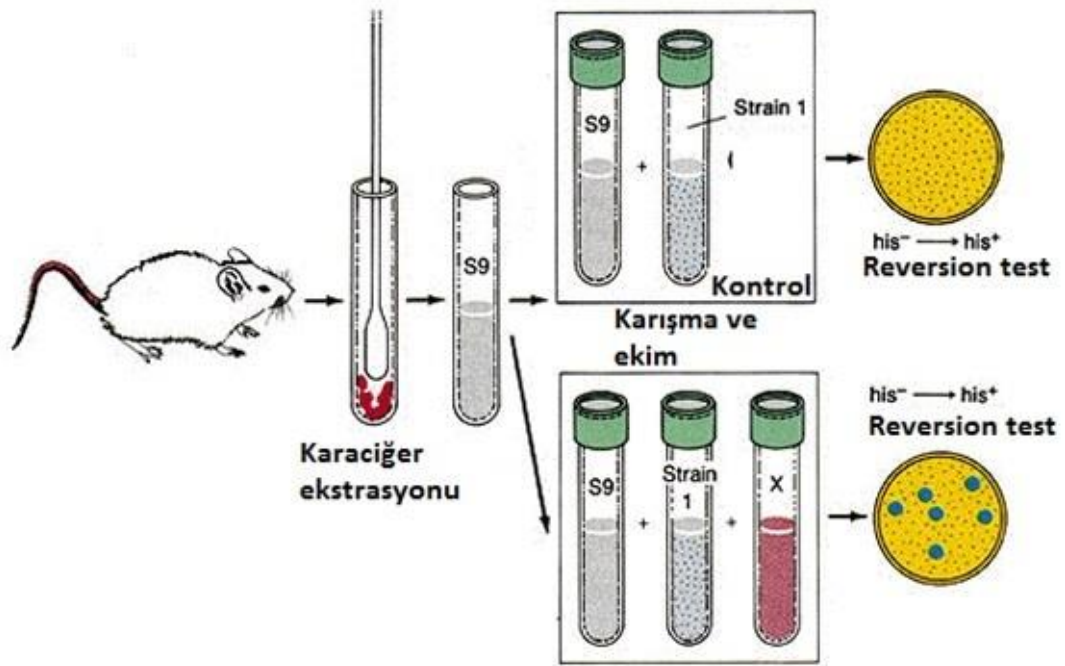
Genotoksisite testleri, genetik materyalde doğrudan ya da dolaylı etkiler sonucunda oluşan hasarları belirlemek amacıyla geliştirilmiş *in vivo* ve *in vitro* testlerden oluşmaktadır [115]. *In vitro* testlerin *in vivo* testlerden farkı; etkisi araştırılan kimyasal maddenin canlıdan alınan dokulara dış ortamda uygulanmasıdır. Yaygın kullanılan *in vivo* ve *in vitro* genotoksisite testleri; kromozom anomalileri (KA) testi, mikronükleus (MN) testi, ames testi, comet testi ve kardeş kromatid değişimi (KKD) testidir [108, 111-115].

1.3.1.1. AMES Testi

Salmonella/mikrozom test sistemi de denilen ames testi, 1970'li yıllarda Dr. B. N. Ames ve Dr. D. M. Maron tarafından geliştirilmiş bakteriyel mutajenite testlerindedir [116]. Ames testi, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin belirlenmesi ve nokta mutasyonların araştırılmasında günümüzde sıklıkla kullanılan, mutajen-karsinojen etkisi iyi bilinen, uygulanması kolay, hızlı, ucuz ve oldukça hassas bir yöntemdir [108, 117, 118].

Ames testi, histidin aminoasidine ihtiyaç duyan ve bu aminoasidin değişik bölgelerinde çeşitli mutasyonlar oluşturan *Salmonella typhimurium* bakterisi kullanılarak yapılmaktadır. Bu yöntem; yapay mutasyonlar sonucunda histidin sentezleme

yeteneklerini kaybetmiş olan suşların, sitokrom P-450 enzimlerini içeren karaciğer mikrozom enzimlerine (S9) ait süpernatantların varlığında veya yokluğunda test maddeleri ile muamele edildikten sonra ikinci bir mutasyona uğraması esasına dayanır [119]. Oluşan mutasyon sonucunda histidinden bağımsız olarak çoğalabilen ve histidin sentezleyebilen bakteri suşları meydana gelmektedir. Geri mutasyon işlemi sonucunda meydana gelen bakteri kolonileri sayılarak mutajenite tespiti yapılmaktadır. Sonucun pozitif olması, test edilen kimyasalın potansiyel mutajenik özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. Kimyasalın mutajenik veya kanserojenik etkisinin kesinleşmesi için bu testin deney hayvanlarını içeren çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir [108, 120].



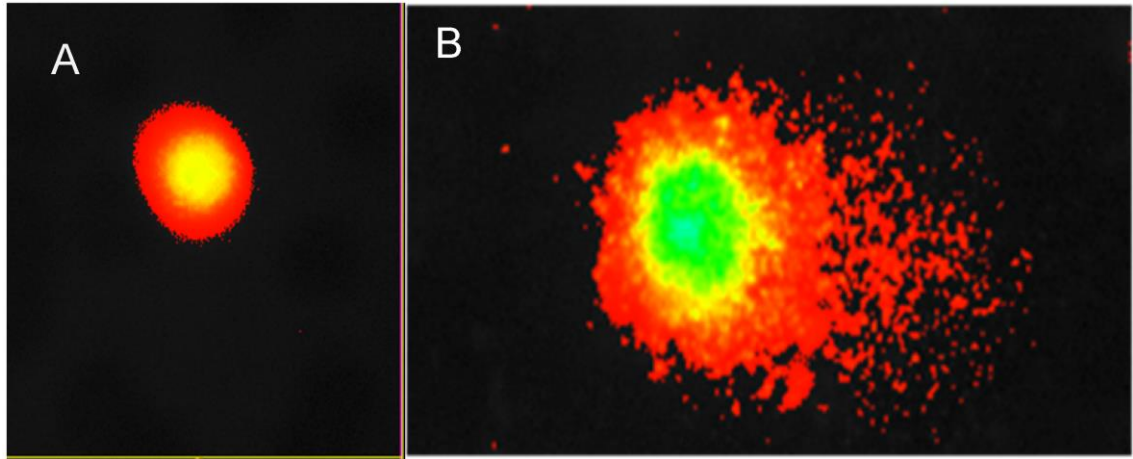
Şekil 1.13: Ames Testinin Uygulaması ve Mutajeniteyi Gösteren Koloniler [121].

1.3.1.2. COMET Testi

Tek hücre jel elektroforezi olarak da bilinen Comet testi, Ostling ve Johanson tarafından çeşitli kimyasal ajanların neden olduğu primer DNA hasarlarını ve tamirini belirlemek için geliştirilmiş bir yöntemdir [122]. DNA hasarlarının tayini prensibine dayanan comet testi, oldukça hızlı, hassas, basit ve ucuz bir yöntemdir. Bu testin avantajları; çalışmaların az sayıda hücre ile yapılabilmesi, çalışma süresinin oldukça kısa olması, maliyetinin düşük olması, çoğalabilen veya çoğalamayan her türlü ökaryotik hücreye kolaylıkla

uygulanabilmesi ve DNA kırıklıklarının görsel olarak tespitine olanak sağlamasıdır [123-125]. Bu yöntem kanser hücrelerinde meydana gelen DNA hasar ve derecelerinin belirlenmesinde, bazı kalıtsal nitelikte olan hastalıkların prenatal tanısında kullanılmaktadır [108].

Comet testi, alkali bir pH ortamında molekül ağırlığı ve elektrik yükü bakımından farklı olan DNA moleküllerinin elektriksel alanda göç ettirilmesi esasına dayanmaktadır. Çalışma için kullanılacak hücreler agar içerisine yerleştirilir. Hafif alkali bir pH ortamında DNA çift sarmalının açılması için gevşetme ve denatürasyon işlemleri yapılır. Lize edilerek proteinlerinden ayrılmış DNA'ların nötralizasyonu yapılarak floresan boyalarla boyanır. Daha sonra elektroforez işlemi yapılarak çekirdekten anoda doğru hasarlı DNA'ların göçü sağlanır. Göç eden DNA kırıkları kuyruklu yıldız görünümü oluşturmaktadır. Bu nedenle bu test, kuyruklu yıldız anlamına gelen 'comet' olarak adlandırılmıştır. Kuyruk uzunluğu ve kuyruk yoğunluğu, DNA hasarına bağlı olarak artmaktadır [108, 126, 127].

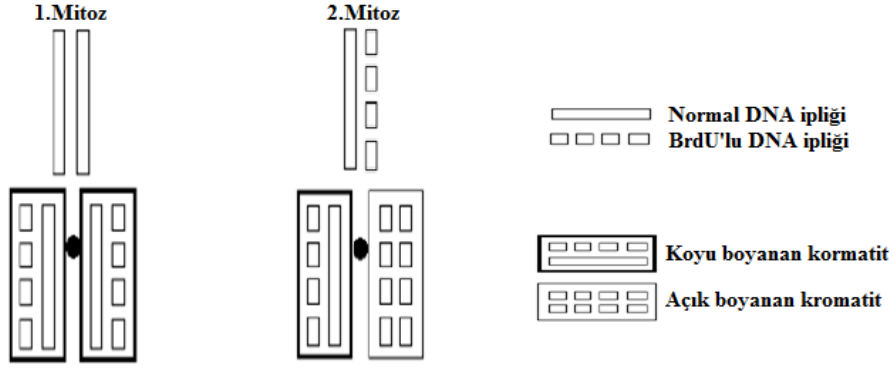


Şekil 1.14: A: DNA Hasarı Olmayan Çekirdek (Kuyruksuz) ve B: DNA Hasarı Olan Çekirdek (Comet İle) [128].

1.3.1.3. Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Testi

İn vitro genotoksisite testlerinden biri olan kardeş kromatid testi (KKD), bir kromozoma ait kromatidlerin homolog lokuslarında meydana gelen karşılıklı parça değişimini belirlemek için kullanılan test tekniğidir [129]. Rekombinasyon yoluyla DNA çift zincir kırıklarında meydana gelen onarımlar, bu test tekniği ile kolaylıkla gösterilebilmektedir. Bu test yöntemi ile çeşitli kimyasal ajanların mutajenik ve karsinojenik etkileri ve kromozomlarda meydana gelen yapısal mutasyonlar araştırılmaktadır. Mutajenik ve karsinojenik etkiye sahip olan maddeler, viral enfeksiyonlar, radyasyon, bloom sendromu gibi kromozom kırılabilirliği görülen çeşitli kalıtsal hastalıklar ve diğer genotoksik çevresel faktörler KKD sıklığını artırmaktadır. Artan KKD ile tümör oluşumu arasında ilişki olduğu saptanmıştır [108, 130, 131].

Kardeş kromatid değişimi, ilk kez 1958 yılında J.H. Taylor'un trityum işaretli bitki kromozomlarını otoradyografik olarak incelenmesi esnasında tespit edilmiştir [132]. DNA kırıklarını göstermek için kültür ortamına iki replikasyon sürecine katılacak olan BrdU eklenir. S evresinde gerçekleşen ilk DNA replikasyonu sonucunda yeni oluşan DNA'ların bir zinciri normal iken diğer zincirinde timinin yerini alan BrdU bulunmaktadır. Daha sonra ortamda gerçekleşen ikinci replikasyon sonucunda kardeş kromatidler BrdU miktarı bakımından birbirinden farklılaşır. İkinci mitozun metafaz safhasında, kolşisin eklenerek hücre bölünmesi durdurulur. Flöresan ışık altında bekletilip giemsa ile boyanan hücrelerin kromozomları, mikroskopta incelenir. BrdU içeren kromozom bölgeleri açık renkte görülürken, içermeyen alanlar koyu renkte görülür. Bu farklı boyanma alanları, kardeş kromatidler arasında karşılıklı parça değişimi olduğunu göstermektedir [74, 108, 134, 135].



Şekil 1.15: BrdU İçeren Ortamda Mitoz Sonucu Oluşan Kromatidlerin Boyanmasının Şematik Gösterimi [136].

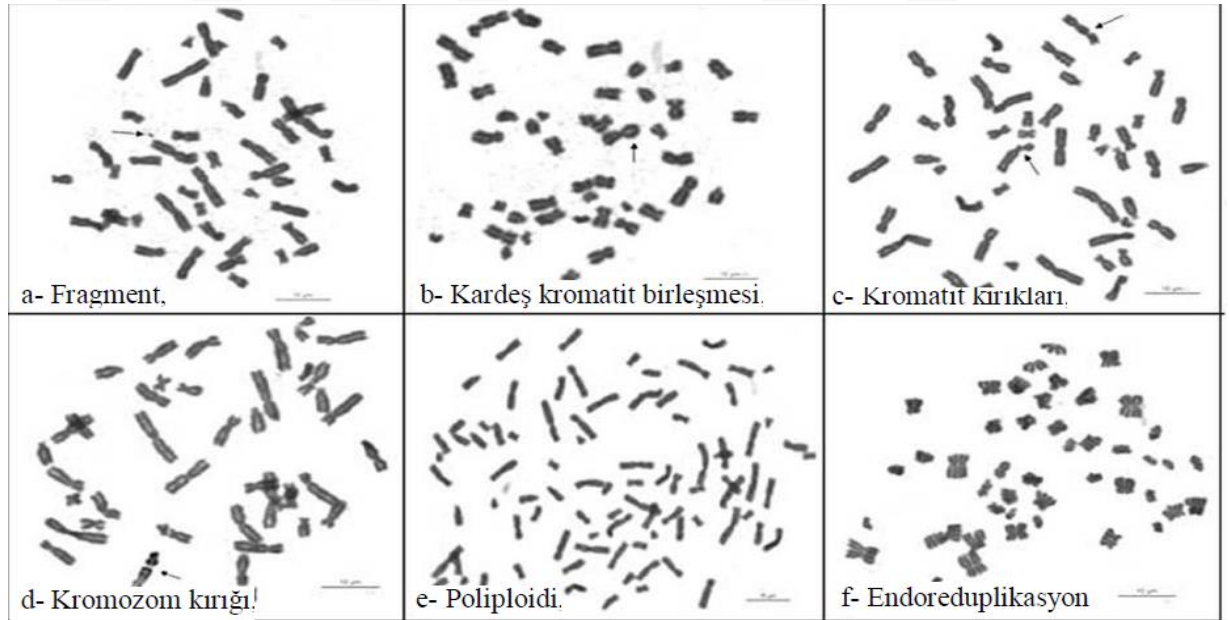
1.3.1.4. Kromozomal Aberasyon (KA) Testi

Kendiliğinden veya çeşitli mutajenik ajanların etkisi ile kromozomlarda meydana gelen sayısal ve yapısal değişimler kromozom aberasyonu olarak adlandırılmaktadır [23]. Kromozomda meydana gelen anomaliler, canlıların iyonize radyasyon ve genotoksik ajanlara maruz kalmasının önemli biyolojik sonuçlarından biridir [133]. Kromozom aberasyon testi, Perry ve Evans'ın 1975 yılında bilinen mutajen ve kanserojenlerin Çin hamsteri ovaryum hücrelerinde, KA'yı uyardığını bulmalarından sonra sıklıkla kullanılan bir test haline gelmiştir [25]. Epidemiyolojik araştırmalarda KA sıklığı artmış kişilerde kanser olma riski önemli derecede yüksek bulunmuştur. KA için doz-tepki eğrileri, maruz bırakılan indükleyici ajana ve analiz edilen hücre türüne göre farklılık göstermektedir [137, 138].

Kromozomal anomaliler, DNA'da oluşan hasarın bir sonucudur. Kromozomal anomaliler, yapısal ve sayısal anomaliler olarak iki şekilde görülmektedir. Yapısal kromozom aberasyonları; kromozom kırığı, kromatid kırığı, fragment, disentrik kromozom, kardeş kromatid birleşmesi, halka kromozom, translokasyon, gap, inversiyon ve izokromozomlardır. Sayısal kromozomlar ise öploidi ve anöploiidir. Yapısal kromozom aberasyonları kromozom veya kromatid bazında olmak üzere iki şekilde görülmektedir. Kromatid tip aberasyonlarda sadece bir kromatidde anomali görülürken kromozom tip aberasyonlarda ise her iki kromatidinde de anomali söz konusudur. Test

edilen mutajenin çeşidine ve uygulandığı hücre siklusuna göre aberasyon tipleri de değişmektedir. Mutajen uygulaması, hücre siklusunun G1 fazında olursa kromozom tipi aberasyonlara, G2 fazında olursa kromatid tipi aberasyonlara ve S fazında olursa her iki tip aberasyonunda görülmesine neden olmaktadır. Kimyasal mutajenlerin indüklediği sapmaların geneli, kromatid bazında olup kromozom tipi aberasyonlarda görülebilmektedir [23, 139].

Kromozomun bir segmentinin kırılıp kaybolması delesyon olarak tanımlanmaktadır. Kromozomların bir kolunda meydana gelen kırılmalar sonucunda terminal delesyon oluşmaktadır. Terminal delesyonla kopan parça ilk mitozda asentrik fragmentleri oluşturmaktadır. İnversiyon için kromozomun iki noktasında kırılma olur ve kırılıp kopan parça 180 derece dönerek tekrar yapışır. Kromozomlarda kırılmalar sonucunda kopan parçaların homolog olmayan kromozomlar arasında karşılıklı değiştirilmesi durumuna translokasyon denilmektedir. Normalde dikey olarak bölünen sentromerin horizontal bölünmesi sonucunda izokromozomlar meydana gelmektedir. Bu durumda yeni oluşan kromozomlar iki uzun kola veya iki kısa kola sahip olurlar. İzokromozomlar genellikle X kromozomlarda görülmektedir [74, 140].



Şekil 1.16: Kromozom Anomalileri İçeren Metafazlar [141].



Şekil 1.17: Yapısal Kromozom Aberasyonları [141].

Kromozom mutasyonları ve ilgili olaylar insanlarda görülen genetik hastalıkların sebebidir. Kromozom anomalilerini belirlemek için en sık kullanılan yöntemlerden biri KA aberasyon testleridir. *İn vivo* ve *in vitro* olmak üzere iki şekilde yapılmaktadır. Kromozomal anomalilerin tespiti *in vitro* KA testinde memeli hücre kültürleri kullanılarak yapılırken *in vivo* KA testinde kemik iliği hücreleri kullanılmaktadır. Her iki yöntemde de kromozomlar mitozun metafaz safhasında incelenmektedir. Mitozu, metafaz safhasında durdurmak için kolşisin adı verilen bir madde kullanılmaktadır. Kolşisin uygulaması, *in vitro* KA testinde kültür hasadından genellikle 2 saat önce ve *in vivo* KA testinde ise hayvanlar öldürülmeden 2-4 saat önce yapılmalıdır [23, 142-144].

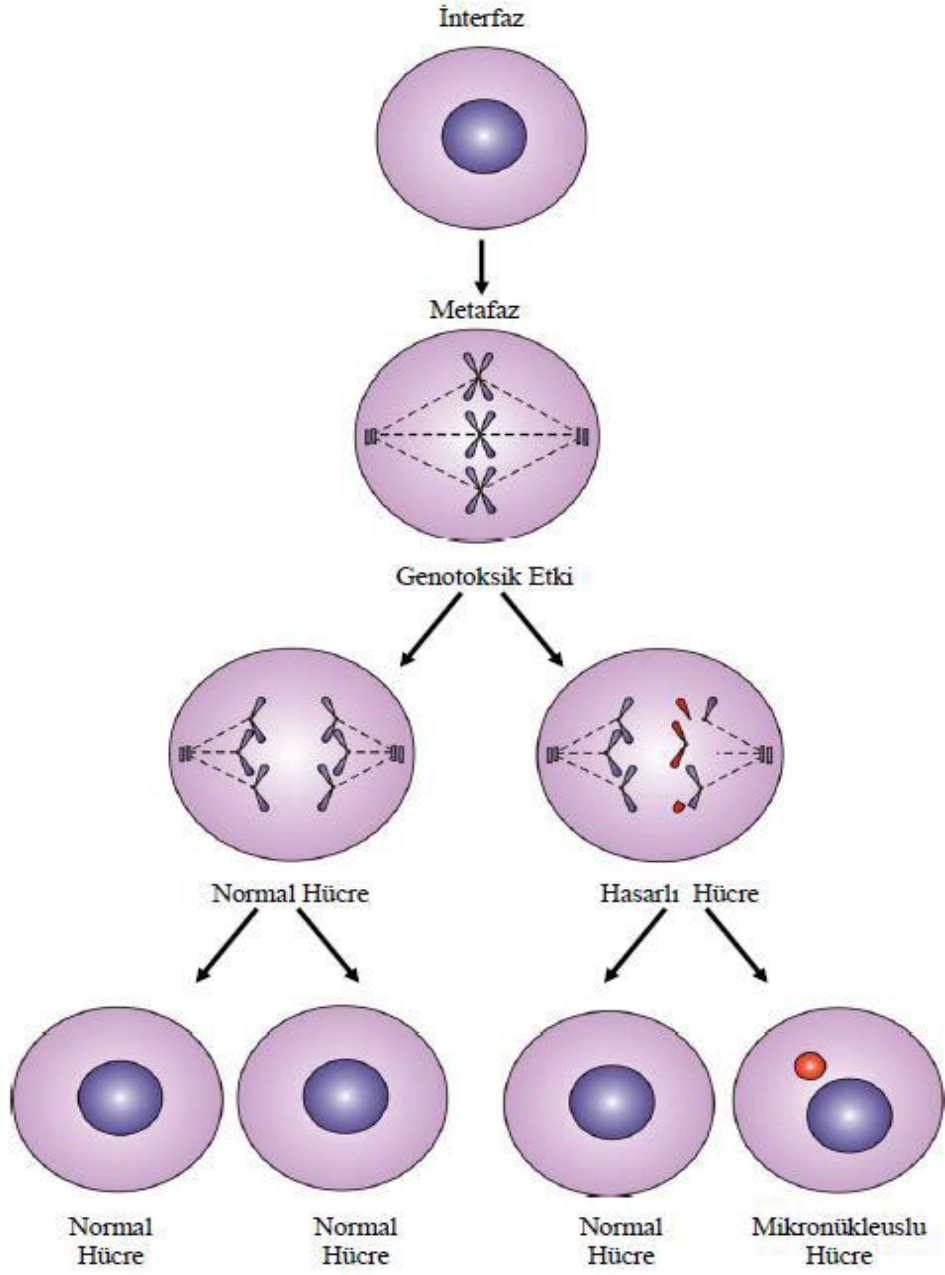
1.3.1.5. Mikronükleus (MN) Testi

Mikronükleus, çeşitli mutajenlerin etkisi ile hücre bölünmesinin anafaz safhasında kutuplara çekilemeyen kromozomlar veya asentrik kromozomların fragmentlerinden oluşan ana çekirdek dışındaki nuklear orjinli oluşumlardır [145, 147]. Mikronükleus oluşumu, ilk kez 1886 yılında Howell tarafından anemik kedilerin eritrositlerinde saptanmıştır. 1907 yılında Jolly, Howell'in çalışmalarını doğrulamıştır. Bundan dolayı mikronükleuslara "Howell-Jolly cisimcikleri" denilmektedir [148]. Genlerde görülen eksiklikler, kinetokor, mitotik iğdeki hatalar ve kromozomal hasarlar başlıca

mikronükleus nedenleridir. Mikronükleus yapı, şekil ve boyanma özellikleri açısından ana hücreye benzemekte olup büyüklük bakımından (ana hücrenin 1/3 kadar) ana hücreden ayrılmaktadır [149]. Mikronükleus sayısında meydana gelen artış, çeşitli mutajenik ajanların meydana getirdiği yapısal ve sayısal kromozom anomalilerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca mikronükleus artışı, somatik hücrelerde genomik kararsızlık olarak kabul edilmektedir [150, 151].

Mikronükleus yöntemi, çeşitli fiziksel ve kimyasal maddelerin oluşturduğu anöjenik ve klastojenik etkileri belirlemek için kullanılan, *in vivo* ve *in vitro* olarak uygulanabilen genotoksisite testidir. Mikronükleus testinin kullanımı, ilk kez 1950 yıllarında bitki hücrelerinde görülen kromozom anomalilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır [152]. Mikronükleus yöntemi, 1976 yılında Countryman ve Heddle tarafından X ışınlarına bağlı genotoksisiteyi araştırmak amacıyla geliştirilmiştir. Periferik kan lenfositlerinde görülen mikronükleus artışının kromozom anomalilerinin bir göstergesi olduğunu ilk kez ileri süren, Countryman ve Heddle olmuştur [26].

Mikronükleus yöntemi, kısa süreli ve ekonomik olmasından dolayı genetik toksikoloji ve sitogenetik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde mikronükleus yöntemi; kromozom kaybı, kromozom kırığı, hücre bölünmesinin inhibe edilmesi, nükleoplasmik köprüler, gen amplikasyonu, nekrosis ve apoptosisin morfolojik ölçütler dahilinde değerlendirilmesinde kullanılmaktadır [153].



Şekil 1.18: Mikronükleus Oluşum Aşamaları [154].

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali (Deney Hayvanları)

*Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 17.03.2017/036 sayılı izni ile çalışma onayı alındı.

Çalışmada, 20-30 g arasında değişen ağırlığa sahip, 8 haftalık *Mus musculus var. albinos* erkek fareler kullanıldı. Çalışmada mikronükleus sıklığı, kromozomal aberasyon ve mitotik aktivite analizinin tespiti için toplam 40 adet fare kullanıldı. Fareler 121 °C' de otoklave edilebilen, polikarbon malzemededen yapılmış kafeslerde barındırıldı. Hayvanlar kafeslere 10'lu gruplar halinde yerleştirildi. Fareler normal fare yemi ile beslenip, su olarak çeşme suyu kullanıldı. Yem ve sularının ad libitum olması sağlandı. Fareler, 20 ± 2° C sıcaklık, % 50 bağıl neme sahip, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodu özellikli laboratuvar şartlarında barındırıldı. Uygulanacak maddelerin dozu hayvanların günlük ağırlıklarına göre tespit edilip, distile suda çözüldükten sonra oral gavaj yol ile farelere verildi.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Asetamiprid

Bu çalışmada Achieve ticari isimli % 20'lik asetamiprid (Sefa tarım ruhsat No: 5869) kullanıldı.

Kolşisin (Colchicine)

Kapalı formülü: C₂₂H₂₅NO₆ ve Molekül ağırlığı: 399.4 olan kolşisin (Sigma cat No: C9754), bu çalışmada mitotik zehir olarak kullanıldı. Steril saf su içerisinde hazırlanan Colchicine çözeltisinden 4 mg/kg dozda alınarak servikal dislokasyondan 2 saat önce farelere intraperitoneal yol ile enjekte edildi.

Eter (Dietil Eter, Etoksietan)

Dietil eter (Merck cat No: 100926); kaynama noktaları düşük, renksiz, uçucu, suda çözünlükleri az, çabuk alevlenme özelliğine sahip bir sıvıdır. Eter, kendine özgü kokusu olan organik bir çözücüdür. Kimyasal formülü: $C_4H_{10}O$ ($C_2H_5OC_2H_5$), molekül ağırlığı: 74.12 g/mol'dür. Eter, bu çalışmada servikal dislokasyon öncesinde farelere anestezi etkisi oluşturmak amacıyla kullanıldı.

Glasiyal Asetik Asit

Glasiyal asetik asit (Merck cat No: 100056), kromozom çalışmalarında kullanılmaktadır. Bu çalışmada fiksatif solüsyonunda kullanılmıştır. Kimyasal formülü: $C_2H_4O_2$, CH_3COOH ve molekül ağırlığı: 60.05 g/mol'dür.

Hipotonik Eriyik

Hipotonik eriyik olarak % 0.4'lük KCl (Merck cat No: 1049360250) kullanıldı. Her preparasyon işleminden 2 saat önce kullanılacak miktarda alınan eriyik, 37 °C'deki inkübatörde ısıtılma işlemi gerçekleştirildikten sonra kullanıldı.

Fiksatif

Fiksatif, 1 kısım glasiyal asetik asit ile 3 kısım metanol karışımından oluşmaktadır. Fiksatifin hazırlanması işlemi kullanımından yaklaşık 15 dakika önce yapıldı. Hazırlanan fiksatif, KA testinde kullanılmak üzere +4 °C'deki buzdolabında ağzı kapalı cam kaptaki saklandı.

Sorensen Tampon (Sorensen Buffer) Çözeltisi

Tampon A ve tampon B şeklinde hazırlanan çözelti çalışma prosedürünün gerektirdiği miktarlarda karıştırılarak kullanıldı. Hazırlanan çözeltinin muhafazası kapalı kaplarda oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

Tampon A: 250 ml su içerisinde 11.34 g KH_2PO_4 çözdürüldü (ph=4.8).

Tampon B: 250 ml saf su içerisinde 14.83 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ çözdürüldü (ph=9.3).

Giemsa

Giemsa boyasının temini Merck firmasından (Cat. No: 9204) yapıldı. Çalışmada preparatların boyanması için Sorensen tamponu içinde hazırlanan % 10'lik ve % 20'lik giemsa solüsyonu kullanıldı. 80 ml distile su, 5ml tampon A, 5 ml tampon B, 10 ml giemsa ile % 10'luk giemsa boyası hazırlanmıştır. 70 ml distile su, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B, 20 ml giemsa ile % 20'lik giemsa boyası hazırlandı.

May Grünwald

Mikronükleus testi için belirlenen preparatların boyanmasında kullanıldı (Mediko Kimya, cat No: 25010231000). Çalışmada kullanılan may grünwald boyası % 0.25 ve % 0.125'lik olarak hazırlandı.

Entellan

Lam ve lamelin birbirlerine yapıştırılmasında kullanılan kapatma solüsyonudur (Merck, cat. No. 7961). Çalışmada preparatları kapatma işlemi için kullanıldı.

Metanol (Methanoll, Metil Alkol, Karbinol)

Çalışmada kullanılan fiksatif solüsyonunu hazırlamak için kullanıldı (Merck cat No: 106009). Fiksatifin hazırlanış oranı; 1 kısım glasiyal asetik asit için 3 kısım metanoldur.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları

Hassas Terazi

Çalışmada kullanılan kimyasal maddelerin tartım işlemi 0,0001 g hassasiyetinde olan Precisa XB 220 A marka hassas terazi kullanılarak yapıldı.

Santrifüj

Santrifüj işlemlerinde 8 tüp kapasiteli, zaman ayarlayıcısı 15 dakikaya kadar ayarlanabilen, devir hızı maksimum 5000 rpm olan Elektro- mag marka santrifüj kullanıldı.

Mikroskop

Preparatların incelenmesinde immersiyon objektifi ve koordinat cetveli olan, kamera ve fotoğraf makinesi monte edilebilir özellikte olan Olympus CX21 marka binoküler ışık mikroskobu kullanıldı.

Etüv

Hazırlanan eriyiklerin 37 °C'de ısıtılması işleminde sıcaklığı 0 °C-100 °C ayarlanabilir ELEKTRO–MAG marka etüv kullanıldı.

2.2. Metot

Grup 1. (Negatif Kontrol grubu, n:10): Negatif kontrol grubu olarak belirlenen bu gruptaki farelere distile su oral gavaj yol ile verildi.

Grup 2. (5 mg/kg Asetamiprid grubu, n:10): Bu gruptaki farelere 5 mg/kg asetamiprid 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi.

Grup 3. (10 mg/kg Asetamiprid grubu, n:10): Bu gruptaki farelere 10 mg/kg asetamiprid 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi.

Grup 4. (15 mg/kg Asetamiprid grubu, n:10): Bu gruptaki farelere 15 mg/kg asetamiprid 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi.

2.2.1. Kromozomal İnceleme ve Mitotik İndeksin Tespiti

Kromozomal incelemeler, mitotik aktivite ve mikronükleus testi için her bir ayrı doz ve kontrol gruplarında 10 adet fare olacak şekilde toplam 40 fare kullanıldı (Ağırlıkları 20-30 g, 8 haftalık, erkek *Mus musculus* var. *albino* fareler). Hayvanlara intraperitoneal enjeksiyon yapılmadan önce vücut ağırlıklarına göre 5, 10 ve 15 mg/kg asetamiprid tartılıp, distile suda çözüldükten sonra oral gavaj yolla farelere uygulandı. Bütün gruplardaki farelere 15. günün başlangıcında, ötanazi işleminden 2 saat önce distile suda çözülerek hazırlanan 4 mg/kg dozunda kolşisinin intraperitoneal yolla enjeksiyonu yapıldı. Hayvanlara anestezi işlemi eter kullanılarak yapıldı. Anestezi altındayken servikal dislokasyon yöntemi ile öldürülen farelerin femur kemikleri çıkartıldı. Çıkarılan kemikleri görünür hale getirmek için kaslar temizlenerek kemiklerden ayrılması sağlandı. Femurdan çıkarılan kemik iliği, içerisinde 3 ml dana serumu bulunan santrifüj tüpüne enjektör yardımıyla aktarıldı. Femur kemiklerinden birine ait tüpler, 1100 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatantları atıldı. 0.075 M 5 ml KCI solüsyonu 37°C etüvde 30 dakika ısıtıldı. Hücreler, ısıtılan hipotonik çözeltide 20-30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra hücreler, 1100 rpm'de 10 dakika tekrar santrifüjlenip, süpernatantları atıldı. Hücreler, hazırlanmış 5 ml soğuk Carnoy's (metanol: glasiyel asetik asit 3:1) içerisinde fikse edildikten sonra santrifüjlenerek tekrar süpernatant kısmı atıldı. Fiksasyon işlemi 3 kez tekrarlanarak her santrifüjden sonra tüpde 0.5 ml sıvı kalacak

şekilde fazlası atıldı. Pastör pipeti yardımıyla dipte kalan hücreler süspanse edilerek, nemli temiz lamlara 3-4 cm yukarıdan olacak şekilde damlatılıp yayıldı. Kromozomal aberasyon ve mitotik aktivite tespiti için metafaz preparatlarının hazırlanması işlemi, Preston'a (1987) göre laboratuvar ve çalışma şartlarımız dikkate alınarak yapılmıştır [155].

Boyama İşlemi

Yayılp oda sıcaklığında kurutulan preparatların önceden hazırlanan % 10'luk giemsa solüyonu ile 10 dakika boyunca boyanması sağlandı. Mitotik aktivite için Olympus CX21 marka ışık mikroskobunda 1000'lik büyütme ile her bir örnekten rastgele 1000 hücre sayıldı. Sayım işlemi ile metafaz safhasında olan hücrelerin adetleri tespit edilerek, yüzdelik oranları belirlendi. Kromozomal aberasyonu tespiti için 100 metafaz incelendi. Mitotik aktivitenin belirlenmesi için ise 1000 adet metafaz safhasında olan hücre sayımı yapıldı.

2.2.2. Mikronükleus Testi

Mikronükleus tespiti için çalışmamızda, farelerin femur kemiklerinden çıkarılan kemik iliği kullanıldı. Kaslarından ayrılarak temizlenen femur kemikleri iki ucundan kesilip içerisindeki kemik iliği enjektör yardımı ile alındı. Çıkarılan kemik iliği, 3 ml dana serumu içeren santrifüj tüpüne konuldu. Kemik iliği örneğini içeren tüplerin 2000 devirli santrifüjde 5 dakika santrifüjleme işlemi yapılarak süpernatant kısmı atıldı. Daha sonra tüpe bir damla dana serumu eklenerek tüpte kalan hücreler süspanse edildi. Tüp içerisindeki numuneden bir damla alınarak temiz lamlara yayması yapıldı. Yayılan lamlar havada kurutularak 10 dakika boyunca metil alkolde fikse edildi. Çalışmamızda incelediğimiz kemik iliği preparatları, ilk kez 1975'de Schmid tarafından geliştirilip, çalışma şartlarımızın kaynağı haline gelmiştir [112].

Boyama İşlemi

Fikse işlemi tamamlanan preparatlar ilk önce % 0.25'lik May Grunwald boyası ile 5 dakika boyanıp distile sudan geçirildi. Daha sonra 5 dakika boyunca % 0.125'lik May Grunwald boyasında tutularak distile suda yıkandı. Son olarak % 20'lik Giemsa boyası ile 30 dakika boyanan preparatlar yıkanarak oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Hazırlanan preparatların incelenmesi Olympus CX21 marka ışık mikroskobu kullanılarak yapıldı. Mikroskobun 1000 büyütmesinde her bir deney hayvanından rastgele 2000 adet polikromatik eritrosit (PCE) sayılarak içerisinde mikronükleuslu polikromatik eritrosit (MNPCE) bulunan hücrelerin sayısı belirlenip MNPCE oranları tespit edildi. Ayrıca 1000 adet normokromatik eritrosit (NCE), PCE sayılarak PCE/NCE yüzdeleri oranları çıkartıldı.

İstatistik Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmamızdaki verilerin istatistiksel analizleri için SPSS 22 paket programı kullanıldı. Negatif kontrol ve test grupları arasındaki farklılığın belirlenmesi için tek yönlü varyans analizi (One- Way ANOVA) yapıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları

Neonikotinoid grubu insektisitlere dahil olan asetamipridinin *Mus musculus* var. *albino* erkek fare kemik iliği hücrelerinde mitotik aktivite ve kromozomal aberasyon üzerine bir etki oluşturup oluşturmadığını tespit etmek için her grupta 10 adet fare olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Gruplar; negatif kontrol grubu, 5 mg/kg asetamiprid, 10 mg/kg asetamiprid ve 15 mg/kg dozunda asetamiprid olmak üzere 4 grup olarak belirlendi.

14 gün boyunca negatif kontrol olarak belirlenen gruba distile su; 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 15 mg/kg olarak belirlenen gruplara ise asetamiprid oral gavaj yol ile verildi.

Her bir doz grubundan beş tane preparat hazırlandı. Elde edilen preparatlarda metafaz safhasında olan hücrelerden toplam 100 adet sayılarak yapısal kromozom aberasyon oranları belirlendi, Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.1: Negatif Kontrol ve Test Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları

Negatif Kontrol ve Test Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Kromozomal Aberasyon Oranları					
GRUPLAR	KK	Kk	KKB	F	TOPLAM
Negatif kontrol grubu	-	1	3	2	6
5 mg/kg Asetamiprid	-	2	3	2	7
10 mg/kg Asetamiprid	-	1	3	3	7
15 mg/kg Asetamiprid	3	12	18	24	57

***KK:** Kromozom kırığı, **Kk:** Kromatid kırığı, **KKB:** Kardeş kromatid birleşimi, **F:** Fragment

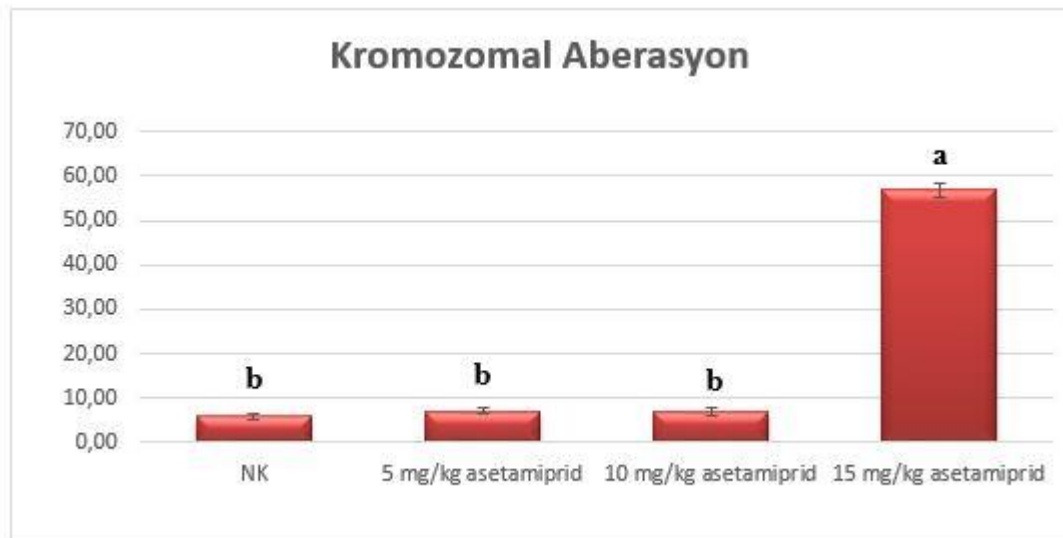
İncelemeler sonunda negatif kontrol ve test grupları arasında yapılan istatistiki sonuca göre; kontrol grubu ve farklı dozlarda asetamiprid uygulanan gruplardaki hayvanlara ait parametreler incelendiğinde 15 mg/kg asetamiprid uygulanan gruptaki hayvanlara ait

kromozomal aberasyon oranının en yüksek olduğu ($p<0.001$), negatif kontrol grubu ve 5-10 mg/kg dozundaki asetamiprid grubunda ise kromozomal aberasyon oranları istatistiki açıdan önemli bulunmamıştır (Tablo 3.2, Şekil 3.1).

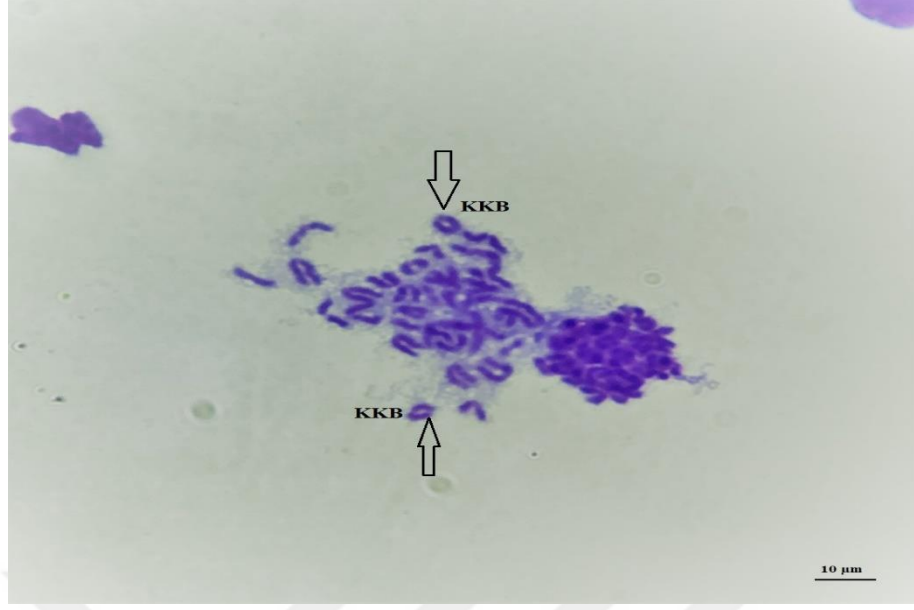
Tablo 3.2: Negatif Kontrol ve Test Gruplarına Ait Kromozomal Aberasyon İstatistik Sonuçları

* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.

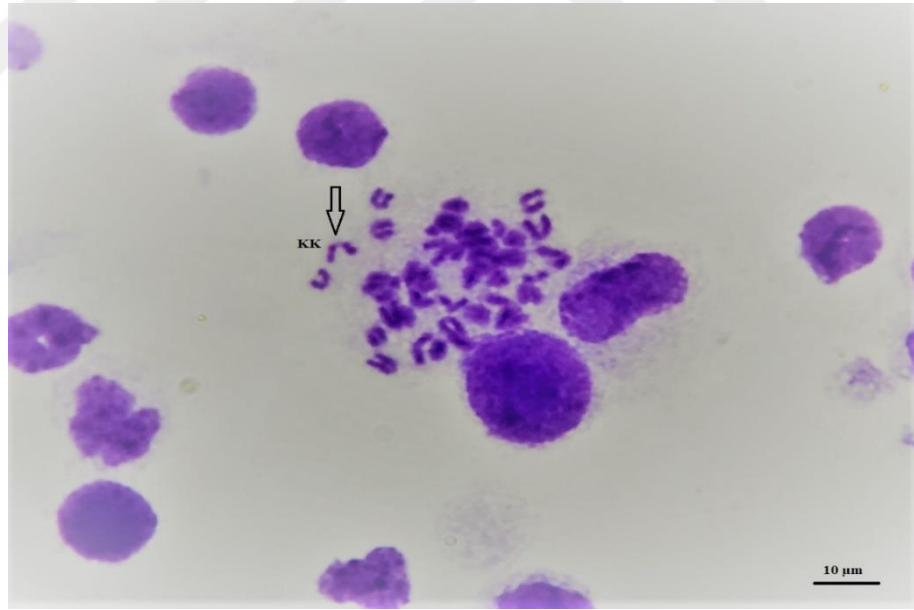
	NK	5 mg/kg asetamiprid	10 mg/kg asetamiprid	15 mg/kg asetamiprid	P Değeri
Kromozomal Aberasyon	6,00±0,67 ^b	7,00±0,67 ^b	7,00±1,05 ^b	57,00±1,56 ^a	0,001



Şekil 3.1: Negatif Kontrol Grubu ve Test Gruplarına ait Kromozomal Aberasyon Oranları



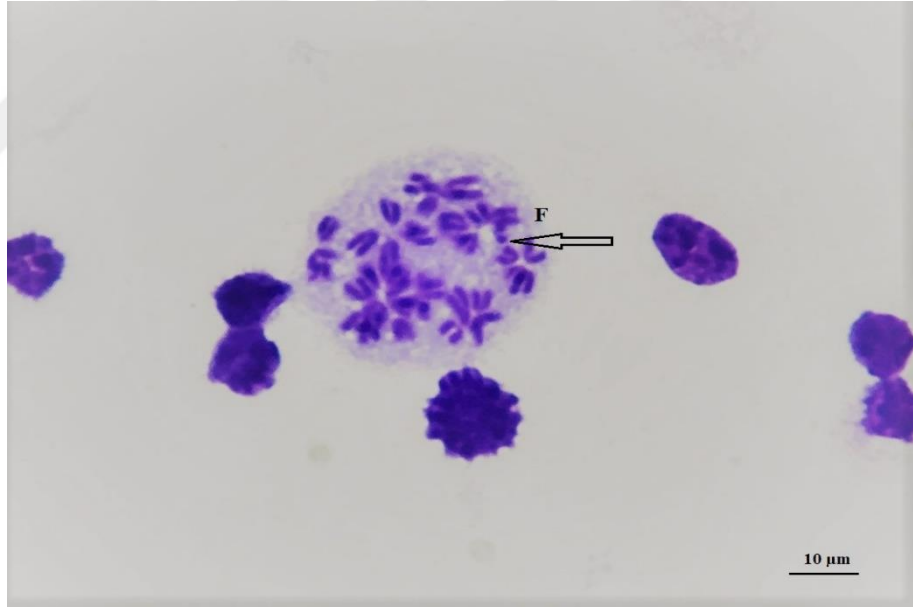
Resim 3.1: Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kardeş Kromatid Birleşimi Görüntüsü (KKB) (x1000).



Resim 3.2: Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromozom Kırığı Görüntüsü (KK) (x1000).



Resim 3.3: Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Kromatid Kırığı Görüntüsü (Kk) (x1000).



Resim 3.4: Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliği Hücrelerinde Fragment Görüntüsü (F) (x1000).

3.2. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Her gruptaki hayvanlardan beş adet preparat hazırlandı. Hazırlanan kemik iliği preparatlarından her hayvanda rastgele 1000 hücre sayılarak, metafaz evresindeki hücreler sayıldı ve mitotik aktivite oranları tespit edildi.

Tablo 3.3: Negatif Kontrol ve Test Grupları Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

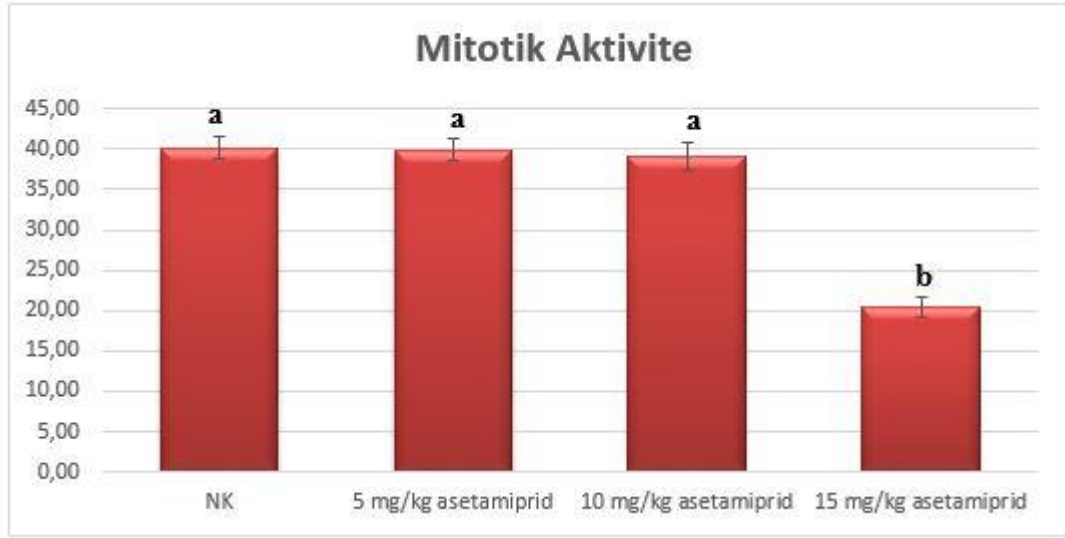
Gruplar	Denek Sayısı	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Grup Ortalaması	Metafaz hücre oranı Ortalaması(%)
Negatif Kontrol	10	10000	9598	402	40,2	4,02
5 mg/kg Asetamiprid	10	10000	9601	399	39,9	3,99
10 mg/kg Asetamiprid	10	10000	9609	391	39,1	3,91
15 mg/kg Asetamiprid	10	10000	9796	204	20,4	2,04

Negatif kontrol ve test grupları mitotik aktivite bakımından incelendiğinde, yüksek doz yani 15 mg/kg asetamiprid uygulanan grupta mitotik aktivitenin düştüğü gözlemlendi ve istatistiki açıdan önemli bulundu ($p < 0.001$). Negatif kontrol, 5 mg/kg asetamiprid ve 10 mg/kg dozlarındaki asetamiprid grubunda ise önemli bir farkın olmadığı belirlenmiştir.

Tablo 3.4: Negatif Kontrol ve Test Gruplarına ait Mitotik Aktivite İstatistik Sonuçları

* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.

	NK	5 mg/kg asetamiprid	10 mg/kg asetamiprid	15 mg/kg asetamiprid	P Değeri
Mitotik Aktivite	40.20±1.32 ^a	39.90±1.37 ^a	39.10±1.73 ^a	20.40±1.17 ^b	0.001



Şekil 3.2: Negatif Kontrol ve Test Gruplarına ait Mitotik Aktivite Oranları

3.2.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

Negatif kontrol grubunda bulunan farelere 14 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlenmiştir. Negatif kontrol grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları Tablo 3.5’de gösterilmiştir.

Tablo 3.5: Negatif Kontrol Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları

Negatif Kontrol				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	960	40	4
2	1000	961	39	3,9
3	1000	958	42	4,2
4	1000	960	40	4
5	1000	959	41	4,1
6	1000	962	38	3,8
7	1000	958	42	4,2
8	1000	959	41	4,1
9	1000	960	40	4
10	1000	961	39	3,9
Grup Ortalaması			40,2	4,02

3.2.2. 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

5 mg/kg asetamiprid grubundaki farelere 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlenmiştir. 5 mg/kg asetamiprid grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları, Tablo 3.6'de gösterilmiştir.

Tablo 3.6: 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları

5 mg/kg Asetamiprid				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	961	39	3,9
2	1000	962	38	3,8
3	1000	959	41	4,1
4	1000	958	42	4,2
5	1000	959	41	4,1
6	1000	960	40	4
7	1000	962	38	3,8
8	1000	961	39	3,9
9	1000	960	40	4
10	1000	959	41	4,1
Grup Ortalaması			39,9	3,99

3.2.3. 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

10 mg/kg asetamiprid grubundaki farelere 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlenmiştir. 10 mg/kg asetamiprid grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları, Tablo 3.7'de gösterilmiştir.

Tablo 3.7: 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları

10 mg/kg Asetamiprid				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	958	42	4,2
2	1000	959	41	4,1
3	1000	962	38	3,8
4	1000	964	36	3,6
5	1000	960	40	4
6	1000	961	39	3,9
7	1000	962	38	3,8
8	1000	960	40	4
9	1000	961	39	3,9
10	1000	962	38	3,8
Grup Ortalaması			39,1	3,91

3.2.4. 15 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mitotik Aktivite Oranları

15 mg/kg asetamiprid grubundaki farelere 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan mitotik aktivite, grup ortalamaları ve yüzde ortalamaları belirlenmiştir. 15 mg/kg asetamiprid grubu için elde edilen mitotik aktivite oranları, Tablo 3.8’de gösterilmiştir.

Tablo 3.8: 15mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mitotik Aktivite Oranları

15 mg/kg Asetamiprid				
Örnek No	Toplam hücre sayısı	İnterfaz hücre sayısı	Metafaz hücre sayısı	Metafaz hücre oranı (%)
1	1000	979	21	2,1
2	1000	981	19	1,9
3	1000	980	20	2
4	1000	978	22	2,2
5	1000	981	19	1,9
6	1000	981	19	1,9
7	1000	979	21	2,1
8	1000	978	22	2,2
9	1000	980	20	2
10	1000	979	21	2,1
Grup Ortalaması			20,4	2,04

3.3. Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Frekansı Üzerindeki Etkileri

Asetamipridin *Mus musculus* var. *albino* cinsi erkek fare kemik iliği hücrelerinde sitotoksisite üzerine bir etki oluşturup oluşturmadığını tespit etmek için her grupta 10 fare olacak şekilde 4 grup oluşturuldu. Gruplar; negatif kontrol grubu, 5 mg/kg asetamiprid, 10 mg/kg asetamiprid ve 15 mg/kg dozunda asetamiprid olmak üzere 4 grup olarak belirlendi.

14 gün boyunca negatif kontrol olarak belirlenen gruba, distile su; 5 mg/kg, 10 mg/kg ve 15 mg/kg olarak belirlenen gruplara ise asetamiprid oral gavaj yol ile verildi.

Mikronükleus testi için hazırlanan kemik iliği preparatlarından her hayvan için beş adet preparat hazırlandı. Toplam olarak bir hayvandan 2000 adet PCE hücre sayımı yapılarak mikronükleus frekansları belirlendi.

Tablo 3.9: Negatif Kontrol ve Test Gruplarının Mikronükleus Test Sonuçları

Gruplar	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE (%)	Grup Ort.	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
Negatif kontrol	20.000	395	1,975	39,5	10.000	6.883	3.117	2,20
5 mg/kg Asetamiprid	20.000	394	1,970	39,4	10.000	6.865	3.135	2,18
10 mg/kg Asetamiprid	20.000	400	2	40	10.000	6.852	3.148	2,17
15 mg/kg Asetamiprid	20.000	680	3,4	68	10.000	6.615	3.385	1,95

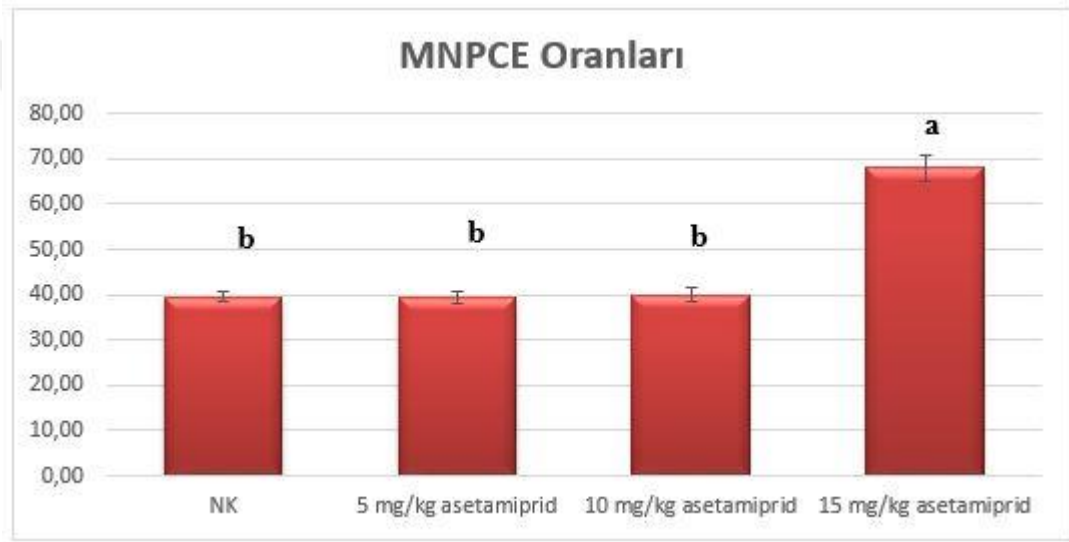
***MNPCE:** Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit **PCE:** Polikromatik Eritrosit, **NCE:** Normokromatik Eritrosit,.

Yüksek doz yani 15 mg/kg asetamiprid uygulamasının PCE/NCE oranını düşürdüğü (Tablo 3.10, Şekil 3.3), MNPCE oranları incelendiğinde de aynı şekilde negatif kontrol ve 5-10 mg/kg asetamiprid uygulanan gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlemlenmezken sadece yüksek doz (15 mg/kg) asetamiprid uygulanan gruptaki hayvanlara ait MNPCE oranlarının artış gösterdiği belirlendi ($p<0.001$) (Tablo 3.10, Şekil 3.4).

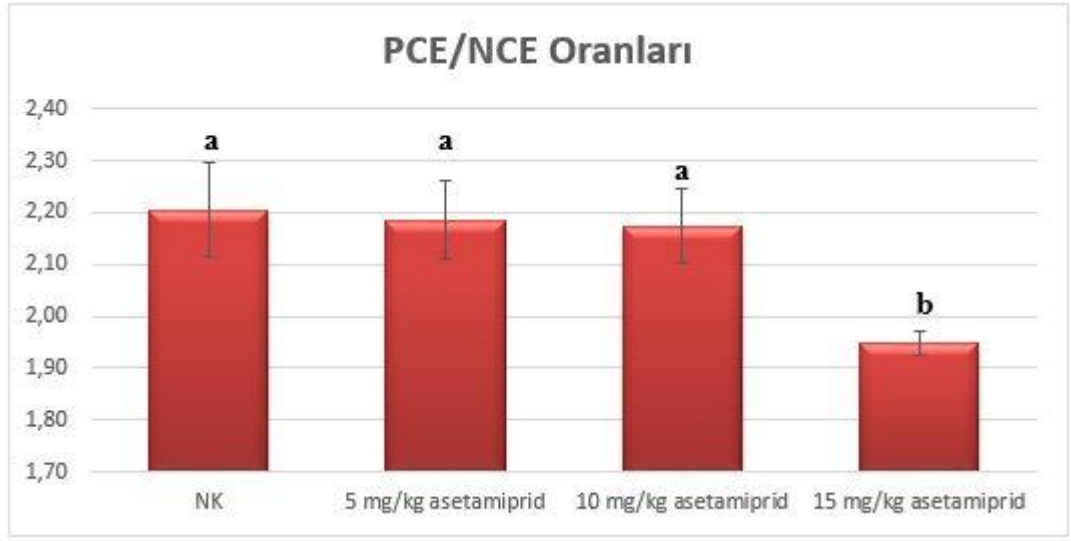
Tablo 3.10: Negatif Kontrol ve Test Gruplarına ait Mikronükleus ve PCE/NCE Oranlarının İstatistikî Sonuçları

* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.

	NK	5 mg/kg asetamiprid	10 mg/kg asetamiprid	15 mg/kg asetamiprid	P Değeri
MNPCE Oranları	39.50±1.08 ^b	39.40±1.51 ^b	40.00±1.70 ^b	68.00±3.02 ^a	0.001
PCE/NCE Oranları	2.21±0.09 ^a	2.19±0.08 ^a	2.17±0.07 ^a	1.95±0.02 ^b	0.001



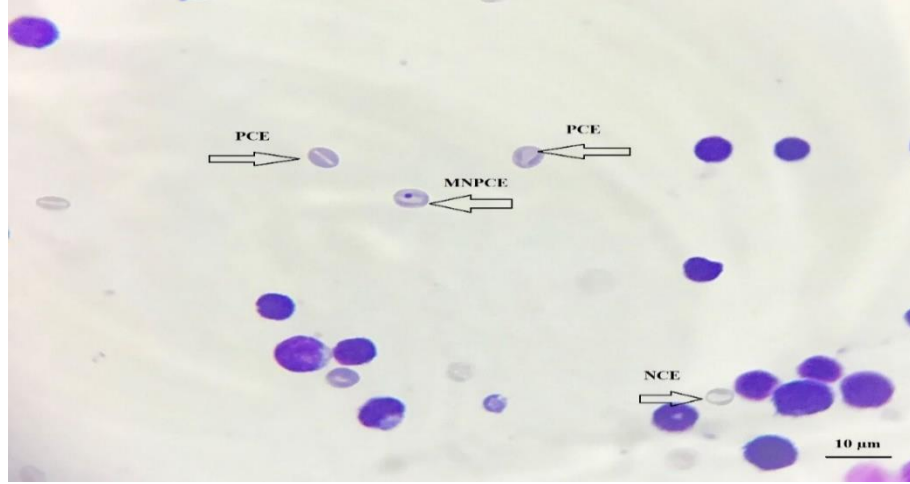
Şekil 3.3: Negatif Kontrol Grubu ve Test Gruplarına ait MNPCE Oranları



Şekil 3.4: Negatif Kontrol Grubu ve Test Gruplarına ait PCE/NCE Oranları



Resim 3.5: Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliğinde 2 Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit (MNPCE) Görüntüsü (x1000).



Resim 3.6: Uygulama Grubu Farelerin Kemik İliğinde Tek Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit (MNPCE) Görüntüsü (x1000)

3.3.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

Negatif kontrol grubu olarak belirlenen farelere, 14 gün boyunca distile su oral gavaj yoluyla verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. Kontrol grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.11’de gösterilmiştir.

Tablo 3.11: Negatif Kontrol Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

Negatif Kontrol Grubu							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	39	1,95	1000	683	317	2,15
2	2000	38	1,9	1000	702	298	2,35
3	2000	40	2	1000	681	319	2,13
4	2000	39	1,95	1000	694	306	2,26
5	2000	41	2,05	1000	700	300	2,33
6	2000	38	1,9	1000	683	317	2,15
7	2000	40	2	1000	681	319	2,13
8	2000	40	2	1000	681	319	2,13
9	2000	39	1,95	1000	682	318	2,14
10	2000	41	2,05	1000	696	304	2,28
Grup Ortalaması		39,5	1,975	Grup Ortalaması		2,20	

3.3.2. 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

5 mg/kg Asetamiprid grubunda bulunan farelere 14 gün boyunca asetamiprid oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 5 mg/kg asetamiprid grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.12’de gösterilmiştir.

Tablo 3.12: 5 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

5 mg/kg Asetamiprid							
Örne k No	Topla m PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	39	1,95	1000	683	317	2,15
2	2000	40	2	1000	685	315	2,17
3	2000	42	2,1	1000	693	307	2,25
4	2000	41	2,05	1000	695	305	2,27
5	2000	40	2	1000	681	319	2,13
6	2000	38	1,9	1000	680	320	2,12
7	2000	39	1,95	1000	702	298	2,35
8	2000	40	2	1000	683	317	2,15
9	2000	38	1,9	1000	681	319	2,13
10	2000	37	1,85	1000	682	318	2,14
Grup Ortalaması		39,4	1,97	Grup Ortalaması			2,18

3.3.3. 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

10 mg/kg Asetamiprid grubunda bulunan farelere 14 gün boyunca asetamiprid oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 10 mg/kg asetamiprid grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.13’de gösterilmiştir.

Tablo 3.13: 10 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

10 mg/kg Asetamiprid							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	41	2,05	1000	682	318	2,14
2	2000	40	2	1000	681	319	2,13
3	2000	39	1,95	1000	690	310	2,22
4	2000	42	2,1	1000	703	297	2,36
5	2000	38	1,9	1000	683	317	2,15
6	2000	39	1,95	1000	684	316	2,16
7	2000	41	2,05	1000	683	317	2,15
8	2000	41	2,05	1000	681	319	2,13
9	2000	42	2,1	1000	685	315	2,17
10	2000	37	1,85	1000	680	320	2,12
Grup Ortalaması		40	2	Grup Ortalaması			2,17

3.3.4. 15 mg/kg Asetamiprid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

15 mg/kg Asetamiprid grubunda bulunan farelere 14 gün boyunca asetamiprid oral gavaj yol ile verildi. Her hayvandan beş adet hazırlanan kemik iliği preparatlarındaki sayımlardan PCE, MNPCE ve PCE/NCE oranları belirlendi. 15 mg/kg asetamiprid grubu için elde edilen mikronükleus oranları, Tablo 3.14’de gösterilmiştir.

Tablo 3.14: 15 mg/kg Asetamiprid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

15 mg/kg Asetamiprid							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	63	3,15	1000	660	340	1,94
2	2000	72	3,6	1000	655	345	1,89
3	2000	69	3,45	1000	665	335	1,98
4	2000	71	3,55	1000	663	337	1,96
5	2000	64	3,2	1000	662	338	1,95
6	2000	65	3,25	1000	661	339	1,94
7	2000	70	3,5	1000	660	340	1,94
8	2000	68	3,4	1000	664	336	1,97
9	2000	69	3,45	1000	663	337	1,96
10	2000	69	3,45	1000	662	338	1,95
Grup Ortalaması		68	3,4	Grup Ortalaması			1,94

4. TARTIŞMA ve SONUÇ

Nikotin etki mekanizması model alınarak geliştirilen neonikotinoidler, dünya çapında yaygın olarak kullanılan yeni nesil insektisit grubunu oluşturmaktadır [156, 157]. Zararlıların organofosfat, karbamat ve piretroid insektisitlere karşı direnç geliştirmesi ve çevre sağlığını olumsuz etkileyen pestisitlerin kullanımının kısıtlanması düşük konstrasyonlarda yüksek aktivite gösterebilecek yeni insektisit ihtiyacının doğmasına neden olmuştur. Bu amaçla üretilen neonikotinoidler, son zamanlarda hayvan sağlığı ve ürün korunmasında kullanılan en başarılı, en etkili ve en çok satan insektisit haline gelmiştir. Dünyada yıllık satış oranı 1.56 milyar dolar olan neonikotinoidlerin, insektisit piyasasındaki pazar payı % 17'dir [158-161].

Neonikotinoidler sistemik, geniş spektrumlu, uçucu ve polar maddelerdir. Yüksek çözünürlükleri ve polariteleri nedeniyle hareketlidirler. Suda çözünen neonikotinoidler, bitki kökleri tarafından kolaylıkla absorbe edilmektedir. Çok düşük konsantrasyonlarda etki gösterdikleri için zararlılarla mücadelede düşük dozlarda kullanılmaktadır. Neonikotinoidler, hem memelilerde hem böceklerde post- sinaptik membranda bulunan nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR)'nin $\alpha 4/\beta 2$ bölümüne bağlanarak agonist etki gösterirler [93, 162]. Bu bağlanma kolinerjik sinapslarda yanlış sinyaller oluşturarak sinir sisteminin bloke olmasına neden olur [6, 163]. Memelilerde bulunan nikotinik asetilkolin reseptörleri böceklerinkinden yapısal olarak farklılık göstermektedir. Bu nedenle böceklerde yüksek toksisiteye sahip olan neonikotinoidlerin, memelilerde ve sucül hayvanlarda toksisitesinin düşük olduğu bildirilmiştir [93]. Neonikotinoidler, EPA tarafından yapılan sınıflandırmada 2. ve 3. sınıf toksinler grubunda yer almaktadır [14-16].

Asetamiprid, neonikotinoid grubu insektisitlerin imidaklopid'den sonra üretilen ikinci grubunu oluşturmaktadır. Asetamiprid; yapraklı meyveler ve sebzeler, turunçgiller, üzüm, pamuk ve narenciye gibi bitkilere zarar veren emici türden (yaprak bitleri, beyaz sinek vb) böcekleri kontrol altında tutmak için kullanılmaktadır [13]. Asetamiprid, asetilkolin gibi davranarak nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanır ve sinir sistemini inhibe ederek böceğin ölümüne sebep olmaktadır [164].

Asetamiprid kullanımı ile böceklerin kontrolü sağlanarak gıdasal verimlilik artmaktadır. Ancak asetamipridin moleküler mekanizmasının henüz bilinmiyor olması ve konuyla ilgili çalışmaların oldukça sınırlı olması, yaygın kullanım alanına sahip olan bu insektisite karşı endişeleri de beraberinde getirmektedir. Bu tür bileşiklerin DNA hasarına yol açması reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşması ile meydana gelmektedir [165]. İnsektisitlere maruz kalan omurgalı hayvanlarda reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türlerinde (RNS) bir artış söz konusudur [166]. Oluşan ROS ve RNR'ler, vücutta DNA, protein ve hücre membranı gibi biyolojik sistemlerle reaksiyona girerek hasar meydana getirmektedir [167]. Normalde vücutta bulunan antioksidan enzimler bu radikallerin zararlı etkilerini detoksifiye ederek ortadan kaldırmaktadır. Süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzimleri, reaktif oksijen türlerini yok ederek hücreyi insektisit etkisine karşı korumaktadır [168]. Yao ve arkadaşları (2006), yaptıkları çalışmada asetamipridin üç bakteri türünde (*Esherichia coli* K12, *Pseudomonas sp.* FH2 ve *Bacillus subtilis* B19) süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) enzim düzeylerini kısa süre için artırdığını bildirmişlerdir [169]. SOD ve CAT enzim aktivitelerinin varlığı süperoksit radikallerinin varlığını göstermektedir. Fizyolojik koşullarda süperoksit anyonları (O_2^-) SOD tarafından hidrojen perokside (H_2O_2) indirgenir. CAT enzimleri de oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2), H_2O ve O_2 'ye dönüştürerek hidroksil radikallerinin oluşumunu önler [170]. Fakat ROS ve RNR üretiminin çok fazla olduğu durumlarda, antioksidan sistem ve serbest radikaller arasında dengesizlik meydana gelmektedir ve bu olay oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır [171]. Bu durum süperoksit ve hidrojen peroksit anyonlarını arttırarak DNA iplikçik kırılmasına neden olabilen hidroksil serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Süperoksit anyonların RNR'leri etkisizleştirerek sitotoksositeye neden olduğu savunulmaktadır [170]. Asetamiprid kaynaklı sitotoksitede meydana gelen süperoksit anyonların neden olabileceği bildirilmiştir [172].

Genotoksik ajanlar, interkalatif ve interkalatif olmayan bir şekilde DNA ile etkileşime girerek DNA'da konformasyonel değişiklikleri indükler. Asetamipridin interkalatif olmayan bir şekilde çift veya tek iplikli DNA ile etkileşime girebileceği bildirilmiştir [173].

Çamlıca ve arkadaşları, asetamiprid ve d-tübokürarin'in kurbağa sinir dokusu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, asetamipridin siyatik sinir dokusunda, katalaz (CAT) ve asetilkolinesteraz (AChE) enzimlerini anlamlı bir şekilde düşürüp malondialdehit (MDA)'yı ise artırdığını gözlemlemişlerdir. Sonuçta yüksek konsantrasyonda asetamipridin oksidatif strese bağlı olarak hasarlar oluşturduğunu bildirmişlerdir [174].

EPA, asetamipridin ames testinde, Çin hamster yumurtalık hücrelerinde yapılan *in vivo* çalışmada mutajenik olmadığını ve sıçan karaciğer primer hücrelerinde ve memeli karaciğer hücrelerinde *in vivo* olarak DNA sentezini indüklemediğini bildirmiştir. CHO hücreleri kullanılarak yapılan bir *in vitro* kromozomal aberasyon çalışmasında asetamipridin, sitotoksik doz seviyesinde metabolik aktivasyon altında test edildiğinde pozitif bulunmuştur. Metabolik olmaksızın etki saptanmamıştır. Fare kemik iliğinde yapılan *in vivo* kromozomal aberasyon çalışmasında asetamipridin klastojenik olmadığı ve *in vivo* fare kemik iliği mikronükleus analizinde negatif olduğu bildirilmiştir. Fakat yapılan bir takım *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar, asetamipridin kromozomal aberasyon ve mikronükleus oluşumunu artırarak DNA hasarına yol açtığını açıkça göstermektedir [175].

Bagri ve Jain, yaptıkları bir çalışmada Swiss albino erkek fare kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon ve mikronükleus test yöntemini kullanarak asetamipridin genotoksisitesini araştırmışlardır. Asetamiprid, 60 ve 90 gün boyunca 4,6 ve 2.3 mg/kg dozda intraperitoneal olarak farelere uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak siklofosamid, 50 mg/kg dozda uygulanmıştır. Sonuç olarak asetamipridin 4,6 mg/kg dozu 60 ve 90 gün boyunca uyguna sonucunda hem genotoksik hem de sitotoksik olduğunu rapor etmişlerdir [176].

Çavaş ve arkadaşları, CaCo-2 hücrelerinde mikronükleus, comet ve γ H2AX test yöntemlerini kullanarak asetamipridin genotoksisitesini değerlendirmişlerdir. Sonuçta asetamipridin ince bağırsak hücreleri üzerinde sitotoksik ve genotoksik potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir [19].

Çavaş ve arkadaşları, insan akciğer hücrelerinde asetamiprid tarafından indüklenen genotoksisite ve sitotoksiteye karşı fullerenol nanopartiküllerinin etkisini mikronükleus, comet ve γ H2AX yöntemleri ile araştırmışlardır. Çalışma sonucunda asetamipridin insan

akciğer hücreleri üzerinde sitotoksik ve genotoksik etkiye sahip olduğunu, fullerenol nanopartiküllerinin ise ROS'un temizlenmesi yoluyla asetamipridin etkisini iyileştirdiğini ileri sürmüşlerdir [177].

Kocaman ve Topaktaş, bir ticari marka olan Mosemam 20 S'nin (asetamiprid %20) 25, 30, 35 ve 40 µg/ml dozları kullanılarak insan periferik kan lenfositlerinde kardeş kromatid, kromozomal aberasyon ve mikronükleus test yöntemleriyle genotoksitesini araştırmışlardır. 24 saat maruziyet sonucunda kardeş kromatid, kromozomal aberasyon ve mikronükleus frekanslarında önemli artış olduğunu tespit etmişlerdir [20].

Bansal ve arkadaşları, sivrisinek genomunda PCR tekniğini kullanarak asetamipridin genotoksitesini değerlendirmişlerdir. Yapılan çalışmada kontrol grubundan yükseltelen DNA 444 bazdan oluşurken LD₄₀ değerindeki asetamipride maruz kalan bireylerde 448 bazlı DNA oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Sonuçta, 230 mutasyon meydana geldiğini ve asetamipridin semiletal dozlarına maruz kalan bireylerde gen mutasyonlarını teşvik etme potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir [178].

Yukarıda bahsedilen çalışmalar yalnızca asetamiprid kullanımına dayalı araştırmalardır. Maddelerin birlikte kullanıldığında sinerjistik ya da antagonistik etki oluşturduğu düşüncesinden yola çıkılarak yapılmış asetamipridin tek ya da karışım halindeki kullanımına dayalı etkilerini araştıran çalışmalar da mevcuttur.

Kocaman ve Topaktaş, 12.5+2.5, 15 +5, 17.5 + 7.5, ve 20 + 10 µg/mL dozlarında asetamiprid ve bir pyrethroid insektisit olan α-cypermethrin karışımının insan periferik kan lenfositlerindeki genotoksik etkisini *in vitro* kromozomal aberasyon, mikronükleus ve kardeş kromatid değişimi tekniklerini kullanarak incelemişlerdir. 24 ve 48 saat boyunca asetamiprid+α-cymethrin karışımına maruziyetin konsantrasyona bağlı olarak kromozomal aberasyon ve kardeş kromatid değişimini arttırdığını tespit etmişlerdir. Mikronükleus frekansındaki artışın, kontrol ile karşılaştırıldığında, asetamiprid+α-cymethrin karışımının sinerjistik olarak sitotoksitesiyi ve genotoksitesiyi indüklediğini bildirmişlerdir [179].

Göç Rastgele, asetamiprid ve propineb pestisit karışımlarının genotoksik etkilerini *Mus musculus* cinsi erkek farelerde *in vivo* olarak araştırmışlardır. 0.625, 1.25 ve 2.50 µg/mL

asetamiprid, 12.5, 25 ve 50 µg/mL propineb ve 0.625+12.5, 1.25+25 ve 2.50+50 µg/mL asetamiprid-propineb karışımı intraperitoneal yolla farelere uygulanmıştır. Çalışma sonucunda asetamipridin non-genotoksik olduğunu ve asetamiprid- propineb karışımının tüm konsantrasyonlarda fare kemik iliği hücrelerinde MNPCE sıklığını arttırdığını ve sitotoksik etki oluşturduğunu bildirmişlerdir [180].

Gökalp Muranlı ve arkadaşları, mikronükleus test tekniğini kullanarak asetamiprid ve propineb insektisitlerinin tek ve kombine kullanımlarının insan periferik kan lenfositlerindeki genotoksik etkilerini incelemişlerdir. Lenfositler, 24 ve 48 saat boyunca asetamiprid (0.625, 1.25, 2.5 µg/mL), propineb (12.5, 25, 50 µg mL) ve asetamiprid-propineb karışımına (0.625+12.5, 1.25+25, 2.5+50 µg mL) maruz bırakılmıştır. 48 saatlik asetamiprid-propineb karışımına maruziyetin, mikronükleus frekansında anlamlı bir artış meydana getirdiğini ve bu insektisitlerin yalnız başlarına kullanımlarının mikronükleus frekansında önemli bir artış oluşturmadığını tespit etmişlerdir [172].

Karabay ve Oğuz, bir neonikotinoid insektisit olan imidakloprid ve bir organofosfat insektisit olan methamidophosun tek başına veya kombinasyon halinde uygulandığında sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Kromozomal aberasyon, mikronükleus ve ames testleri kullanılarak yapılan çalışmada, farelere 90 gün boyunca 50 ve 100 mg / kg imidakloprid, 2.5 ve 5 mg / kg methamidophos ve 2.5 ve 5 mg / kg imidakloprid+methamidophos oral yolla verilmiştir. Çalışma sonucunda, mikronükleus frekansının doza bağlı olarak arttığı ve test edilen tüm insektisit dozlarının S9 karışımı varlığında mutajenik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Buna bağlı olarak methamidophos ve imidakloprid sinerjistik etkisinin, hedef olmayan organizmalara potansiyel hasarda bir artışa neden olduğu sonucuna varmışlardır [181].

Asetamiprid ve imidakloprid, neonikotinoid grubuna dahil yeni nesil insektisitlerdir. Aynı insektisit sınıfında olmalarına karşın asetamiprid bir cyanoamid, imidakloprid ise bir nitroguanidin türevi neonikotinoid insektisittir. Bu kimyasal farklılık daha düşük dozdaki asetamipridin daha fazla genotoksik etki göstermesine neden olabileceği kanısını oluşturmuştur [6].

Bansal ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada asetamiprid ve imidaklopridin, *Culex quinquefasciatus* üreme sistemleri üzerine olan genotoksik etkisini dominant letal test

(DLT) yöntemini kullanarak araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre, asetamiprid kaynaklı genotoksik hasarın imidakloprid ile karşılaştırıldığında asetamipridin daha düşük dozlarda oldukça yüksek etki gösterdiği kanısına varmışlardır [182].

Asetamipridin genotoksik etkisinin imidaklopride göre fazla olduğunu gösteren bir çalışma da Rust ve Saran tarafından yapılan çalışmadır. Rust ve Saran, termik türlerle yaptėı çalışmalarında asetamiprid toksisitesini imidakloprid ve tiyametoksam ile karşılaştırmış, asetamipridin imidaklopride göre daha toksik fakat tiyametoksamdan daha az toksik olduğunu belirlemişlerdir [183].

Bagri ve arkadaşları, Swiss albino erkek farelerin somatik hücrelerinde imidakloprid kaynaklı mutajenik etkileri kromozomal aberasyon ve mikronükleus testlerini kullanarak değerlendirmişlerdir. Farelere 7, 14 ve 28 gün boyunca 5.5, 11 ve 22 mg/kg dozda imidakloprid süspansiyonu uygulanmıştır. En yüksek seçilmiş dozda (22 mg / kg vücut ağırlığı) ve en uzun seçilmiş zaman periyodunda (28 gün) kontrol grubuna göre, günlük imidakloprid tedavisinden sonra kromozomal aberasyon ve mikronükleus frekansında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğunu belirlemişlerdir [184].

Costa ve arkadaşları, insan periferel kan lenfositlerinde metabolik aktivasyon ve maruziyete bağlı olarak imidaklopridin genotoksik etkilerini mikronükleus ve comet test yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. 0.2, 2 ve 20 μ M dozlarında imidakloprid kullanılarak yapılan çalışmanın sonucunda $<20 \mu$ M konsantrasyonlarındaki imidaklopridin insan periferel kan lenfositleri için genotoksik olmadėını bildirmişlerdir [185].

Ansoar ve arkadaşları, imidaklopridin hedef olmayan organizmalar üzerindeki genotoksik etkilerini incelemişlerdir. Çalışma, imidaklopridin farklı konsantrasyonlarına (250, 125 ve 62.5 μ g/L) maruz bırakılan *Oreochromis niloticus* (Pisces) eritrositlerinin mikronükleus ve comet test tekniği ile araştırılması esasına dayanmaktadır. İmidaklopridin, tüm konsantrasyonlarda primer DNA hasarını uyardėını ve test edilen en yüksek konsantrasyonda mikronükleus ve nükleer anormallikler ortaya çıkararak kromozomal seviyede hasara yol açtığını tespit etmişlerdir [186].

Yapılan bu çalışmada kromozomal aberasyon, mitotik aktivite ve mikronükleus test sonuçlarına göre; negatif kontrol, 5 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarda asetamipridin istatistiksel açıdan genotoksisiteyi etkilemediği, fakat 15 mg/kg dozlarda uygulanan asetamipridin ise kromozomal aberasyonu ve mikronükleus frekansını arttırdığı, mitotik aktivite ile birlikte PCE/NCE oranlarını düşürdüğü gözlemlenmiştir ($p<0.001$). Sonuçlar yüksek dozda asetamipridin, genotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak yapılan birçok çalışma incelendiğinde neonikotinoid grubu pestisitlerin *in vivo* ve *in vitro* genotoksisiteye yol açtığı rapor edilmiştir. Yaygın olarak kullanılan asetamiprid ve benzeri neonikotinoid grubu pestisitlerin kontrolsüz kullanımları tüm canlı-cansız elemanlar için risk oluşturabileceğinden kullanımlarının kısıtlanması, ayrıca ekosistemdeki bütün dengeyi olumsuz yönde etkileyeceğinden araştırmacıların bu yöndeki çalışmalara teşvik edilmesi ve her yönden desteklenmesi gerekmektedir.

5. KAYNAKLAR

- [1] FAO, 1993. Pesticide Residues in Food. Report, Joint Meeting on Pesticide Residues Plant Production Paper, 122.
- [2] Kızılet, H., (2015). Kısa Süreli Test Teknikleri ile Bazı İnektisitlerin Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi ve Bu Etkilerin Giderilmesi İçin *Portulaca oleracea* L. (Semizotu) Bitkisine ait Çeşitli Ekstraktların Kullanılması Üzerine Araştırmalar. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- [3] Akdoğan, A., (2011). Bazı Pestisitlerin Kromatografik Ayrılmaları ve Tayinleri. Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı, Denizli.
- [4] Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A., (2005). Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre, Ankara.
- [5] Environmental Protection Agency (EPA). (2006). What is a Pesticide? (US EPA definitions). <http://www.epa.gov/minimum-risk-pesticides/what-pesticide>, (10.02.2018).
- [6] Kocaman, A. Y., (2007). Acetamiprid ve Alpha-Cypermethrin Pestisidlerinin Tek Başına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman İnsan Periferik Lenfositlerindeki *In vitro* Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- [7] Sanz, P. C., Halko, R., Ferrera, S. Z. and Santana-Rodrigues, J. J., (2005). Combination of Microwave Assisted Micellar Extraction and Liquid Chromatography for the Determination of Organophosphorous Pesticides in Soil Samples. *Journal of Chromatography A*, 1078(1,2), 13-21.
- [8] Acero, L. J., Benitez, J. F., Real, J. F. and Gonzales, M., (2007). Chlorination of Organophosphorus Pesticides in Natural Waters. *Journal of Hazardous Materials*, 153(1-2), 320-328.
- [9] Doğan, A., (2016). Veteriner Toksikoloji. Eser Basım Yayın Dağıtım Matbaacılık, Erzurum, 542-568.

- [10] Kaya, S., Pirinçci, İ. ve Bilgili, A., (2002). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. 2. Baskı, Medisan Yayın, 385-402.
- [11] Gürcan, T., (2001). Tarımsal İlaç Kalıntıları ve Önemi. Dünya Gıda Dergisi, 67-72.
- [12] Casida, J. and Quistad, G. B., (2004). Why Insecticides are More Toxic to Insect than People: The Unique Toxicology of Insects. Journal of Pesticide Science, 29(2), 81-86.
- [13] Tañç Yeter, O., (2007). Bal Örneklerinde Asetamiprid Kalıntısının ve Bozunma Ürününün Tayini için Yöntem Geliştirilmesi. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
- [14] Delo, D., (2016). Ugotavljanje Strupenosti Acetamiprida Na Kompenske Enakozne Rake Vrste Porcellio Scaber (Isopoda, Crustacea). Univerza V Novi Gorici, Fakulteta Za Znanosti O Okolju, Nova Gorica.
- [15] Environmental Protection Agency (EPA), (2003). Pesticides - Fact Sheet for Clothianidin; Pesticide Tolerance, Feredal Register, 68, (32390-32400). Enviromental Protection Agency (EPA), (20003). Pesticides –Fact Sheet for Thiacloprid.http://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-014019_26-Sep-03.pdf, (10.08.2018).
- [16] Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO), (2009). The WHP Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, World Health Organization Programme on Chemical Safety, Geneva, Switzerland.
- [17] Brunet, J. L., Badiou, A. and Belzunces, L. P., (2005). *In vivo* Metabolic Fate of [14C]-Acetamiprid in Six Biological Compartments of the Honeybee, *Apis mellifera* L. Pest Management Science, 61(8), 742-748.
- [18] Yan, X., Li, H., Li, Y. and Su, X., (2014). Visual and Fluorescent Detection of Acetamiprid Based on the Inner Filter Effects of Gold Nanoprticles on Ratiometric Fluorescence Quantum Dots. Analytica Chimica Acta, 852, 189–195.
- [19] Cavas, T., Cinkilic, N., Vatan, O., Yilmaz, D. and Coskun, M., (2012). *In vitro* Genotoxicity Evaluation of Acetamiprid in Caco-2 Cells Using the

- Micronucleus, Comet and γ H2ax Foci Assays. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(3), 212–217.
- [20] Kocaman, A.Y. and Topaktaş, M., (2007). *In vitro* Evaluation of the Genotoxicity of Acetamiprid in Human Peripheral Blood Lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48(6), 483-490.
- [21] Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B. and Alvur, M., (2004). The Comparison of μ -Fadu and Comet Methods in DNA Damage Analysis. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 97-103.
- [22] Corvi, R. and Madia, F., (2017). *In vitro* Genotoxicity Testing- can the Performance be Enhanced?. *Food and Chemical Toxicology*, 106, 600-608.
- [23] Aksu, P., (2012). Akrilamidin *In vivo* ve *In vitro* Genotoksitesisi Üzerine Fenolik Bileşiklerden Pelargonidin ve Gallik Asidin Etkileri. Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Kars.
- [24] Can Avcı, E., (2013). Deltametrin (Pestisit; İnsektisit)'in *Pelophylax ridibundus* (amphibia: anura) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Eritrosit Mikronukleus Testi ile Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Afyon.
- [25] Perry, P. and Evans, H. J., (1975). Cytological Detection of Mutagen-Carcinogen Exposure by Sister Chromatid Exchange. *Nature*, 258(5531), 121-125.
- [26] Heddle, J. A. and Countryman, R. I., (1976). The Production of Micronuclei from Chromosome Aberration in Irradiated Cultures of Human Lymphocytes. *Journal Mutation Research*, 41(2-3), 321-331.
- [27] Kılınç, A., (2016). Neonikotinoid Grubu İnsektisitlerin Sitotoksik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- [28] İncedere, F. E., (2009). Bazı Pestisitlerin Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/ Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

- [29] Çakır. S., (2008). Çukurova Yöresinden Toplanan Sütlerde Sentetik Piretroid İnsektisid Varlığının Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [30] Gündüz, T. ve Çukur, A., (1994). Hazar Gölü Ağır Metal Kirlenmesi. Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinin Su Kaynakları ve Sorunları Sempozyumu, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- [31] Klassen, C. D., Amdur, M. O. and Doull, J., (2001). Casarett and Doull's Toxicology: Basic Science of Poisons. 6th Edition, McGraw-Hill International Editions, New York, 763-784.
- [32] Taylor EL, Holley A. G. and Kirk M., (2007). Pesticide Development a Brief Look at the History. Southern Regional Extension Forestry, 805-124.
- [33] Açar S., Aydınoglu H., Temel O., İkizunal K. ve Ece H., (1991). Pestisit Kullanımının Tarihçesi, Bugünü ve Geleceği. Türk Entomoloji Dergisi, 15(4), 247-56.
- [34] Uslu, O. ve Türkman, A., (1987). Su Kirliliği ve Kontrolü. T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi: 1, Ankara, 118-125.
- [35] Zacharia J. T., (2011). Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides. In: Stoytcheva M, Ed. Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis. Rijeka, Intechp, 1-18.
- [36] Dağlıoğlu, N., (2004). Akut Organofosfatlı Pestisit Entoksikasyonlarının Sıçanlarda Deneysel Olarak Gösterilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü/Adli Tıp Anabilim Dalı, Adana.
- [37] Vural, N., (1996). Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 73, 342-373.
- [38] Pedigo, L. P., (1996). Entomology and Pest Management. Iowa State Univeristy, Iowa, USA, 679.
- [39] Carson, R., (1962). The Silent Spring. Mariner Books, New York, USA, 1-275.
- [40] Yıldız, M., Gürkan, M. O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G., (2005). Tarımsal Savaşımında Kullanılan Pestisitlerin Yol Açtığı Çevre Sorunları. Türk Mühendis ve Mimar Odaları Birliği Ziraat Mühendisleri 6. Teknik Kongresi, Ankara, 649-668.

- [41] Doğaç, E., (2013). Zeytin sineği (*Bactrocera oleae*) Popülasyonlarının Genetik Karakterizasyonu ve Bu Popülasyonlarda Organofosfat İnsektisit Direnç Mutasyon Frekanslarının Belirlenmesi. Doktora Tezi, Muğla Sıtkı Kocaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Muğla.
- [42] Yücel, Ü., (2006). Pestisitlerin İnsan ve Çevre Üzerine Etkileri. Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü, Ankara. <http://www.doğaninsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>,(03.03.2018).
- [43] T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü (2002). Hayvansal Kökenli Gıdalarda Veteriner İlaçları Maksimum Kalıntı Limitleri Tebliği. Yayımlandığı Resmi Gazete: 28.04.2002-24739 Tebliğ No: 2002/30.
- [44] Delen, N., (2008). Fungisitler. Nobel Yayın Dağıtım, Nobel Yayın No: 1360, Ankara.
- [45] Bull, S., Fletcher, K., Boobis, A. R. and Battershill, J. M., (2006). Evidence for Genotoxicity of Pesticides in Pesticide Applicators: a Review. *Mutagenesis*, 21(2), 93-103.
- [46] Nesheim, O. N., Fishel, F. M. and Mossler, M., (2005). Toxicity of Pesticides. UF/IFAS EDIS Document PI-13. <http://edis.ifas.ufl.edu/PI008>, (23.12.2017).
- [47] Kiziewicz, B. and Czezuga, B., (2002). Bioaccumulation of Organochlorine Pesticides in the Trophic Chain Alga-Freshwater Fish. *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 32(1), 41-51.
- [48] Tiryaki, O., Can, H. R. ve Horoz, S., (2010). Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 154-169.
- [49] Wood, A., (2010). Compendium of Pesticide Common Names. <http://www.alanwood.net/pesticides/index.html>, (05.04.2018).
- [50] Güncan, A., (1993). Türkiye’de Şekerpancarında Yabancı Ot Mücadelesi. Türkiye 1. Herboloji Kongresi Bildirileri, Adana, 227–231.
- [51] Sabancı. K., (2013). Şeker Pancarı Tarımında Yabancı Ot Mücadelesi için Değişken Düzeyli Herbisit Uygulama Parametrelerinin Yapay Sinir Ağlarıyla Belirlenmesi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Tarım Makineleri Anabilim Dalı, Konya.

- [52] Akman, Y., Ketenoğlu, O., Evren, H., Kurt, L. ve Dzenli, S., (2000). evre Kirliliği (evre Biyolojisi), Palme Yayıncılık, 140-158.
- [53] Komarek, M., Cadkova, E., Chrastny, V., Bordas, F. and Bollinger, J., (2010). Contamination of Vineyard Soils with Fungicides: a Review of Environmental and Toxicological Aspects. *Environment International*, 36(1), 138–151.
- [54] Calhelha, C. R., Andrade, V. J., Ferreira, C. I. and Estevinho, M. L., (2006). Toxicity Effects of Fungicide Residues on the Wine-Producing Process. *Food Microbiology*, 23(4), 393-398.
- [55] Daş, Y. K. ve Aksoy, A., (2016). Pestisitler. *Türkiye Klinikleri Journals Veterinary Sciences Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 2(2), 1-17.
- [56] Chitwood, DJ., (2003). Nematicides. In: Plimmer JR, ed. *Encyclopedia of Agrochemicals*. John Wiley and Sons, 1104-1115.
- [57] alışkan, M., (2010). The Effects of the Synthetic Pyrethroid Insecticide Tetrametrin on the Serum Proteins of Albino Mice (*Mus musculus*). *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 67(2), 65-71.
- [58] Ghanim, M. and Ishaaya, I., (1997). Insecticides with Novel Modes of Action Mechanism and Resistance Management. *Insecticides with Novel Modes of Action Mechanisms and Application*, (Editör: Ishaaya, I., Degheele, D.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- [59] Scharf, M. E., (2003). Neurological Effects of Insecticides. *Encyclopedia of Pest Management*, (Editör: Pimental, D.), Marcel-Dekker, New York, 1-5.
- [60] Hammouda, O., Gaber, A. and Abdel-Raouf, N., (1995). Microalgae and Wastewater Treatment of Pesticides, Metals, and their Effect on Algal Species. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 31(3), 205-210.
- [61] Akbaş, D., (2014). Neonikotinoid İnektisitlerden İmidacloprid'in Kurbağa (*Rana ridibunda*) İskelet Kası Üzerine Elektrofizyolojik ve Histolojik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- [62] Pour, A., (2014). Pamuk Yaprak Kurdu *Spodoptera littoralis* (Boisduva) (Lepidoptera: Noctuidea)'nda Pyrethroid ve Neonikotinoid Direncinin Biyokimyasal Karakterizasyonu, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü/Bitki Koruma Anabilim Dalı, Ankara.

- [63] Rortais, A., Arnold, G., Halm, M.P. and Touffet-Briens, F., (2005). Modes of Honeybees Exposure to Systemic Insecticides: Estimated Amounts of Contaminated Pollen and Nectar Consumed by Different Categories of Bees. *Apidologie*, 36(1), 71–83.
- [64] Atamanalp, M. ve Cengiz, M., (2002). Bir Sentetik Piretroid İsektisit (Cypermethrin)'in Sublethal Dozlarının *Capoeta capoeta*'da Hemoglobin, Hemotokrit ve Sediment Seviyeleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 19(1-2), 169-175.
- [65] Gündüz, T., (1998). Çevre Sorunları. Ankara, 160-175.
- [66] Pham, T., Lum, K. and Lemieux, C., (1996). Seasonal Variation of DDT and its Metabolites in the St. Lawrence River (Canada) and Four of its Tributaries. *Science of the Total Environment*, 179, 17–26.
- [67] Marrs, T. C. and Dewhurst, I., (2000). Toxicology of Pesticide. General and Applied Toxicology. 2. Edition, Macmillan Reference Ltd., New York, 1993-2012.
- [68] World Health Organization (WHO), (1996). Guidelines for Drinking Water Quality, Second Edition, Health Criteria and Other Supporting Information, Geneva, 2, 973.
- [69] Kaya, S., Pirinççi, İ. ve Bilgili, A., (1998). Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji. *Medisan Yayın Serisi: 35*, Ankara, (222-355).
- [70] Ecobichon, D. S., (1991). Toxic Effects of Pesticides. Casarettand Doull's Toxicology, 4th. ed., Pergamonpress, New York.
- [71] Yavuz, O. ve Şanlı, Y., (1999). Halk Sağlığı ve Vektör Kontrolünde Kullanılan Pestisidler, Pestisit Formülasyonları ve Uygulama Seçenekleri. I. Seminer Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmakoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [72] Yalçınkaya, E., (2013). Organofosforlu İsektisit Fenthion'un *Galleria mellonella* L.'nin Antioksidan Savunma Sistemi ve Lipit Peroksidasyonu Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Adıyaman.

- [73] Koçak, A., Şenol, E., Kök, H. O. ve Aktaş, E. Ö., (2005). Organofosfat (Tamaron) Zehirlenmesi Sonrasında Gelişen Nöropati. *Journal of Forensic and Legal Medicine*, 2(3), 109-112.
- [74] Timoroğlu, İ., (2009). Trichlorfon ve Phorate İsektisitlerinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [75] Kwong, T. C., (2002). Organophosphate Pesticides: Biochemistry and Clinical Toxicology. *Therapeutic Drug Monitoring*, 24(1), 144-149.
- [76] Öğüt, S., (2012). Isparta Yöresinde Kullanılan Bazı Pestisitlerin Elma - Kirazlardaki Pestisit Kalıntıları ve Bu Ürünlerin Tarımında Çalışan Tarım İşçilerinin Kan Parametrelerine Etkilerin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- [77] Çakır, Ş. ve Yamanel, Ş., (2005). Böceklerde İsektisitlere Direnç. Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Yayınları, 6 (1), 21-29.
- [78] Ecobichon, D.J., (2001). Toxic Effects of Pesticides. *Casarett and Doull's Toxicology, the Basic Science of Poisons* (Ed. C. D. Klaassen), Mc Graw Comp, North America, 784-786.
- [79] Shafer, T. J., Meyer, D. A. and Crofton, K. M., (2005). Developmental Neurotoxicity of Pyrethroid Insecticides: Critical Review and Future Research Needs. *Environ, Health Perspect*, 113(2), 123-136.
- [80] Elliot, M., Jamees, N. F. ve Potter, C. (1978). The Future of Pyrethroids in Insect Control, *Annual Reviews Entomology*, 23, 443-469.
- [81] Daş, K. Y., (2004). Türkiye'de Üretilen Ballarda Bazı Organik Fosforlu ve Sentetik Piretroid İsektisit Kalıntılarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [82] Ünal, G. ve Gürkan, M. O., (2001). İsektisitler Kimyasal Yapıları, Toksikolojileri ve Ekotoksikolojileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitk Koruma Bölümü, Ankara.

- [83] Vijverberg, H.P. and Vanden Bercken, J., (1990). Neurotoxicological Effects and the Mode of Action of Pyrethroid Insecticides. *Critical Reviews in Toxicology*, 21(2), 105-126.
- [84] Şekeroğlu, V., (2010). Thiacloprid ve Deltamethrin İnektisitlerinin Tek Başlarına ve Karışım Halinde Kullanıldıkları Zaman Sıçan Kemik İliği Hücrelerinde *In vivo* (*Rattus norvegicus Berkenhout, 1769*) Genotoksik Etkileri. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun.
- [85] Kakko, I., (2004). Toxic Mechanisms of Pyrethroids Studied *In vitro*. Academic Dissertation. Finland. Acta Universitatis Tamperensis, 1018.
- [86] Kagabu, S., (1997). ChloronicotinyI Insecticides-Discovery, Application and Future Perspective. *Reviews in Toxicology*, 1, 75-129.
- [87] Özdemir, N., (2017). Neonikotinoid Pestisitler ve Arı Sağlığına Etkileri. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 17(1), 44-48.
- [88] Ünver, S. ve Uysal H., (2014). Neonikotinoid İnektisitlere Bağlı Olarak *Drosophila melanogaster*'in AChE Aktivitesinde Meydana Gelen Değişikliklerin Bitkisel Ekstraktlar ile Giderilmesi Üzerine Araştırmalar. *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi (CFD)*, 35(4), 1300-1949.
- [89] Tisler, T., Jemec, A., Mozetic, B. and Trebse, P., (2009). Hazard Identification of Imidacloprid to Aquatic Environment. *Chemosphere*, 76(7), 907–914.
- [90] Matsuda, K., Buckingham, S. D., Kleier, D., Rauh, J. J., Grauso, M. and Sattelle, D. B., (2001). Neonicotinoids: Insecticides Acting on Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors. *TRENDS in Pharmacological Sciences*, 22(11), 573-580.
- [91] Malev, O., (2012). Toxic Effects of Selected Neonicotinoids Through Different Organisational Levels: *In vitro* and *In vivo* Studies. University of Nova Gorica Graduate School, Nova Gorica.
- [92] Tang, H. and Xu, P., (2012). A Newly Isolated Strain of *Stenotrophomonas sp.* Hydrolyzes Acetamiprid, a Synthetic Insecticide. *Process Biochemistry*, 47(12), 1820-1825.

- [93] Tomizawa, M. and Casida, J. E., (2005). Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 68-247.
- [94] Matsuda K., Kanaoka S., Akamatsu M. and Sattelle D.B., (2009). Diverse Actions and Targetsite Selectivity of Neonicotinoids: Structural Insights. *Molecular Pharmacology*, 176, 1-10.
- [95] Vo, D. T., Hsu, W. H., Abu-Basha, E. A. and Martin, R., (2010). Insect Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonists as Flea Adulticides in Small Animals. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutic*, 33, 315-322.
- [96] Deshmukh, M. and Shripanavar C., (2011). Synthesis of N'-Carbamoyl-N-[(6-chloropyridin-3-yl) methylethanimidamide. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(5), 636-637.
- [97] Levchenko, M. A., Silivanova, E. A., Bikinyaeva, R. K. and Balabanova, G. F., (2018). Efficacy of Acetamiprid and Fipronil Fly Baits against the Housefly (*Musca domestica L.*) Under Laboratory Conditions *Veterinary World*, 11(7), 953-958.
- [98] Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2011. http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/JMPR/Report11/Acetamiprid.pdf, 20.01.2018).
- [99] Environmental Protection Agency (EPA), (2002). Pesticides - Fact Sheet for Acetamiprid; Reason for Issuance: Conditional Registration.
- [100] Fasnabi P. A., (2015). Studies on Advanced Oxidation Processes for the Removal of Acetamiprid from Wastewater. Division of Safety and Fire Engineering, School of Engineering Cochin University of Science and Technology Kochi- 682 022, Kerala, India.
- [101] Kanungo, D. and Solecki, R., (2011). Pesticide Residues in Food Toxicological Evaluations. WHO, & FAO, Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues. Part II, s. 3-92. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- [102] Emre Arıcan, Y., (2017). Neonikotinoid Grubu İnektisitlerden Asetamiprid'in Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora tezi, İstanbul

Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul.

- [103] European Food Safety Authority (EFSA), (2015). Modification of the Existing Maximum Residue Levels for Acetamiprid in Leafy Brassicas. *EFSA Journal*, 13(10), 4229.
- [104] European Commission. (2004). Review Report for the Active Substance Acetamiprid. European Commission, Health ve Consumer Protection Directorate-General. Brüksel: The Standing Committee on the Food Chain and Animal Health.
- [105] Mondal, S., Ghosh, R. C., Karnam, S. S. and Purohit K., (2014). Toxicopathological Changes on Wistar Rat After Multiple Exposures to Acetamiprid. *Veterinary World*, 7(12), 1058-1065.
- [106] Anonim (1999). FAO Specification and Evaluations for Plant Protection Products Betacyfluthrin Evaluation Report, 482.
- [107] Saks, M., Upreti, S., SV, R. and Dang, R., (2017). Genotoxicity: Mechanisms, Testing Guidelines and Methods. *Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science*, 1(5), 555-575.
- [108] Atlı Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu, V., (2011). Genetik Toksikite Testleri. *Türk Bilim Araştırma Vakfı*, 4(3), 221-229.
- [109] Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter U. and Decordier, I., (2003). Indirect Mechanisms of Genotoxicity. *Toxicology Letters*, 140-141, 63-74.
- [110] Heddle, A. J., Hite, M., Kirkhart, B., Mavournin, K., MacGregor, T. J., Newell W. G. and Salamone, M. F., (1983). The Induction of Micronuclei as a Measure of Genotoxicity. A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*, 123(1), 61-118.
- [111] Zeiger, E., (2004). History and Rationale of Genetic Toxicology Testing: an Impersonal, and Sometimes Personal, View. *Environmental Molecular Mutagenesis*, 44(5), 363-367.
- [112] Schmid, W., (1975). The Micronucleus Test. *Journal Mutation Research*, 31, 9-15.

- [113] Carrano, A. V. and Natarajan, A. T., (1988). Consideration for Population Monitoring Using Cytogenetic Techniques. *Mutation Research*, 204(3), 379-406.
- [114] Choy, W. N., (2001). *Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment*. Marcel Dekker, (29-187), New York.
- [115] Vural N., (2005). *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 115-129.
- [116] Maron D. R. and Ames B. N., (1983). Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutation Research*, 113(3-4), 173-215.
- [117] Gatehouse D. G., Rowland I. R., Willox P., Dander R.D. and Foster, R., (1998). Bacterial Mutation Assay, Basic Mutagenic Recommended Procedure (Ed: Kirkland, D. J.). The Bath, Press, Avon Research. 227-234.
- [118] Russell, P. J., (1998). *Genetics*. The Benjamin, Cummings, Publishing Company, Inc., Canada, USA.
- [119] Jorgensen, K. V., Clayton, J. W. and Price, R.L. (1987). Evaluation of Aflatoxin B₁ Mutagenesis: Glutathione-S-transferase to the Salmonella Mutagenicity Assay. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 9(4), 411-419.
- [120] McCann, J. and Ames, B. N., (1976). Detection of Carcinogens as Mutagens in the Salmonella/Microsome Test: Assay of 300 Chemicals: Discussion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73 (3), 950-954.
- [121] Griffiths, M. D., (1996). Behavioural Addictions: An Issue for Everybody?. *Journal of Workplace Learning*, 8(3), 19-25.
- [122] Ostling, O. and Johanson, K. J., (1984). Microelectrophoretic Study of Radiation Induced DNA Damages in Individual Mammalian Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 123(1), 291–298.
- [123] Sasaki, Y. F., Kawaguchi, S., Kamaya, A., Ohshita, M., Kabasawa, K., Iwama, K., Taniguchi, K. and Tsuda, S., (2002). The Comet Assay with 8 Mouse Organs: Results with 39 Currently Used Food Additives. *Mutation Research*, 519 (1-2), 103-119.
- [124] Poletta, G. L., Larriera, A., Kleinsorge, E. and Mudry, M. D., (2008). Caiman *Latirostris* (broadsnouted caiman) as a Sentinel Organism for Genotoxic

- Monitoring: Basal Values Determination of Micronucleus and Comet Assay. *Mutation Research* 650 (2), 202-209.
- [125] Dinçer, Y. ve Kankaya, S., (2010). DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 30 (4), 1365-73.
- [126] McKelvey-Martin, V. J., Green, M. H. L, Schmezer, P., Pool-Zobel, B. L., De Meo, M. P. and Collins, A., (1993). The Single Cell Gel Electrophoresis Assay (Comet Assay): a European Review. *Mutation Research*, 288, 47–63.
- [127] Saruhanoğlu, A., (2009). Oral Lökoplakili Olgularda Genomik İnstabilitenin Kardeş Kromatid Değişim Sıklığı ve Mikronükleus Sıklığı Yöntemleriyle Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Ağız Diş Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Anabilim Dalı, İstanbul.
- [128] Calderón-Segura, M. E., Marcial Rojas, J. A. M., Mézquita Brito, M. G., TecCab, M., Calderón-Ezquerro, M. C. and Gómez-Arroyo, S., (2015). Genotoxicity of the Neonicotinoid Insecticide Poncho (Clothianidin) on CD1 Mice Based on Alkaline Comet and Micronucleus Assays. *Toxicity and Hazard of Agrochemicals*, DOI: 10.5772/61174.
- [129] Sardeş, S. and Karakaya, A. E., (1990). Clastogenicity Test; Sister Chromatid Exchange. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 7 (2), 91-104.
- [130] Ozturk, S., Palanduz, S., Cefle, K., Tutkan, G., Ucur, A., Dincol, G., Nalcacı, M., Aktan M., Yavuz S. and Kücükaya R. D., (2005). Genotoxicity and Sister Chromatid Exchange in Patients with Myelodysplastic Disorders. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 159(2), 148-150.
- [131] Sardas, S., Erdoğan, F., Sardas, O. S., Cengel, M. and Karakaya, A. E., (1994). Sister Chromatid Exchange Studies for Monitoring DNA Damage in Lymphocytes of Malignant Lymphoma Patients Under Cytostatic Therapy. *Anti-cancer Drugs*, 5(4), 487-489.
- [132] Taylor, J. H., (1958). Sister Chromatid Exchanges in Tritium-labeled Chromosomes. *Genetics*, 43(3), 515-529.
- [133] Natarajan, A. T., (2002). Chromosome Aberrations: Past, Present and Future. *Mutation Research*, 504(1-2), 3-16.

- [134] Özkan, D., (2009). Acephate ve Mephosfolan İsektisitlerinin İnsan Lenfosit Kültüründe Genotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [135] Nazlıgöl, E., (2009). Miyelodiplastik Sendromlu Olgularda Genomik İnstabilitenin Farklı Sitogenetik Yöntemlerle (Kromozom Aberasyonu, Kardeş Kromatid Değişimi, Mikronukleus) Araştırılması. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü/Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.
- [136] Kasımoğlu, C., (2016). Bazı insektisitlerin Çeşitli Somatik Hücrelerde *In vivo* ve *In vitro* Olarak Genotoksik Etkilerinin Belirlenmesi ve Olası Etkilerin Kuşburnu (*Rosa canina* L.) Bitkisine ait Esktreler Kullanılarak Giderilmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.
- [137] Obe, G., Pfeiffer P., Savage, J. R. K., Johannes, C., Goedecke, W., Jeppesen, P., Natarajan, A. T., Martinez-Lopez, W., Folle, G. A. and Drets, M. E., (2002). Chromosomal Aberrations: Formation, Identification and Distribution. *Mutation Research*, 504(2002) ,17-36.
- [138] Bonassi, S., Abbondandolo, A., Camurri, L., Dal Pra, L., Ferrari, M., Degrassi, F., Forni, A., Lamberti, L., Lando, C. and Padovani, P., (1995). Are Chromosome Aberrations in Circulating Lymphocytes Predictive of Future Cancer Onset in Humans? Preliminary Results of an Italian Cohort Study, *Cancer Genetic and Cytogenetic*, 79(2), 133–135.
- [139] Natarajan, A. T. and Obe, G., (1982). Mutagenicity Testing with Cultured Mammalian Cells: Cytogenetic Assay. *Mutagenicity: New Horizons in Genetic Toxicology*, Academic Press, New York, 171-213.
- [140] Evler Hatayoğlu, Ş., (2004). *In vitro* Radyasyon Uygulaması Sonucu Lenfositlerde Meydana Gelen Kalıcı Olmayan Kromozom Aberasyonları ile Mikronükleus Oluşumları Arasındaki İlişkinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- [141] Alqallaf, A. K., Alkoot, F. M. and Aldabbous, M. S., (2013). Recent Advances in Autism Spectrum Disorders (Chapter 16: Discovering the Genetics of

Autism) - Volume I, Prof. Michael Fitzgerald (Ed.). ISBN: 978-953-51-1021-7, InTech, 341-358.

- [142] Preston, R. J., Au, W., Bender M. A., Brewen, J. G., Carrano, A. V., Heddle, J. A., McFee, A. F., Wolff, S. and Wassom, J. S., (1981). Mammalian *In vivo* and *In vitro* Cytogenetic Assays: a Report of the U.S. EPA's Gene-Tox Program. *Mutation Research* 87(2), 143-188.
- [143] Evans, H. J., (1984). Human Peripheral Blood Lymphocytes for the Analysis of Chromosome Aberrations in Mutagen Tests. In: Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C., eds., *Handbook of Mutagenicity Test Procedures*, Elsevier Science, Amsterdam, 405-427.
- [144] Ford, C. E. and Hamerton, J. L. A., (1956). Colchicine, Hypotonic Citrate, Squash Sequence for Mammalian Chromosomes. *Stain Technology*, 31(6), 247-51.
- [145] Fenech, M., (2007). Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084-1104.
- [146] Ford, J. H., Schultz, C. J. and Correll, A. T., (1988). Chromosome Elimination in Micronuclei: a Common of Hypoploidy. *American Journal of Human Genetics*, 43(5), 733-740.
- [147] Zijno, A., Marcon F., Leopardi, P., Salvatore, G., Carere, A. and Crebelli, R., (1994). An Assessment of the *In vivo* Clastogenicity of Erythrosine. *Food and Chemical Toxicology*, 32(2), 159-163.
- [148] Anwar, W. A., Salama, S. I., Serafy, M. M. E. I., Hemida, S. A. and Hafez, A. S., (1994). Chromosomal Aberrations and Micronucleus Frequency in Nurses Occupationally Exposed to Cytotoxic Drugs. *Mutagenesis*, 9(4), 315-317.
- [149] Ocampo, I. Z., Okazaki, K. and Vieira, D. P., (2013). An Improved *In vitro* Micronucleus Assay to Biological Dosimetry. *Refice*, PE, Brazil, 24-29.
- [150] Vanparys P., Vermeiren F., Sysmans M. and Temmerman R., (1990). The Micronucleus Assay as a Test for the Detection of Aneugenic Activity. *Mutation Research*, 244(2), 95-103.
- [151] Stopper H. and Müller OS., (1997). Micronuclei as a Biological Endpoint for Genotoxicity: a Minireview. *Toxicology In vitro*, 11(5), 661-667.

- [152] Özkara, A. ve Akyıl, D., (2015). Bitkilerde Mikronukleus Testi ile Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi. Dumlu Pınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 034, 27-40.
- [153] Fenech, M., (2006). Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Evolves Into a“Cytome” Assay of Chromosomal Instability, Mitotic Dysfunction and Cell Death. Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 600(1-2), 58–66.
- [154] Könen, S., (2007). Trifluralin ve Askorbik Asit Kombinasyonlarının *Oreochromis niloticus* Üzerindeki Genotoksik ve Antigenotoksik Etkilerinin Mikronükleus Testi Kullanılarak Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- [155] Preston, R. J., Dean, B. J., Galloway, S., Holden, H., McFee, A. F. and Shelby, M., (1987). Mammalian *In vivo* Cytogenetic Assays Analysis of Chromosome Aberrations in Bone Marrow Cells. Journal Mutation Research, 189, 157-165.
- [156] Ihara, M., Brown, L. A., Ishida, C., Okuda, H., Sattelle, D. B. and Matsuda, K., (2006). Actions of Imidacloprid, Clothianidin and Related Neonicotinoids on Nicotinic Acetylcholine Receptors of American Cockroach Neurons and their Relationships with Insecticidal Potency. Journal of Pesticide Science, 31(1), 35–40.
- [157] Casida, J. E. and Quistad, G. B., (1998). Golden Age of Insecticide Research: Past, Present, or Future? Annual Review of Entomology, 43, 1-16.
- [158] Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M. and Elbert, A., (2011). Overview of the Status and Globalstrategy for Neonicotinoids. Journal Agriculturaland Food Chemistry, 59(7), 2897-2908.
- [159] Yamamoto, I. and Casida, J. E., (1999). Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor. Springer-Verlag, Tokyo.
- [160] Tomizawa, M., Cowan, A. and Casida, J. E., (2001). Analgesic and Toxic Effects of Neonicotinoid Insecticides in Mice. Toxicology and Applied Pharmacology, 177(1), 77–83.
- [161] Zhao, Y J., Dai, Y J., Yu, C G., Luo, J., Xu, W P., Ni, J P. and Yuan, S., (2009). Hydroxylation of Thiacloprid by Bacterium *Stenotrophomonas maltophilia* CGMCC_{1.1788}. Biodegradation, 20 (6), 761-768.

- [162] Tomizawa, M. and Casida, J. E., (2003). Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. *Annual Review of Entomology*, 48, 339-364.
- [163] Schroeder, M. E. and Flattum, R. F., (1984). The Mode of Action and Neurotoxic Properties of the Nitromethylene Heterocycle Insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 22(2), 148-160.
- [164] Öncüer, C. ve Durmuşoğlu, E., (2008). Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri ve İlaçları. Ege Üniversitesi Yayını, Geliştirilmiş 6. Baskı, İzmir. 220-302.
- [165] Giray, B., Gurbay, A. and Hincal, F., (2001). Cypermethrin-Induced Oxidative Stress in Rat Brain and Liver is Prevented by Vitamin E or Allopurinol. *Toxicology Letters*, 118(3), 139-146.
- [166] Klauning, J. E., (1991). Alterations in Intracellular Communication During the Stage of Promotion. *Experimental Biology and Medicine*, 198(2), 688-692.
- [167] Scasselati, S. G., Moretti, M., Villarini, M., Angeli, G., Pasquini, R., Monarca, S., Scarselli, R., Crea, M.G. and Lonardis, C., (1994). An Evaluation of Toxic and Genotoxic Risk from Work Related Exposure to Chemical Compounds, *Prevenzione Oggi*, 6, 125-138.
- [168] Banerjee, B. D., Seth, V., Bhattacharya, A., Pahsa, S. T. and Chakraborty, A. K., (1999). Effects of Some Pesticides on Lipid Peroxidation and Free-Radical Scavengers. *Toxicology Letters*, 107(1-3), 33-47.
- [169] Yao, X H., MIN, H. and LV, Z M., (2006). Response of Superoxide Dismutase, Catalase, and ATPase Activity in Bacteria Exposed to Acetamiprid. *Biomedical and Environmental Sciences*, 19, 309-314.
- [170] Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C., (1999). *Free Radicals in Biology and Medicine*, 2nd ed. New York: Oxford University Press, 936.
- [171] Aruoma, O. I., (1998). Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(2), 199-212.
- [172] Gokalp Muranli, F. D., Goc Rasgele P., Kekecoglu, M., Kanev, M., and Ozdemir, K., (2015). Potential Genotoxicity of Acetamiprid and Propineb Singly or in Combination in Cultured Human Peripheral Blood Lymphocytes

- by Using MN Assay. Article in Fresenius Environmental Bulletin, 24 (11), 3947-3955.
- [173] Jie, N. Q., Hun, S. C., Du, F. P., Huang, L. R., Jiang, G. B. and Lv, S. Q. (2003). Study on the Interaction Between Nucleic Acids and Acetamidrid. Nucleosides Nucleotides and Nucleic Acids, 22(10), 1859-1866.
- [174] Çamlıca, Y., Bediz, S. C. ve Yalın, S., (2017). Asetamidrid ve d- Tübokürarin' in Kurbağa Sinir Dokusu Üzerine Etkilerinin İncelenmesi (I: Oksidatif Potansiyel). Marmara Pharmaceutical Journal, 21, 149-155.
- [175] Environmental Protection Agency EPA., (2004). Acetamidrid; Notice of Filing a Pesticide Petition to Establish a Tolerance for a Certain Pesticide Chemical in or on Food. In Notice, 47145-47149.
- [176] Bagri, P. and Jain S. K., (2018). Assessment of Acetamidrid-Induced Genotoxic Effects in Bone Marrow Cells of Swiss albino Male Mice. Drug and Chemical Toxicology, ISSN: 0148-0545, 1525-6014.
- [177] Cavas, T., Cinkilic, N., Vatan, O. and Yılmaz, D., (2014). Effects of Fullerenol Nanoparticles on Acetamidrid Induced Cytotoxicity and Genotoxicity in Cultured Human Lung Fibroblasts. Pesticide Biochemistry and Physiology, 114, 1-7.
- [178] Bansal, M., Kaur, G. and Chaudhry, A., (2011). Evaluation of Genotoxicity of Acetamidrid Using PCR Technique on Mosquito Genome. Journal of Applied and Natural Science, 3 (2), 200-205.
- [179] Kocaman, A. Y. and Topaktaş, M., (2009). Genotoxic Effects of a Particular Mixture of Acetamidrid and a-Cypermethrin on Chromosome Aberration, Sister Chromatid Exchange, and Micronucleus Formation in Human Peripheral Blood Lymphocytes. Environmental Toxicology, 25(2), 157-168.
- [180] Goc Rastgele, P., (2017). Assessment of the Combined Effects of Acetamidrid and Propineb *In vivo*. Iğdir University Journal of Institute of Science and Tecnology, 7(1), 79-86.
- [181] Karabay, N. U. and Oguz, M. G., (2005). Cytogenetic and Genotoxic Effects of the Insecticides, Imidacloprid and Methamidophos. Genetics and Molecular Research, 4(4), 653-662.

- [182] Bansal, M., Kaur, G. and Chaudhry, A., (2012). Pesticides Effect on Genetic Components: A Genotoxic Study on *Culex quinquefasciatus* by Applying Dominant Lethal Test. *International Journal of Advanced Biological Research*, 2(4), 685-690.
- [183] Rust, M. K. and Saran, R. K., (2008). Toxicity Repellency and Effects of Acetamiprid on Western Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(4), 1360-1366.
- [184] Bagri, P., Kumar, V. and Sikka, A. K., (2016). Assessment of Imidacloprid-Induced Mutagenic Effects in Somatic Cells of Swiss albino Male Mice. *Journal Drug and Chemical Toxicology*, 39(4), 412-417.
- [185] Costa, C., Silvani, V., Melchini, A., Catania, S., Heffron, J. J., Trovato, A. and Pasquale, R. De., (2009). Genotoxicity of Imidacloprid in Relation to Metabolic Activation and Composition of the Commercial, *Mutation Research*, 672(1), 40-44.
- [186] Ansoar-Rodríguez, Y., Christofolletti, C. A., Marcato, A. C., Correia, J. E., Bueno, O. C. and Malaspina, O., (2015). Genotoxic Potential of the Insecticide Imidacloprid in a Non-Target Organism (*Oreochromis niloticus*-Pisces). *Journal of Environmental Protection*, 6, 1360-1367.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyadı : Şafak Sandayuk

Doğum Tarihi : 21.06.1992

Doğum Yeri : KARS

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Serhat Sağlık Meslek Lisesi 2010

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji 2015

Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

Çalıştığı Kurum : Arnavutköy Devlet Hastanesi/2011