



**DELTAMETRİN İNSEKTİSİTİNİN OVA
KURBAĞALARI (*Pelophylax ridibundus*)
ÜZERİNE AKUT TOKSİK ETKİLERİ**

Faten ALNOAIMI

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalı
Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN
2019
Her Hakkı Saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DELTAMETRİN İNSEKTİSİTİNİN OVA KURBAĞALARI
(*Pelophylax ridibundus*) ÜZERİNE AKUT TOKSİK ETKİLERİ

Faten ALNOAIMI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Genel Biyoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2019

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

DELTAMETRİN İNSEKTİSİTİNİN OVA KURBAĞALARI (*Pelophylax ridibundus*) ÜZERİNE AKUT TOKSİK ETKİLERİ

Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN'ın danışmanlığında **Faten ALNOAIMI** tarafından hazırlanan bu çalışma **26/06/2019** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı – Genel Biyoloji Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak **oybirliği/oyçokluğu** (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Fatime GEYİKOĞLU

İmza :

Üye : Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hasan TÜRKEZ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu **11/07/2019** tarih ve **28/77** nolu kararı
ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DELTAMETRİN İNSEKTİSİTİNİN OVA KURBAĞALARI (*Pelophylax ridibundus*) ÜZERİNE AKUT TOKSİK ETKİLERİ

Faten ALNOAIMI

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı
Genel Biyoloji Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN

Piretroidler veterinerlikte, toplum sağlığında ve özellikle tarımda oldukça geniş kullanıma sahip sentetik insektisitlerdir. Piretroid II grubu insektisitlerinden olan Deltametrin tüm dünyada ve Türkiye’de yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu insektisit Erzurum’da zirai mücadele ilacı olarak güncel kullanımı devam etmektedir. Tarım alanlarında yaşayan ikiyaşamlıların sürekli olarak yağışlar, drenaj veya sızıntı yoluyla suya karışan insektisit gibi kimyasal maddelere maruz kaldıkları bilinmektedir. Üstelik ikiyaşamlıların popülasyonlarının azalmasında insektisitler önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada oral yolla 3 farklı dozda (0.625, 1.25 ve 2.50 mg/kg vücut ağırlığı) 96 saat süreyle uygulanan Deltametrin’in ova kurbağasındaki (*Pelophylax ridibundus*) akut toksik etkileri araştırılmıştır. Kurbağaların önemli bazı organlarındaki histopatolojik anormallikler kantitatif olarak değerlendirilmiştir. İnsektisit verilen kurbağaların karaciğer, sindirim sistemi, böbrek ve akciğerlerinde çeşitli patolojik anormallikler tespit edilmiştir. Histopatolojik değişikliklerin orta ve yüksek doz grubunda, diğer gruplara göre belirgin bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Deltametrin’in genotoksik etkilerini belirlemek için kurbağaların periferik kanları kullanıldı. Genotoksisite, eritrositik çekirdek anormalliklerinin oluşum frekansına bakılarak belirlenmiştir. Genotoksisite bakımından düşük doz ve kontrol grubu kurbağalarında istatistiksel olarak bir artış gözlenmemiştir. Ancak orta ve özellikle yüksek doz uygulanan kurbağalarda genotoksisitenin arttığı anlaşılmıştır.

2019, 94 sayfa

Anahtar Kelimeler: Deltametrin, İnsektisit, Histopatoloji, Genotoksisite, *Pelophylax ridibundus*.

ABSTRACT

MS Thesis

ACUTE TOXIC EFFECTS OF DELTAMETHRIN INSECTICIDE ON MARSH FROG (*Pelophylax ridibundus*)

Faten ALNOAIMI

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology
Department of General Biology

Supervisor: Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN

Pyrethroids are synthetic insecticides widely used in agriculture, public health, and veterinary medicine. Deltamethrin, a type II pyrethroid insecticide, are also widely used in the world and especially Turkey. The insecticide continues to be used in agricultural areas of Erzurum plain. It is known that amphibians inhabiting agricultural areas are constantly exposed to chemicals such as insecticides, which reach the aquatic environment through runoff, drainage, and leaching. Also, insecticides have long been considered to a risk factor of the amphibian population declines. The aim of the present study was to investigate the effects of acute toxicity of three different concentrations (0.625, 1.25 and 2.50 mg/kg body wt) of orally applied Deltamethrin to marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) after 96 h of treatment. The histopathological abnormalities in some organs of the frog were evaluated with quantitative analyses. Various histopathological abnormalities were detected in liver, gastrointestinal system, kidney and lung tissues of the frogs. Histopathological changes were more prominent in medium and high-dose groups than the other groups. To determine the genotoxic effects of Deltametrin, it was used the peripheral blood samples of the frogs. Genotoxicity assays such as erythrocytic nuclear abnormalities were carried out on the frogs. The genotoxic effects did not show significant increasing between control and low dose groups, statistically. However, the genotoxic effects increased in medium dose and especially high dose groups.

2019, 94 pages

Keywords: Deltamethrin, Insecticide, Histopathology, Genotoxicity, *Pelophylax ridibundus*.

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum bu çalışma Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Hayvan Fizyolojisi ve Histolojisi Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Çalışmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan, bilgi, deneyim ve önerileriyle bana yol gösteren tez danışmanım, değerli hocam Sayın Prof. Dr. Turgay ŞİŞMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımda kullandığım kurbağa örneklerinin tür teşhisinde yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yahya TEPE'ye, laboratuvar çalışmalarına yardımcı olan Dr. Hatice DANE, Dr. Şeymanur ADİL, Özge ÇAKMAK ve diğer arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Aramızda uzun mesafeler olmasına rağmen heran fikrim ve kalbimde olan anneme, babama, aileme ve bana her daim destek veren asil insanlara teşekkürlerimi sunarım.

Faten ALNOAIMI

Haziran, 2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Pestisitler	2
1.1.1. Pestisitlerin tarihçesi.....	3
1.1.2. Pestisitlerin sınıflandırılması	4
1.1.3. Tarımda pestisitlerin rolü	6
1.1.4. Çevreye karışan pestisitler.....	8
1.1.5. Dünyada ve Türkiye’de pestisit kullanımı	11
1.1.6. Pestisitlerin sağlık üzerine etkileri	12
1.1.7. Kimyasal kontrolünde güncel durum	14
1.1.8. Pestisit kirliliğinin önlenmesi için yapılması gerekenler	15
1.2. Deltametrin.....	16
1.3. Amfibiler	18
1.3.1. <i>Pelophylax ridibundus</i> (Ova kurbağası).....	20
1.4. Pestisitler ve Amfibiler.....	21
2. KAYNAK ÖZETLERİ	24
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	29
3.1. Çalışmada Kullanılan Kurbağa Türü.....	29
3.2. Akut Toksisite Testi	29
3.2.1. Kondisyon faktörü (KF)	32
3.2.2. Histopatolojik yöntem	32
3.2.3. Genotoksik analiz	35
3.3. İstatistik	36
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	37

4.1. Kondisyon Faktörü	37
4.2. Histopatolojik Bulgular	37
4.2.1. Karaciğerde histopatolojisi	38
4.2.2. Sindirim sistemi histopatolojisi	45
4.2.3. Böbrek histopatolojisi	55
4.2.4. Akciğer histopatolojisi	61
4.3. Genotoksik Bulgular	65
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	69
KAYNAKLAR	80
EKLER	92
EK 1	92
EK 2	93
EK 3	94
ÖZGEÇMİŞ	95

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

gr	Gram
kg/ha	Kilogram/hektar
km	Kilometre
L	Litre
m	Metre
m ³	Metre küp
m ³ /sn	Metre küp/saniye
mg	Miligram
mg/g	Miligram/Gram
mg/kg	Miligram/Kilogram
mg/L	Miligram/litre
mL	Mililitre
nm	Nanometre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar

DDT	Dikloro Difenil Trikloroetan
DTC	Degree of Tissue Change
EPA	Environmental Protection Agency
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
WHO	World Health Organization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya genelinde pestisitlere harcanan para	7
Şekil 3.1. <i>Pelophylax ridibundus</i> (Ova kurbağası, ♀), dorsal görünüş	29
Şekil 3.2. Kurbağaların yaşatıldığı daimi akvaryum sistemi.	30
Şekil 3.3. Deltametrin'in ticari formu ve akvaryum sistemi.....	31
Şekil 3.4. Diseksiyonu yapılmış <i>Pelophylax ridibundus</i> örneği (♀)	33
Şekil 4.1. Kontrol grubu kurbağada normal karaciğer kesiti	39
Şekil 4.2. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	40
Şekil 4.3. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	40
Şekil 4.4. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	41
Şekil 4.5. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	41
Şekil 4.6. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	42
Şekil 4.7. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	42
Şekil 4.8. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	43
Şekil 4.9. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	43
Şekil 4.10. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	44
Şekil 4.11. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti	44
Şekil 4.12. Kontrol grubu kurbağada normal mide kesiti.....	46
Şekil 4.13. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın özofagus kesiti.....	47
Şekil 4.14. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın özofagus kesiti.....	47
Şekil 4.15. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın özofagus kesiti.....	48
Şekil 4.16. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti	49
Şekil 4.17. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti	49
Şekil 4.18. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti	50
Şekil 4.19. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti	50
Şekil 4.20. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti	51
Şekil 4.21. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti	51
Şekil 4.22. Kontrol grubu kurbağada normal barsak kesiti	52
Şekil 4.23. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti.....	53
Şekil 4.24. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti.....	53

Şekil 4.25. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti.....	54
Şekil 4.26. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti.....	54
Şekil 4.27. Kontrol grubu kurbağada normal böbrek kesiti.....	56
Şekil 4.28. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	57
Şekil 4.29. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	57
Şekil 4.30. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	58
Şekil 4.31. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	58
Şekil 4.32. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	59
Şekil 4.33. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	59
Şekil 4.34. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti	60
Şekil 4.35. Kontrol grubu kurbağada normal akciğer kesiti	61
Şekil 4.36. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti	62
Şekil 4.37. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti	63
Şekil 4.38. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti	63
Şekil 4.39. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti	64
Şekil 4.40. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada çekirdekli ve normal çekirdekli eritrositler	66
Şekil 4.41. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada tomurcuklu çekirdek	66
Şekil 4.42. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada böbrek şekilli çekirdek	67
Şekil 4.43. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada çift çekirdek	67
Şekil 4.44. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada mikro çekirdek.....	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Deltametrin'e maruz kalan kurbağaların KF değerleri.....	37
Çizelge 4.2. Belirli dozlarda Deltametrin'e maruz kalan <i>Pelopylax ridibundus</i> türü kurbağalarda tespit edilen histopatolojik hasarlar.....	38
Çizelge 4.3. Karaciğer için hesaplanan DTC değeri.....	45
Çizelge 4.4. Sindirim sistemi için hesaplanan DTC değeri	55
Çizelge 4.5. Böbrek için hesaplanan DTC değeri.....	60
Çizelge 4.6. Akciğer için hesaplanan DTC değeri.....	64
Çizelge 4.7. Farklı dozlarda Deltametrin'e maruz kalmış kurbağaların kan hücrelerinde tespit edilen eritrositik çekirdek anormalliklerinin ortalama değerleri.....	65

1. GİRİŞ

Sentetik kimyasallar çevresel kaliteyi etkileyen ve değiştiren kirleticiler içinde en önemli olanlarıdır. Bu kimyasallar içinde de pestisitler çevreye kasıtlı olarak bulaştırılmaktadır. Artan insan nüfusunu beslemek ve daha fazla ürünü daha kısa sürede temin etmenin yolu maalesef pestisit kullanımını yaygınlaştırmaktadır. Bu yaygın kullanım aynı zamanda yaşayan veya aynı ortamda bulunan, hedef olmayan türleri de etkilemektedir (Mann et al. 2009; Pisa et al. 2015). Zaman, para ve insan gücü gibi faktörleri minimize etme amacıyla pestisit karışımları da sık sık tarımda uygulanmaktadır (Cloyd 2012). Uygulama sonrası, bazı pestisitlerin çevrede kalıcılığı, mahsullere uygulama sona erdikten sonra, sağlıklı ekosistem fonksiyonunun aksamasına ek olarak, hedef dışı organizmaları sayısız bileşiğe maruz kalma riski altında bırakabilmektedir (Goulson 2013; Köhler and Triebskorn 2013). Çoklu pestisit kullanımının potansiyel zararlarını belirleyebilmek için Kümülatif Risk Değerlendirmesi (Cumulative Risk Assessment: CRA) çalışmaları geliştirmiştir (USEPA 2007; Meek et al. 2011; Moretto et al. 2016). Eşzamanlı olarak ortamda bulunan pestisitler, uygulama sonrası, sıklıkla farklı etki mekanizmalarına (Modes of Action: MOA) sahiptir ve bu nedenle risk değerlendiricileri için özellikle zorlayıcı olmuştur (Moretto et al. 2016). Üstelik pestisitlerin hedef organizma üzerine olan etkileri hedef dışı organizmalardan daha farklı da olabilmektedir (Hayes et al. 2006).

Farklı yaşam döngülerinden dolayı özellikle amfibiler, hem karasal hem de sucul ortamda larva, genç ve ergin dönemlerinde olmak üzere birçok kez pestisitlerle karşılaşabilmekte ve bu maddelere maruz kalabilmektedirler (Mann et al. 2009; Brühl et al. 2011). Pestisitlerle doğrudan veya bitki örtüsü, toprak veya havuz suyu gibi atık sulardan dolaylı temasın sonucu olarak amfibilerde dermal maruz kalma ve pestisit birikimi olabilmektedir (Van Meter et al. 2015). Birçok hedef dışı organizmada genel pestisit riskleri yeni yeni çözülmeye başlamışken amfibilerle birlikte bu duruma su ve karasal faz eklenerek risk değerlendirme işlemi daha da karmaşık hale gelmiştir (Johnson et al. 2017).

Amfibiler sıklıkla pestisitlere maruz kalmalarına ve çoklu yaşam evrelerine duyarlı olmalarına rağmen, bunlar genellikle risk değerlendirmesi ve kayıt süreci değerlendirmelerinde yetersiz ifade edilmektedir (Brühl et al. 2011). Endokrin bozucu kimyasallar gibi pestisitlerin de amfibi larvaları üzerine deformasyon ve ölüm gibi olumsuz etkilerinin olduğu bilinmekle birlikte (Mann et al. 2009) metamorfozunu tamamlayan ergin amfibilerde yaptığı etkiler tam olarak çalışılamamıştır (Van Meter et al. 2018).

1.1. Pestisitler

İnsanlar yüzyıllarca çevreyi denetim altına alma ve kontrol etme gayreti içerisinde olmuşlardır. Ancak yaşam, çevresel istikrar, ürün satın alma ve benzeri durumlar açısından değerlendirildiğinde bu gayret, hesaplanamayan olasılıkları da beraberinde getirmiştir. Zamanla çevrede tahmin edilmeyen bir takım zararlı organizmalar ortaya çıkmıştır. Zararlı organizmalar insanların besin kaynaklarına ve zenginliklerine zarar veren, hastalık yapan böcekler, bitki patojenleri, yabani otlar, bazı yumuşakçalar, bazı kuşlar, sebze bahçelerine zarar veren kemirgenler, bazen balıklar, solucanlar ve mikroorganizmalar şeklinde geniş bir dağılım gösterir. Dolayısıyla hastalıkları taşıma ihtimali olan ve gıdaların, tarımsal ürünlerin ve hayvan yemlerinin üretimi, işlenmesi, taşınması, depolanması ve pazarlanması aşamalarında bu uygulamaları negatif etkileyecek her türlü canlının yok edilmesi, hayvanlar üzerinde bulunabilecek zararlıların kontrol altına alınması amacıyla kullanılan her türlü sentetik veya doğal maddeye “Pestisit” denir (FAO 2002). Pestisitlerin kullanılması bu açıdan yararlı olabilir. Ancak pestisitlerin potansiyel toksisitelerinden dolayı insanlara ve diğer canlılara zarar verebileceği de bildirilmiştir (Anonim 2012).

Pestisitler çeşitli araştırmacılar tarafından farklı şekillerde de tanımlanmıştır. Örneğin; Karakoç ve Nakiboğlu (2010) pestisitleri insan, hayvan ve bitkilere verilen zararı azaltmak için kullanılan kimyasal bir madde, Sataloğlu vd (2007) ise gıda ürünlerinin değerinde bir azalmaya neden olan, depolamayı ve tüketimini olumsuz yönde etkileyen böcekler, mantarlar, kemirgenler ve zararlı bitkilerle mücadele eden kimyasal maddeler

olarak tarif etmişlerdir. Öğreten (2017)'e göre de pestisitler hayvanların vücudundaki böcekleri ortadan kaldırmak ve hayvan ya da tarımsal ürünlerin üretimi sırasında veya bu ürünlerin taşınması ve depolanması sırasında oluşabilecek hasarları önlemek için kullanılan maddelerdir. Milli Eğitim Bakanlığı Çevre Sağlığı raporuna göre pestisit benzeri maddeler, böcek öldürücüler, böcek ilacı benzeri malzemeler, bazıları da biyopreparatlar, böcek ve bitki büyüme düzenleyicileri, feromonlar ve diğer cezbedici maddeler, yem bağlayıcıları, böcek kovucular, tuzaklar, bitki uyarıcıları, müstahzarlar ve benzeri maddeler, fizyolojik hastalıkların tedavisinde kullanılan maddeler olarak tanımlanmıştır (Anonim 2012).

Pestisitlerin başlıca uygulama ve kullanım alanları ise şunlardır: Tarımsal üretim, bahçecilik, ormancılık, süs amaçlı bölgeler (parklar, bahçeler, oyun alanları), ev ve bahçeler, tütsüleme ve kereste korumacılığı, inşaat (duvar kağıdı yapıştırıcıları, boyalar, sıvacılık vb), balık yetiştiriciliği, endüstriyel böcek kontrolü, sucul böcek kontrolü, toplum hijyeni, böcek kontrolü, beşeri ilaç olarak, gıda saklanması ve hayvancılık (Anonim 2012).

1.1.1. Pestisitlerin tarihçesi

Yapılan araştırmalara göre ilk pestisit elementel kükürt tozu olup 4500 yıl önce Mezopotamyada Sümerlilerce kullanılmıştır. M.Ö. 1000 yıllarında Homer kükürt fumigasyonundan söz etmektedir. M.Ö. 470'de Democritus, bitki küflenmesine engel olabilmesi için yapraklarını zeytin ekstresinden elde edilen yağla kaplamıştır. Yine M.Ö. 200'lü yıllarında Cato, üzüm bağlarında kükürt dumanını kullanmıştır. Sıçan mücadelesi için akçöpleme otu (*Helleborus*) Romalılar tarafından kullanılmıştır. Pliny the Elder tarafından M.S. 77'de yazılan *Historia Naturalis* kitabında buğdayın paslanmaması için şarabın tahılı tohumlarının üzerine yerleştirilmesi önerilmiştir. Böcek ilacı ve pestisit kontrolü olarak kullanılan ilk maddeler arsenik ve kükürttür. Çinliler M.S. 900'lü yıllarda bahçe böcekleriyle mücadelede arsenik kullanmışlar, ayrıca bitkileri ve ağaçları böceklerden korunmak için karıncalardan faydalanmışlardır (Açar 2015).

15. yüzyılda arsenik, civa ve kurşun gibi zararlı kimyasal maddeler tarımsal faaliyetlerde zararlıların öldürülmesinde faydalanılmıştır. Nikotin gibi bitkisel materyallerin kullanımı 16. yüzyılda başlamış ve bunu krizantemden elde edilen pyrethrum (pire otu), Colorado patates böceğine karşı Amerika Birleşik Devletleri'nde kullanılan bakır zırnık bileşimleri izlemiştir. Kurşun ve civa gibi mineral bileşiklerinin kullanımı çok sonraları olmuştur (İstanbulluoğlu vd 2009). Pire otu ve retron, 19. yüzyılda kullanılan iki doğal pestisit olmuştur (Miller 2002). Bu yüzyılın ortalarına kadar canlıları kimyasal kullanarak kontrolde tutmak adına sınırlı bir kaç üründen faydalanılmıştır. Bunlar yüksek oranda bakır ve civa tuzları, kükürt, arsenik ve siyanür gibi fungusit ve insektisitlerdir.

Pestisitlerin yoğun kullanımı 1940'lı yılların ortalarında başlamıştır. İsviçreli bilim adamı Paul Mueller, DDT (diklorodifenil trikloroetan) maddesinin pestisit özelliklerini 1939 yılında ilk kez belirlemiştir ve 1942'de yaygın olarak kullanılmıştır. DDT aynı yıl İtalya'da askeri birliklerdeki tifüsün kısa sürede etkisiz hale getirilmesini de sağlamıştır. II. Dünya Savaşı 'nda, organofosforlu bir insektisit olan Parathion, yeni bir sinir gazı üzerinde çalışan alman bilim adamları tarafından bulunmuştur ve 1943 yılında satışa sunulmuştur. 1940'lı yılların başında, yine fenoksi herbisitlerin 2, 4-D, ve 2, 4, 5-T herbisitlerin kullanımı başlamıştır. ABD'de ve diğer ülkelerde İkinci Dünya Savaşı'nda bitki kökenli pestisitlerin ülkeye girişi zorlaştığında organik kimyasallara yönelim başlamıştır. 1962'de Amerikalı zoolog Rachel Carson tarafından yazılan "Silent Spring: Sessiz Bahar" kitabı sınırsız böcek ilacı kullanımını ilk kez tüm boyutlarıyla açıkladığında başta DDT, Aldrin ve Dieldrin'in olumsuz etkilerini ortaya koymuştur (Güler 2011). Ancak zararları kısa sürede tespit edilen pestisitlere karşı ilk yasa ABD'de 1947 yılında çıkartılmış ve EPA (Environmental Protection Agency) 1970'de kurulmuştur (Anonim 2012).

1.1.2. Pestisitlerin sınıflandırılması

Pestisitler; etkiledikleri canlı çeşitlerine, uygulandıkları alanlara, kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmışlardır. Etkiledikleri canlı çeşitlerine ve uygulanan alanlarına göre

pestisitler sınıflandırmasında pestisite ismini pestisitın hedef aldığı canlı organizma verir. Böcekleri öldürenlere insektisit, kemirgenleri öldürenlere rodendisitler, mantarları öldürenlere fungusit, bakterileri öldürenlere bakterisit, keneleri öldürenlere mitisit, larvaları öldürenlere larvisit, solucanları öldürenlere nematositler, örümcekleri öldürenlere akarisit, salyangozları öldürenlere mollusitler, tarımsal yabancı otları öldürenlere herbisit denmektedir (USEPA 2009). Kimyasal özelliklerine göre pestisitler çok farklı biçimlerde isimlendirilirler. Genel olarak dört temel pestisit grubu vardır. Bunlar; organikklorlu, organikfosforlu, karbamatlı ve piretroid grubu pestisitler şeklindedir.

Organikklorlu pestisitlere organikklorlu denmesinin sebebi, kimyasal yapılarında karbon ve hidrojenle birlikte klor atomu içermeleridir. En meşhurları DDT, aldrin, dieldrin, heptachlor, endosulfan, lindane ve endrindir. Çevrede sebep oldukları problemler dolayısıyla bu grupta bulunan ilaçların kullanımı yasaktır ve kontrol altındadır. Dokunma ve nefes yolu ile etkilerini gösterirler. Organikfosforlu pestisitler genellikle triester yapısındadırlar ve fosforik asitten türevlenirler. Kimyasal yapısındaki fosfor asıl etken maddesidir. Chlorpyrifos, coumaphos, diazinon, dichlorvos, malathion, trichlorfon, parathion ve mevinphos organikfosforlu pestisite örnek olarak verilebilir. Bu pestisitlerin kimyasal içeriğinde oldukça fazla sayıda etken madde bulunur. Bu çeşitliliğin sebebi triester yapısında bulunan ester gruplarıdır. Bu pestisitler etkilerini temas, sindirim ve nefes yolu ile gösterirler. Böceklerin ergin, larva ve nimf dönemlerini kontrol altında tutmak için kullanılırlar. Karbamatlı pestisitler karbamik asit esterleri içerir. Aldicarb, carbaryl, carbofuran, methiocarb, methomyl, oxamyl, pirimicarb örnek olarak verilebilir. Piretroidler de piretrinlerin sentetik analoglarıdır. Piretrin ise *Chrysanthemum* bitkisinden elde edilir. Piretroidlerin ışığa karşı hassasiyetleri oldukça azaltılmış, diğer çevresel unsurlara karşı dirençleri arttırılmış bileşiklerdir. Piretrinler ve piretroidler sinerjistik etki oluşturmak için beraber kullanılırlar. Alpha-cypermethrin, cyfluthrin, bifenthrin, lamda-cyhalothrin, deltamethrin, permethrin ve fenvalerate piretroid grubu pestisitlere örnek olarak verilebilir. Nöronları etkisiz hale getirerek toksisitesini gösterir. Homoioterm (sıcakkanlı) canlılara karşı toksik etkisi çok azdır. Kazara memeli hayvanların vücuduna

girerse birikmeden boşaltımı olabilmektedir. Doğada çok kolay parçalanabilir (Açar 2015).

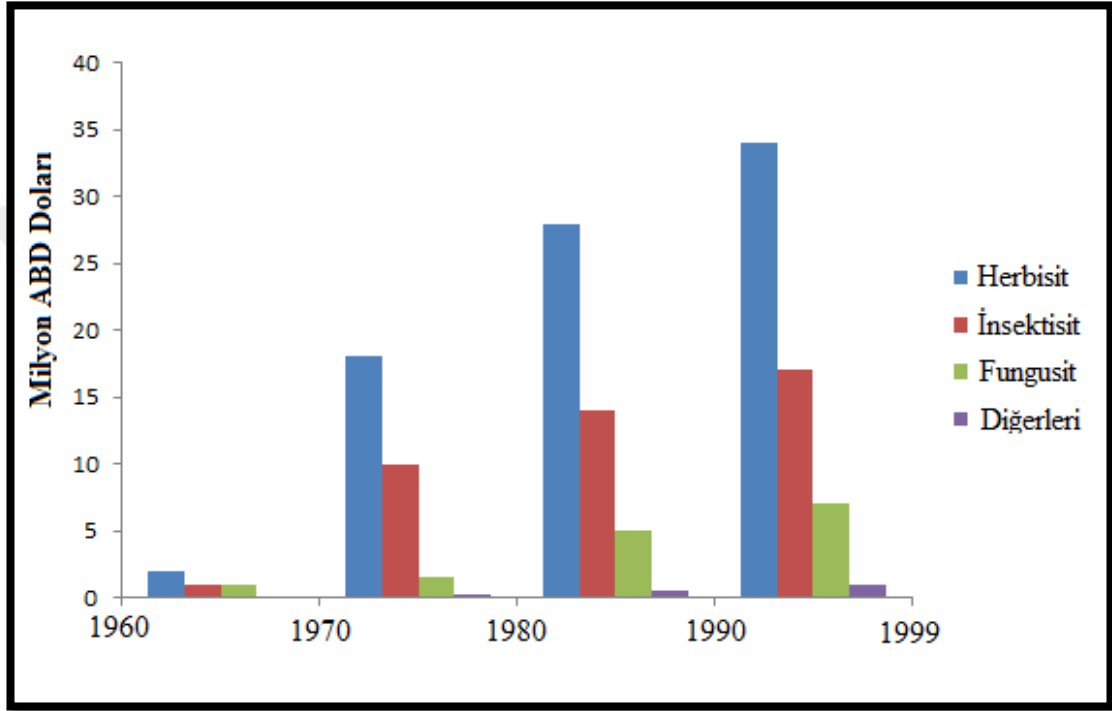
Bu sınıflandırmaya dahil edilmeyen başka bir pestisit grubu da vardır. Bunlar Biyopestisitler'dir. Biyopestisitler hayvanlar, bitkiler, bakteriler ve çeşitli mineraller gibi birçok doğal maddeden elde edilen ve zararlılarla mücadelede kullanılan ürünlerdir. Biyopestisitler; mikroorganizma, yararlı böcekler, yabancı ot patojenleri ve endopatojenik nematodların kullanılması esasına dayanan maddelerdir. Bunlar; patojen mantarlar, bakteriler, virüsler ve protozoaları ihtiva ederler. Biyopestisit olarak yukarıda sıralanan gruplarda olacak şekilde bugüne kadar çok sayıda ürün ruhsat almıştır. 1998 sonunda yaklaşık 185 biyopestisit aktif bileşeni ve 700 ürün tescil edilmiştir. Bu sayı zamanla artmış, 1999-2002 yılları arasında yaklaşık 131 ürün Çevre Koruma Ajansı (EPA-Environmental Protection Agency) tarafından ruhsatlandırılmıştır. Mikrobiyal, bitkisel ve biyokimyasal olmak üzere üç tip biyopestisit vardır. Bunlardan en çok tercih edileni bir çeşit mikrobiyal pestisit türü *Bacillus thuringiensis*'dir. Bu mikroorganizma özellikle lahana, patates ve diğer bitkilerdeki haşaratı kontrol edebilmektedir. *B. thuringiensis*'in farklı suşları sivrisinekleri de seçkin şekilde öldürür, etkisini insekt larvalarına karşı özel etkili olan proteinler üreterek göstermektedir (Yarsan ve Çevik, 2007).

1.1.3. Tarımda pestisitlerin rolü

20. yüzyılın başlarında artan insan nüfusu ile birlikte tarımsal üretim de artmıştır. Son yüzyıl içinde insan nüfusu yaklaşık 1.5 milyar daha artarak 2000'li yılların başında toplam dünya nüfusu 6.1 milyar olmuştur. Birleşmiş Milletler verilerine göre artış bu hızla giderse 2050 yılında toplam nüfus 9.4-10 milyar olacaktır (BM 2015). 20. yüzyıldaki popülasyon artışı besin üretimi, dolayısıyla tarımsal ilaçlar üretiminin artması ile mümkün olabilmektedir.

1940'lı yıllarda gıda üretimini arttırmak için sentetik tahıl koruyucu maddelerin üretimine izin verilmiştir. 1950'lerde 0,2 milyon ton olan üretim 2000'li yıllarda 50

milyon tona ulaşmıştır. Tüm dünya genelinde pestisit üretimi her yıl %11 oranında artmaktadır (FAO, 2017). Pestisit satışları pestisitlerin tüm tiplerinde gerçekleşmektedir. Ancak herbisit, insektisit ve fungusitler pestisitler içinde en çok satılan ilk üç grubu oluşturmaktadır (Carvalho et al. 2017) (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Dünya genelinde pestisitlere harcanan para (Roser and Ortiz-Ospina 2017).

Çoğu patentli olduğundan ve maliyet oranları değiştiğinden dolayı pestisitlerin kullanımı dünya genelinde aynı olmamıştır. Bu değişimde iklim ve coğrafi konumun da etkisi olmuştur. Asya ve Güney Amerika kıtasında FAO verilerine göre 2005-2009 yılları arasında, ortalama hektar başına kullanılan pestisit miktarı 6,5-60 kg olarak tespit edilmiştir (FAO 2013). Kuzey Amerika ve Batı Avrupa’da son 10 yılda herbisit kullanımı, Asya’da ise herbisit yerine insektisit kullanımı artmıştır. 1940’larda üretilen ilk sentetik pestisitlerden olan DDT tarımdan başka insanlarda ve çiftlik hayvanlarında parazit kontrolünde de kullanılmış, ancak sonraları kullanımı yasaklanmış olmasına rağmen Güney Asya’da bu pestisit kurutulmuş balıkların depolanmasında gıda koruyucu olarak hala kullanılmaktadır. Hatta illegal bir şekilde tropik bölgelerde haşere

ve malarya vektörlerinin kontrolünde DDT kullanımı devam etmektedir (Taylor et al. 2003).

1.1.4. Çevreye karışan pestisitler

Tarım alanlarında pestisit uygulanmasında işçiler tarafından elle yapılan püskürtme işleminden yaya ve uçakla püskürtme tekniklerine kadar çok farklı teknikler kullanılmaktadır. Farklı bölgelerde ve farklı zamanlarda bu tekniklerden bazıları ya da hepsi uygulanabilmektedir. Çiftçilerin, tarım işçilerinin ve ailelerinin zehirlenmesi ile ilgili birçok vaka, pestisit uygulamaları sırasında ortaya çıkmış ve sentetik kimyasalların zehirlenmesi ve insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri bildirilmiştir. Kasıtsız pestisit zehirlenmelerin her yıl dünya çapında yaklaşık 355.000 kişiyi öldürdüğü ve bu zehirlenmelerin aşırı maruz kalma ve toksik kimyasalların uygunsuz kullanımı ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu rapor edilmiştir (WHO 1990, 2012; Alavanja 2009; Alavanja and Bonner 2012). Pestisitlerin insan dışında çevrede ve özellikle arılarda, kuşlarda, amfibilerde, balıklarda ve küçük memelilerde de dağılım gösterdiği yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Köhler and Triebskorn 2013; Paoli et al. 2015; WHO 2017). İlk raporlar ve yapılandırılmış olay raporlama sistemleri, kimyasal dozaj ve en iyi uygulama süreleri de dahil olmak üzere, pestisit uygulamaları için düzenlemelerin geliştirilmesine yardımcı olmuştur (Hester and Harrison 2017). Yıllar geçtikçe, bu kimyasalların çevrelerindeki davranışlarını, çevrimlerini ve kaderlerini ve ayrıca biyota toksisitelerini de içerecek şekilde anlamak için önemli bir araştırma çabası geliştirilmiştir. Sentetik kimyasalların kullanımının başlamasından kısa bir süre sonra, mahsul koruma ilaçlarının uygulanmasının sadece yerel ölçekte değil aynı zamanda küresel ölçekte de kirlenmeye neden olduğu anlaşılmıştır (Güler 2011).

Örneğin Nikaragua'daki pamuk ekiminde uygulanan toksafen gibi kimyasallar, her yıl toprakta kalmış, kirlettiği su havzalarına ve kıyı göllerine yüzey akıntısı ile taşınarak suda yaşayan organizmaları olumsuz etkilemiştir (Carvalho et al. 1992, 2003). DDT'nin tahıllara uygulandığı, sucul sistemlere karışarak hızla metabolize olduğu ve DDE'ye dönüşerek biyoakümülsiyona uğradığı, sucul besin zinciri yoluyla insanlara kadar

ulaştığı rapor edilmiştir (Kale et al. 1999). Endosülfanın bakteriler tarafından endosülfan sülfata metabolize edildiği bulunmuş ve bu metabolitin toprak ve sedimentte toksik bir kimyasal olarak kaldığı da bildirilmiştir (Carvalho et al. 2002a, 2002b). Genellikle bu gibi metabolit ve pestisitlerin uygulama yerinde çok uzak bölgelere ulaşabildiği ve buralarda biriktiği görülmüştür (Taylor et al. 2003). Başka bir çalışmada, Güney Amerika'da tarımda kullanılan heksasikloheksanlar, klordan ve toksafen gibi pestisitlerin buharlaşarak atmosfere karıştığı, soğuk havalarda yoğunlaşarak Kanada'daki Büyük Göller'e kadar ulaştığı tespit edilmiştir (Li and Jin 2013). Aynı durum Güney Asya'da kullanılan heksasikloheksan kullanımında da gözlenmiştir (Simonich and Hites 1995). Uçucu olan bu bileşikler hızlı bir şekilde atmosfere karışıp uygulama sahalarından çok uzaklara taşınabilmektedir. Organoklorlu pestisitlerin bu yolla yayıldığından bulunmasından sonra klorpirifos gibi organofosfatlı pestisitlerin Orta Amerika muz bahçelerinden Kuzey Kutbu buzullarına kadar yayıldığı bildirilmiştir (Garbarino et al. 2002).

Çevrede uzun süre bozulmadan kalan ilk pestisit grubu organoklorlu pestisitler olup bu pestisitlerin toprak ve sedimentte uzun süre kalarak insan hariç tüm canlılarda biriktiği ve populasyon düzeyinde toksik etkiler yaptığı bulunmuştur (Köhler and Triebskorn 2013). Organoklorlu pestisit kalıntıları insana besin zinciri yoluyla ulaşmakta ve insan sağlığını da bozmaktadır. Çevreye dayanıklılığı fazla olan bu pestisitlerin yerine daha az dayanıklı, yarı ömürleri daha kısa olan organofosfat, karbamat ve piretroit grubu kimyasallar üretilmiştir. Sucul sistemlerde organofosfatlı pestisitlerin hızlıca parçalandığı, ancak deneysel çalışmalarda bu bileşiklerin parçalanması için günler, hatta haftalar geçmesi gerektiği, kabuklular ve balıklarda da biriktiği anlaşılmıştır (Carvalho et al. 1992).

Kimyasal yapıları farklı olan pestisitler farklı toksik etki mekanizmalarına sahiptirler ve hedef canlı üzerine farklı yollarla etki ederler. DDT, endosülfan, heksasikloheksan, heptaklor, aldrin ve klordan gibi organoklorlular oldukça etkili kontak insektisitleridir ve steroid hormonlara yapısal olarak benzediklerinden dolayı hormon reseptörüne etki ederler (Tebourbi et al. 2011). Parathion, malathion, klorpirifos, diazinon, diklorvos gibi

organofosfatlı insektisitler ve aldikarb, karbofuran, ethienokarb, fenobukarb, metomil gibi karbamatlı herbisit ve fungusitler asetilkolintransferaz enzimini inhibe edip sinirsel iletimi bozarak etki ederler. Sipermetrin, deltametrin, esfenvalerat, fenvalerat gibi piretroidler ise voltaj bağılı sodyum kanallarına etki ederek hücre zarı Na iyon kanallarını işlemez hale getirirler. Asetamiprid, klothianidin, dinotefuran, imidacloprid neonikotinoidleri de nikotinik asetil kolin reseptörlerine agonist çalışarak nörotoksik etki göstermektedirler. Böylece böcek sinir sistemi çalışmadığı için felç ve ölüm olmaktadır (Tomizawa and Casida 2005).

Toksik etki mekanizması hedef canlı-böceklerle sınırlı olmayıp biyolojik çeşitlilik ve ekosistemlerin sağlığına zarar veren hedef dışı benzer organizmalarda da aynı şekilde işlemektedir. Organoklorlular karasal besin zincirlerindeki en büyük avcılar olan yırtıcı kuşları ağır şekilde etkilemiş, süt yağı ile yenidoğanlara geçerek hayvan ve insan yağ dokularında birikmiş ve endokrin bozucu olarak görev yapmıştır (EEA 2013). Organofosfatlı pestisitlerin böcekler, karides, yengeç ve diğer kabukluları içeren eklembacaklılar ve ayrıca diğer omurgalılar üzerine toksik etkisinin oldukça fazla olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde piretroidler de böcekler ve omurgalılar üzerine toksik etkilidir. Herbisitler olarak kullanılan diğer birçok bileşik, merkezi sinir sistemi ve memelilerin boşaltım sistemi üzerinde de etki göstermiştir (Casida 2009; Singh et al. 2016). Pestisitlerin biyota ve çevre üzerine olan etkilerini azaltmak için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Örneğin yeni kimyasal tasarımı, pestisit formülasyonlarındaki değişiklikler, uygulama cihazlarının ve parçalanabilen nanopartikül pestisitlerin geliştirilmesi bu amaçla girişilen bazı iyileştirmelerdir (De et al. 2014).

DDT, heksakloheksan, aldrin ve dieldrin gibi biyoakümüasyonu yüksek olan kararlı pestisitleri Stockholm Antlaşması'na göre 2002 yılından itibaren kullanımı yasaklanmış olup bunların yerine daha çevre dostu ve biyoakümüasyonu düşük olan pestisitlerin kullanılması öngörülmüştür. Son 10 yıldır bu yaklaşım üzerinde durulmuş ve pestisitlerin biyokalıntıları insan besinleri, çevre ve doğal türlerde araştırılmaya başlanmıştır. Ancak geçmişte kullanılan organoklorlu pestisitlere hala toprak ve sediment örneklerinde rastlanmakta ve toksisitesi maalesef devam etmektedir. Örneğin

Nikaragua’da sadece pamuk tarlalarında kullanılan toksafen, uygulamasına son verilmesine rağmen yağmur suları ile taşınarak sucul sistemde canlıları tehdit etmeye devam etmiştir (Carvalho et al. 2002a, 2002b, 2003). Bu tipten pestisitler sadece Tatlısu sistemini değil aynı zamanda denizel ortamda da varlığını sürdürmektedir (Taylor et al. 2003). Mercan resiflerinde dahi pestisit kalıntılarına rastlanmaktadır. Avustralya’daki Büyük Bariyer Mercan Resifi’nde herbisitlerin simbiyotik algleri ve mercan resifini bozduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (Lewis et al. 2009; Smith et al. 2012). Jamieson et al. (2017) yaptıkları bir çalışmada ise derin denizlerde pestisit kalıntılarına rastladıklarını rapor etmişlerdir.

Kararlı pestisitler Avrupa’da artık kullanılmamakta, ancak DDT ve lindan gibi pestisit kalıntılarına Avrupa akarsularında hala rastlanılmaktadır (Rasmussen et al. 2015). Son zamanlarda klorpirifos, parathion, izoproturon ve mecroprop gibi parçalanması daha hızlı olan pestisitler nehir sularında sıklıkla görülmeye başlamıştır (Moreno-Gonzalez and Leon, 2017). Glifosat gibi bu yeni kimyasalların kalıntıları yüzey sularında artan konsantrasyon eğilimi göstermektedir (Portier et al. 2016). Yaygın kimyasal kalıntıların varlığı, yeraltı suyu dahil olmak üzere insani tüketim amaçlı su ve su ürünleri yetiştiriciliği faaliyetleri gibi birçok doğal kaynakları tehlikeye atması oldukça endişe verici olarak değerlendirilmektedir

1.1.5. Dünyada ve Türkiye’de pestisit kullanımı

Dünya pestisit kullanım hemen hemen 45 milyar dolarken Türkiye’de ise neredeyse 600 milyon dolar seviyesinde olduğu tahmin edilmektedir (Anonim 2014). Pestisit kullanımı bakımından Bahamalar (59.4 kg/ha) ve Kolombiya (15.3 kg/ha) gibi Güney Amerika ülkeleri başı çekerken bunları Japonya, Çin, Malezya ve Yeni Zelanda gibi diğer ülkeler takip etmektedir (Blumer 2013). Avrupa’da Hollanda ve İtalya en fazla pestisit kullanan ülkeler olarak bilinmektedir. Ülkemizde ise pestisit miktarı 1,3 kg/ha olduğu tahmin edilmektedir (Burçak 2014).

Türkiye’de bolca tüketilen ve kullanılan pestisitlerin yıllık satış toplamı 1990-2000 yılları arasında yaklaşık 200 - 300 Milyon Dolar arasında değişmektedir. Türkiye’de 2003 senesinde satıcılara verilen pestisit miktarı 29.675 ton iken 2012 yılında bu miktar maalesef 52.397 ton seviyelerine bulmuştur. Aynı senelerde pestisit dış alımı 7.183 tondan 22.675 tona; üretim miktarı ise 23.396 tondan 36.164 tona çıkmıştır (Chakravarty 2014).

Küresel pestisit mali hacminin %89’unu 10 büyük üreticinin kontrolünde tutmaktadır. Avrupalı firmalar bunun hemen hemen yarısını, ABD’li firmalar %25’ini denetimi altında bulundururken, pazarın kalan bölümünü İsrail, Avustralya ve Japon üreticileri denetlemektedir (Rojas 2014).

Ülkemizde yaklaşık 1250 çeşit pestisit tarımsal mücadelede kullanılmaktadır. Pestisit kalıntısı nedeniyle ihraç edilemeyen sebze ve meyvenin iç piyasaya sürüldüğü söylentileri ise işin başka bir boyutudur. Bilimsel verilere göre et ve süt ürünlerinde, hatta anne sütünde dahi pestisit kalıntısına rastlanılmaktadır. Çukurova gibi yoğun tarımın yapıldığı ve dolayısıyla pestisitlerin uygulanan bölgelerde, anne sütünde pestisit kalıntısının dikkat çekici miktarda olduğu tespit edilmiştir (Anonim 2005). Ülkemizde en az pestisit kullanımının Doğu Anadolu ve Karadeniz bölgesinde olduğu bulunmuştur (Anonim 2015). Ülkemizde yoğun tarım yapıldığı bölgelerde ise pestisit kullanımı ulusal ortalamadan tartışmasız olarak daha yüksektir ve bu alanlardaki tüketim maalesef gelişmiş ülkelerin seviyesine ulaşmıştır. Yoğun pestisitlerin tüketildiği Ege ve Akdeniz bölgelerinin meyve ve sebzelerin yetiştirildiği alanların yanı sıra, ihracata yönelik gıda endüstrisi için hammaddeler büyük ölçüde bu alanlardan tedarik edilmektedir. Bu iki bölgenin ülkemizin en işlek ve en kalabalık bölgeleri olup pestisitlere maruziyet riski biraz daha fazladır (Delen vd 2005).

1.1.6. Pestisitlerin sağlık üzerine etkileri

İnsan tarımsal üretimi arttırmak için zirai tarımın yapıldığı alanlarda zararlı bitkilere ve böceklere karşı pestisitleri kullanılmıştır. Ancak aşırı ve bilinçsiz kullanım neticesinde

doğrudan ya da dolaylı şekillerde doğal çevrede istenmeyen problemler ortaya çıkmıştır. Pestisitler tavsiye edilen miktarlarından daha fazla kullanıldığında gıdalarda fazla miktarda pestisit kalıntısı kalmakta ve buda insanlarda ve çevredeki diğer canlılarda akut veya kronik zehirlenmelere neden olabilmektedir (Açar 2015). Hatalı ya da bilinçsiz pestisit kullanımından ortaya çıkan başka problemlerden biri de zararlı organizmalarda ortaya çıkan hassasiyet kaybı ve ardından gelişen dirençtir. Bu durumda kullanılan pestisit hedef canlıyı ortadan kaldıramadığı gibi çevredeki pestisit kalıntısı da artmaktadır (Güler ve Çobanoğlu 1997).

İnsan, pestisitler de dahil olmak üzere bulunduğu çevredeki diğer kimyasallara çeşitli yollarla maruz kalabilir. Bu kimyasallar insan vücuduna şu yollarla ulaşır:

a) Ağız yolu: Pestisitlerin alınışının en yaygın yollarından biridir. Pestisitlerin ağız yolu ile girişi kazara, bilinçsizlik, dikkatsizlik ve kirlenmiş alanlarda yeme ve içme şeklinde olmaktadır. Bu yolla gerçekleşen zararların şiddeti pestisitlerin etken maddesi ve alınan miktar ile bağlantılıdır (Denizli vd 2013).

b) Solunum yolu: Sıvı ve toz ilaçların uygulama esnasında havaya yayılan fume, buhar ve tozlar hava ile taşınıp kazara insan vücuduna soluma yoluyla girmektedir. Solunum yoluyla maruziyet özellikle buharlaşma özelliği yüksek fumigant ilaçlarda çok fazladır (Margni et al. 2002).

c) Deri yolu: Pestisitlerin vücuda girişinde en yaygın yoldur. Deri yoluyla maruziyet, bir pestisit deriden emilme özelliğine bağlıdır. Sıvı pestisitlerden bazıları deriden hızlıca geçmektedir. Vücudun değişik bölgelerinde deriden emilme önemli değişiklikler göstermektedir. Örneğin, bilek ve dirsek kırımından emilim kasık kısmı ile karşılaştırıldığında 11 kat daha hızlıdır. Deri yoluyla zehirlenmenin şiddeti doz, deri kısmının büyüklüğü, ilacın deriye teması durumunda deride kalma süresi, deri üzerindeki pestisit miktarı, deride yara veya kesiğin bulunması gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterir (Denizli vd 2013).

Pestisitler insan üzerinde irritasyon, dermatit, nonspesifik gastroenterit, soğuk algınlığı, nezle, solunum ve kardiyovasküler sistem hastalığı, astım, şiddetli alerji ve hatta ölüm gibi bazı akut etkilere sahiptir. Pestisitlerin bu akut etkileri genel olarak sistemik emilime bağlıdır. Pestisitlerin sağlık üzerine kronik etkileri uzun süre ve sürekli olarak düşük doz maruziyeti ile ortaya çıkmaktadır. Pestisitlerin kronik etkilerinin arasında kanser, doğum defektleri, nörotoksisite, davranışsal bozukluklar, nörofizyolojik değişiklikler, üreme ve fertilite üzerindeki etkiler sayılabilir (Denizli vd 2013).

Pestisitler sadece insanları değil doğal çevreyi de etkilemektedir. Tarımsal faaliyetten sonra pestisitler havaya, suya ve toprağa yayılabilmektedir. Bu alanlarda yaşayan tüm canlılara ulaşan pestisit zamanla dönüşüme uğrar. Bu süreç pestisitlerin kimyasal yapısı, fiziksel özellikleri, formülasyon tipi, uygulama şekli, iklim ve tarımsal koşullar ile ilişkidir. Pestisitler püskürtüldüğünde bir kısmı bitkiler üzerinde kalırken bir kısmı da toprak yüzeyinde kalmaktadır. Havada kalan pestisitler ise rüzgârlarla taşınıp uygulandığı yerden çok uzak bölgelere gitmektedir. Bununla birlikte pestisitlerin kalıntıları yağmur veya kar yağışıyla tekrar yeryüzüne dönmektedir. Bu şekilde çevredeki yaşayan tüm canlılar bu pestisitlerden zarar görmektedir. Toprakta kalan pestisitler, güneş ışınların altında fotokimyasal yıkıma ya da bitki ve toprakta bulunan mikroorganizmaların etkisiyle biyolojik yıkıma uğramakta ve bazen de toprak içinde bulunan pestisitler hava ile tekrar karışabilmektedir (Karsavuran vd 2001).

1.1.7. Kimyasal kontrolünde güncel durum

Nisan 2017 verilerine göre American Chemical Society tarafından sağlanan veri tabanına (www.cas.org) kayıtlı 129 milyondan fazla organik ve inorganik kimyasal madde ve 67 milyondan fazla nükleotit sekansı bulunmaktadır (Carvalho et al. 2017). Buraya hergün ortalama 4000 yeni madde eklenmektedir. Bu verilere göre son on yıla oranla madde miktarındaki artış %15'in de üzerinde gerçekleşmektedir (Binetti et al. 2008). Pestisitler bu kimyasalların içinde küçük bir yer tutmaktadır. US Pesticide Action Network (PAN) verilerine göre 6.400 kadar pestisit etken maddesi vardır ve www.pesticideinfo.org/ web adresinde listelenmiştir. Avrupa Birliği pestisit verilerine

göre ise 1359 pestisit etken maddesinden sadece 700 tanesi kayıtlı olup pestisit olarak kullanılmaktadır (EUROSTAT 2017). Ancak bu kimyasalların toksisitesi hakkında maalesef çok az bilgi bulunmaktadır.

ABD’de EPA 1998 yılında yayımladığı raporunda mevcut pestisitlerin %43’ü hakkında herhangi bir toksisite verisi olmadığını, sadece %7’si hakkında bilgi olduğunu bildirmiştir (USEPA 1998). Aynı şekilde Avrupa’da da listede olan 100.000 maddenin %90’ı hakkında toksikolojik veri olmadığı rapor edilmiştir (Niemela 1992). AB 2007 yılında REACH (Kayıt-Registration, Değerlendirme-Evaluation, Araştırma-Assessment, Kimyasallar-Chemicals) adında yeni bir politika geliştirerek risk grubu oluşturan kimyasalları kayıt altına almayı hedeflemiştir. Çevresel etkili kimyasallar ve toksisiteleri hakkında edinilen bilgiler artmış olsa da riskleri kontrol etmek pek mümkün olamamıştır (EUROSTAT 2012; EEA 2013). AB tarafından yayımlanan son raporda 2004-2013 yılları arasında çevresel zararlı kimyasalların yıllık ortalama üretimi 150 milyon ton olup bu rakam endüstriyel üretimin %40’ına karşılık gelmektedir (EUROSTAT 2017). Bu kimyasalların sucul toksisite çalışmalarına göre daha az zararlı olanları üretilmeye başlanmış, ancak henüz tam anlamıyla başarıya ulaşamamıştır (EUROSTAT 2017). AB, bu kimyasalları insan yaşamından ve doğal çevreden büyük ölçüde kaldırmayı 2020 hedefleri arasına almıştır. Ancak, daha önce değinildiği gibi zararlar ve riskler üzerine yapılan deneylerle kimyasal üretimdeki artış biribiri ile uyumsuz olarak devam etmektedir. Bu risklerin henüz daha kontrol altına alınamadığını göstermektedir (Carvalho et al. 2017).

1.1.8. Pestisit kirliliğinin önlenmesi için yapılması gerekenler

Artan insan nüfusu ile birlikte yiyecek ihtiyacı da hızlı bir şekilde artmaktadır (BM 2015). Bunu karşılamak için değişik alternatifler vardır. Örneğin; daha seçici pestisitler kullanmak ve gelişmiş uygulama teknolojileri de dahil olmak üzere, tarım ilaçlarının yoğun kullanım yolunu sürdürmek bir seçenek olabilir. İnsanların günlük beslenme alışkanlıklarının değiştirilmesi, tarımsal zararlı kontrolünde feromonların ve biyopestisitlerin kullanımı, organik tarım, tarımda yenilikler veya tarımda eskiye dönüş,

zararlılara dayanıklı tohumlar ve daha çok ürün veren tohumların genetiksel olarak elde edilmesi de diğer alternatifler olarak değerlendirilebilir. Sentetik mahsul koruma kimyasalları uygulamada güncel durum, tarımsal zararlıların tanımlanması, buna uygun kimyasal maddenin geliştirilmesi, yan etkilerinin gözlenmesi, yeni sorunların ortaya çıkması ve yine yeni kimyasalların geliştirilmesi gibi bir kısır döngü şeklindedir. Bu yöntemin başarılı sonuçları olmasına rağmen hep yüksek maliyetle sonuçlanmıştır. Bu maliyetlerden en önemlisi insan neslinin yaşamın herhangi bir aşamasında bu toksik kimyasallara temas etmiş ve etkilenmiş olmasıdır (Carvalho et al. 2017). İnsanların geçmişten dersleri öğrenmesi gerekir ve arzu edilir bir şekilde, bu deneme yanılma çemberini de sona erdirmelidir.

Muhtemelen, tarım ve yoğun gıda üretiminde kullanılan mevcut kimyasallar önümüzdeki birkaç yıl içinde özelliğini kaybedecek ve yerlerine yenileri üretilecektir. Bu nedenle mutlaka çeşitli ek önlemler alınmalıdır. Örneğin, hassas sulamanın yanı sıra zirai kimyasalların da hassas uygulamalarının çiftçilere tanıtılması, tarlalara uygulanan kimyasalların ve suyun miktarının da azaltılması gerekmektedir. Kirlenmiş tarım sularının arıtılması, kimyasal zarar hakkında halkın ve çiftçilerin eğitilmesi, hatta bu eğitimin zorunlu olması, kimyasalların ayrıntılı toksisite testi ve formülasyonlarının doğru şekilde kaydedilmesi de diğer önlemler olarak sıralanabilir (Carvalho et al. 2017).

Günümüzde tüketiciler ve halk, tehlikeli kimyasalların çevresel ve sağlık maliyetlerini zaten göz ardı etmektedir. Ancak gıdalardaki kimyasal kalıntıların farkındalığı, temiz gıda talebini de beraberinde getirmektedir. İnsanoğlunun daha fazla yiyecek daha güvenli yiyecek olmadığını, insan nüfusunun ve doğal ekosistemlerin zayıf planlama ve zayıf tarım uygulamalarına karşı da uzun süre dayanamayacağını anlaması galiba çok uzun sürmeyecektir (Carvalho et al. 2017).

1.2. Deltametrin

Piretroid insektisitleri içinde en yaygın kullanılanlarından biri de Deltametrin'dir. Açık adı (S)-siyano-3-fenoksibenzil-(1R)-cis-3-(2,2-dibromovinil)-2,2-dimetilsiklopropan

karboksilattır (Sayeed et al. 2003). Deltametrin, tip II piretroid gurubu insektisitlerinden biridir (Decourtye et al. 2004). Deltametrin ilk kez 1970’li yıllarda tanımlanmış ve bu tarihten sonra Avrupa ve Amerika’da geniş alanlarda ve yoğun olarak kullanılmaya başlanmıştır (Karakuş 2012). Deltametrin suda zor çözünür olsa da etanolde daha iyi çözünmektedir. Deltametrin’in molekül ağırlığı yüksek ve uçuculuğu düşüktür (Alberdi et al. 1990). Deltametrin lipofilik bir bileşiktir. Böceklerden büyük bir gruba temas ve mide yolu ile etki etmektedir (Avcı 2013). Bu insektisit renksiz kristal bir yapıya sahiptir. Ülkemiz’de Deltametrin Decis® 2.5 EC, Deltharin® 2.5 EC, Efdal Delmetrin® 2.5 EC ve Demond® 2.5 EC ticari adlarıyla satılmaktadır.

Organoklorlu, organofosfatlı ve karbamatlı pesitisitlerle mukayese edildiğinde piretroidlerin çevrede daha kısa süre kaldığı ve etkisinin de uzun sürmediği bildirilmiştir (Singh and Singh, 2008). Deltametrin fenoksibenzil kısmında bir siyan (CN) grubu taşır. Bu grup pestisit ışık, nem ve hava koşullarına karşı dayanıklı olmasını sağlar (Nasuti et al. 2003). Dünya üzerinde Deltametrin uygulamaları insan sağlığı, veterinerlik ve tarım olmak üzere oldukça yaygındır (WHO 2010). Bu kullanım neticesinde Deltametrin tarım alanlarından çıkıp sucul sisteme karışmaktadır. Örneğin Filipinlerde yapılan bir çalışmada Leyte adası pirinç tarlalarında Deltametrin seviyesi 0.001 ve 0.043 µg/L olarak tespit edilmiştir (Elfman et al. 2011). Manitoba (Kanada) patates tarlalarına yakın sulak alanlardan alınan örneklerde de 0.1 µg/L Deltametrin’e rastlanmıştır (Pawlisz et al. 1998). Sucul sisteme karışan Deltametrin buranın kompozisyonuna zarar vermekte ve sucul canlılarda toksik etkiler yapmaktadır (Datta and Kaviraj 2003).

Deltametrin’in nörotoksik olduğu da bilinmektedir. Bu etkiyi membran depolarizasyonunu yaparak ve gama aminobutirik asit (GABA) reseptörlerini bloke ederek yapmaktadır (Narahashi 1992; El-Sayed et al. 2007). Ayrıca kolinerjik sistem üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (Velisek et al. 2007). Deltametrin’in toksisitesi omurgalı türüne, uygulama şekline ve hazırlandığı çözücü tipine göre de değişiklik göstermektedir (Staicu et al. 2007). Diğer pestisitlerde olduğu gibi Deltametrin toksisitesinin mekanizması da oksidatif stres, lipid

peroksidasyon ve organizmanın antioksidan potansiyelinin bozulması şeklindedir (Hernandez-Moreno et al. 2010).

1.3. Amfibiler

Yunanca Amphi=iki; Bios=yaşam kelimelerinden oluşan bu Tetrapoda sınıfına genellikle “İkiyaşamlılar” denmektedir. Amfibiler için kurbağalar terimini kullanmak doğru değildir.

Amfibiler sudan karaya geçen ilk omurgalı hayvanlar grubu olup anatomik yapıları oldukça farklıdır. Suyla ilişkisini tamamen kesmeyen bu canlılarda karada yaşama becerisi kazanması neticesinde solungaçlar yerine akciğerler ve yüzgeçlerin yerine bacaklar oluşmuştur (Baran vd 2005). Sudan karaya geçerken geçirdikleri diğer değişimler deri solunumu, dolaşım sistemi özelleşmesi ve her iki ortamda da işlevsel olan duyu organlarına sahip oluşu sayılabilir (Demirsoy 2005)

Amfibilerin derileri genelde çıplak olup yoğun salgı bezi içerir. Bu nedenle derileri sürekli ıslaktır. Deri tabakası bazen tamamen veya parçalar halinde atılır. Derilerinde fazlasıyla mukus ve zehir bezleri ile renk hücreleri yer almaktadır. Birçok amfibi renk değiştirme özelliğine de sahiptir. Bazı türler yaşadığı ortama renk bakımından yüksek seviyede uyum sağlarlar (Baran vd 2005; Demirsoy 2005).

İskeletleri değişikliğe uğramış olup omuz ve kalça kemerleri, ön ve arka bacakların omurgaya sağlam bir şekilde bağlanmasını sağlar. İskelet yapısı baş, omurga ve üyeler (ekstremiteler) olmak üzere 3 bölümden oluşur. Kurbağalarda ön üyelerde 4 parmak, arka üyelerde 5 parmak bulunmaktadır (Demirsoy 2005).

Farklı yaşam bölgelerinde bulunan amfibilerde farklı yaşam şekilleri meydana gelmiştir. Larvalar kuyrukları ile yüzerken Gymnophiona bireyleri yılanlara benzer şekilde hareket ederler. Urodela’da da üyeler vücuda çekilip kuyruklarını kullanarak yüzerler. Anura’da, su içerisinde arka bacaklar arka tarafa doğru çevik bir şekilde itilerek vücut

öne doğru hareket ettirilir. Karada ise arka bacakları çok daha kuvvetli olduğundan bazı türlerde sıçrayarak hareket ederler. Fakat tüm Anura üyeleri sıçrama yeteneği kazanmamıştır. Bufonidae türü gibi yürüyerek hatta *Polypedates* cinsine bağlı bazı türler gibi havada süzülerek uçuş yeteneği kazanan üyeler de vardır (Demirsoy 2005).

Kurbağalarda dil yapısı çok iyi gelişmiştir. Avlarını yakalamak için değişik yapılarda dil şekilleri oluşmuştur. Discoglossidae üyelerindeki yapıştırıcı dil, Karasemenderlerindeki fırlatılabilir dil, Bufonidae familyasındaki yakalayıcı dil örnek olarak verilebilir (Demirsoy 2005).

Larvalar dış solungaçlarla solunum gerçekleştirirken, başkalaşım geçirip ergin hale gelince akciğerler meydana gelir. Amfibilerde oksijen ihtiyacı genellikle deri solunumu aracılığıyla gerçekleşir (Baran vd 2005).

Amfibiler değişken vücut sıcaklığına sahip canlılar olduklarından vücut ısısı çevre sıcaklığına göre ayarlanır. Kalpleri 2 kulakçık ve 1 karıncık olmak üzere 3 gözlüdür. Kalplerinde 1 karıncık olmasına rağmen kirli kanla temiz kan kısmen birbirine karışmamaktadır (Baran vd 2005).

Ergin amfibiler genelde etçidir. Böcekler, solucan ve salyangoz temel besin maddelerini oluşturur. Büyük türler balık, sürüngen ve hatta memelilerle de beslenirler. Larva döneminde kuyruklu kurbağa etle beslenirken kuyruksuz kurbağalar bitkilerle beslenirler (Baran vd 2005). Larva döneminden ergin duruma gelişme olayı metamorfoz (başkalaşım) şeklinde gerçekleşir. Bu dönemde larva dönemine ait organlar kaybolur, yetişkin bireye ait yeni organlar oluşur ve bazı organların yapısı değişir. Ortam sıcaklığı ve dış faktörler larvaların yetiştirme sürecinde son derece önemlidir. Sıcak bölgelerde bu süreç daha erken gerçekleşmektedir (Demirsoy 2005).

Akciğer solunumu gerçekleştiren amfibilerden özellikle Anura takımının erkek bireylerinde ses çıkarma yeteneği bulunur. Ağız ve burun boşlukları kapalı iken havanın akciğer ile ağız boşluğu arasında yer değiştirmesiyle ses yarığındaki zarlar titreşir ve ses

meydana gelir. Özel ses keseleri ile bu sesler daha yüksek seviyede çıkmaktadır (Demirsoy 2005).

Yanal çizgi Tetrapoda içinde sadece amfibi larvalarında bulunur. Koku alma gereksinimini karşılayan Jakopson organı ilk olarak bu canlılarda görülmeye başlar. Kimyasal almaçlar ve tat alma organları oldukça iyi gelişmiştir. Göz yapısı genel yapı itibarıyla omurgalıların göz yapısına benzer. Birçok amfibide renkli görme özelliğinin bulunması kanıtlanmıştır. Şekli değiştirilmeyen merceğin öne ve arkaya doğru yer değiştirmesiyle uyum gerçekleştirilir. Larvaların tümünde ve devamlı sularda yaşayan Urodela üyelerinde göz kapakları yoktur, olanlarda üst göz kapağı sabit, alt göz kapağı hareketlidir. Anura üyelerinin çoğunda yön bulmada ve dengenin düzenlenmesinde görevli olan ve başkalaşım sonucunda kaybolan bir üçüncü göz (tepegöz) bulunur (Demirsoy 2005).

1.3.1. *Pelophylax ridibundus* (Ova kurbağası)

Rana cinsi Avrupa, Amerika, Avustralya'da yayılış gösterir (Özeti ve Yılmaz 1994; Demirsoy 2005). *Pelophylax ridibundus* (Sinonim; *Rana ridibunda* Pallas 1771 (Anura; Ranidae) Orta ve Güney Avrupa ile Kuzey Afrika ve Batı Asya'da; Türkiye'de ise uygun biyotop bulunduğu her bölgede bulunmaktadır (Baran ve Atatür 1998). Türün tip lokalitesini, Dubois and Ohler (1994), Hazar Denizi'nin kuzey kıyıları ve Volga Nehri olarak belirtilmekte ve dağılım alanının Orta ve Kuzey Avrupa'dan Asya'nın batı kısmına kadar uzandığı ifade edilmektedir.

Rana cinsinin diğer türlerinde bulunan temporal bant bunlarda yer almaz. Erkeklerde bulunan ağzın hemen arkasındaki ses keseleri tipiktir. Erkekler ses keselerinin yer alması, ön bacaklarının daha kuvvetli olması, ilk parmaklarının arka tarafında şişkinlik yer alması ve fiziksel olarak daha küçük olmalarıyla dişi bireylerden ayırt edilirler (Demirsoy 2005). Boyları 10-15 cm civarındadır. Deri genellikle pürüklü olup, sırt tarafı yeşilimsi, gri veya açık ya da koyu kahverengi renkte olabilir. Bazen sırt bölgesinde orta bölümde boyuna uzanan açık renkli bir çizgi bulunur. Karın bölgesi

genellikle kirli beyaz veya sarımsı renktedir (Demirsoy 2005). Bol bitkili havuz, göl ve akışkan su ortamlarında hayatlarını sürdürürler. Göz ve burun delikleri su dışında kalacak şekilde yüzerler. Dağlık bölgelerde az bulunmalarına karşın 2500 m'ye kadar yaşayabilmektedir (Baran vd 2005).

Çiftleşme Mayıs-haziran aylarında erkeğin ön bacaklarıyla dişiye sıkıca kavramasıyla gerçekleşir. Bir dişi yaklaşık 5.000-10.000 yumurtayı birkaç grup halinde sucul ortama bırakır. Sıcaklığa bağlı olarak larva dönemi 3-4 ay sürer, eşeysel olgunluğa 3 yaşında sonra ulaşır. Kış mevsiminin soğuk geçtiği bölgelerde suların dibinde yaşarlar (Demirsoy 2005).

Besinlerini böcekler teşkil ettiğinden tarıma zararlı böcek ve sivrisinek popülasyonunu dengede tutmada etkili bir türdür. Dünyada Kuzey Afrika, Orta ve Güney Avrupa ve Batı Asyada; Türkiye'de Karadeniz Bölgesi, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgesinde, İç Anadolu Bölgesinin doğu ve kuzey bölümlerinde yaşarlar (Baran vd 2005; Demirsoy 2005).

1.4. Pestisitler ve Amfibiler

Tarımsal ilaçların kalıntı problemi maalesef devam etmektedir. Pestisitlerin etki mekanizmaları belirli sınırlar içinde olmaktadır. Ancak bu sınırlar aşıldığında, insan ve diğer canlılar için tehlike başlamaktadır. Çok toksik olan ve parçalanıp bozulma ihtimali olmayan bazı klorlu pestisitlerin dışındaki tarım ilaçlarının çoğu büyük miktarlarda kullanılmaktadır. Bunların taşınması, depolanması, kullanılması hatta sentezlenmesi bile büyük bir çevre kirliliğine sebep olmaktadır (Mann et al. 2009).

Pestisitler tarımsal mücadelede kullanılan ve tarım ürünlerine zararları dokunan canlılara çeşitli şekillerde etki eden kimyasallardır. Bunlardan pek çoğu tarım alanlarında kullanılmaktadır. Bu maddelerden bazıları toprağa karışarak sulama yoluyla akarsulara ve göllere akmaktadır. Söz konusu maddelerin karışıkları ekosistemlerdeki canlıları etkilemesi kaçınılmazdır. Hiç şüphesiz pestisitlerin etkilediği en önemli sucul

canlı gruplarından biri de amfibilerdir (Mann et al. 2009).

1990'lı yıllardan itibaren amfibi populasyonlarının azalması üzerine sayısız çalışma yapılmıştır. Bu durum maalesef günümüzde de devam etmektedir (Mackey and Boone 2009). Amfibi populasyonlarının azalmasına sebep olarak genelde şu üç şey gösterilmektedir. İlki insanoğlunun aşırı tüketimi, ikincisi sebebi bilinmeyen habitat değişikliği, iklim bozulması gibi durumların etkili olduğu şüpheli etkiler ve üçüncüsü de bu canlıların yaşadıkları ortamların kaybı veya kirlilikle beraber tahrip edilmesidir (Hero and Morrison, 2004; Stuart et al. 2004). Habitat kaybında en önemli etken ise insanoğlunun tarımda kullandığı kimyasallar gelmektedir (Gallant et al. 2007). Pestisit ve suni gübrelerin formülasyonlarında yapılan her değişiklik de bu bölgede yaşayan sucul canlıların adaptasyonunu etkilemekte, kimyasal yükü artan canlılar ölebilmektedir. IUCN tehlike altındaki türler listesinde artık amfibileri de görmek mümkündür.

Tarımsal kimyasallar artık amfibi sayısının azalmasında en önemli potansiyel faktör olarak kabul edilmektedir (Relyea and Mills, 2001). Araştırmalar popülasyon azalması ile tarımsal alanlar arasında bir korelasyonun olduğunu göstermektedir (Houlahan and Findlay, 2003; Davidson, 2004). Ayrıca yoğun pestisit ve suni gübre kullanılan tarım alanlarına yakın yerlerde yaşayan amfibilerde malformasyonlu bireylere rastlandığı, kurbağa dokularında patolojik hasarların olduğu da rapor edilmektedir (Taylor et al. 2005; Keskin 2018).

Amfibiler yaşamlarının çoğunu sucul ortamlarda geçirirler. Maalesef bu ortamlara tarımsal sulama suyuyla pestisitler de ulaşabilmektedir. Bu yüzden bazı kurbağalar pestisitlere dolaylı olarak maruz kalabilmektedirler. Çoğu kurbağa türü iteroparus yumurtalyıdır. Yani yılda bir kez yumurtlarlar. Yumurtlamaları çoğu zaman bahar ve yaz aylarında olmaktadır. Tarımda kullanılan pestisitler ve suni gübreler de tam da bu aylarda uygulandığından gelişen kurbağa yumurtaları ve iribaşları doğrudan bu kimyasallara maruz kalmaktadır. Tarımda kullanılan pestisit çeşitliliğinin fazla olması ve üreme mevsiminde kurbağa yavrularıyla bu maddelerin temas etmesi amfibi

populasyonlarının azalmasını önemli ölçüde açıklamaktadır. Yaygın pestisit kullanımına bağlı olarak bu kimyasalların etkilerini amfibileri test organizması olarak kullanan ekotoksikoloji çalışmaları, diğer sucul organizmalara kıyasla yıllardır büyük ölçüde yapılmaktadır. Ancak pestisitlerin amfibiler üzerine akut letal toksisitesiyle ilgi çalışmalar çok fazla değildir. Daha çok büyüme, gelişim, üreme ve davranış üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır (Mann et al. 2009).

Amfibilerin pestisitlere bağlı sayılarının azalması olgusundan hareketle yapılan bu çalışmada Erzurum Ovası'nda özellikle lahanalar tarımı yapılan yerlerde yoğun bir şekilde kullanılan Deltametrin insektisitinin (Keskin 2018) yine bu alanlardaki sulak yerlerde yaşayan ova kurbağaları (*Pelophylax ridibundus*) üzerine olası toksik etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla kontrollü ortam şartlarında belirli dozlarda Deltametrin'e maruz bırakılan ergin kurbağalarda histopatolojik ve genotoksik analizler yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Murphy *et al.* (2006), Atrazin maddesinin kurbağa gonadları üzerine morfolojik ve histolojik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında Atrazin kullanılan tarım alanlarından ve tarım yapılmayan arazilerden toplanan kurbağalar arasında, özellikle hermafroditizm üzerine düşük oranda etkinin olduğunu, en ciddi etkinin ise erkek kurbağaların testislerinde olduğunu rapor etmişlerdir.

Paunescu *et al.* (2010a), 0.01 ml/g Reldan 40EC pestisitinin *Rana ridibunda* türünün karaciğerindeki histolojik ve histokimyasal değişikliklerini incelemişler ve karaciğerde Kupffer hücrelerinin yanı sıra renk yoğunluğunda bir artış, hafif karyomegalia ve polipoidi, kan damarlarının çevresinde ve hepatositler arasında fibroz gibi önemli patolojik anormallikler tespit etmişlerdir.

Spolyarich *et al.* (2010), Tazmanya kurbağası larvası üzerine üç farklı herbisit (Atrazin, Metolaklor ve Tiyobenkarb) etkilerini inceledikleri çalışmalarında bu maddelerin belirli dozlarının *L. tasmaniensis* larvalarının normal gelişimi için önemli bir tehlike oluşturmadığı sonucuna varmışlardır.

Edge *et al.* (2011) herbisit amfibiler üzerine olan toksisitesini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada yavru yeşil kurbağalar (*Lithobates clamitans*) iki farklı dozda (2.16 ve 4.27 kg a.e/ha) glifosat bazlı bir herbisit olan Vision Maxs'a doğal ortamda maruz bırakılmış ve sonuçta herbisit larvalarda hayatta kalma, kondisyon faktörü, hepatosomatik indeks ve *Batrachochytrium dendrobatidis* enfeksiyonu oranı üzerinde önemli bir etkisi olmadığı bulunmuştur.

Păunescu *et al.* (2011), *Pelophylax ridibundus*'da 4-6°C ve 22-24°C sıcaklıklarında 0.125x10⁻³/g vücut ağırlığı miktarınca Champion 50WP fungusitini 3 hafta boyunca uygulamış ve histopatolojik etkilerini belirlemiştir. Dokuda tespit edilen patolojiler ise

akciğer duvarlarında esneklik kaybı, genişleyen kan kılcalları, pnömosit çevresinde çok sayıda agrege olmuş eritrosit ve goblet hücresi oluşumu şeklinde gözlenmiştir.

Denoel *et al.* (2012), 96 saat boyunca 0.4, 3, 22 ve 282 µg miktarında Organochlorine'nin amfibilerdeki etkisini araştırmışlar ve Organochlorine'nin amfibiler için toksik olduğunu, artan dozla beraber mortalitenin de arttığını rapor etmişlerdir.

Çakıcı (2013), Karbaril'in *Pelophylax bedrigae* türünde kurbağaların testislerine olan etkilerini incelediği çalışmasında 0.05, 0.1 ve 0.2 mg/g miktarında 96 saat boyunca insektisiti ergin kurbağalara uygulamıştır. Sonuçta 0.05mg/g grubunda seminifer tübüllerin büzülmesi, 0.1 mg/g grubunda interstisyel alanın genişlemesi, boşluklar ve germ hücreli nekroz, 0.2 mg/g grubunda ise belirgin tubül deformasyonu tespit edilmiştir. Seminifer tübüllerde nekroz, tıkanıklık, kanama, hücresel sızma ve fibrozis gibi tespit edilen patolojik bozuklukların kurbağa fertilitatesini etkilediği sonucuna varılmıştır.

Papoulias *et al.* (2013), *Lithobates blairi* türü kurbağaların böcek ilacı olan bazı aktif kimyasallara maruz kalmasının sonuçlarını biyolojik açıdan değerlendirmişler ancak maruziyetin zamanlaması ve miktarı tam olarak tesbit edilemediğinden güvenilir sonuçlar elde edememişlerdir.

Çakıcı (2014)'nın yaptığı başka bir çalışmada 96 saat boyunca 0.05, 0.1 ve 0.2 mg/g miktarlarında Karbaril maruziyetini takiben *Pelophylax bedrigae* türünün sindirim sisteminde özofagus hücreleri vakuolizasyonu, hücresel şişme, nükleer pyknosis, karyoliz ve nekroz, orta ve yüksek dozlarda özofagus bezleri çevresindeki hücreler, midede belirgin histopatolojik defektler, gastrik bezlerde şişme ve nekroz, interstisyel boşluklar içindeki nekrotik hücreler, epitel hücre tabakasının ayrılması, tıkanmış damarlar ve orta ve yüksek dozlarda kanam; bağırsakta ise orta ve yüksek dozlarda epitel tabakasının ayrılması, epitel hücre düzeninin bozulması, inflamasyon ve nekroz tespit edilmiştir.

Çakıcı (2015), Karbaril'in etkilerini araştırdığı başka bir çalışmada, 0.05, 0.1 ve 0.2 mg/g pestisit dozlarının 96 saat boyunca uygulanmasının ardından *Bufo variabilis* türü kurbağaların karaciğerinde vakuolizasyon, hepatositlerde nekroz, mononükleer hücre infiltrasyonu, melanomakrofaj sayısındaki artış, kanama ve tıkanıklık, böbrekte infiltrasyon, hipertrofik bowman kapsülü hücreleri, deformasyon, vakuolizasyon, renal tübül epitelinin karyoliz ve nekrozu, fırça sınırı tahrip etme, glomerüler küçülme, kanama ve fibrozis gözlenmiştir.

Perez-Iglesias et al. (2016), dünya çapında en çok kullanılan herbisit olan Glyphosate (GLY)'in Anuralar üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmalarında üç grup saf GLY'nin farklı dozlarına (100, 1000 ve 10.000 µg/g) *Leptodactylus latinasus* türü kurbağaları maruz bırakmışlar ve sonuçta karaciğer ve kan örneklerini analiz etmişlerdir. GLY'nin melanomakrofajik merkezlerde melanin miktarını arttırdığı, hepatik katabolizma pigmentlerini değiştirdiği ve eritrositik çekirdek anormalliklerini arttırdığı rapor edilmiştir.

Sai et al. (2016), yaptıkları çalışmada Simenazin pestisitinin kurbağa karaciğer histolojik yapısı ve metamorfoz üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Yapılan deneyde *Xenopus laevis* türü kurbağa larvalarına (46. evre) Simenazin etken maddesi içeren Nieuwkoop-Faber 0.1, 1.2, 11.0 ve 100.9 µg/L dozlarında 100 gün boyunca uygulanmıştır. Kurbağa larvalarında 11.0 ve 100.9 µg/L dozlarında 80. ve 90. günlerde metamorfozun önemli bir şekilde inhibe olduğu ve metamorfozu tamamlama süresinin uzaması ile birlikte artan bir mortalite ve hasarlı karaciğer dokularının olduğu gözlenmiştir.

Radovanovic et al. (2017), yaptıkları çalışmada Deltametrin'in ergin kurbağalarda katalaz ve glutatyon reduktaz aktivitelerini arttırdığını ve sülfidril gruplarını azalttığını tespit etmişlerdir. İlgili çalışmada 8, 16 ve 32 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında Deltametrin *Bufo viridis* türü kurbağalara oral yolla 96 saat süreyle maruziyetine bağlı olarak kurbağaların karaciğer, kas, deri ve gastrointestinal sistemdeki antioksidan ve oksidan durum şöyle bulunmuştur: Karaciğer, kas ve gastrointestinal dokularında GST

ve GSH-Px açısından pozitif bir korelasyon bulunması, GSH oksidasyonu boyunca Hidrojen peroksit (H_2O_2)'in elemine edilmesine katıldıklarını gösterir. Bu korelasyon ise karaciğerin pestisitlerin ana atılım ve depolanma organı olması ve gastrointestinal sisteminde pestisitlerle ilk temas eden doku olması ile açıklanabilir.

Jing et al. (2017), kurbağalarda ve kurbağa yavrularında fenoksaprop-etil (FE) 'nin biyoakümülyasyonu ve eliminasyonunu, ana metabolitler olan fenoksaprop (FA) ve 6-kloro-2,3-dihidrobenezoxazol-2-on (CDHB) enantiyomerlerinin de kurbağa yavrularına akut toksisitesi ve genotoksisitesini incelenmiştir. Hem oral uygulama hem de sulu çözeltiye maruz kaldıktan sonra, FE kurbağalarda bulunmazken, FA'nın karaciğer, böbrek, beyin, yumurta, cilt, uyluk kası ve kanda biriktiği tespit edilmiştir. Ayrıca maternal transferle FA, dişi kurbağa yumurtasına geçtiği de gözlenmiştir. Bu sonuçlara ilaveten FE ve FA, sulu çözeltiye maruz kaldıktan sonra kurbağa yavrularında zorlukla saptanmış, CDHB birikmiş, 37.1 saatlik yarı ömür ile birinci dereceden kinetik olarak elemine edilmiş, CDHB'nin 96-saatlik LC50 değeri 30.4 mg/mL olarak hesaplanmış ve rac-FA, S-FA ve CDHB genotoksosite göstermiştir.

Gonçalves et al. (2017), tarımsal alanlarda yaşayan amfibiler sürekli olarak yağışlı mevsim boyunca akarsu, drenaj ve sızıntı yoluyla su ortamına ulaşan büyük miktarda kimyasal maddeye maruz kaldıklarını bildirdikleri araştırmalarında tarımsal alanların (soya fasulyesi ve mısır bitkileri) çevresinde bulunan kurbağa yavrularının (*Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826) eritrositleri üzerine COMET testi yapmışlar ve bu kurbağaların pestisite maruz kaldığını rapor etmişlerdir. Özellikle soya tarlalarında yer alan göletlerden toplanan kurbağa yavrularında önemli ölçüde daha fazla DNA hasarı tespit edilirken bu hasarın mısır tarlalarından toplanan kurbağa yavrularında nisbeten azaldığını, buna karşılık, tarımsal olmayan alanlardan örneklenen hayvanlarda DNA hasarı oranının çok düşük olduğunu göstermişlerdir.

Van Meter et al. (2018), yaptıkları çalışmada üç herbisit (atrazin, metolachlor ve 2,4-D), bir insektisit (malathion) ve bir fungusitin (propiconazol) juvenil yeşil kurbağalar (*Lithobates clamitans*) üzerine olumsuz etkilerini araştırmışlardır. İlgili pestisitler tek ve

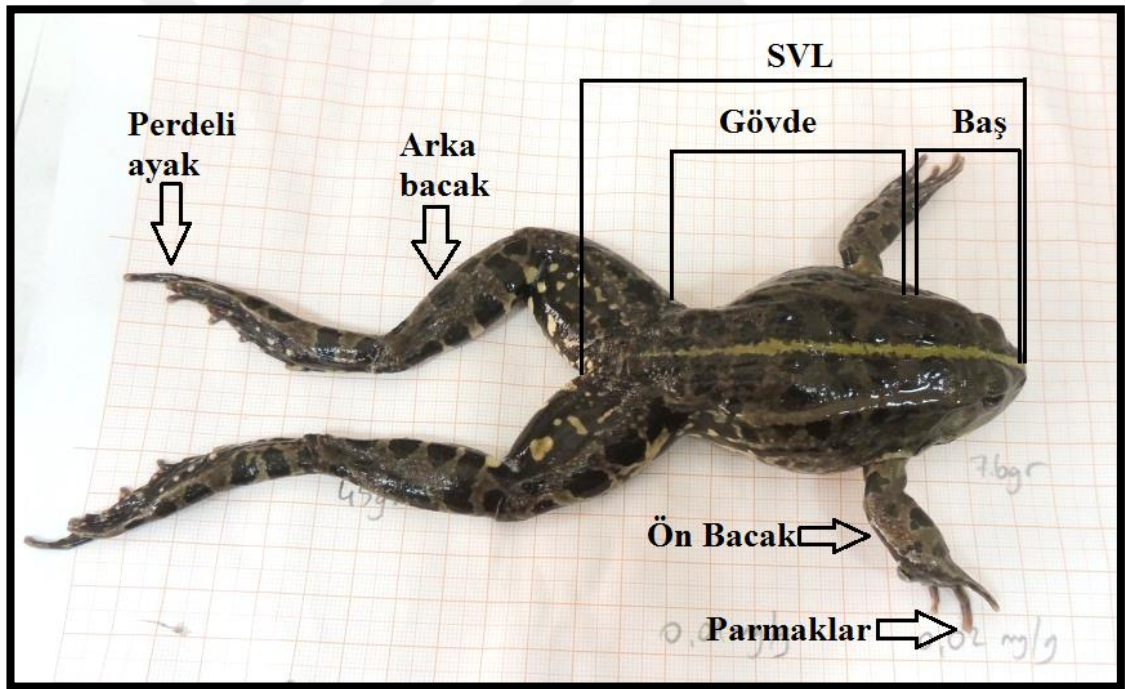
kombine şekilde metamorfoz sonrası 60-90 gün boyunca toprak üzerinde etiketli uygulama oranında uygulama yapılmış ve sonuçta amfibi karaciğerleri metabolomik profilinin önemli ölçüde değiştiği bulunmuştur.

Paunescu et al. (2018), *Pelophylax ridibundus*'ta (Pallas 1771) yaygın olarak kullanılan 6 farklı pestisit (Reldan 40EC, Actara 25WG, Tilt 250EC, Şampiyon 50WG, Fusilade Forte, Dual Gold 960EC) morfolojik, biyokimyasal ve histolojik değişiklikleri araştırmışlardır. Hemen hemen pestisitlere maruz kalan tüm hayvanlarda hepatosomatik indeks artmış, eritrosit sayısı Reldan 40EC hariç diğerlerinde azalmış, lökopeni sadece Reldan 40EC ve Actara 25WG pestisitlerinde gözlenmiştir. Hipoglisemi Champion 50WG ve Fusilade Forte pestisitlerinde, hiperglisemi ise diğer gruplarda izlenmiştir. Kolesterol seviyeleri ise neredeyse tüm pestisit gruplarında düşmüştür. Sonuçlar, kronik pestisitlere maruz kalmanın, amfibilerdeki hepatik lezyonların yanı sıra, çeşitli endekslerde değişikliğe yol açabileceğini göstermiştir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan Kurbağa Türü

Araştırmada *Pelophylax ridibundus* (Anura; Ranidae) türü kurbağalar kullanılmıştır (Şekil 3.1). Kurbağalar Temmuz 2018’de Erzurum merkez Pulur Çayı’nın yan kolu olan Ömertepesuyu Deresi’nin yukarı kısımlarından atrap kullanılarak yakalanmıştır. Burası yerleşim yerine uzak olup herhangi bir kirlilik kaynağı barındırmamaktadır. Kurbağa örneği alınması için gerekli olan araştırma ve etik kurul izinleri (EK 1, EK 2, EK 3) araştırma başlamadan önce ilgili yerlere müracaat edilerek alınmıştır.



Şekil 3.1. *Pelophylax ridibundus* (Ova kurbağası, ♀), dorsal görünüş (SVL; kloak-burun ucu mesafe).

3.2. Akut Toksisite Testi

Bu çalışma için toplam 28 adet kurbağa kullanılmıştır. Araziden yakalanan ve boyları

ortalama 10 cm (SVL; burun ucu kloak arası uzunluk) ve ağırlıkları 25 gr olan kurbağalar aynı gün laboratuvara canlı olarak getirilmiştir. Kurbağaların yakalandığı ortamdan alınan su, toprak-çamur ve bitkisel yüzey parçaları kullanılarak kurbağalar için daimi akvaryum (100 litre) sistemi oluşturulmuş (Şekil 3.2) ve kurbağalar 14 gün boyunca bu akvaryumlarda aklımasyon için bekletilmiştir (Goulet and Hontella, 2003). Akvaryumların suyu haftada bir kez yenilenmiş ve bulunduğu ortam $20\pm 2^{\circ}\text{C}$, $45\pm 5\%$ nisbi nem ve 12:12 aydınlık; karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır. Kurbağalar aynı ortamdan getirilen sinek larvası, böcek ve solucan gibi canlı yemlerle beslenmiş ve deneyden 1 gün önce yemlemeye son verilmiştir.



Şekil 3.2. Kurbağaların yaşatıldığı daimi akvaryum sistemi.

Deltametrin insektisit yerel ticari firmalardan temin edilmiştir (Safa DEMOND EC 2.5; 25 g/L) (Şekil 3.3). Bundan dinlendirilmiş musluk suyunda seyreltme yapılarak stok çözelti hazırlanmıştır (Rendon-von Osten et al. 2005). Çünkü insektisit tarımsal uygulamasında da musluk suyu kullanılmaktadır.



Şekil 3.3. Deltametrin'in ticari formu ve akvaryum sistemi.

Literatüre uygun olarak akut etkiyi tespit edebilmek amacıyla önce 6 farklı Deltametrin dozu belirlenmiştir (0.625, 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 ve 20.0 mg/kg vücut ağırlığı) (Radovanovic et al. 2017) ve bu dozlar stok çözeltiden seyreltilerek hazırlanmıştır.

Aklimesyonu tamamlayan kurbağaların önce boyları ve ağırlıkları ölçülmüş ve daha sonra akut toksisite testi için 1 kontrol ve 3 deney grubu olarak 4'e ayrılmış, her gruba 4 birey yerleştirilmiştir. Kontrol grubu dışındaki kurbağalara oral yolla insektisit verilmiştir. İçinde sadece 500 ml dinlendirilmiş musluk suyu bulunan 30 litrelik akvaryumlarda deneyler sürdürülmüştür. Yapılan ön deneme neticesinde 5.0 mg/kg ve üzeri dozlardaki kurbağalar ilk 24 saat içinde öldüğünden ana test 0.625, 1.25 ve 2.5 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında yürütülmüştür. Bir kez insektisit verilen kurbağalar 96 saat süreyle yemlenmeden takip edilmiştir. Akut toksik etki; kondisyon faktörü (KF), histolojik yöntem ve genotoksisite analizi kullanılarak belirlenmiştir.

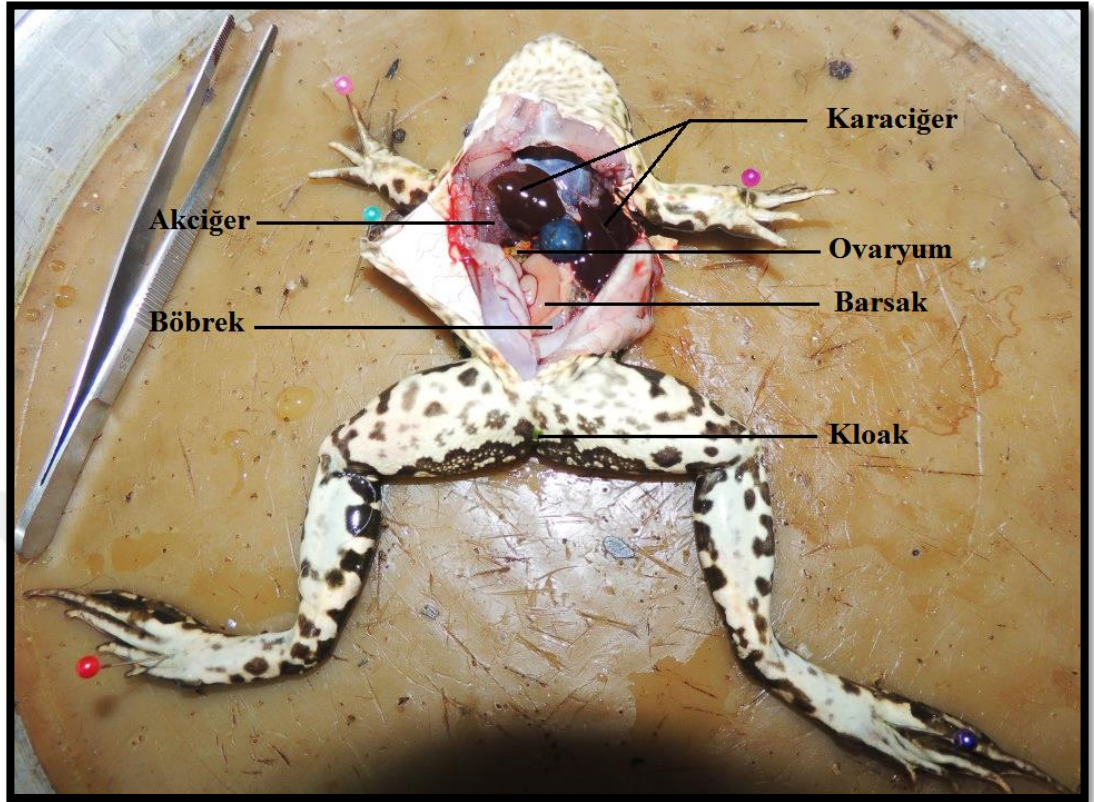
3.2.1. Kondisyon faktörü (KF)

96 saatlik maruziyetin ardından KF'yi belirlemek amacıyla kurbağaların son ağırlıkları tekrar ölçülmüş ve $KF = 100 \cdot W \cdot SVL^{-3}$ formülü kullanılarak KF belirlenmiştir (W; ağırlık, SVL; kloak-burunucu uzunluk). Bu formül Pauly (1983) tarafından balıklar için geliştirilmiş olmasına rağmen kuyruksuz kurbağalar için de kullanılmaktadır (Spirina 2009; Jelodar and Fazli 2012; Zhelev et al. 2015).

3.2.2. Histopatolojik yöntem

Çalışmada, akut toksik etki düzeyini hassas bir şekilde gösteren histopatolojik yöntem tercih edilmiştir. Histopatolojik biyoişaretçi kullanmanın en önemli avantajı solunum, salgılama, birikim, ksenobiyotiklerin biyotransformasyonu gibi hayati fonksiyonlardan sorumlu böbrek ve karaciğer gibi organları araştırmaya uygun olmasıdır (Parikh et al. 2010).

Bu ölçümlerden sonra kurbağaların eter kullanılarak hareketsiz kalmaları sağlanmıştır. Daha sonra kurbağanın alt kısmı “T” şeklinde yarılarak iç organlar dışarı alınmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4. Diseksiyonu yapılmış *Pelophylax ridibundus* örneği (♀)

Disekte edilen kurbağaların akciğer, karaciğer, sindirim sistemi ve böbrekleri hemen alınarak 24 saat süreyle Bouin solüsyonunda fikse edilmiştir. Fiksasyondan sonra 12 saat süreyle Buffer tamponunda bekletilmiştir. Dehidrasyon ve şeffaflaştırmayı takiben organlar parafine gömülerek mikrotomda 5-7 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitlerin Hematoksilen&Eosin ile boyanmasından sonra ışık mikroskopunda incelenerek fotoğrafları çekilmiştir. Ayrıntılar şu şekildedir:

*** Parafine gömme**

1. Parçalar 24-48 saat fiksatiflerde bekletilmiştir.
2. 12 saat Buffer tamponda tutulmuştur.
3. Dokular çeşme suyu altında 4 saat boyunca yıkanmıştır.
4. Dehidrasyon işlemi için sırayla; 4 saat %70'lik alkolde, 1 gece %80'lik alkolde, 1 saat %96'lık alkol I de, 1 saat %96'lık alkol II'de, 1 saat %96'lık alkol III'de ve 1 saat

de %96'lık alkol IV'de bekletilmiştir.

5. Şeffaflaştırma işlemi için sırayla; 15 dakika ksilol I'de, 15 dakika ksilol II'de ve 15 dakika da ksilol III'de bekletilmiştir.
6. Daha sonra 58°C'lik etüvde erimiş parafin I içerisine alınan parçalar 1 saat, parafin II'de 1 saat ve parafin III'de 1 saat bekletilmiştir.
7. Daha sonra etüvden çıkarılan parçalar parafine gömülerek bloklanmıştır.

*** Hematoksilen ve Eosin boyama boyama Tekniği**

1. Dokular Ksilol I'de 15 dk, Ksilol II'de 15 dk ve Ksilol III'de 15 dk bekletilmiştir.
2. Daha sonra %70'lik alkolde 10 dk, %80'lik alkolde 10 dk ve %96'lik alkolde 10 dk bekletilmiştir.
3. Çeşme suyunda 15 dk yıkanmıştır.
4. Hematoksilen'de 30 dk bekletilmiştir.
5. Preparatlar üç defa Asit alkole (300 ml etil alkol+10 ml HCl+700 ml distile su) batırılıp çıkarılmıştır.
6. Eozin'de 1 dk bekletilmiştir.
7. Saf suda 1 dk bekletilmiştir.
8. %96'lik alkolde 10 dk, %80'lik alkolde 10 dk ve %70'lik alkolde 10 dk bekletilmiştir.
9. Ksilol I'de 15 dk, Ksilol II'de 15 dk ve Ksilol III'de 15 dk bekletilmiştir.
10. İşlemler tamamlandıktan sonra preparatlar entellan ile kapatılmıştır.

Hematoksilen & Eozin rutin bir boyama işlemidir. Hücrelerin çekirdekleri mavi-siyah, diğer kısımlar ise eozin (pembe) boyanır (Bancroft and Stevens 1982).

Hazırlanan preparatlar görüntü işleme program destekli Leica DM 750 marka mikroskop ünitesi ile incelenmiş, fotoğraflanmış ve software program yardımıyla gerekli ölçümler yapılmıştır. Tespit edilen histolojik hasarların değerlendirilmesinde Abdel-Moneim *et al.* (2012) tarafından geliştirilen Doku Değişim Derecesi (DTC=Degree of Tissue Change) kullanılmıştır. DTC kantitatif bir değerlendirme

sunmakla birlikte hasarların görülme sıklığı esasına dayanan gözlemsel bir parametredir. Dokulardaki hasarlar görülme sıklığına göre 0: anormallik yok, 0+: anormallik çok nadir, +: anormallik frekansı düşük, ++: anormallik frekansı orta derecede ve +++: anormallik frekansı çok yüksek şeklinde gruplandırılmıştır. Yine DTC'nin hesaplanması için her organdaki histolojik anormallikler, hasarın evresine göre sınıflandırılmıştır. I. Evre; dokunun normal fonksiyon gösterdiğini, II. Evre; dokunun normal fonksiyonunun orta şiddette bozulduğunu ve III. Evre; dokuda geriye dönüşümsüz ortaya çıkan kuvvetli hasar durumunu ifade etmektedir. İncelenen organlar için aşağıdaki formül kullanılarak DTC değeri rakamsal olarak belirlenmiştir.

$$DTC = (1 \times \Sigma I) + (10 \times \Sigma II) + (100 \times \Sigma III).$$

ΣI , ΣII ve ΣIII evrelerde görülen anormalliklerin toplam sayısını ifade etmektedir. Her doz için DTC değeri belirlendikten sonra ortalama endeks hesaplanmıştır. Endeks değerleri yorumlanırken Poleksic and Mitrovic-Tutundzic (1994) tarafından bildirilen kriterler kullanılmıştır. Buna göre 0-10 arası: organın fonksiyonlarının normal, 11- 20 arası: organda hafif hasar, 21-50 arası: organda orta dereceli hasar, 51-100 arası: organda kuvvetli hasar ve 100'ün üzeri: organda geriye dönüşümsüz hasar olduğunu göstermektedir.

3.2.3. Genotoksik analiz

Ergin kurbağaların periferik kanları Deltametrin'in genotoksik etkilerini araştırmak amacıyla kullanılmıştır. Kurbağa eritrositleri çekirdekli ve bu çekirdeklerde çeşitli yollarla oluşan hasarlar ve anormallikler (eritrositik çekirdek anormallikleri=EÇA) genotoksitenin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Carrasco *et al.* 1990). Kontrol grubu ve Deltametrin uygulanan gruptaki her kurbağadan en az dört adet yayma kan preparatı hazırlanmıştır. Bunun için kurbağaların kalplerinden hematokrit tüpü ile alınan kanlar lam üzerine damlatılmış ve lamel yardımıyla yayılması sağlanmıştır. Sonrasında kurumaya bırakılan preparatlar 10 dakika etanolde fikse edilmiş ve fosfat tamponlu giemsa'da 30 dakika süreyle boyanmıştır. Saf suyla yıkanıp kurutulan her preparat

100'lük objektif altında en az 1000 adet eritrosit sayılarak incelenmiştir. İncelenen preparatlarda böbrek şekilli, loplu, çentikli, çift ve mikro çekirdek gibi eritrositik çekirdek anormallikleri ve frekansları tespit edilmiştir.

3.3. İstatistik

KF değerlerinin, EÇA testinden elde edilen sonuçların ve DTC değerlerinin genel değerlendirilmesi tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile gerçekleştirilmiştir. Varyans analizindeki çoklu karşılaştırmalar için Duncan testi uygulanmıştır. Elde edilen veriler $p<0,05$ anlam seviyesi göz önünde bulundurularak yorumlanmıştır. Tüm istatistiksel verilerin değerlendirilmesinde SPSS 21.0 Software paket programı kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Kondisyon Faktörü

96 saatlik maruziyetten sonra *Pelophylax ridibundus* türü kurbağalarda tespit edilen KF değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Deneye alınan kurbağaların maruziyet öncesi ve sonrası KF değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak $p<0.05$ seviyesinde herhangi bir farklılığın olmadığı bulunmuştur. 96 saat süreyle beslenmeyen kurbağaların vücut kitle indekslerinin değişmediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Deltametrin’e maruz kalan kurbağaların KF değerleri

Gruplar	Min-max SVL	KF-Maruziyet öncesi	KF-Maruziyet sonrası
Kontrol	4,0-9,5	5,98±0,52	5,52±0,44
0.625 mg/kg	4,7-6,5	6,36±0,48	5,68±0,40
1.25 mg/kg	5,5-11	5,72±0,50	5,42±0,42
2.5 mg/kg	4,5-5,5	6,92±0,52	6,39±0,44

4.2. Histopatolojik Bulgular

3 farklı dozda Deltametrin’e maruz kalan kurbağaların karaciğer, sindirim sistemi, böbrek ve akciğerlerinde meydana gelen histopatolojik değişiklikler 96 saatlik uygulamadan sonra değerlendirilmiştir. Histopatolojik bulgular eşeyler arasında farklılık göstermemiştir ve deney sonu itibari ile ölüm meydana gelmemiştir. Yapılan mikroskopik değerlendirmede Deltametrin’in doza bağlı olarak patolojik anormallik çeşidi ve frekansında artışlar tespit edilmiştir. Bu anormallikler Çizelge 4.2’de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Belirli dozlarda Deltametrin'e maruz kalan *Pelopylax ridibundus* türü kurbağalarda tespit edilen histopatolojik hasarlar

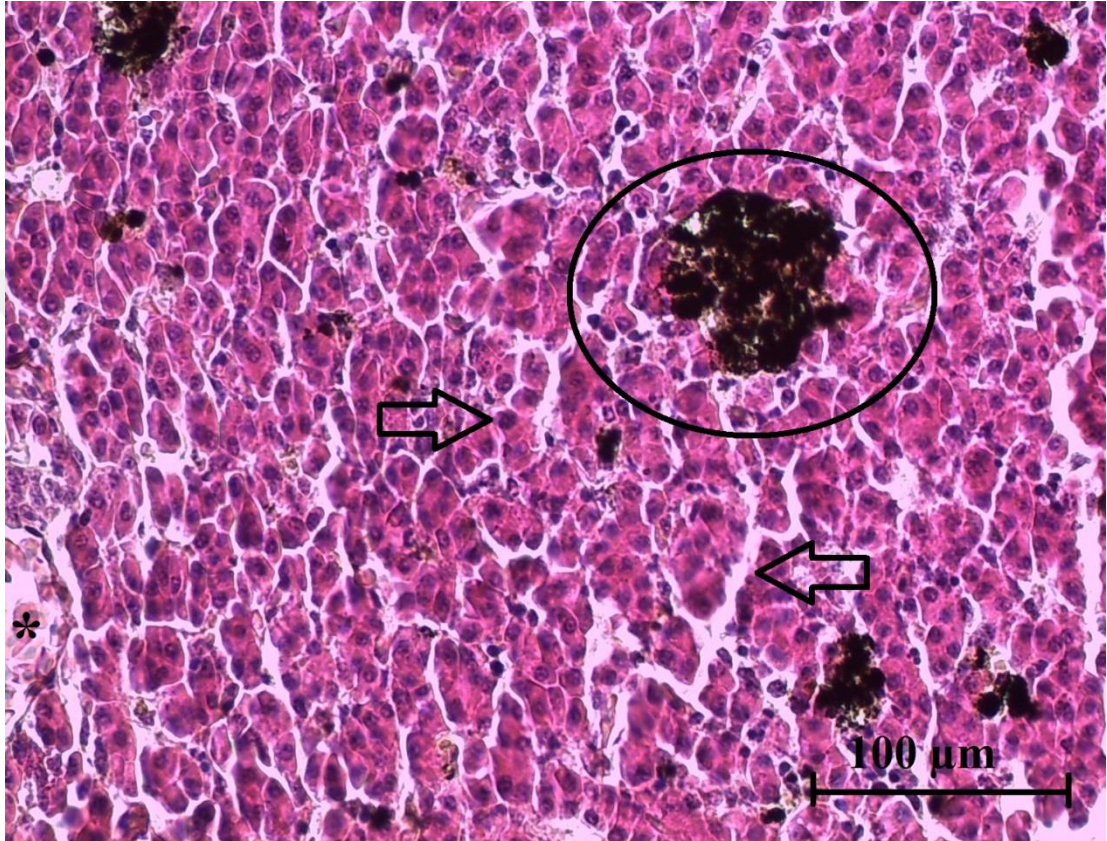
Organ	Patolojik hasar	DTC evresi	Kontrol	0,625 mg/kg	1,25 mg/kg	2,5 mg/kg
Karaciğer	Melanomakrofajlarda artış	I	0+	+	++	+++
	Homojen olmayan parankima	I	0	+	+	++
	Konjesyon	I	0	+	++	++
	Sinuzoidal dilatasyon	I	0+	+	++	+++
	Sentral ven dejenerasyonu	II	0	0	+	++
	Hepatositlerde dejenerasyon	II	0	0+	+	++
	Portal ven dejenerasyonu	II	0	0+	++	+++
	İnfiltrasyon	II	0	0	+	++
	Nekroz	III	0	0	0+	++
Sindirim s	Vakuolizasyon	I	0	0	+	++
	Konjesyon	I	0+	+	++	+++
	Hipertrofi	I	0	0	+	++
	Epitel dejenerasyonu	I	0	0+	+	+++
	İnfiltrasyon	II	0	0	+	++
	Doku bütünlüğü bozulması	II	0	0	+	++
	Nekroz	III	0	0	+	++
Böbrek	Glomerular büzülme	I	0	0+	+	++
	Hemoraji	I	0	0+	+	++
	Bowman mesafesinde artma	I	0	0	0+	+
	Lenfosit infiltrasyonu	I	0	0+	+	++
	Eozinofilik tubul lümeni	I	0	0+	+	+
	Tubuler dilatasyon	I	0	+	+	++
	Tubuler dejenerasyon	II	0	0	+	++
	Bowman dejenerasyonu	II	0	0	0+	+
Akciğer	Melanomakrofajlarda artış	I	0+	+	++	+++
	Kapiller dilatasyon	I	0	0+	+	++
	Konjesyon	I	0	+	++	++
	Alveol epitelinde hiperplazi	II	0	+	++	+++
	Septum kalınlaşması	III	0	+	+	++

0: anormallik yok, 0+: anormallik çok nadir, +: anormallik frekansı düşük, ++: anormallik frekansı orta derecede, +++: anormallik frekansı çok yüksek. Evreler Bernet *et al.* (1999) ve Jayawardena *et al.* (2017)'ye göre belirlenmiştir.

4.2.1. Karaciğerde histopatolojisi

Kontrol grubu kurbağalarının karaciğerlerinden hazırlanan preparatlarda çokgen şekilli hepatositler, bazılarının çift çekirdekli ve birbirlerinden sinuzoidlerle ayrılmış oldukları görülmüştür. Hepatik-portal sistem damarları net bir şekilde ayırt edilirken toplayıcı kanallar etrafındaki sinuzoidlerin belirgin olmadığı gözlenmiştir. Hepatosit

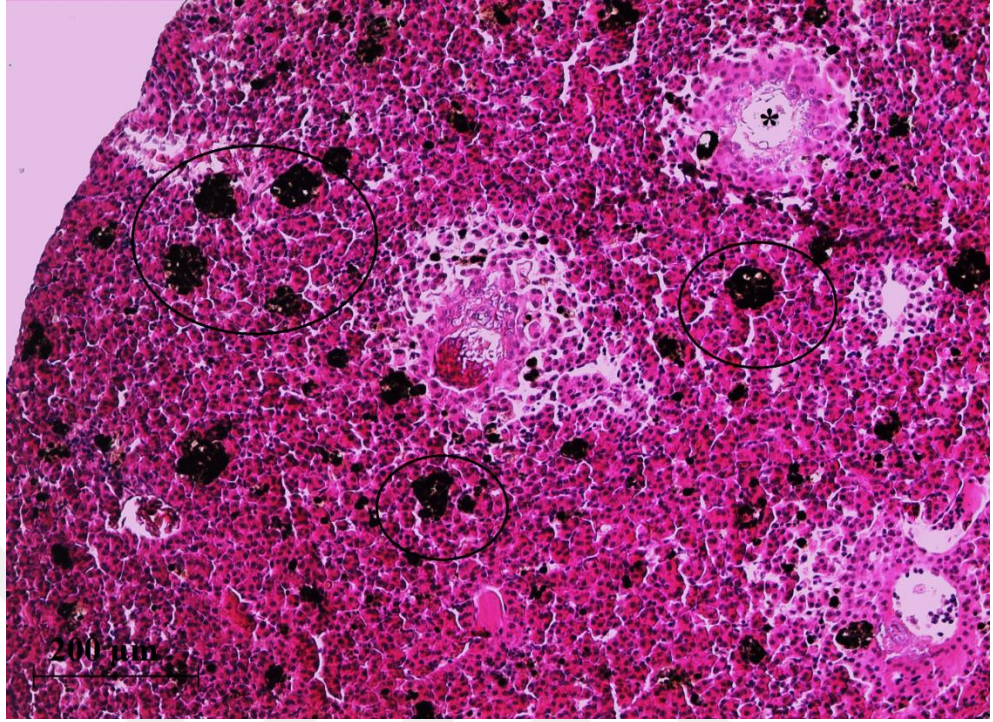
sitoplazmalarının granüler yapıda, çekirdeklerin koyu renkli olup çoğunda merkezi yerleşimli olduğu ve parankima içerisinde melanomakrofajik bölgelerin az sayıda olduğu görülmüştür (Şekil 4.1).



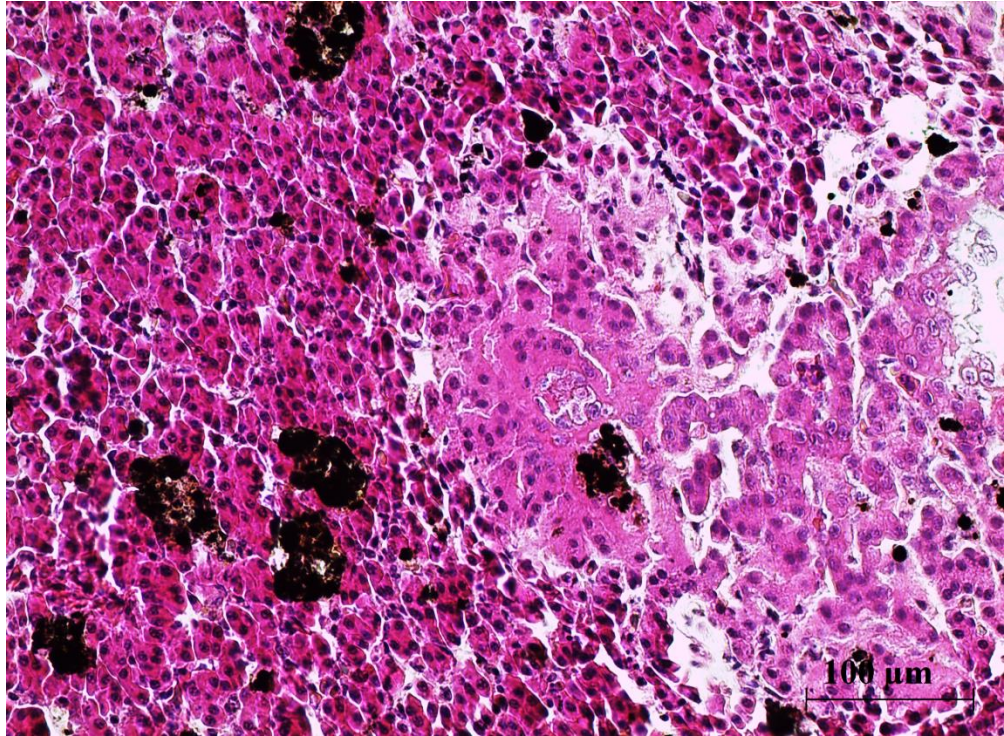
Şekil 4.1. Kontrol grubu kurbağada normal karaciğer kesiti

Sentral ven (*), hepatositler (sağ ok), hepatik parankima sinuzoidleri (sol ok), melanomakrofajik merkez (daire içi)

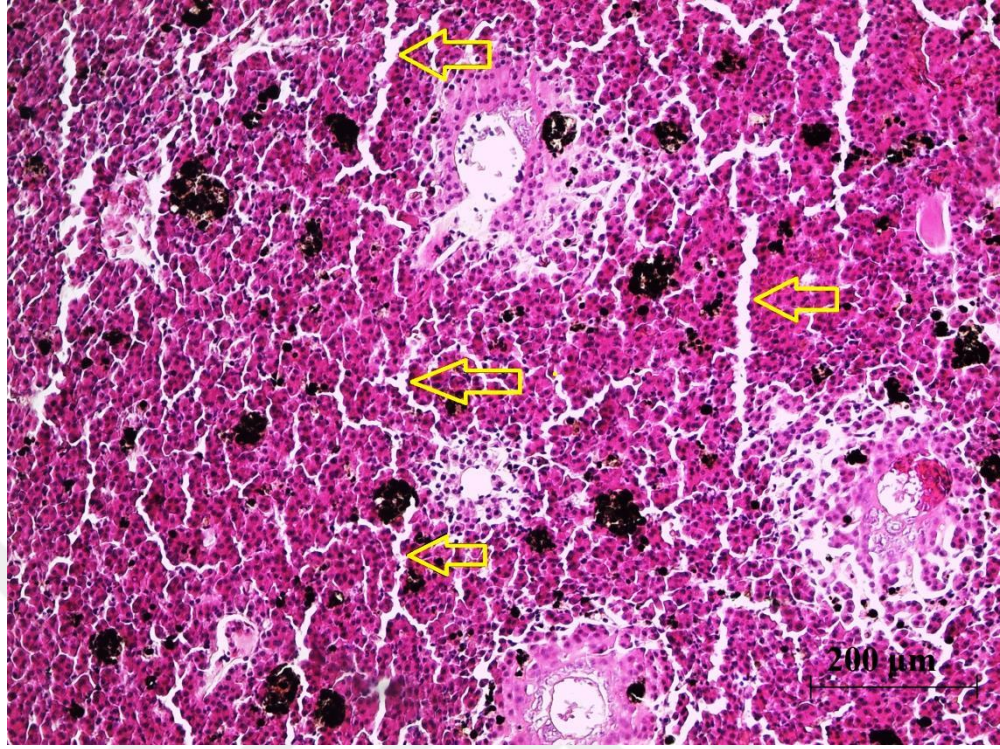
Ancak Deltametrin'e maruz kalan kurbağalarının karaciğerlerinde önemli patolojik bulgular elde edilmiştir. Pestisit doz artışına bağlı olarak tespit edilen anormallikler melanomakrofajik merkezlerde artış (Şekil 4.2), homojen olmayan hepatosit parankiması (Şekil 4.3), sinusoidal dilatasyon (Şekil 4.4), infiltrasyon (Şekil 4.5), sentral ven etrafında dejenerasyon ve nekrotik alanlar (Şekil 4.6), vasküler epitel dejenrasyonu (Şekil 4.7), sentral ven dejenerasyonu (Şekil 4.8), portal ve sentral venlerde konjesyon (Şekil 4.9, Şekil 4.10) ile hepatositlerde dejenerasyon (Şekil 4.11) olarak belirlenmiştir.



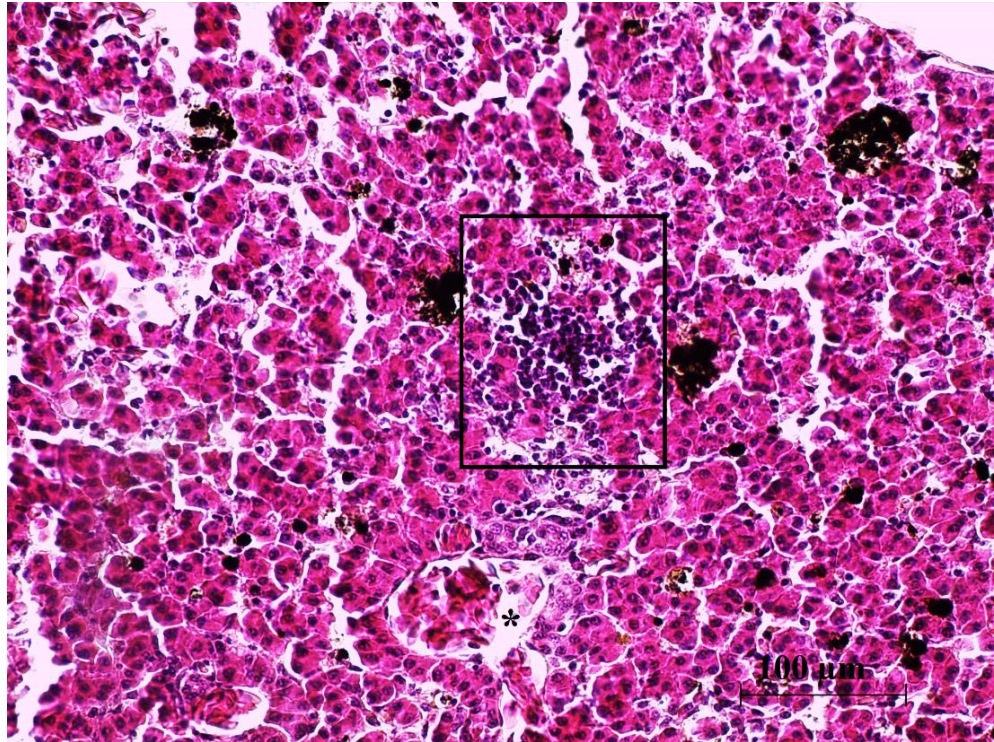
Şekil 4.2. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Melanomakrofajik merkezlerde artış (Daire içi alanlar ve diğer koyu renkli, düzensiz kısımlar
Melanomakrofajik merkezleri, * sentral veni göstermektedir).



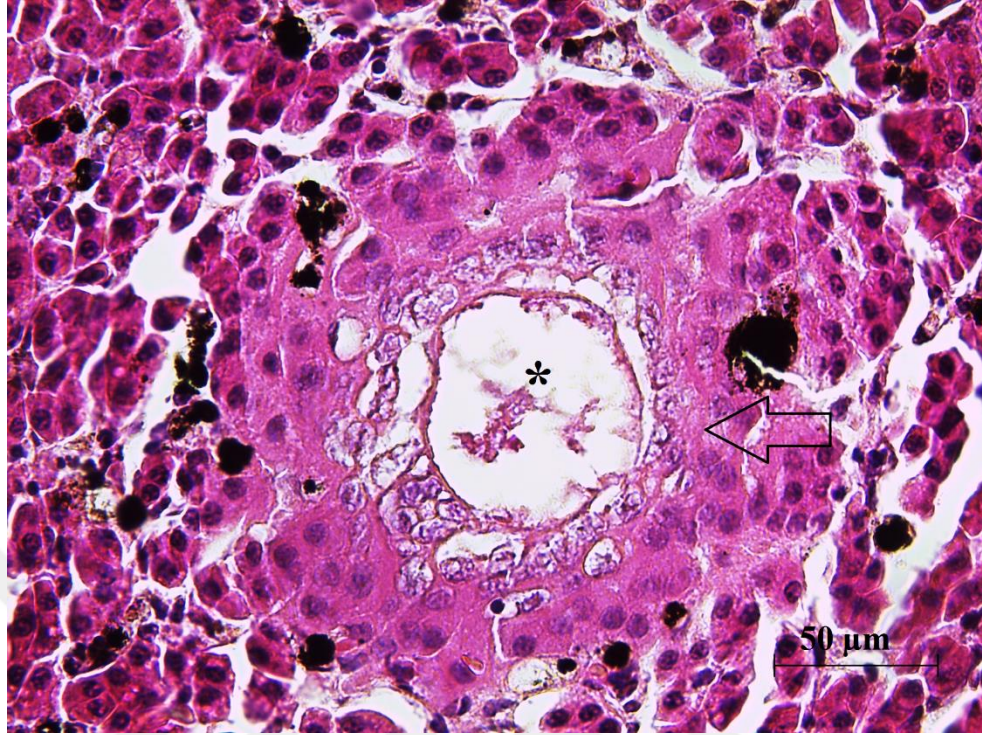
Şekil 4.3. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Homojen olmayan hepatosit parankiması



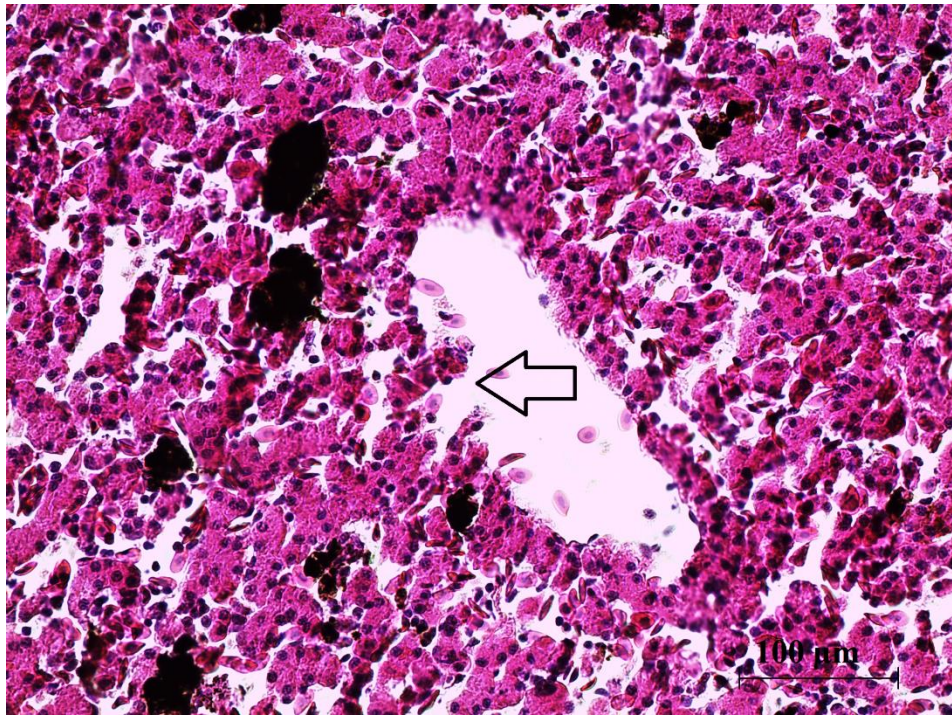
Şekil 4.4. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Sinuzoidal dilatasyonlar (oklar)



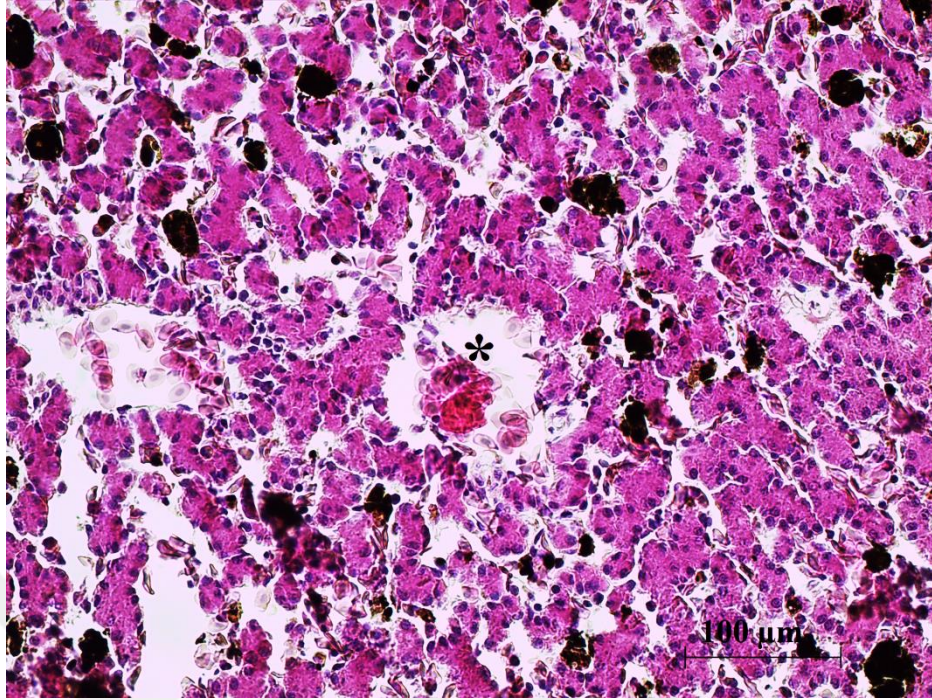
Şekil 4.5. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
İnfiltrasyon (kare içi tek çekirdekli hücrelerin yayıldığı alanı, * sentral veni göstermektedir)



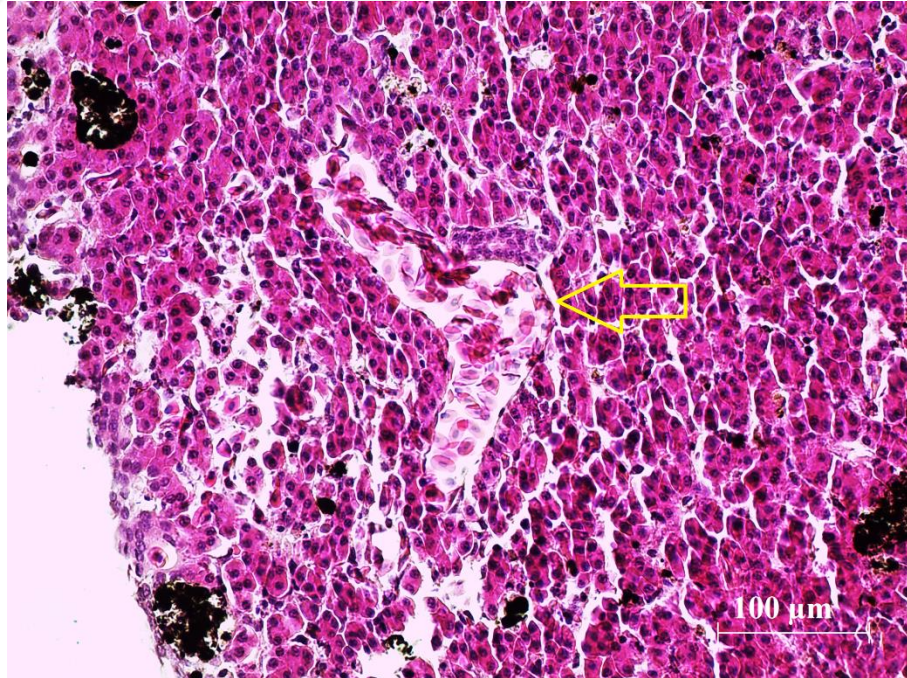
Şekil 4.6. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Sentral ven (*) etrafında hepatosit dejenerasyonu ve nekrotik alanlar (ok).



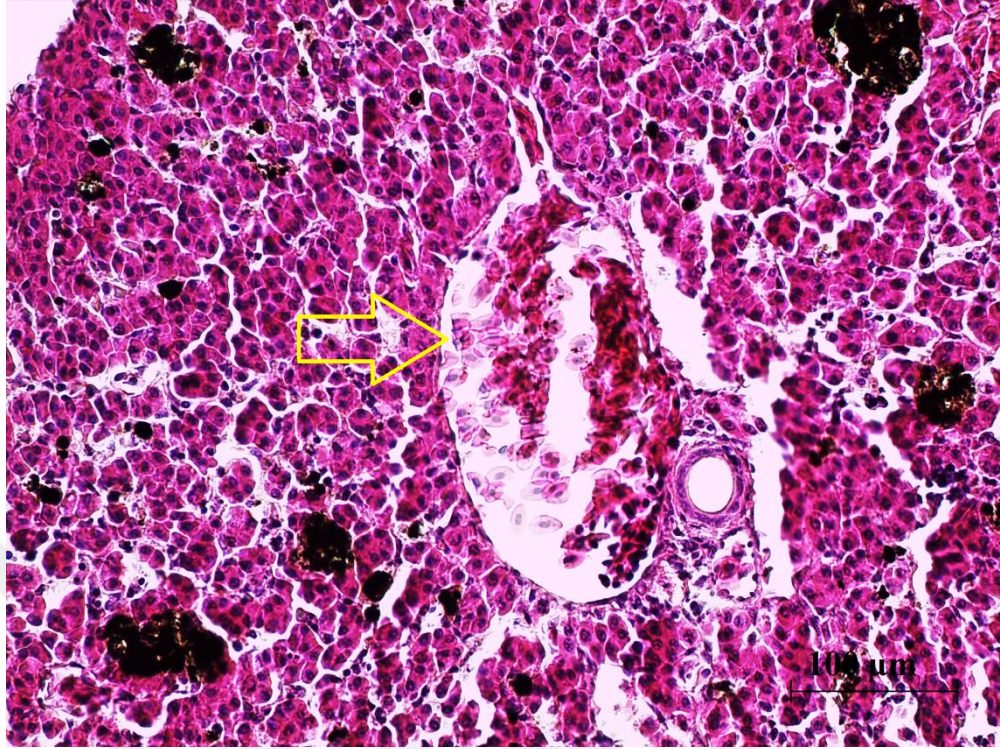
Şekil 4.7. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Vasküler epitelde dejenerasyon (ok).



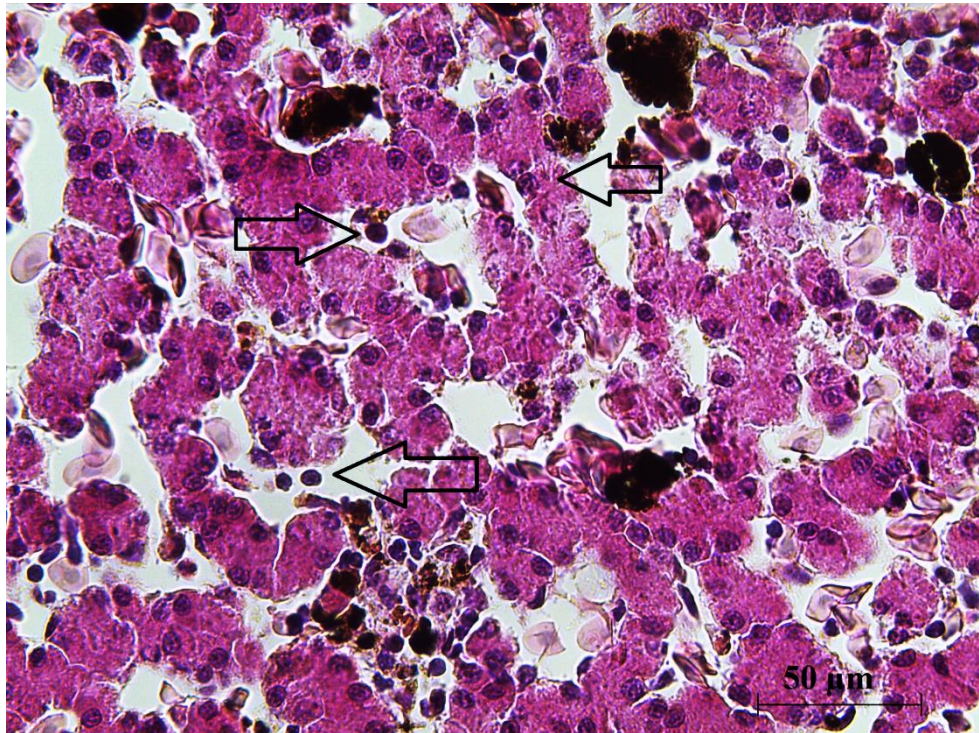
Şekil 4.8. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Sentral ven dejenerasyonu, (* sentral veni göstermektedir).



Şekil 4.9. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Portal vende konjesyon (ok).



Şekil 4.10. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Sentral vende konjesyon (ok)



Şekil 4.11. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın karaciğer kesiti
Hepatositlerde dejenerasyon (ok).

Hesaplanan DTC değerleri ise yüksek doz için 81.58 ± 8.86 , 1,25 mg/kg için 43.30 ± 5.47 , düşük doz için 25.21 ± 2.68 ve kontrol grubu için 4.06 ± 0.29 olarak bulunmuştur (izelge 4.3). Bu sonuçlara göre kontrol kurbağalarının karaciğerlerinin normal çalıştığı, düşük doz kurbağalarının karaciğerlerinde hafıf, 1,25 mg/kg doz grubu kurbağalarının karaciğerinde orta dereceli bir hasarın olduğu ve yüksek doz Deltametrin grubu kurbağalarının karaciğerlerinde ise kuvvetli patolojik hasarın olduğu tespit edilmiştir.

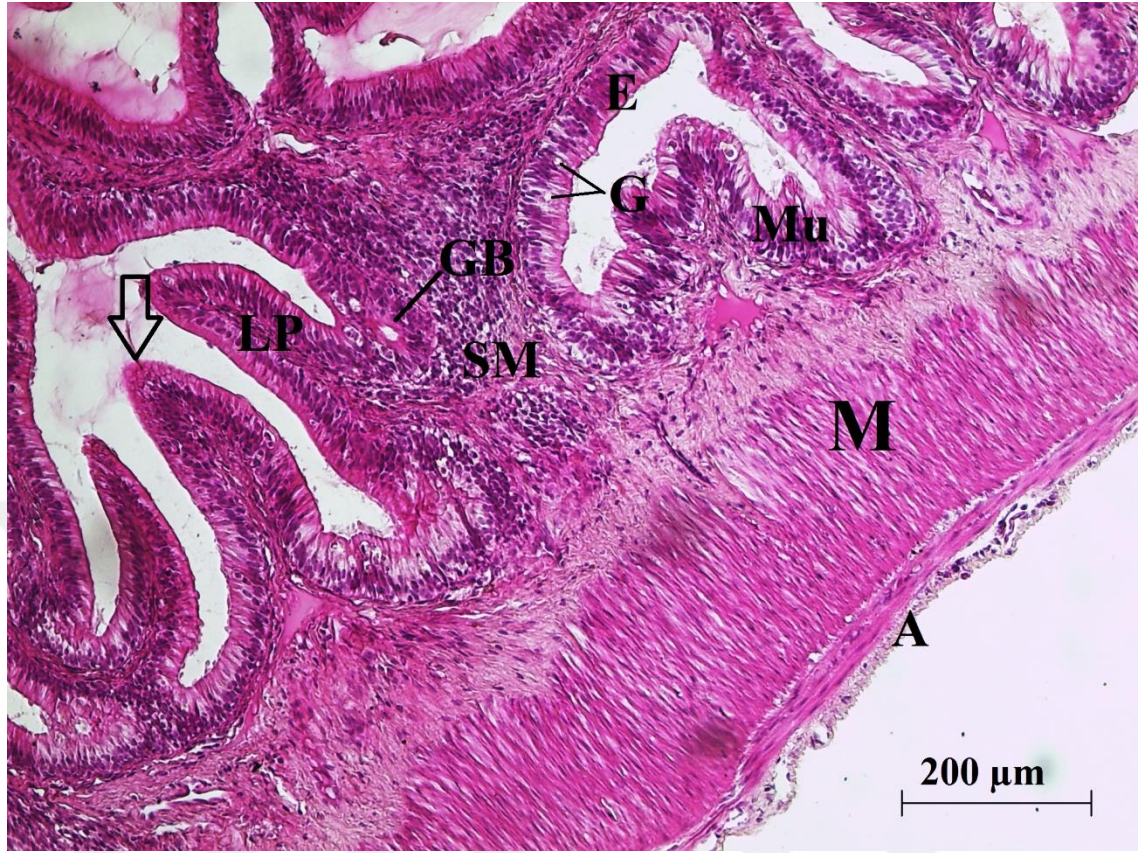
Çizelge 4.3. Karaciğer için hesaplanan DTC değeri

Gruplar	DTC
Kontrol	4.05 ± 0.29^d
0,625 mg/kg	25.21 ± 2.68^c
1,25 mg/kg	43.30 ± 5.47^b
2,5 mg/kg	81.58 ± 8.86^a

*Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur (n=16). Aynı sütundaki farklı harfler $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (Duncan testi).

4.2.2. Sindirim sistemi histopatolojisi

Kurbağa sindirim sistemi histolojik kesitleri incelendiğinde dıştan içe doğru adventisya, muskularis, submukoza ve mukoza olmak üzere dört hücresel tabaka gözlenmiştir. En dışta sıkı bağ doku ile çevrili adventisya (seroza) tabakası, bunun hemen altında oldukça geniş olan, halkasal ve dışta boyuna düz kaslardan oluşan muskularis tabakası, muskularisin önünde bağ dokusundan oluşan submukoza tabakası yer almaktadır. En ite ise lümene bakan kısımda lamina propria (gevşek lifli bağ doku) ve epitel hücrelerinden oluşan mukoza tabakası da net bir şekilde ayırtdilmiştir. Kontrol grubu kurbağalardan hazırlanan preparatlarda gastrointestinal yapıda yapılan incelemelerde villsler rahatlıkla tespit edilmiştir. Mukoza epitelinde hücre sınırları belirgin, tek katlı prizmatik epitel çizgili kenarlı olup bu hücrelerin aralarında goblet hücreleri tipik görünüm sergilemiştir. Lamina propriadaki gastrik bezler normal olarak değerlendirilmiştir (şekil 4.12).



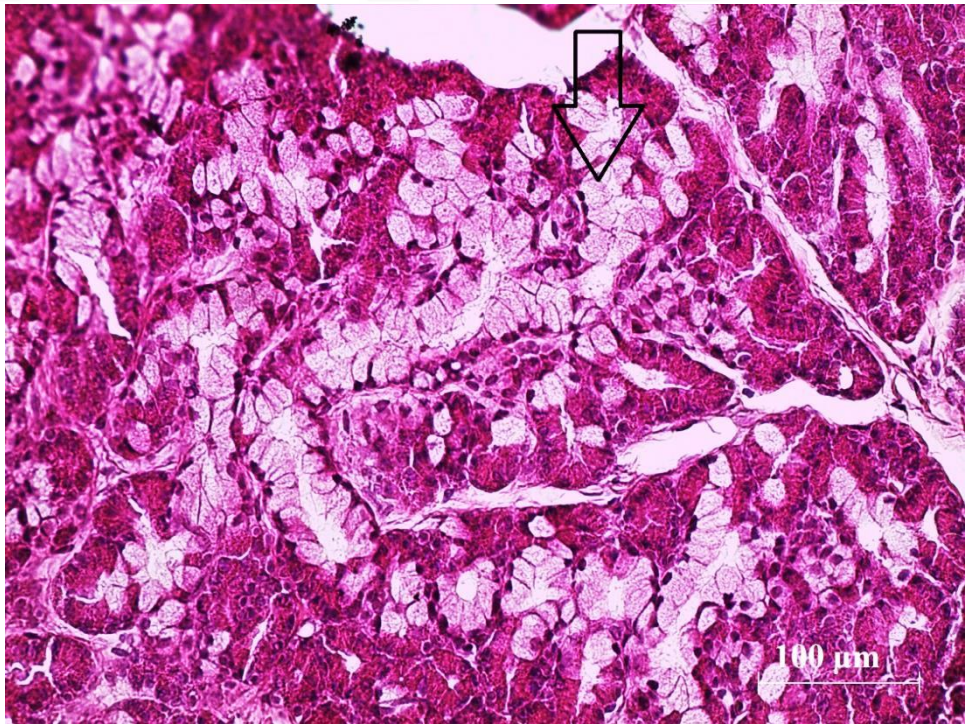
Şekil 4.12. Kontrol grubu kurbağada normal mide kesiti

A: adventisia, **M:** muskularis, **Mu:** mukoza, **SM:** submukoza, **G:** goblet hücreleri, **GB:** gastrik bez, **LP:** lamina propria, **E:** epitel, **Ok:** villus, H&E

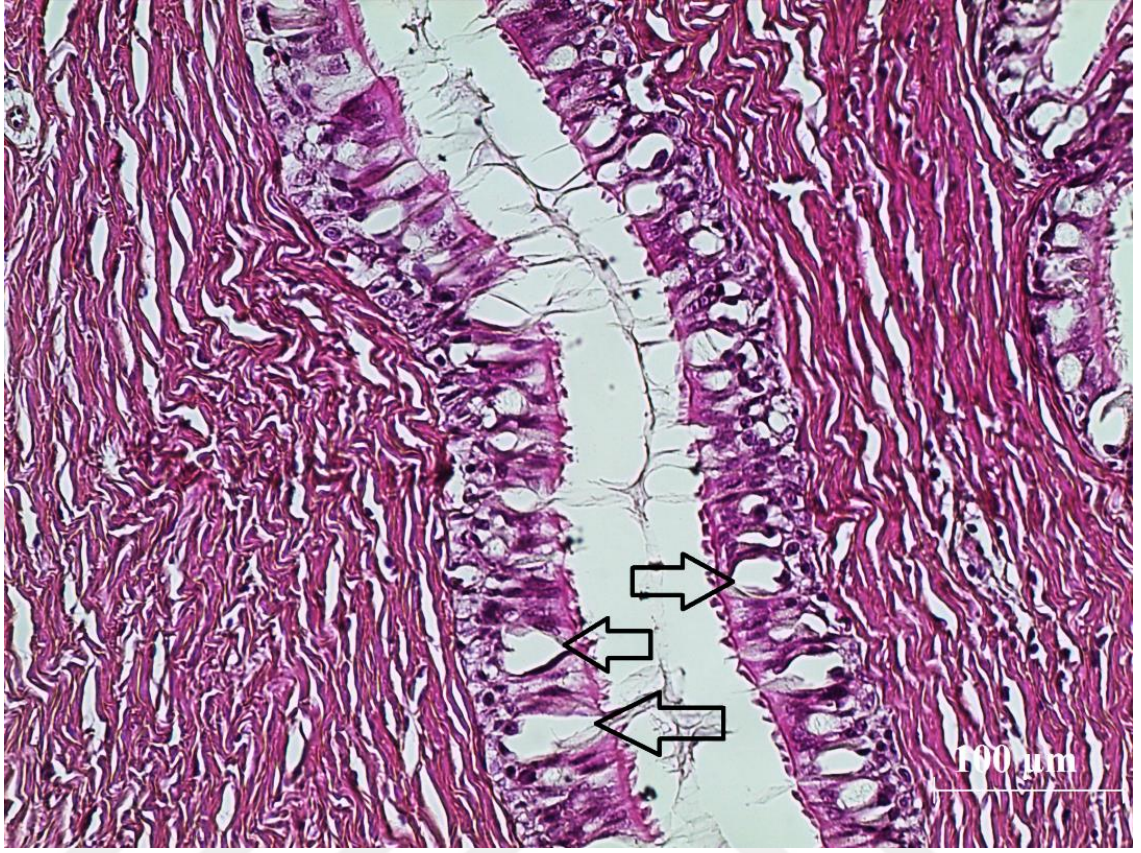
Düşük doz grubu histolojik yapısı, kontrol grubu genel sindirim sistemi yapısını göstermekte olup herhangi bir anormallik gözlenmemiştir. 1,25 mg/kg ve 2,5 mg/kg doz gruplarında ise vakuolizasyon (Şekil 4.13), gastrik bezlerde hipertrofi (Şekil 4.14) ve goblet hücrelerinde hipertrofi (Şekil 4.15) özofagusta tespit edilen anormallikler olmuştur.



Şekil 4.13. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın özofagus kesiti
Vakuolizasyon (daire içi).

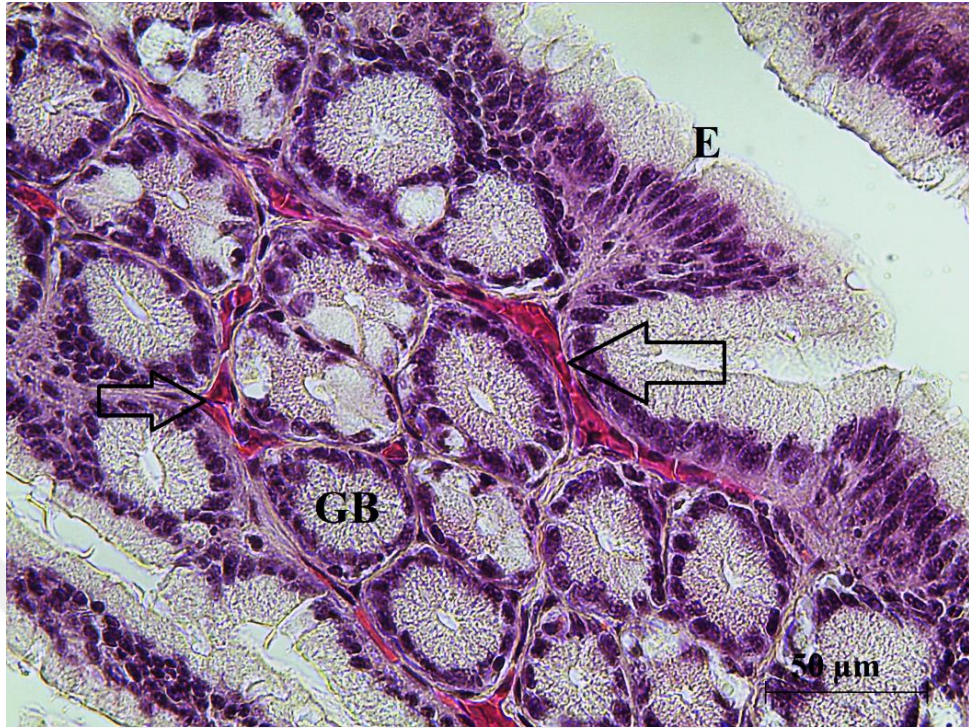


Şekil 4.14. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın özofagus kesiti
Gastrik bezlerde hipertrofi (ok).

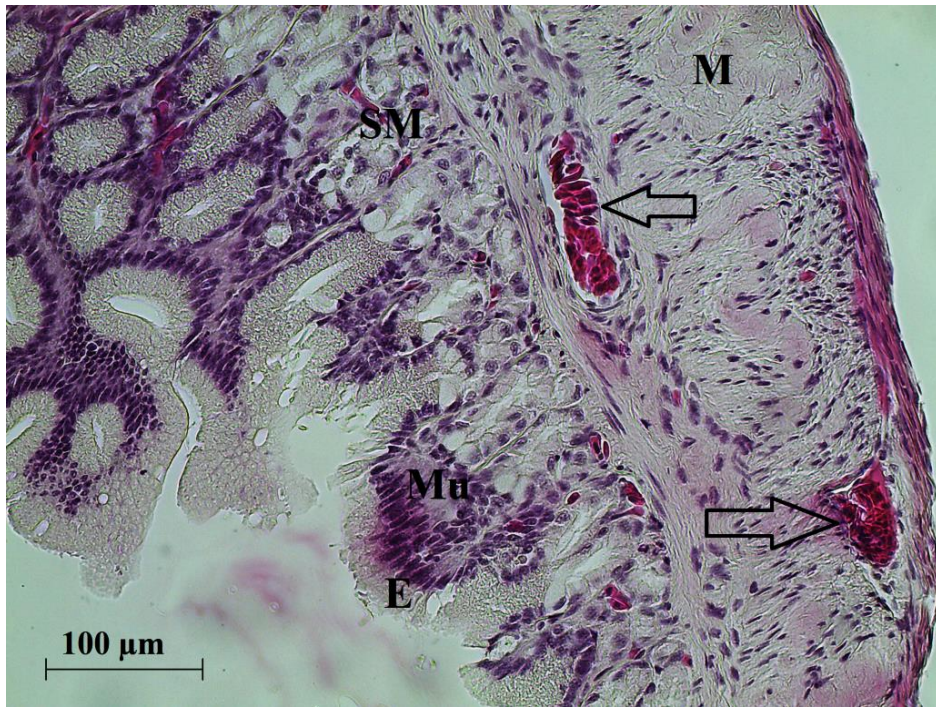


Şekil 4.15. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın özofagus kesiti
Goblet hücresi hipertrofisi (oklar).

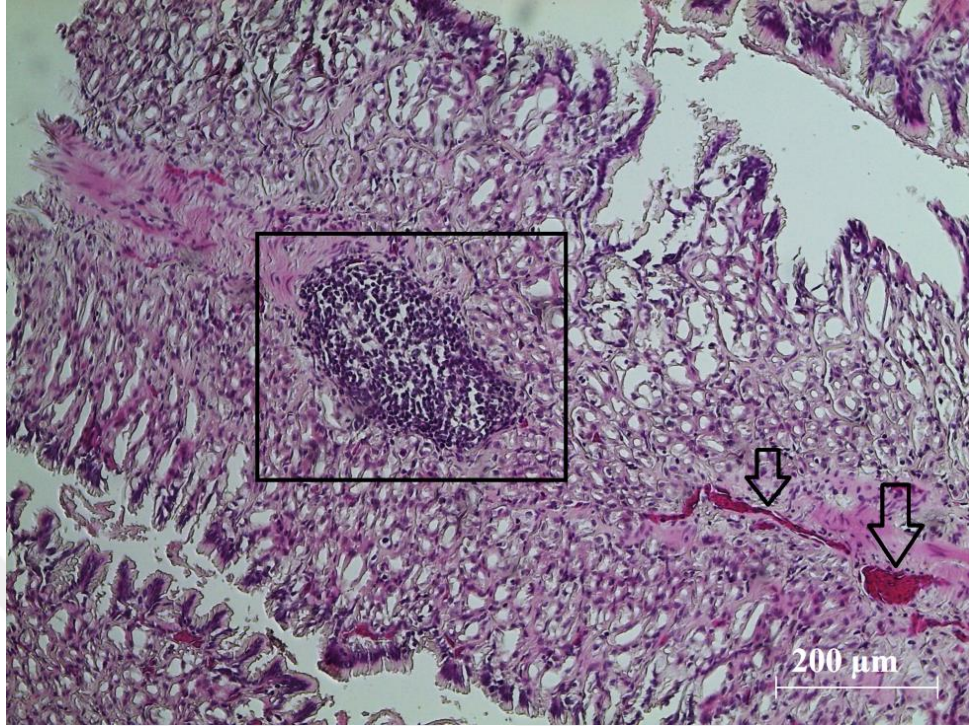
Midede ise kontrol grubu hariç tüm uygulam gruplarında doku hasarı gözlenmiştir. En önemli patolojik anormallikler ise gastrik bez etrafında konjesyon (Şekil 4.16), muskularis tabakada konjesyon (Şekil 4.17), submukozada infiltrasyon ve konjesyon (Şekil 4.18), gastrik bez epitel hücrelerinde hipertrofi (Şekil 4.19), nekroz, epitel tabakada aşınma (Şekil 4.20), muskularis tabakada konjesyon (Şekil 4.20) ve doku bütünlüğünün bozulması (Şekil 4.21) olarak tespit edilmiştir.



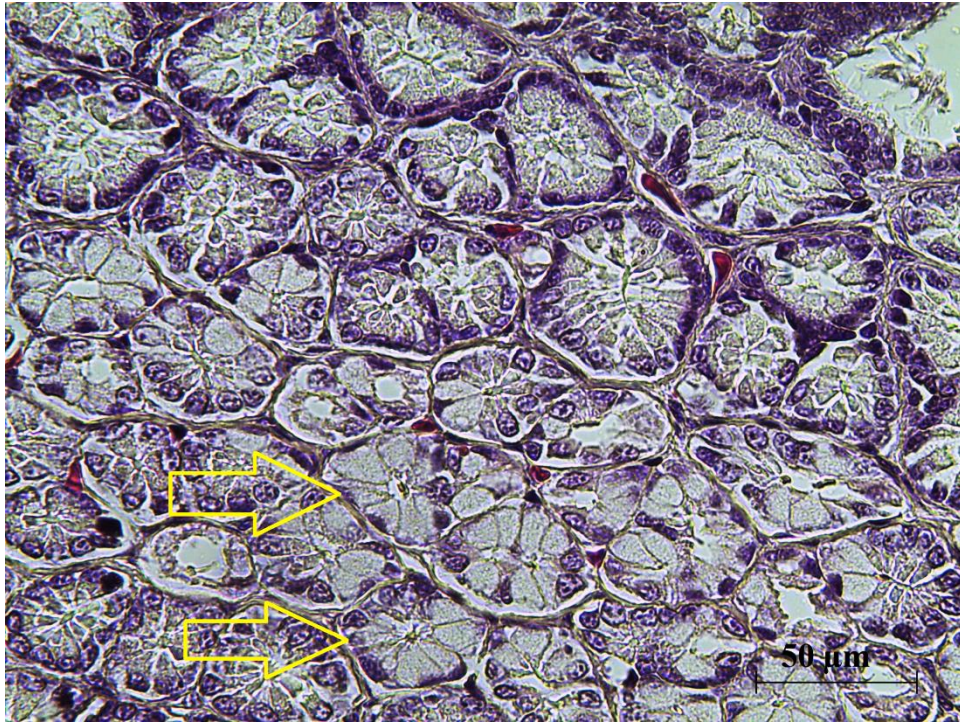
Şekil 4.16. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti
Gastrik bez etrafında konjesyon (ok), GB; gastrik bez.



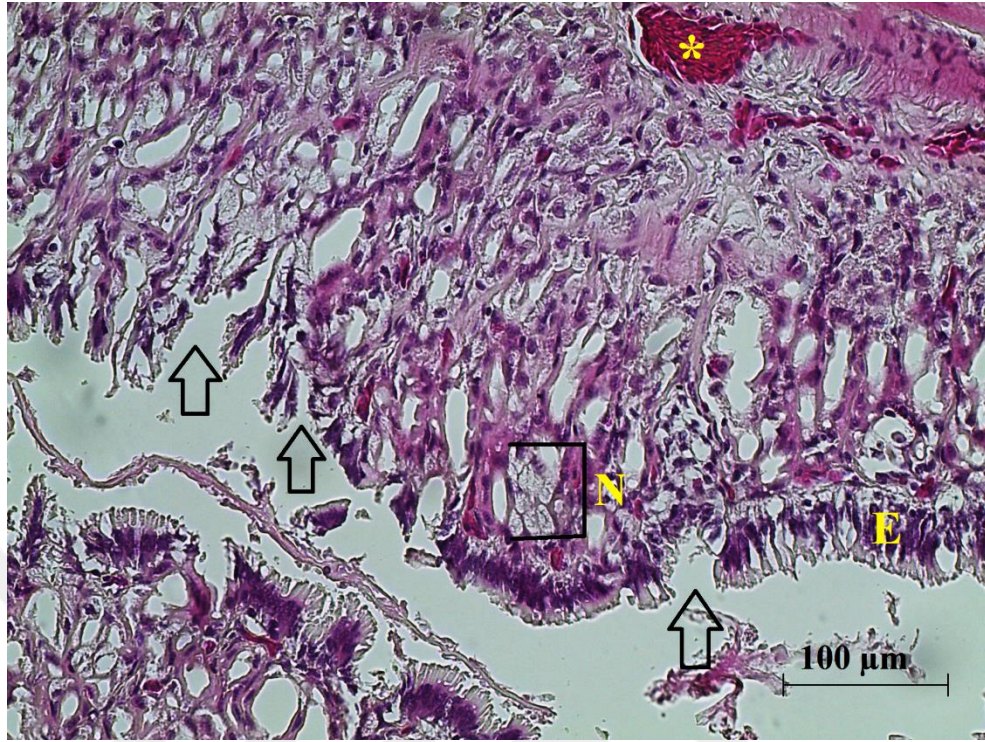
Şekil 4.17. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti
Muskularis tabakada damariçi konjesyon (oklar). E: kolumnar epitel, Mu: mukoza, SM: submukoza, M: Muskularis.



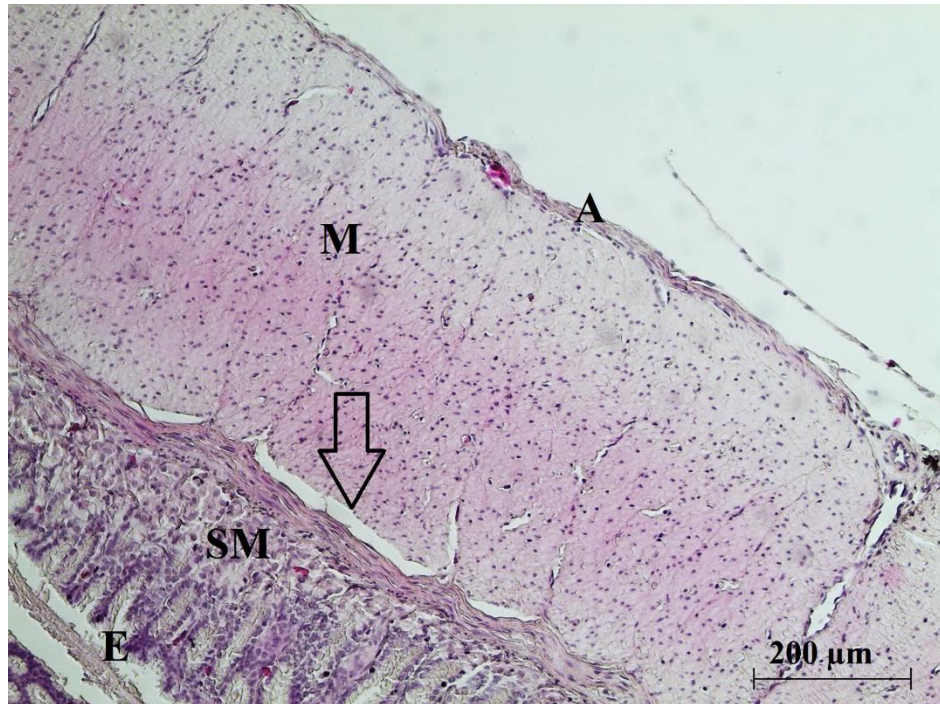
Şekil 4.18. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti
Submukozada infiltrasyon (kare içi) ve konjesyon (ok)



Şekil 4.19. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti
Gastrik bez epitel hücrelerinde hipertrofi (ok)

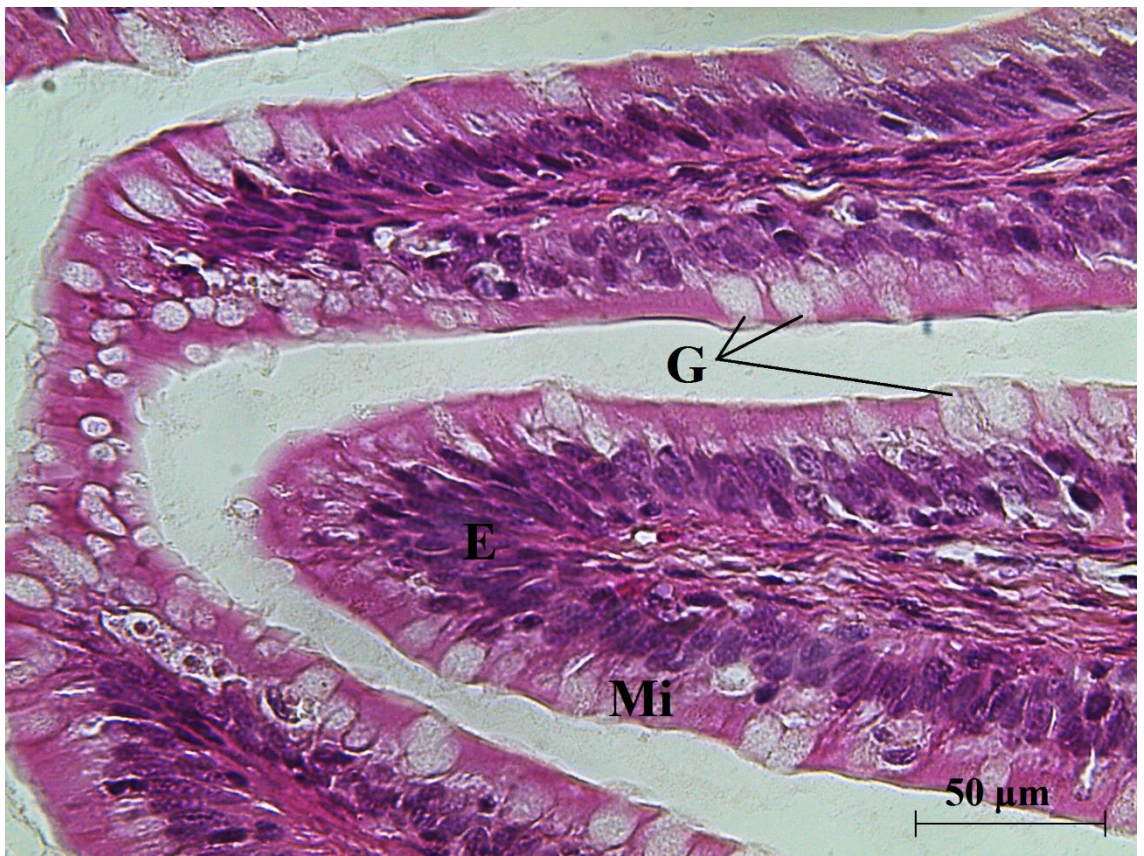


Şekil 4.20. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti
Epitel (E) tabakada aşınma (oklar), nekroz (N) ve submukozada damar içi konjesyon (asterisk)



Şekil 4.21. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın mide kesiti
Muskularis tabakada doku bütünlüğü bozulması (ok). E: epitel, SM: submukoza, M: muskularis, A: adventisia.

Barsakda ise emici epitel hücreleri ve goblet hücreleri yoğun bir şekilde izlenmiştir (Şekil 4.22). 0,625 mg/kg doz grubunda barsakda kontrole göre önemli bir farklılık belirlenmemiştir. 1,25 ve 2,5 mg/kg doz gruplarında ise epitel hücrelerinde vakuolizasyon (Şekil 4.23), muskulariste konjesyon (Şekil 4.23), infiltrasyon (Şekil 4.24), villuslarda dejenerasyon (Şekil 4.25), epiteliyal disorganizasyon ve epitelde doku bütünlüğünün bozulması (Şekil 4.26) gibi histolojik hasarların yoğun olduğu anlaşılmıştır.

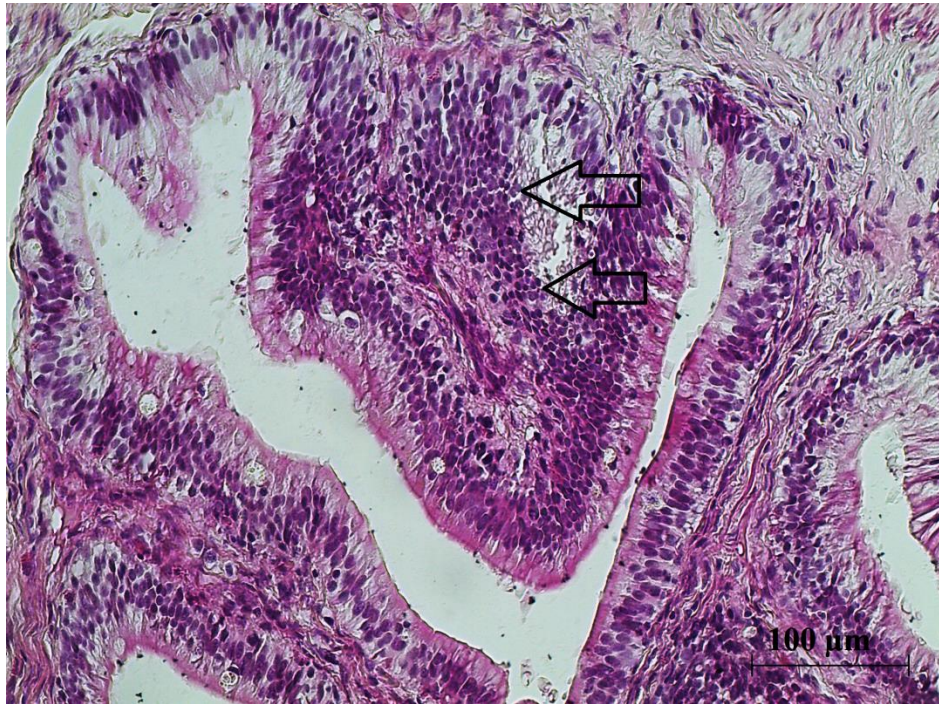


Şekil 4.22. Kontrol grubu kurbağada normal barsak kesiti

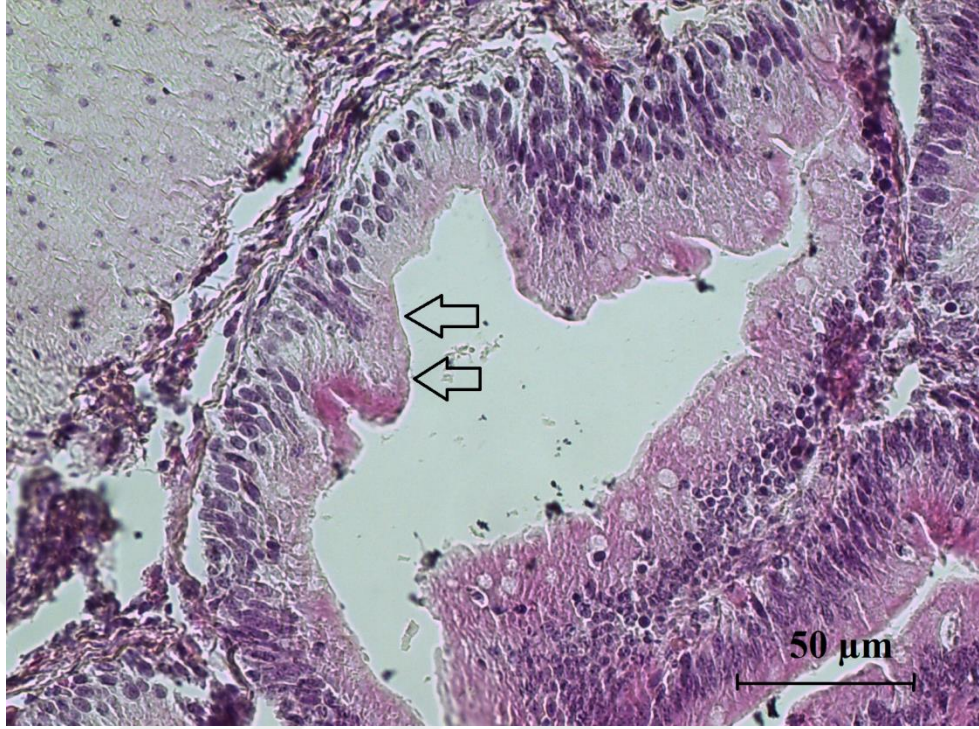
E: epitel hücreleri, Mi: mikrovilluslar, G: goblet hücreleri



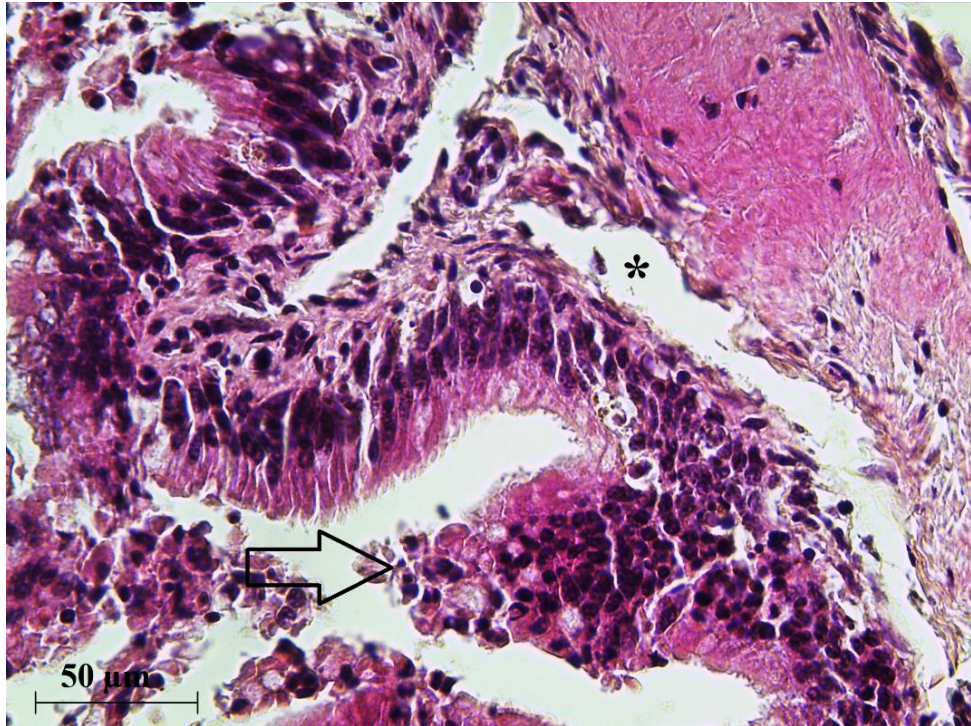
Şekil 4.23. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti
Epitel hücrelerinde vakuolizasyon (oklar) ve muskulariste konjesyon (daire içi)



Şekil 4.24. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti
Tek çekirdekli hücre infiltrasyonu (oklar)



Şekil 4.25. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti
Villus dejenerasyonu (oklar)



Şekil 4.26. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın barsak kesiti
Epiteliyal disorganizasyon (ok) ve epitel tabakanın bütünlüğünün bozulması (asterisk)

Elde edilen DTC değerleri, kontrol ve düşük doz grubu kurbağalarının gastrointestinal sisteminin normal çalıştığını göstermiştir. Ancak 1,25 mg/kg grubu kurbağalarında gastrointestinal sistemde hafif, 2,5 mg/kg grubunda ise orta dereceli hasarın olduğu görölmüştür (Çizelge 4.4).

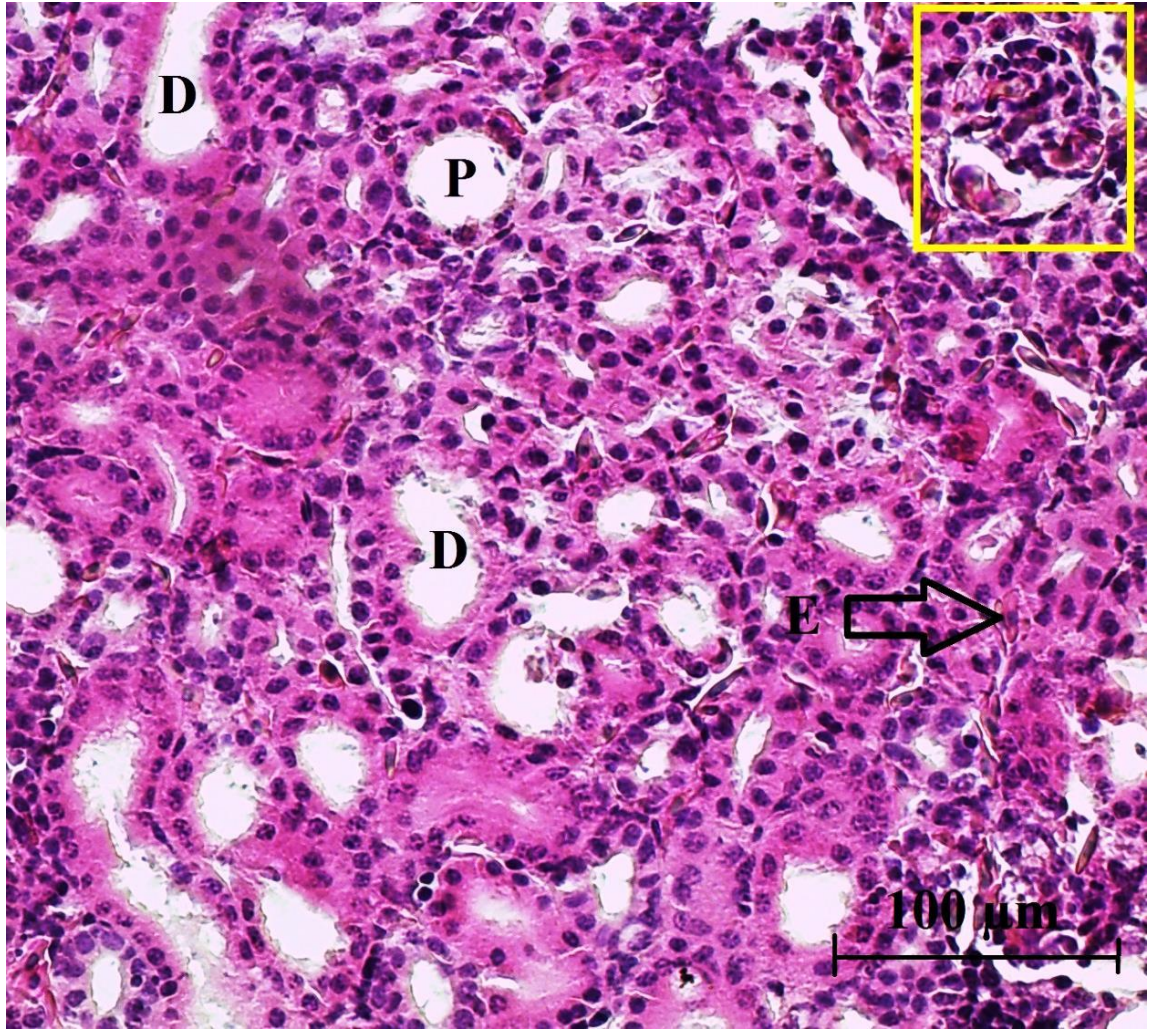
Çizelge 4.4. Sindirim sistemi için hesaplanan DTC değeri

Gruplar	DTC
Kontrol	2.05±0.23 ^d
0,625 mg/kg	5.81±0.38 ^c
1,25 mg/kg	17.12±0.17 ^b
2,5 mg/kg	40.24±0.80 ^a

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=16). Aynı sütundaki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (Duncan testi).

4.2.3. Böbrek histopatolojisi

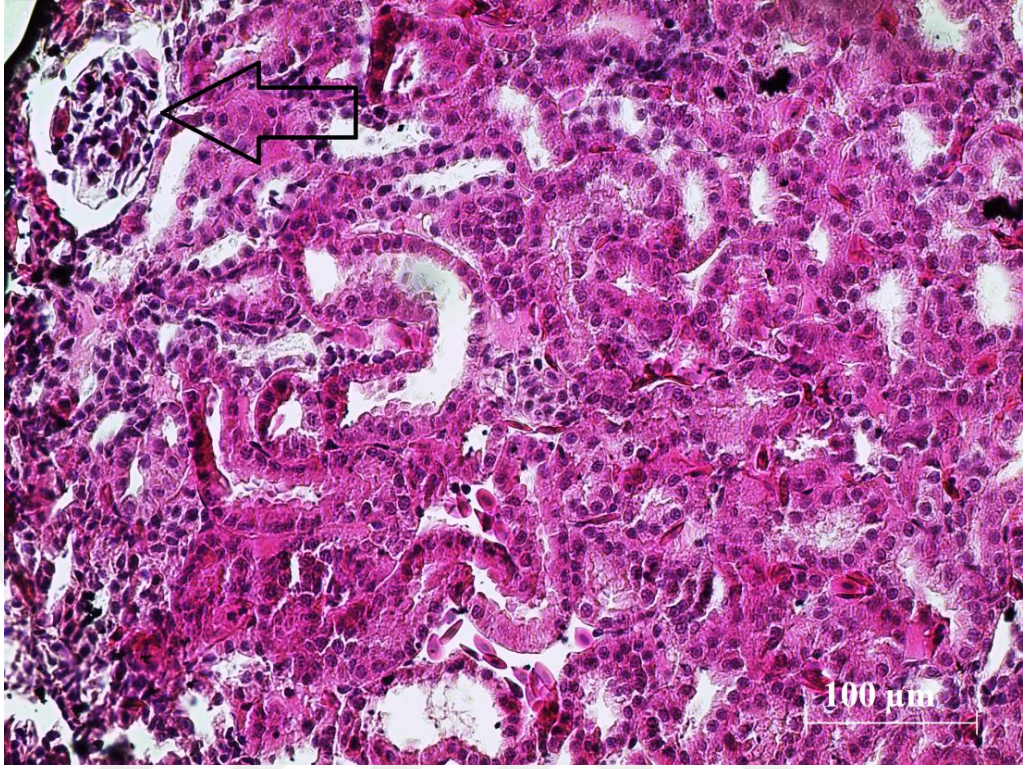
Kontrol grubu kurbağalarının böbrek dokularından hazırlanan histolojik kesitlerde nefronu oluşturan renal korpüskül ile tübüller net bir şekilde gözlenmiştir. Renal korpüskül, glomerulus ve onu saran Bowman kapsülünden ibaret olup kesitlerde normal olduğu, ayrıca proksimal ve distal tübül lümenlerinin düzgün olduğu anlaşılmıştır. Glomerulus içindeki podositlerin belirgin olduğu ve eritrositlerin neredeyse renal parankimaya hiç yayılmadığı tespit edilmiştir. Proksimal tübülde kübik epitel hücreleri yuvarlak-oval şekilli büyük çekirdekleri ile görölmüştür. Görüntü alanında alanında proksimal tubuller halka şeklinde, distal tubuller ise oval veya çubuk şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 4.27).



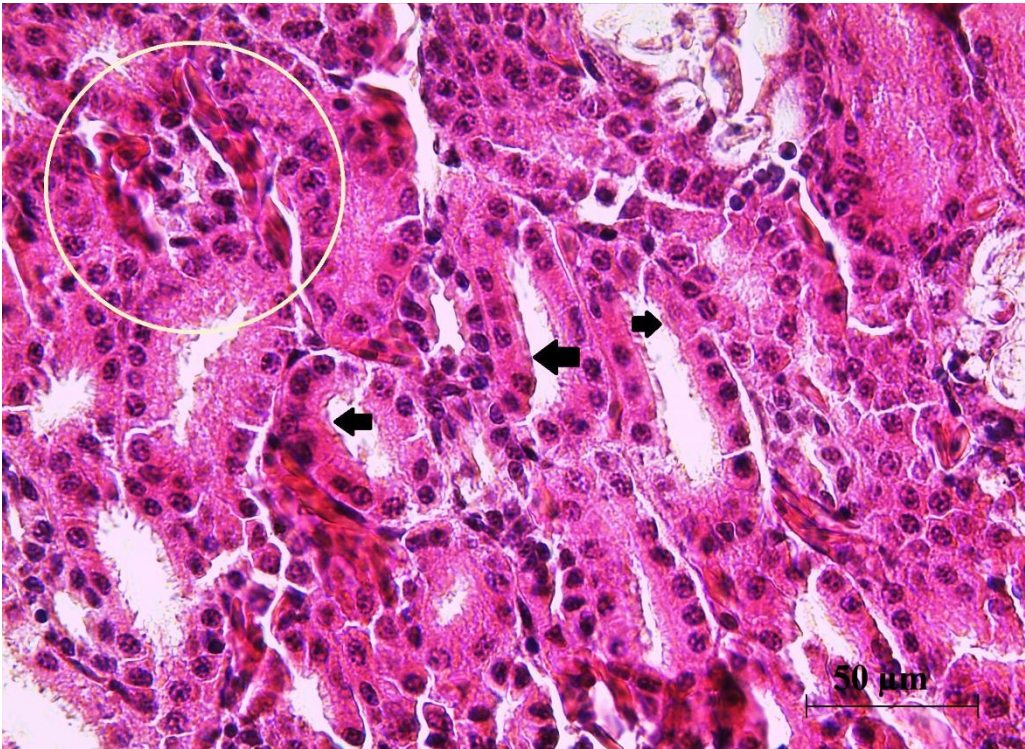
Şekil 4.27. Kontrol grubu kurbağada normal böbrek kesiti

Normal renal parankimada eritrosit (E), distal (D) ve proksimal (P) tubuller, içerisinde böbrek kılcal damar yumağı (glomerulus) olan Bowman kapsülü (Kare içi).

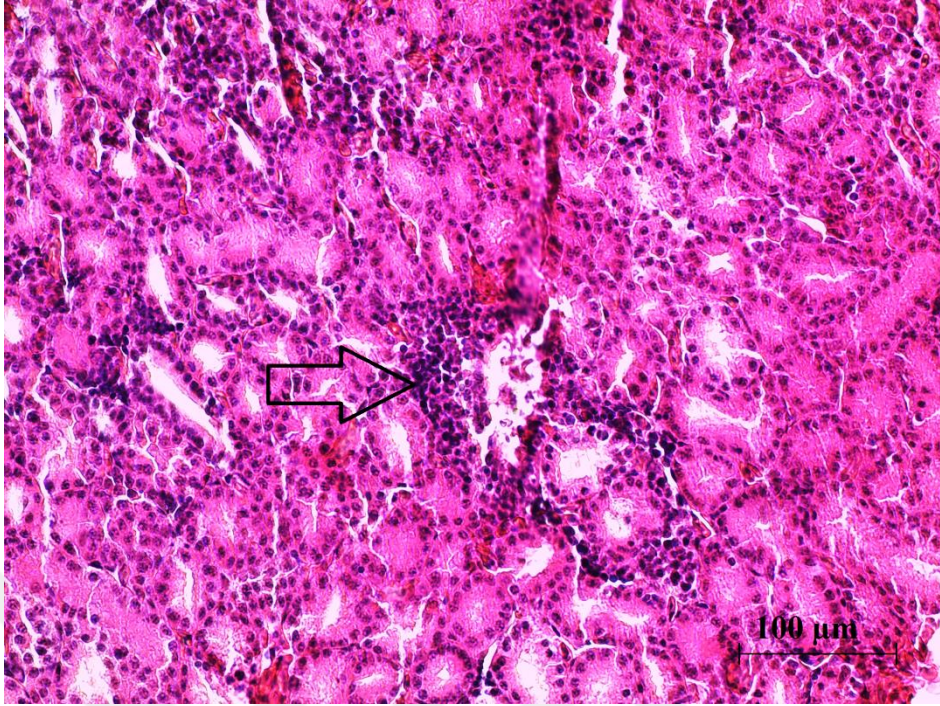
Kontrol grubu hariç tüm deney gruplarında doza bağlı olarak böbreklerde histopatolojik hasarlar gözlenmiştir. Tüm gruplarda glomerular büzülme (Şekil 4.28), hemoraji (Şekil 4.29, 4.31), tubul epitel hücreside fırçamsı kenar dejenerasyonu (Şekil 4.29), infiltrasyon (Şekil 4.30), Bowman mesafesinde artış (Şekil 4.31), renal tubul dejenerasyonu (Şekil 4.32), renal tubul dilatasyonu (Şekil 4.33), Bowman kapsülü dejenerasyonu (Şekil 4.33) ve eozinofilik boyanmış tubuler lümenler (Şekil 4.34) gibi patolojik anormallikler tespit edilmiştir.



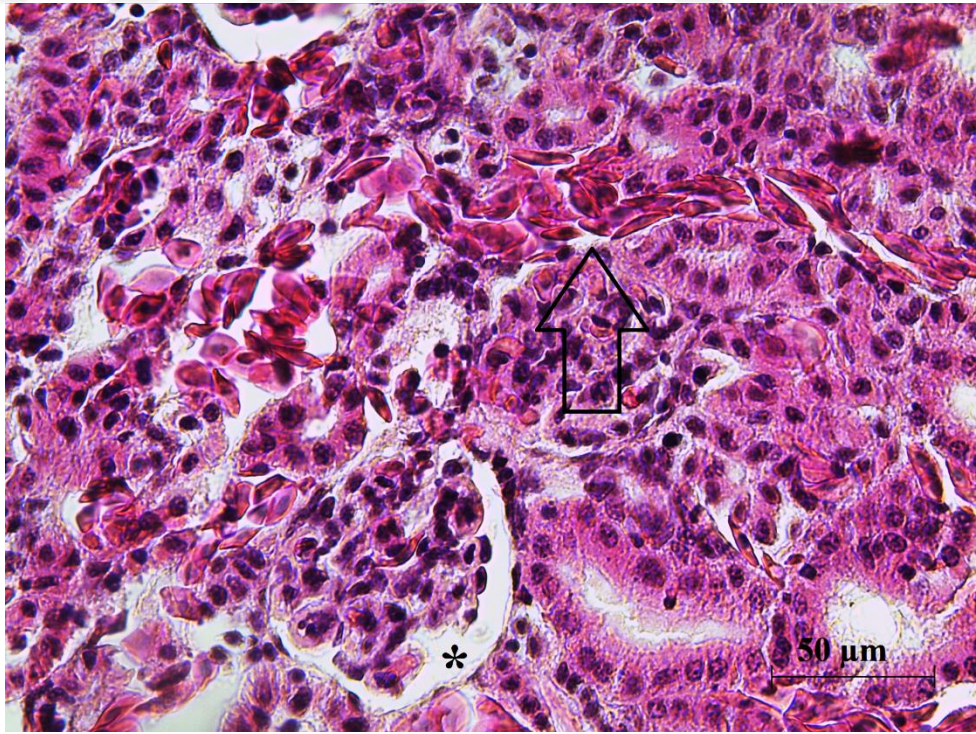
Şekil 4.28. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Glomerulus büzülmesi (ok).



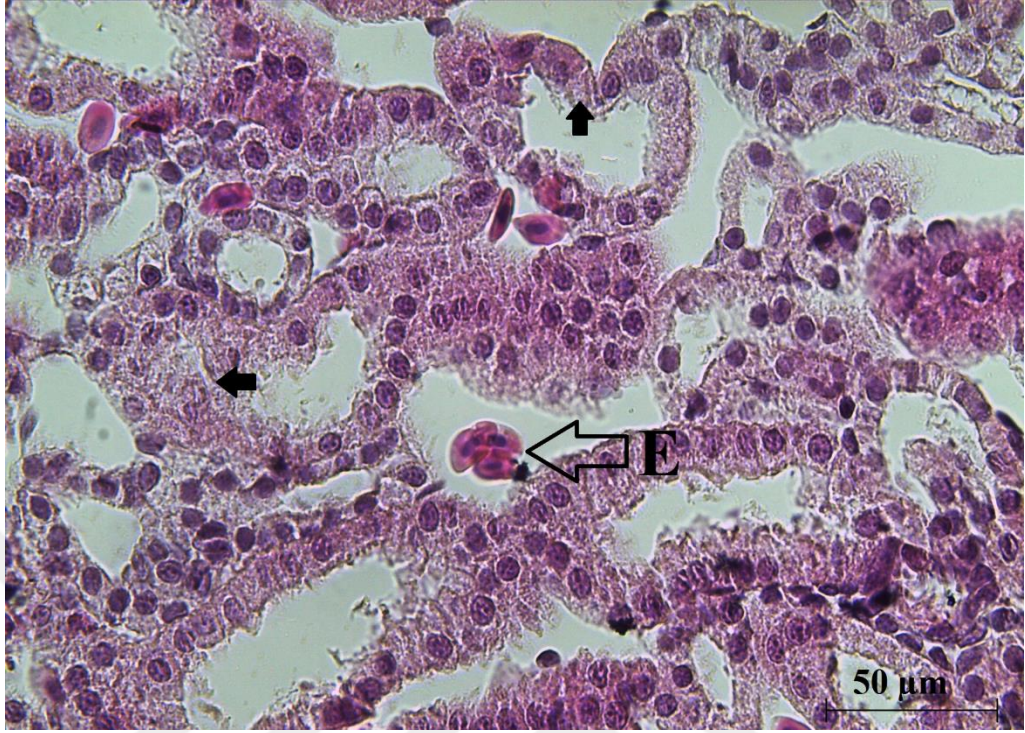
Şekil 4.29. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Zayıf hemorrajı (daire içi) ve tubul epitel hücresi fırçamsı kenar dejenarasyonu (oklar).



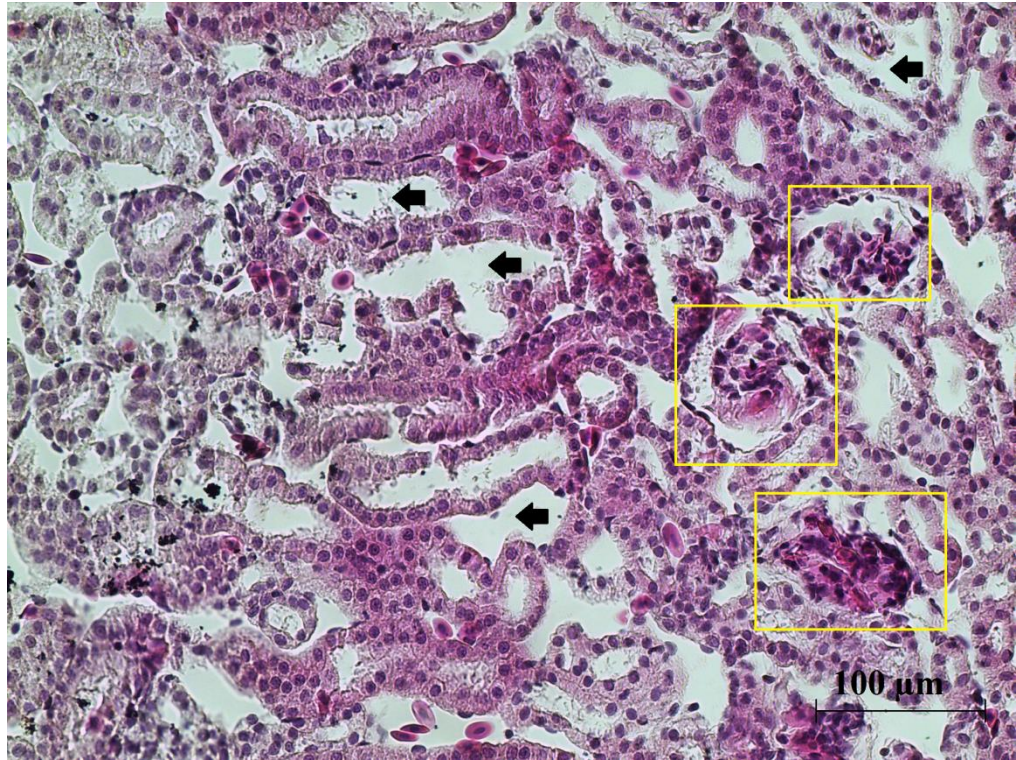
Şekil 4.30. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Tek çekirdekli hücre infiltrasyonu (ok)



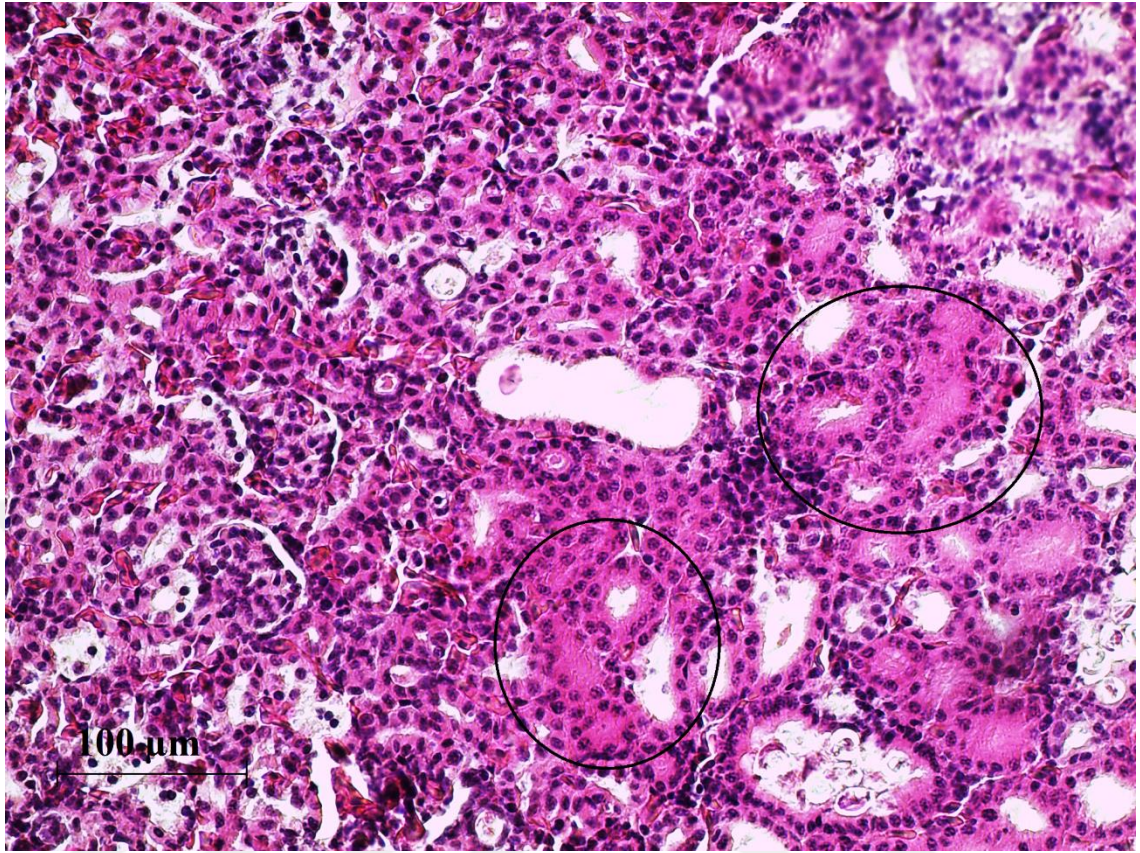
Şekil 4.31. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Hemorraji (ok) ve Bowman mesafesinde artış (asterisk)



Şekil 4.32. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Tubuler dejenerasyon (dolgulu oklar), E; eritrosit.



Şekil 4.33. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Tubuler dilatasyon (oklar) ve Bowman kapsülü dejenerasyonu (kare içi)



Şekil 4.34. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın böbrek kesiti
Eozinofilik boyanmış tubuler lümen (ok).

Böbreğin normal fonksiyonunun göstergesi olarak hesaplanan DTC değerleri (Çizelge 4.5'de verilmiştir. Buna göre kontrol grubuna ait kurbağların böbreklerinin normal çalıştığı anlaşılmıştır. Düşük doz grubu kurbağalarının böbreklerinde hafif hasar, 1,25 mg/kg doz grubu kurbağalarının böbreklerinde orta dereceli hasar tespit edilmiştir. DTC verilerine bakıldığında yüksek doz grubu kurbağalarının böbreklerinde ise ciddi ve kuvvetli patolojik hasarın olduğu anlaşılmıştır.

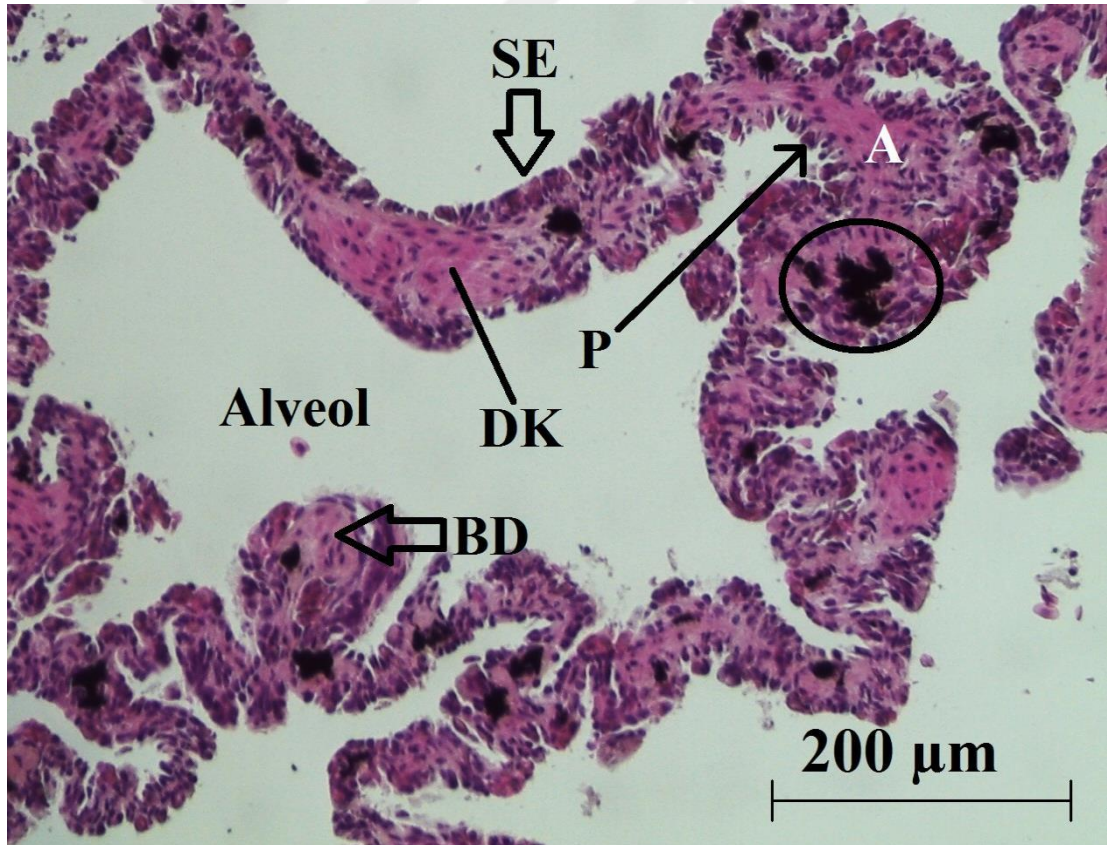
Çizelge 4.5. Böbrek için hesaplanan DTC değeri

Gruplar	DTC
Kontrol	6.08±0.33 ^d
0,625 mg/kg	16.80±1.88 ^c
1,25 mg/kg	37.32±2.57 ^b
2,5 mg/kg	60.44±2.86 ^a

*Değerler ortalama ± standart sapma olarak sunulmuştur (n=16). Aynı sütundaki farklı harfler p<0.05 düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (Duncan testi).

4.2.4. Akciğer histopatolojisi

Alveolar septumlar kurbağa akciğerlerinde çeşitli derecelerde katlanmalar yapar. Bu katlanmalar sayesinde alveollere daha fazla oksijen girdisi sağlanır. Pnömositler, goblet hücreleri ve nöroepitelyal endokrin hücreleri solunum yüzeyini astarlayan tek katlı silli silindirik epitelde bulunmaktadır. Pnömositler oldukça geniş hücreler olup çekirdekleri yuvarlaktır ve sitoplazmaları koyu boyanır. Goblet hücreleri pnömositler arasında bulunan ve yoğun salgı yapan hücrelerdir. Eritrositler de pnömositlere yakın bulunurlar. Bağ doku düz kas hücreleri, fibrositler, kollajen ve elastik liflerden oluşmaktadır. Tüm bu özelliklerin kontrol grubu kurbağalarından hazırlanan akciğer preparatlarında normal olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.35).



Şekil 4.35. Kontrol grubu kurbağada normal akciğer kesiti

A; alveolar septum, BD; bağ doku, DK; düz kas, P; pnömosit, SE; solunum epiteli, Daire içi; melanomakrofaj merkezi

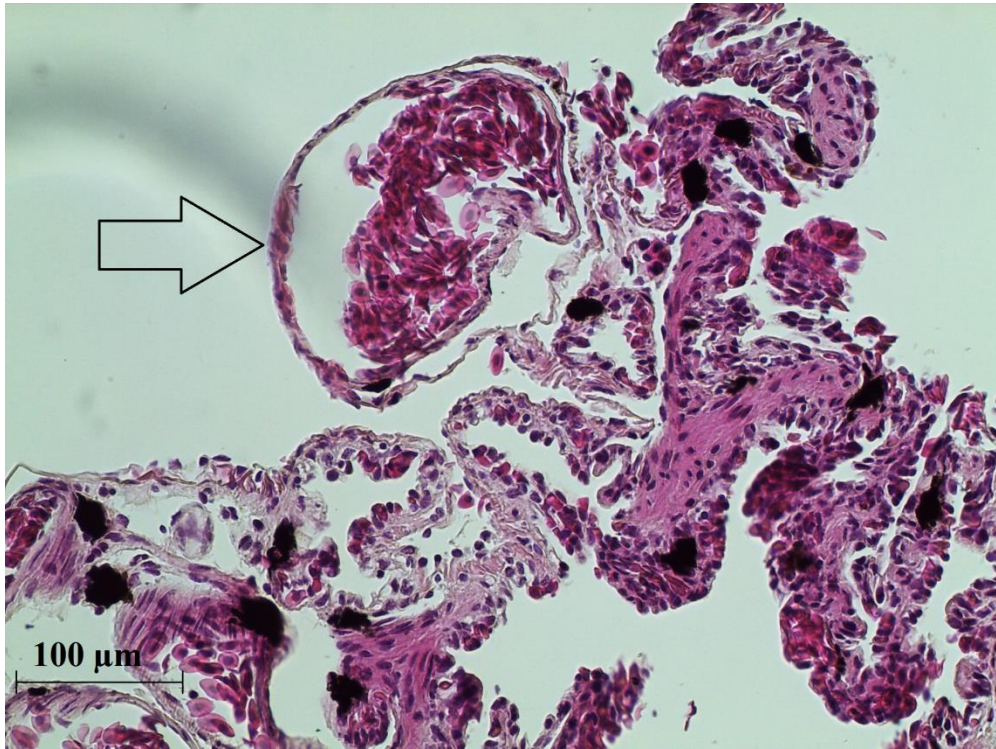
Uygulama gruplarında ise alveol epitelinde hiperplazi (Şekil 4.36), alveolar septum kalınlaşması (Şekil 4.37), konjesyon (Şekil 4.37), akciğer kapillerinde dilatasyon (Şekil 4.38) ve melanomakrofajlarda artış (Şekil 4.39) gibi patolojik durumlar gözlenmiştir. Solunum epitelindeki hiperplazi yalancı çok katlı epitelin kalınlaşması şeklinde ortaya çıkmaktadır. Bu solunum yüzeyindeki madde veya partiküllerin yoğunluğuna bağlı ortaya çıkan bir durum olup alttaki bağ ve kas dokuyu korumaya yönelik vücudun geliştirdiği bir adaptasyondur. Dilatasyon ve konjesyon ise tamamen yabancı maddenin akciğere verdiği hasar neticesinde ortaya çıkmaktadır. Melanomakrofajdaki artış da buna bağlıdır.



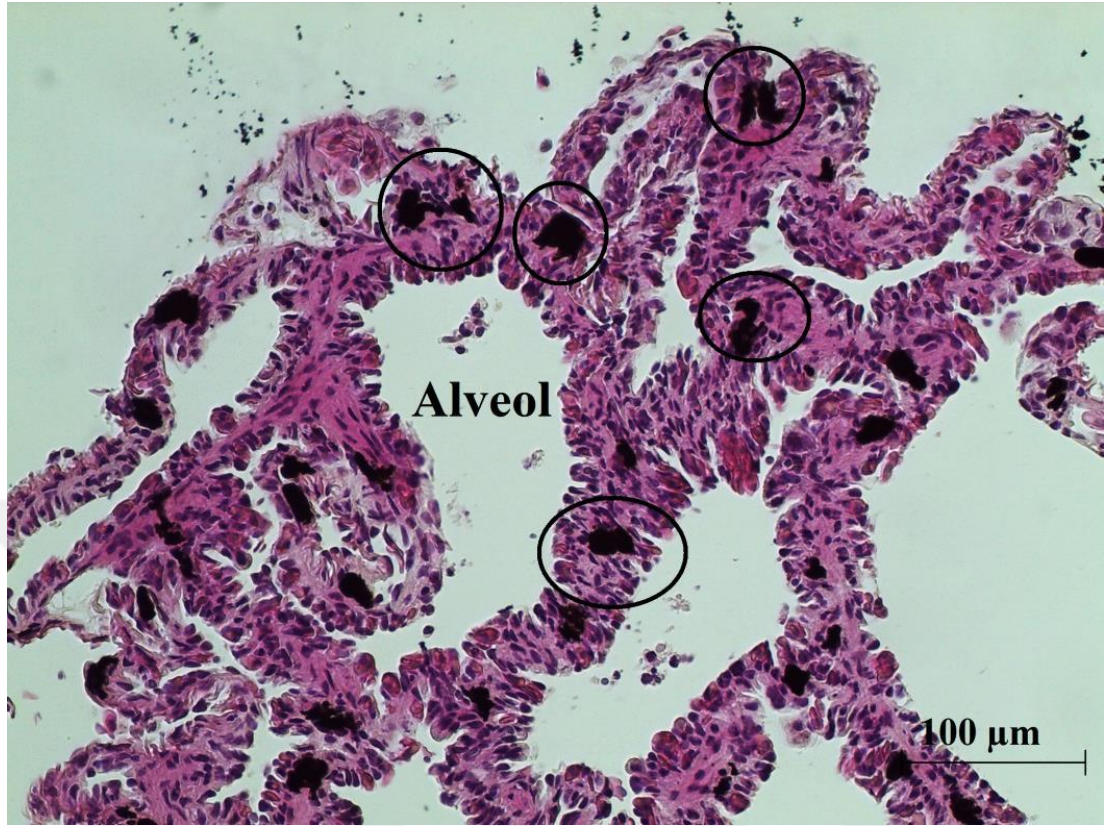
Şekil 4.36. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti
Alveolar epitel hiperplazisi (oklar)



Şekil 4.37. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti
Konjesyon (ok) ve alveolar septum kalınlaşması (A)



Şekil 4.38. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti
Kapiller dilatasyon (ok)



Şekil 4.39. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağanın akciğer kesiti
Melanomakrofajlarda birikim (daireler)

Akciğerin normal fonksiyonunun göstergesi olarak hesaplanan DTC değerleri ise 2,5 mg/kg için 25.11 ± 4.30 , 1,25 mg/kg için 17.96 ± 3.09 ve 0,625 mg/kg için 12.88 ± 1.90 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6). Bu sonuçlara göre kontrol grubu kurbağalarının akciğerlerinin normal çalıştığı, 0, 625 mg/kg ve 1.25 mg/kg grubu kurbağaların akciğerlerinde hafif dereceli, 2,5 mg/kg uygulama grubu kurbağaların akciğerlerinde ise orta şiddette patolojik hasarın olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Akciğer için hesaplanan DTC değeri

Gruplar	DTC
Kontrol	3.17 ± 1.70^d
0,625 mg/kg	12.88 ± 1.90^c
1,25 mg/kg	17.96 ± 3.09^b
2,5 mg/kg	25.11 ± 4.30^a

*Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur (n=16). Aynı sütundaki farklı harfler $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel farklılığı ifade etmektedir (Duncan testi).

4.3. Genotoksik Bulgular

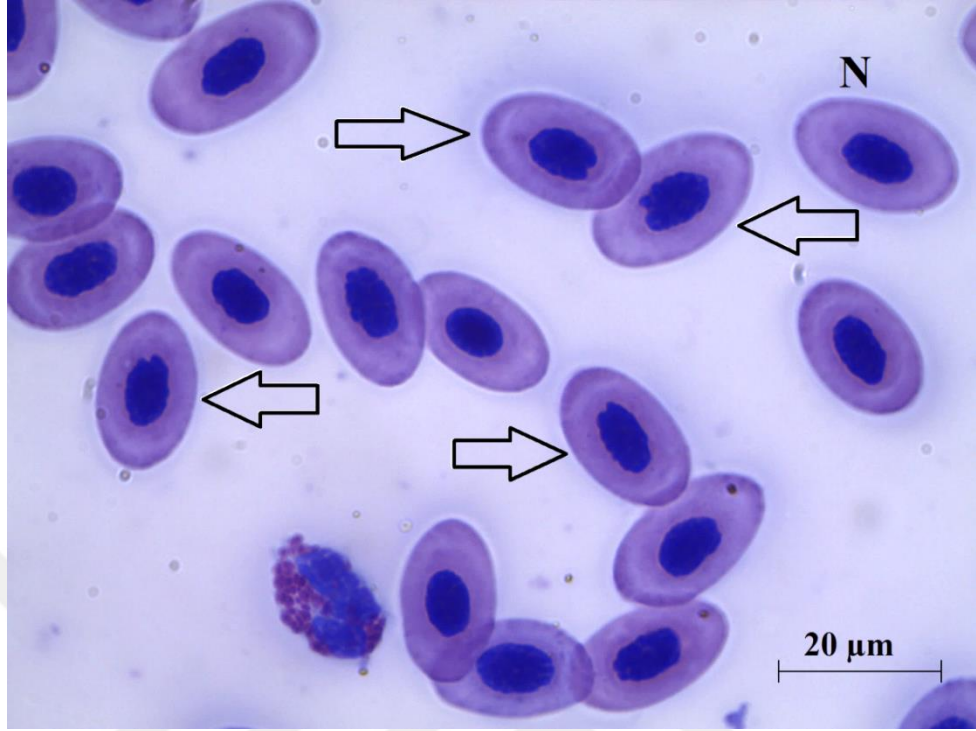
Denemede kullanılan kurbağaların kan hücreleri incelendiğinde çekirdekli, yassılaştırmış oval şekilli normal eritrositlerin yanı sıra periferik kan hücrelerinde Deltametrin maruziyetine göre değişen oranlarda olmak üzere çeşitli anormallikler de tespit edilmiştir. Uygulama gruplarının kan hücrelerinde tespit edilen mikroçekirdek, çift çekirdek, böbrek şekilli çekirdek, çentikli çekirdek ve tomurcuklu çekirdek anormalliklerinin ortalama değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı dozlarda Deltametrin’e maruz kalmış kurbağaların kan hücrelerinde tespit edilen eritrositik çekirdek anormalliklerinin ortalama değerleri (% Ort.±SH)

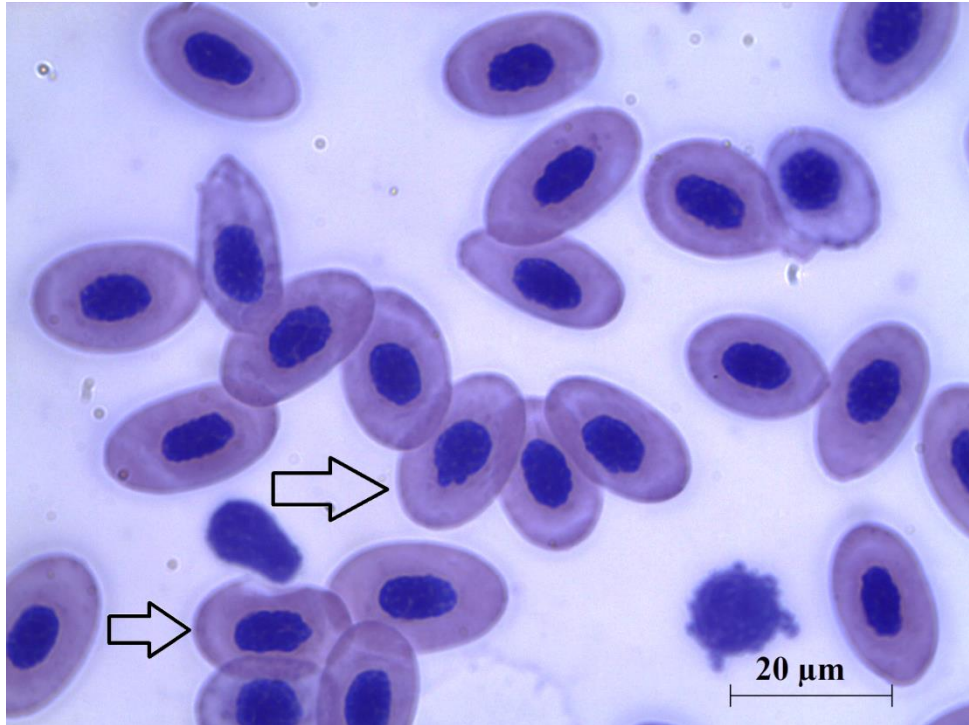
Grup	Eritrositik Çekirdek Anormallikleri					
	Çentikli çekirdek	Tomurcuklu çekirdek	Böbrek şekilli çekirdek	Çift çekirdek	Mikro çekirdek	Toplam
Kontrol	0.82±0.06 ^d	1.32±0.13 ^c	0.21±0.09 ^c	0.79±0.02 ^d	0,58±0,04 ^d	3,85±0,44
0.625 mg/kg	2.30±0.37 ^c	2.68±0.17 ^b	1.51±0.24 ^b	2.42±0.54 ^c	1,73±0,22 ^c	12,54±0,45
1,25 mg/kg	6.09±0.84 ^b	6.37±0.97 ^a	1.70±0.26 ^b	4.72±0.14 ^b	2,52±0,03 ^d	23,53±2,07
2,5 mg/kg	13.54±1.94 ^a	7.19±1.15 ^a	4.93±0.09 ^a	6.51±0.76 ^a	5,26±0,03 ^a	42,06±3,34

Aynı sütundaki farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar (a-d) istatistiksel olarak önemlidir (p<0,05 Duncan testi).

İnsektisite maruz kalan *P. ridibundus* türü kurbağaların eritrositlerinde tespit edilen anormalliklerin çoğunlukla 2,5 mg/kg dozda en yüksek ve 0,625 mg/kg doz grubunda en düşük ortalamaya sahip olduğu tespit edilmiş ve gruplar arasında anormalliklerin ortalama değerinde istatistiki açıdan önemli farklılık saptanmıştır (p<0,05; Çizelge 4.7). Kontrol grubunda ise eritrositik çekirdek anormalliğinin kurbağanın sağlık durumunu etkilemeyecek kadar düşük olduğu görülmüştür. Yüksek doz grubunda çentikli çekirdek, diğerlerinde ise tomurcuklu çekirdek anormalliğinin diğer anormalliklere göre daha yüksek frekansa sahip olduğu belirlenmiştir. Kurbağaların kan dokusunda tespit edilen anormallikler gruplara göre değerlendirildiğinde tüm anormalliklerin doza bağlı olarak frekanslarında artış gözlenmiştir (Çizelge 4.7). Tespit edilen anormalliklere ait fotoğraflar çentikli çekirdek için Şekil 4.40’da, tomurcuklu çekirdek için Şekil 4.41’da, böbrek şekilli çekirdek için Şekil 4.42’de, çift çekirdek için Şekil 4.43’de ve mikro çekirdek için Şekil 4.44’de verilmiştir.



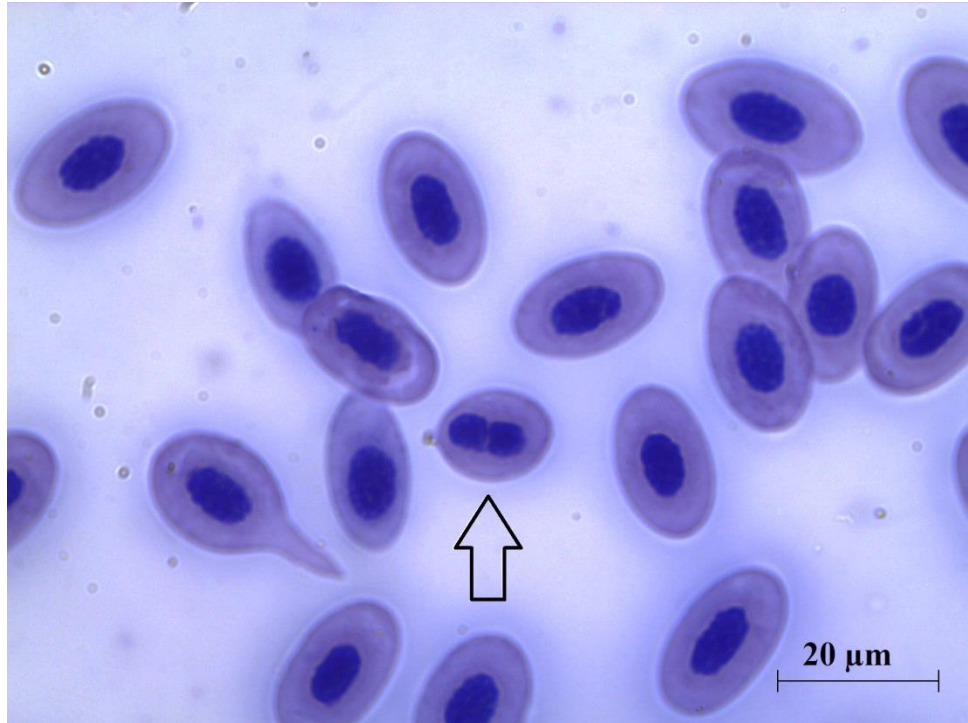
Şekil 4.40. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada çentikli (oklar) ve normal (N) çekirdekli eritrositler, (Giemsa)



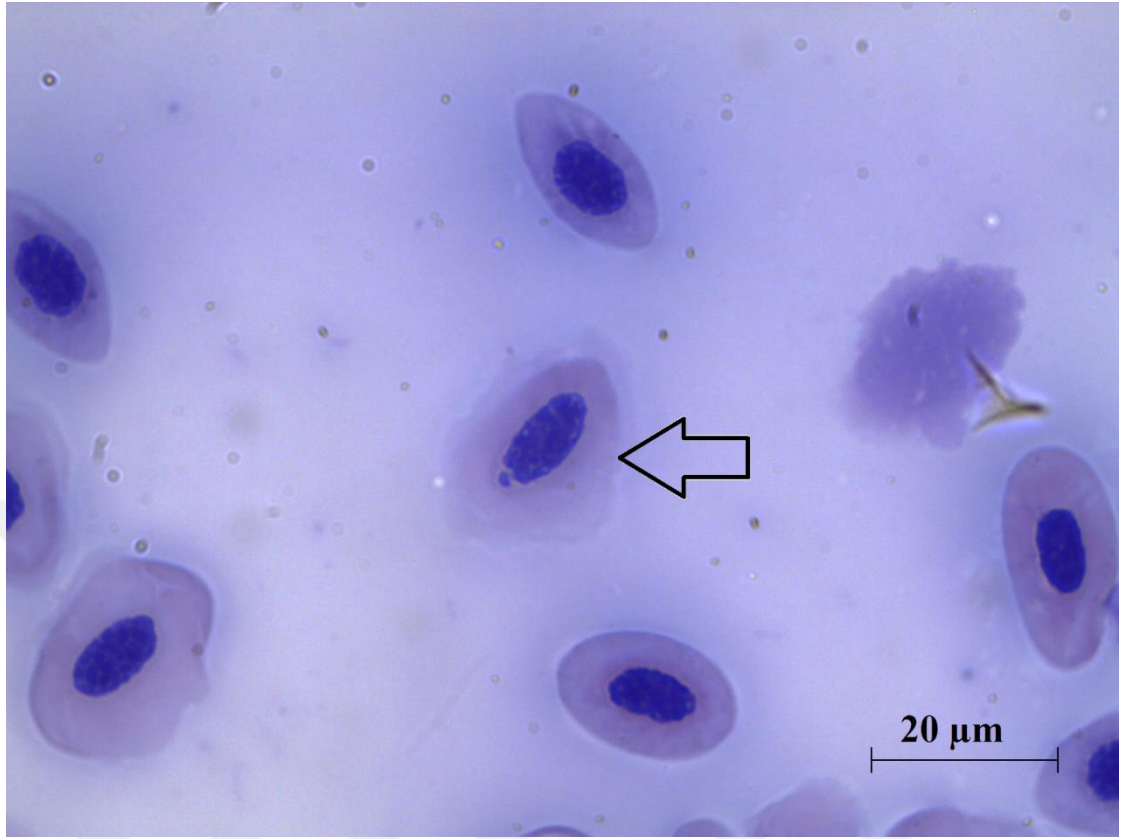
Şekil 4.41. 0,625 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada tomurcuklu çekirdek (Giemsa)



Şekil 4.42. 1,25 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada böbrek şekilli çekirdek (Giemsa)



Şekil 4.43. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada çift çekirdek, (Giemsa)



Şekil 4.44. 2,5 mg/kg Deltametrin'e maruz kalan kurbağada mikro çekirdek (Giemsa).

Yapılan çalışmada 96 saatlik Deltametrin maruziyeti sonucunda kurbağalarda ölüm meydana gelmemiş ve KF değeri değişmemiştir. Öte yandan kontrol grubu dışındaki kurbağalarda histopatolojik doku hasarı ve eritrositik çekirdek anormallikleri doza bağlı olarak belirgin bir şekilde artmıştır. Patolojik ve genotoksik hasarlar 2,5 mg/kg olan yüksek doz grubu kurbağalarında diğer kurbağalara göre oldukça fazla bulunmuştur. 1,25 mg/kg olan orta doz grubunda anormallik oranı biraz azalmış ve düşük doz grubu olan 0,625 mg/kg Deltametrin grubunda iyice düşmüştür. Kontrol grubu kurbağalarda neredeyse hiç patolojik hasara rastlanmamıştır. Patolojik açıdan karaciğer hasar oranı en yüksek, akciğer ise hasar oranı en düşük organ olarak değerlendirilmiştir. Deltametrin'in doza bağlı olarak vital organları olumsuz/geriye dönüşümsüz etkilediği görülmüştür. Eritrositlerde ise en sık rastlanan çekirdek anormalliği çentikli çekirdek olarak belirlenmiştir. Tüm bu olumsuz durumların Deltametrin'den kaynaklandığı açıkça ortaya konmuştur.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Günümüzde teknolojinin ilerlemesi ile birlikte tarımda pestisit kullanımının artması, gıdaya olan talebin ve tüketimin artmasıyla suni üretime gidilmesi gibi doğal olmayan süreçleri içine alan bir çok sebepten dolayı ekolojik çevrenin kirlenip tahrip olduğu görülmektedir. Ülkemizde de maalesef devam eden bu durumun ileride çok daha önemli çevre problemlerine neden olacağı endişesi çalışmamızın çıkış noktası olmuştur. Erzurum ili içinde zirai tarımda çeşitli pestisitler kullanılmakta ve kontrolü yapılmamaktadır. Buradan hareketle çalışmamızda Erzurum'da özellikle lahana tarımında kullanılan Deltametrin etken maddeli insektisit ova kurbağaları (*Pelophylax ridibundus*) üzerine olan muhtemel akut toksik etkileri araştırılmıştır. Bu etkiler KF, vital organ histolojisi ve genotoksisite açısından değerlendirilmiştir. 96 saatlik maruziyet neticesinde kurbağaların KF değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişiklik tespit edilmemiştir. Bu durum maruziyetin kısa oluşu ile ilişkilendirilebilir. Tersine uzun süre antropojenik kirliliğe maruz kalan amfibilerde KF değerinin azaldığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada evsel atıklar ve ağır metallerle kirlenmiş bölgelerde yaşayan *P. ridibundus* türü kurbağalarda KF değerinin kontrol bölgesi kurbağalarına göre her iki cinsiyette de düştüğü tespit edilmiştir. Bu düşüşün sebebi olarak artan metabolik proses gösterilmiştir (Zhelev et al. 2015). Aynı araştırmacıların Bulgarsitan'da pirinç tarımı yapılan bölgelerdeki kurbağalar üzerine yapmış oldukları diğer çalışmada ise yine KF değerinin tarım yapılan bölge kurbağalarında azaldığı tespit edilmiştir (Zhelev et al. 2017). Her iki çalışmada da ortak nokta maruziyetin kronik oluşudur. Bu nedenle sadece 96 saatlik Deltametrin uygulanan kurbağalarda KF değeri biraz azalmış, ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

İkinci olarak Deltametrin maruziyetinin vital organlardaki etkileri histolojik yöntemlerle belirlenmiştir. Bu amaçla deney grubu kurbağaların karaciğer, gastrointestinal sistem, böbrek ve akciğer dokularından hazırlanan histolojik preparatlarda çeşitli patolojik anormallikler tespit edilmiştir. Bunlar karaciğerde melanomakrofajlarda artış, homojen olmayan parankima, konjesyon, merkezi vende dejenerasyon, sinüzoidal dilatasyon, hepatositlerde dejenerasyon, vasküler dejenerasyon, infiltrasyon ve nekroz; sindirim

kanalında vakuolizasyon, konjesyon, hipertrofi, epitel dejenerasyonu, infiltrasyon, doku bütünlüğünün bozulması, epitelial disorganizasyon ve aşınma; böreklerde renal tubullerde dejenerasyon, dilatasyon, lenfosit infiltrasyonu, glomerular büzülme, hemoraji, bowman mesafesinde artış ve dejenerasyonu; akciğerde melanomakrofajlarda artış, kapiller dilatasyon, konjesyon, hiperpalzi ve septum kalınlaşması gibi doku hasarları olarak tespit edilmiştir. Histopatolojik anormalliklerin doza bağlı olarak frekansında ve çeşitliliğinde artışların olduğu gözlenmiştir.

Araştırmacılara göre karaciğer vücudun metabolik homeostasisini sürdüren önemli bir vital organ olup ksenobiyotiklerin toksik etkilerini belirleme açısından karaciğer dokusu faydalı olabilmektedir (Lima 2006). Karaciğer dokusundaki histopatolojik değişiklikler toksikantların hepatositler üzerine doğrudan etkili olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Robert 2001; Soufy et al. 2007). Yapılan deneysel bir çalışmada kontrollü ortam şartlarında *Bufotes variabilis* türü ergin kurbağalar 96 saat süreyle 0.05, 0.1 ve 0.2 mg/g Karbaril insektisitine maruz bırakılarak kurbağaların karaciğer ve böbrekleri histolojik olarak incelenmiş, karaciğerde hepatositlerde vakuolizasyon, melanoakrofajlarda artış, sinüzoidal dilatasyonlar, hemoraji ve konjesyon, böbreklerde ise tek çekirdekli hücre infiltrasyonu, renal tüp epitelinde nekroz ve karyolizis, glomerular küçülme, hemorji ve fibrozis gibi patolojik hasarlar tespit edilmiştir (Çakıcı 2015). Paunescu et al. (2010a) tarafından yapılan bir diğer araştırmada ise bir insektisit olan Reldan 40EC (klorpirifos-metil) 0.01 ml/g vücut ağırlığı derişiminde *Rana ridibunda* türü kurbağalara intraperitoneal yolla verilmiş ve deney 3 hafta sürdürülmüş, süre sonunda kurbağaların karaciğerinde kuppfer hücrelerinin arttığı, karaciğer renginin koyulaştığı, karyomegali ve poliplodi gibi anormalliklerin olduğu tespit edilmiştir. Başka bir denemede de Champion 50 WP fungusiti *Rana ridibunda* türü kurbağaların ergin dişi ve erkek bireylerine intraperitoneal yolla uygulanmış (0.125×10^{-3} mg/vücut ağırlığı) ve yapılan histolojik incelemede kuppfer hücrelerinde artış, kan damarlarında genişleme, fibrosis, lökosit infiltrasyonu, hepatositlerde vakuolizasyon, parankimada nektorik alanlar gibi patolojik anormallikler ergin kurbağa karaciğerinde gözlenmiştir (Paunescu et al. 2010b). *Euphlyctis hexadactylus* ergin kurbağalarının (Hindistan yeşil kurbağası) karbaril insektisine maruz kalması sonucunda böbrekte tubuler dilatasyon,

hemoraji, iltihabi hücrelerde artış, tubul epitelinde dejenerasyon, glomerular atrofi ve tek çekirdekli hücre infiltrasyonu gibi patolojik bulgular elde edilmiştir (Renuka 2007). Kurbağa nefrotoksisitesi ile ilgili yapılan başak bir araştırmada Champion 50WP fungusitine maruz kalan *Pelophylax ridibundus* türü ergin kurbağalarda tubul epitel hücresi dejenerasyonu, vakuolizasyon, intersisiyel ödem, karyomegali ve glomerulusta dejenerasyon gibi patolojik hasarlar gözlenmiştir (Paunescu and Ponopal 2011). Başka bir kontrolü deneyde Talstar 10EC insektisinin aynı tür kurbağanın böbreklerinde tubuler nekroz, Bowman kapsülünde genişleme, piknotik çekirdekli epitel hücreleri ve ödem; karaciğerinde vakuolizasyon, nuklear piknoz, fibrozis, sinüzoidal dilatasyon ve infiltrasyona sebep olduğu tespit edilmiştir (Paunescu *et al.* 2012a). Renuka (2007), nuvacron ve karbaril insektisinin *Euphlyctis heaxadactylus* türü kurbağalarda doza bağlı olarak karaciğerde hepatositlerde genişleme, hemoraji, hepatositlerde şişme, vakuolizasyon, piknotik çekirdek, nekroz, kan damarlarında genişleme ve karaciğer doku kaybı gibi anormalliklerin ortaya çıktığını bildirmiştir. Dünya genelinde yaygın oldukça yaygın kullanılan bir herbisit türü Glisfosat'ın (GLY) Anura grubu kurbağları etkilediği bilinmektedir. Öte yandan bu herbisit *Leptodactylus latinasus* türü kurbağaların hepatik melanomakrofajik merkezlerinde yaptığı tahribatın gösterildiği çalışmada ise 100, 1000 ve 10000 µg/g GLY'nin doza bağlı olarak ilgili merkezlerin sayısını arttırdığı ve bunların hepatositlerin etrafını sardığı tespit edilmiştir (Perez-Iglesias *et al.* 2016). Başka bir herbisit olan Simazin'e farklı dozlarda 100 gün boyunca maruz bırakılmış *Xenopus laevis* türü kurbağaların larvalarında ise ölüm, metamorfozda gecikme ve karaciğerde doku hasarı görülmüştür. Simazin karaciğerde hasar yapmış ancak karaciğer ağırlığını ve dolayısıyla HSI değerini etkilememiştir (Sai *et al.* 2016). Pestisitlere kontrollü şartlarda maruz kalan amfbilerin karaciğer dokularında tespit edilen bu patolojik anormallikler bulgularımızı desteklemektedir.

İster sucul ister karasal olsun, herhangi bir omurgalı hayvana giren toksik maddelerin izlediği ana yollardan biri olan sindirim sistemi, hem doğrudan hem de besinler vasıtasıyla dolaylı maruziyet yüzeyi olarak oldukça önemlidir. Çalışmada gavaj yoluyla gastrointestinal sisteme verilen Deltametrin doza bağlı olarak değişen oranlarda hasarlar oluşturmuştur. İncelediğimiz amfibi grubunda (Anura) daha önce yapılmış benzer

deneysel çalışmalarda diğer pestisitlerin bağırsak dokusunda hasarlara yol açtığı gösterilmiştir. Örneğin Çakıcı (2013) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise Levantin kurbağası olan *Pelophylax bedriagae*'nin ergin bireyleri kontrollü ortam şartlarında 96 saat boyunca farklı dozlarda (0.05, 0.1 ve 0.2 mg/g) Karbaril insektisine maruz bırakılmış ve gastrointestinal sistemi histolojik olarak değerlendirilmiştir. Yapılan değerlendirmede pestisitlerin orta ve yüksek dozlarının kurbağanın yutak bölgesi özofagus hücrelerinde vakuolizasyon, hücresel şişme, nüklear piknoz, karyolizis, nekroz, bez epitelinde atrofi ve infiltrasyon; midede gastrik bezlerde nekroz ve şişme, intersisiyal yüzeyde şişme, epitel hücre duvarında ayrılma, konjesyon ve hemoraji; barsakta ise epitel hücre duvarında ayrılma, enflamasyon, epitel hücre organizasyonunda bozulma ve nekroz gibi patolojik anormalliklere yol açtığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda mevcut literatürü destekleyen bulgular elde edilmiştir. Mevcut çalışmamızda gözlenen histopatolojik lezyonlar kuvvetle muhtemelen, bağırsak dokusunun toksik kimyasallar için önemli bir absorpsiyon yüzeyi olması ile yakından ilişkilidir. Sucul canlılarda toksik maddeler villusların yüzeyinden kolaylıkla emilebilir ve böylece hücre membranındaki fosfolipitlerle tepkimeye girip membran geçirgenliğini artırarak bağırsakta yüzey hasarlarına yol açabilir (Li *et al.* 2013). Toksik maddelerin bağırsakta neden olduğu epitelde parçalanma, vakuolizasyon, ülser, ödem ve nekroz oluşumu, villus hasarları, hemoraji, lamina propria lenfosit infiltrasyonu, hiperplazi, goblet hücrelerinde şişme gibi histopatolojik değişiklikler birçok balık türünde de rapor edilmiştir (Önen vd 2011; Li *et al.* 2013; Kaya *et al.* 2016). Farklı pestisitlerin farklı hayvanların sindirim sistemi üzerine olan etkilerini gösteren eski ve yeni bazı çalışmalara da mevcuttur. 20 gün boyunca organofosfatlı bir insektisit olan Dimekron'a (Fosfamidon) 0.32 mg/L dozunda maruz bırakılan *Channa punctatus* türü balıkların sindirim sisteminde mide bezleri ve mukozada dejeneratif değişiklikler farkedilmiştir (Sastri and Malik, 1979). Banerjee and Bhattacharya (1995), subletal Elsan (pestisit), civa ve amonyuma 7-90 gün maruz kalan aynı balık türünde gastrointestinal sistem villilerinde yapısal bozukluklar bulmuşlardır. Özemas and Akay (1995) *Lacerta parva* türünde malathion pestisitinin etkilerini inceledikleri araştırmalarında pestisit kertenkele barsaklarında vili dejenerasyonu, atrofi ve villuslarda kopma gibi değişik patolojik anormallikler tespit etmişlerdir. Başka bir çalışmada ise 0.3 ve 0.6 ppb Lamda-Cyhalothrin pestisiti 10 gün boyunca *Cirrhinus mrigala* türü sazan balıklarına

uygulanmış barsaklarda epitelial atrofi, lamina propriyada eozinofilik infiltrasyon gibi patolojik anormallikler izlenmiştir (Velmurugan et al. 2007). Görülüyor ki pestisitler kurbağa dokularını histolojik açıdan oldukça tahrip etmektedir. Araştırmamızda da orta ve yüksek doz grubu kurbağalarında sindirim kanalında tespit ettiğimiz vakuolizasyon, konjesyon, hipertrofi, epitel dejenerasyonu, infiltrasyon, doku bütünlüğünün bozulması, epitelial aşınma ve disorganizasyon gibi anormallikler bu çalışmalar ile oldukça benzerlik göstermektedir.

Amfibilerin karaciğer ve böbrek dokuları başta olmak üzere toksik kimyasallardan ve özellikle pestisitlerden etkilenen bir diğer organı ise akciğerlerdir. Özellikle dolaşıma kolay geçen toksik maddeler hepatik portal sistem ve renal portal sistemden sonra akciğere de gelmekte ve burada etkilerini göstermektedir. Tarım ilaçlarının da aynı yolu takip ederek amfibilere zarar verdiği düşünülmektedir. Kurbağalarda pestisit maruziyetne bağlı olarak akciğerde çeşitli patolojik durumların geliştiğini gösteren araştırmalar da vardır. Örneğin; 3 hafta süreyle iki farklı sıcaklıkta Champion 50WP pestisiti subletal dozlarda ova kurbağalarına karın içine enjekte edilmek suretiyle uygulanmış ve kurbağaların akciğer kesitleri incelendiğinde akciğer duvarlarında elastikiyet kaybı, kan damarlarında dilatasyon, pnömosit etrafında hemoraji, goblet hücreleri proliferasyonu, epitelde hiperplazi ve iltihaplanmış alanlar tespit edilmiştir (Paunescu *et al.* 2011). Başka bir çalışmada ise aynı kurbağa türüne, aynı yolla ve subletal dozda (0.138×10^{-3} /g vücut ağırlığı) Roundup® herbisiti uygulamış ve histolojik akciğer preparatlarında hiperpalzi, goblet hücresi proliferasyonu, pnömositlerde karyoliz, ödem ve melanomakrofajik alanlarda artış tespit edilmiştir (Paunescu *et al.* 2012b). Sadece pestisitler değil bazı ağır metaller de birikimleri neticesinde kurbağa akciğerlerinde histolojik hasarlara yol açabilmektedir (Jayawardena et al. 2017). Çalışmamızda özellikle orta ve yüksek doz grubu kurbağaların akciğerlerinde tespit ettiğimiz melanomakrofajlarda artış, kapiller dilatasyon, konjesyon, hiperpalzi ve septum kalınlaşması gibi anormallikler toksik etkinin daha kısa süre içinde ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Deltametrin, hedef organizma olan böcekler dışında temas ettiği diğer canlıları da

olumsuz etkilemektedir. Özellikle akuatik sistemleri kirleten potansiyel bir kirletici olan bu pestisit sucul sistem omurgalılarında akut toksik etkilere yol açmaktadır. Nil tilapyası da denen *Oreochromis niloticus* türü balıkların larvalarında Deltametrin'in tespit edilen 48 saatlik LC50 değeri 4.85 µg/L olmuştur. Aynı balıkların davranışlarında da değişikliklere sebep olan Deltametrin solungaç ve karaciğerde kuvvetli histopatolojik anormalliklere yol açmıştır. Bu anormallikler solungaçlarda hiperemi, sekonder lamel füzyonu ve telanjiektezia, karaciğerde ise hidropik dejenerasyon olarak gözlenmiştir (Yıldırım et al. 2006). dos Santos Cunha et al. (2018) tarafından yapılan en son çalışmada bir tür pirana olan *Colossoma macropomum*'un larvaları 96 saat süreyle farklı dozlarda Deltametrin'e maruz bırakılmış ve LC₅₀ değeri 5.56x10⁻² mg/L olarak hesaplanmıştır. Deltametrinin balıkların solungaçlarında lamellar füzyon, hiperplazi, ödem, nekroz ve anörizm, karaciğerinde konjesyon, hepatiksteatozis, nekroz ve piknotik çekirdek gibi patolojik hasarlara sebep olduğu da gözlenmiştir. Deltametrin sadece sucul omurgalılar değil memeliler üzerinde de toksik etkilere sahiptir. Gebe ICR fareleri kontrollü şartlar altında Deltametrin'e maruz bırakılmış ve bu farelerin embriyoları histolojik olarak incelenmiştir. Deltametrin fare yavrularının serebral korteksinde herhangi bir anormalliğe yol açmazken nöronal proliferasyon, olgunlaşma ve farklılaşma azalmıştır. Deltametrin ayrıca sinir hücrelerinde apoptozu tetiklemiştir. Çalışmanın sonucunda ulaşılan sonuç ise prenatal deltametrin maruziyetinin kortikogenezi (beyin nöronal gelişim süreci) bozarak etkilerini gösterdiği şeklindedir (Guo et al. 2018). Bir diğer çalışmada ise ağırlıkları 200-220 gr olan Sprague-Dawley cinsi albino sıçanlara farklı doz ve zamanlarda deltametrin (15 mg/kg/gün, 30 mg/kg/gün, 60 mg/kg/gün) gavaj yolu ile uygulanmış sıçanların testis dokuları histolojik olarak incelenmiştir. Deltametrin uygulanmış sıçanların testislerinde artan doza bağlı olarak seminifer tübüllerde ve spermatogenik hücrelerinde hasar, seminifer tübüllerde atrofi ve tunika albugineada incelme gibi patolojik anormallikler tespit edilmiştir (Kılıç vd 2016).

Öte yandan hedef dışı organizmaların Deltametrin'e hangi dozlarda maruz kaldığı da önemlidir. Yaptığımız ön denemelerde 5.0, 10.0 ve 20.0 mg/kg vücut ağırlığı doz uygulamalarında kurbağların hepsi ilk 24 saatte öldüğünden 0.625, 1.25 ve 2.5 mg/kg

vücut ağırlığı dozları akut toksisite uygulama dozu olarak seçilmiş ve sonuçta çeşitli patolojik bulgular elde edilmiştir. Çalışmamızdaki subakut Deltametrin dozunu diğer çalışmalar da desteklemektedir. Özellikle *Bufotes viridis* kurbağası ile yapılmış olan çalışma bulgularımızı oldukça desteklemektedir. İlgili araştırmada 8, 16 ve 32 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde oral yoldan ergin kurbağalara 96 saat süreyle Deltametrin uygulanmış ve kurbağanın karaciğer, deri ve gastrointesitnal sistemi dokularında kolinesteraz (ChE) ve sitokrom P4501A (CYP1A) gibi oksidatif stres parametreleri ölçülmüştür. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Deltametrin gruplarında doza bağlı olarak karaciğer ve deride katalaz ve glutasyon reduktaz aktivitesinin, karaciğerde CYP1A ifadesinin, kas ve deride glutasyon-S-transferaz aktivitesinin arttığı bulunmuş ve deltametrinin oksidatif stresi tetiklediği sonucuna varılmıştır (Radovanovic et al. 2017). *Physalaemus gracilis* türü kurbağanın larvaları ile yapılan başka bir çalışmada ise 96 saat süreyle farklı dozlarda (0.5- 5.0 mg/L) gerçekleştirilen Deltametrin maruziyet sonucu embriyo ve larvalarda ölüm, mobilitede azalma ve nörolojik hasarlar tespit edilmiştir (Macagnan et al. 2017). Bir diğer araştırmada ise 5 mg/kg vücut ağırlığı olacak şekilde uygulanan Deltametrin'in, *Bufotes viridis* kurbağasında 7, 14 ve 21 günlük maruziyetten sonra karaciğer, kas, deri ve gastrointestinal sistem süper oksit dismutaz (SOD) antioksidan enzim seviyesini maruziyet süresine bağlı olarak azalttığı anlaşılmıştır (Nasia et al. 2018). Kurbağalar dışında özellikle balıklar üzerine yapılan deneylerde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Golow ve Godzi (1994) yaptıkları çalışmada *Oreochromis niloticus* türü balıklarda Deltametrin'in 96 saatlik LC₅₀ değerinin 14.5 µg/L olarak hesaplamışlardır. Diğer balık türlerinde de 96 saatlik Deltametrin dozu 0.39 µg/L (*Salmo gairdneri*), 1.84 µg/L (*Cyprinus carpio*) ve 3.50 µg/L (*Sarotherodon mossambica*) şeklinde bildirilmiştir (Mestres and Mestres, 1992). *Gambusia affinis* balıklarında da 0.25 ve 0.5 µg/L Deltametrin'in balığın solungaç, karaciğer ve sindirim sisteminde histopatolojik hasarlara yol açtığı da bildirilmiştir (Cengiz and Unlu 2006).

Karaciğer metabolizmayı düzenleyen önemli bir organdır. Bütün ksenobiyotiklerin hedef organı da bu nedenle karaciğerdir (Lima 2006). Birçok toksinin ve toksik kimyasalın detoksifikasyon merkezi karaciğer olduğu için toksik maddeler hepatositleri

olumsuz etkileyerek çeşitli histopatolojik hasarlara sebep olabilmektedir (Soufy *et al.* 2007). Karaciğer diğer organlara göre su kirliliğinin de biyobelirtecidir. Birçok toksik madde karaciğerde daha az zehirli maddelere dönüştürülür. Sonrasında safra kesesi yardımıyla dışarı atılır (Parlak vd 2011). Bazı toksik maddeler ise biyokümülyasyona uğrar, hatta daha da zehirli kimyasallar haline dönüşebilir (Buhler and Williams 1988). Sitokrom P-450 monooksijenaz sistemi karaciğerde ksenobiyotikleri metabolize eden enzimler olup konsantrasyonu oldukça yüksektir. Bazen ksenobiyotiklerin aktivasyonu ile oluşan aktif metabolitler karaciğerde hepatotoksik maddelere dönüşürler ve karaciğer bozukluklarının etiyolojisi ve patogeneğinde etken olurlar (Beaumont *et al.* 2000). Melanomakrofajik bölgeler çoğunlukla karaciğerde, dalakta ve bazen de kurbağa akciğeri ve böbreğinde bulunan, melanin pigmenti içeren makrofajların birikim bölgeleridir (Couillard and Hadson 1996; Loumbourdis and Vogiatzis 2002). Melaninden başka lipofuksin, seroid ve hemosiderin/ferritin pigmentleri de bulunur. Melanomakrofaj birikimindeki artış yaşlanma, kış uykusu ve enfeksiyon gibi doğal yollarla olabildiği gibi kirlenmiş sulak alanlarda yaşayan kurbağalarda sıklıkla olabilmektedir (Fenoglio *et al.* 2005). Melanomakrofaj alandaki melaninin asıl görevi ise reaktif oksijen radikallerine karşı karaciğer hücrelerini korumak ve oksidatif stresi azaltmaktır (Rozanowska *et al.* 1999). Ayrıca detoksifikasyon başta olmak üzere birçok biyokimyasal reaksiyonda melanin aktif rol oynamaktadır (McGraw 2003). Çalışmamızda deney grubu kurbağaların hem karaciğer hem de akciğerlerindeki melanomakrofajik bölgelerdeki artışların sebebi muhtemelen maruziyet etkeni olan Deltametrin'dir.

Piretroidler ve sentetik böcek öldürücüler tarımda, insan sağlığı ve veteriner hekimlikte çok sık kullanılmaktadır. Tip II piretroid insektisit olan Deltametrin yaygın kullanımı nedeniyle dikkatleri üzerine çekmiştir. Amfibilerin fizyolojik karakterleri ve yaşam döngülerinin spesifikliğı nedeniyle pestisitlerden daha çok etkilendikleri tahmin edilmektedir (Hopkins 2007). Kara kurbağlarında sentetik pestisit toksisitesinde oksidatif stresin rolünün önemli olduğu da rapor edilmektedir (Ezemonye and Tongo 2010). Deltametrin'in ve daha birçok pestisitinin hedef dışı organizmalardaki toksik etki mekanizması ise serbest radikal üretimi, oksidatif stresin tetiklenmesi, lipid

peroksidasyonunun artması ve total antioksidan potansiyelin bozulmasıyla açıklanmaktadır. Çalışmamızda tespit edilen histopatolojik hasarların temelinde de benzer mekanizmanın olduğu tahmin edilmektedir. Nitekim Radovanovic et al. (2017), yaptıkları çalışmada Deltametrin'in ergin kurbağalarda katalaz ve glutatyon reduktaz aktivitelerini arttırdığını ve sülfidril gruplarını azalttığını tespit etmişlerdir. İlgili çalışmada Deltametrin maruziyetine bağlı olarak *Bufo viridis* türü kurbağaların karaciğer, kas, deri ve gastrointestinal sistemdeki antioksidan ve oksidan durum şöyle değerlendirilmiştir: Karaciğer, kas ve gastrointestinal dokularında GST ve GSH-Px açısından pozitif bir korelasyon bulunması, GSH oksidasyonu boyunca hidrojen peroksit (H_2O_2)'in elemine edilmesine katıldıklarını gösterir. Bu korelasyon ise karaciğerin pestisitlerin ana atılım ve depolanma organı olması ve gastrointestinal sisteminde pestisitlerle ilk temas eden doku olması ile açıklanabilir. Öte yandan SOD aktivitesi kurbağa karaciğerinde değişmezken gastrointestinal sisteminde azalmaktadır. Pestisit SOD proteinini doğrudan ya da SOD protein sentezini dolaylı olarak bozmaktadır. Pestisit ilk temas yeri de gastrointestinal sistem olduğundan ilk önce buradaki aktivitesi azalmaktadır. H_2O_2 pestisit biyotransformasyonu boyunca üretilen reaktif oksijen türlerinden en önemlisidir (Czarniewska et al. 2003). H_2O_2 'nin eliminasyonunda ana antioksidan bileşikler katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) olup Deltametrin maruziyetine bağlı olarak kurbağanın karaciğer ve derisinde bu enzimlerin aktiviteleri artmaktadır (Radovanovic et al. 2017). Benzer şekilde 2 µg/L Deltametrin dozunun *Cyprinus carpio* karaciğerinde monooksijenaz sistemi inhibe ettiği de bildirilmiştir (Deer et al. 1996). Tüm bu sonuçlar Deltametrin'in amfibiler için toksik olduğunu ve çalışmamızda tespit edilen patolojik hasarların serbest oksijen radikallerinin artması, oksidatif stresin artması ve antioksidan enzimlerin azalmasıyla ortaya çıkabileceğini göstermektedir.

Deltametrin *P. ridibundus* kurbağalarında sadece histopatolojik anormallikler yapmamış aynı zamanda genotoksik hasara da yol açmıştır. Özellikle kurbağa periferel eritrositlerinde tespit edilen eritrositik çekirdek anormallikleri bunun bir göstergesi olarak kabul edilebilir. Deltametrin'in genotoksik olduğunu gösteren çalışmalar da vardır. Avcı (2013) tarafından yapılan çalışmada 0.25, 0.50, 0.75 ve 1.0 ppb

konsantrasyonlarında Deltametrin'e 3 hafta süreyle sucul temas yoluyla maruz bırakılan *Pelophylax ridibundus* türü kurbağalarda mikroçekirdek, çekirdek anormallikleri ve hücre anormallikleri kontrol grubuna göre farklı olduğu belirlenmiş ve bunun nedeninin farklı konsantrasyonlardaki Deltametrin uygulamasından meydana geldiği rapor edilmiştir. Çalışmamız ile bu çalışma pestisit ve organizma yönünden benzese de uygulama süresi, dozu ve maruziyet yolu bakımından farklılık göstermektedir. Her iki çalışmadan elde edilen sonuçlar birbirini desteklemektedir. Başka bir amfibi türü olan kaplan semenderle (*Ambystoma tigrinum*) yapılan bir diğer çalışmada ise Deltametrin tüm kan hücrelerinde olumsuz etki yapmış ve etki derecesi konsantrasyona göre değişiklik göstermiştir (Froese et al. 2009). Öte yandan dos Santos Cunha et al. (2018) tarafından yapılan en son çalışmada bir tür pirana olan *Colossoma macropomum*'un larvaları 96 saat süreyle farklı dozlarda Deltametrin'e maruz bırakılmış ve balık eritrositlerinde mikroçekirdek, tomurcuklu çekirdek, çentikli çekirdek, 8 şekilli çekirdek ve çift çekirdek oluşumu gibi anormallikler gözlenmiştir. Bu çalışma araştırmamızı doğrudan ilgilendirmekte olup sonuçların birbiri ile uyumlu olduğu aşikardır. Mikro çekirdek ve çekirdek anormalliklerinin değerlendirilmesi pek çok araştırmada biyobelirteç olarak kullanılmaktadır ve bunlar genotoksik ajan maruziyetinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Ayllón and Gaber-Vazquez 2000; Çavaş and Ergene-Gözükar 2003). Deltametrin'in subletal dozlarının *Channa punctatus* balıklarında 3 günlük maruziyet sonucu anormal çekirdek oluşumuna sebep olduğu diğer çalışmalar ile tespit edilmiştir (Ansari et al. 2009). Deltametrin içeren bir piretroid insektisiti 17.5 ve 35.0 µg/L dozlarında 3 gün boyunca *Anguilla anguilla* türü yılan balıklarına uygulanmış ve her iki dozda da böbrek şekilli çekirdek, loplu çekirdek, çift çekirdek-segmentli çekirdek, vakuollü çekirdek ve mikro çekirdek gibi eritrositik çekirdek anormalliklerini (EÇA) ve olgun olmayan eritrosit frekansını arttırdığı bildirilmiştir (Marques et al. 2014). Oksidatif stres potansiyeli olan toksikantların DNA'yı etkileyerek moleküler ve klastojenik hasarlar yaptığı bilinmektedir (Jha 2008). Bu nedenle Ansari et al. (2009) reaktif oksijen türlerinin bir kısmının Deltametrin kaynaklı kromozomal hasarlardan sorumlu olabileceğini iddia etmiştir. Balıklarda ve *P. ridibundus*'da deltametrin maruziyeti sonrası artan EÇA, reaktif oksijen radikali sayısının artması ve antioksidan sistemin korunmasının ortadan kalkmasıyla açıklanabilir. Öte yandan Marques et al. (2014) bu durumun genotoksik ajanların

toksikokinetikleri, etkilenen dokunun turnover (yenilenme) durumları ve antigenotoksik proseslerin (DNA onarımı ve antioksidan aktivite) işleyişi olarak üç aşamada izah edilebileceğini savunmaktadır.

Akut toksik etkileri diğer canlılarda özellikle balıklarda bilinmesine rağmen Deltametrin'in *Pelophylax ridibundus* üzerine olan histopatolojik etkileri ilk kez bu çalışma ile gösterilmiştir. Mevcut bulgular Deltametrin'in sebep olduğu genetiksel hasarı da ortaya koymuştur. Üstelik bu etkiler 96 saat gibi kısa bir sürede meydana gelmiştir. Bu yüzden *Pelophylax ridibundus* türü kurbağaların doğal ortamda Deltametrin'e maruz kalmaları önemli sağlık problemlerine yol açabilir. Pestisit kullanımına bağlı olarak amfibilerin sayısının azaldığı unutulmamalı ve ergin amfibiler üzerine Deltametrin'in olası subakut ve kronik etkileri araştırılmalıdır. Bu bağlamda çalışmamız sonuçlarının gelecek araştırmalar için ilham verici veya yönlendirici olabileceğini ümit etmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abdel-Moneim, A.M., Al-Kahtani, M.A., Elmenshawy, O.M., 2012. Histopathological biomarkers in gills and liver of *Oreochromis niloticus* from polluted wetland environments, Saudi Arabia. Chemosphere, 88, 1028-1035.
- Açar, Ö.Ç., 2015. Pestisit Analizleri, T.C. Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Gıda Referans Laboratuvarı Kalıntı/Pestisit Birimi.
- Alavanja, M. C. R. 2009. Pesticides use and exposure extensive worldwide. Rev. Environ. Health 24:303–309.
- Alavanja, M. C. R., and M. R. Bonner. 2012. Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. J. Toxicol. Environ. Health B 15:238–263.
- Alberdi, J.L., Santamaria, N.O., Domingo, A.H. (1990). Effects of Deltamethrin and ethanol survival, and mechanical response of daphnia spinulata. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 45: 266-271.
- Anonim, 2005. Sofradaki SOS Ankara Ticaret Odası ve Türkiye Ziraatçılar Derneği Raporu.19 03 2017.
- Anonim, 2012. Pestisitler. T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara. <https://docplayer.biz.tr/7220146-T-c-milli-egitim-bakanligi.html>. 25/04/2019.
- Anonim, 2014. Pesticide Industry: Market Re-search Reports, Statistics and Analysis. <http://www.reportlinker.com/ci02012/Pesticide.html>.
- Anonim, 2015. Ülkemizde Zirai Mücadele Girdilerinin Değerlendirilmesi. <https://arastirma.tarimorman.gov.tr/zmmae/Belgeler/Sol%20Menu/Yay%C4%B1nlar/%C3%9Clkemizde%20Zirai%20M%C3%BCadele%20Girdilerinin%20De%C4%9Feriendirilmesi.pdf>. 23.05.2019
- Ansari RA, Kaur M, Ahmad F, Rahman S, Rashid H, Islam F, Raisuddin S (2009) Genotoxic and oxidative stress-inducing effects of Deltamethrin in the erythrocytes of a freshwater biomarker fish species, *Channa punctata* Bloch. Environ Toxicol 24:429–436
- Avcı, E., 2013. Deltametrin (Pestisit; İnsektisit)'İn *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Anura) Üzerindeki Genotoksik Etkilerinin Eritrosit Mikronukleus Testi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ayllón F, Garcia-Vazque ZE (2000) Induction of micronuclei and other nuclear abnormalities in European minnow Phoxinus phoxinus and mollie Poecilia latipinna: an assessment of the fish micronucleus test. Mutat Res 467:177–186
- Bancroft, J.D. and Stevens A., 1982. Theory and practice of histological techniques.Churchill livingstone, 662 p, Edinburg.
- Banerjee, S., and Bhattacharya, S. (1995). Histopathological changes induced by chronic nonlethal levels of elsan, mercury, and ammonia in the small intestine of *Channa punctatus*. Ecotoxicol Environ Saf 31, 62–68.
- Baran, İ., Atatür, M. K., 1998. Türkiye Herpetofaunası (Kurbaga ve Sürüngenler). T.C Çevre Bakanlığı, 214s., Ankara.
- Baran, İ., Ilgaz, Ç., Avcı, A., Kumlutaş, Y., Olgun, K. 2005. "Türkiye Amfibi ve Sürüngenleri" Tubitak Popüler Bilim Kitapları. Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu. 204 syf, Ankara.

- Beaumont, M.W., Butler P.J., Taylor E.W., 2000. Exposure of brown trout *Salmo trutta*, to a sublethal concentration of copper in soft acidic water, effects upon muscle metabolism and membrane potential. *Aquatic Toxicology*, 51, 259-272.
- Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Brkhardt-Holm, P., Wahli, T., 1999. Histopathology in fish: Proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *J. Fish. Dis.*, 22, 25-34.
- Binetti, R., F. M. Costamagna, and I. Marcello. 2008. Exponential growth of new chemicals and evolution of information relevant to risk control. *Ann. Ist. Super. Sanità* 44:13–15.
- Blumer, B., 2013. We've Covered the World in Pesticides. Is That a Problem? Erişim tarihi:05.06.2014<http://www.washingtonpost.com/blogs/wonkblog/wp/2013/08/18/the-world-uses-billions-of-pounds-of-pesticides-each-year-is-that-a-problem>.
- BM. 2015. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, Population Division (2015). *World Population Prospects: The 2015 Revision, Key Findings and Advance Tables*. Working Paper No. ESA/P/WP.241. United Nations New York, 2015.
- Brühl, C.A., Pieper, S., Weber, B., 2011. Amphibians at risk? Susceptibility of terrestrial amphibian life stages to pesticides. *Environ. Toxicol. Chem.* 30, 2465–2472.
- Buhler, D.R., Williams, D.E., 1988. The role of biotransformation in the toxicity of chemicals. *Aquatic Toxicology*, 11 (1-2), 19-28.
- Burçak A.A., 2014. İlaç, Alet ve Toksikoloji Araştırmaları Çalışma Grubu. Erişim tarihi: 11.11.2017. <http://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/SUNULAR>
- Carrasco, K.R., Tilbury, K.L., Myers, M.S., 1990. Assessment of the piscine micronuclei test as an in situ biological indicator of chemical contaminant effects. *Can J Fish Aquat Sci.*, 47: 2123–2136.
- Carvalho, F. P., S. W. Fowler, J. W. Readman, and L. D. Mee. 1992. Pesticide residues in tropical coastal lagoons: the use of ¹⁴C-labelled compounds to study cycling and fates of agrochemicals. Pp. 637–653. in *Applications of isotopes and radiation in conservation of the environment*. Proceed. of an Int. Symposium, IAEA, Vienna.
- Carvalho, F. P., J.-P. Villeneuve, C. Cattini, I. Tolosa, S. Montenegro-Guillén, M. Lacayo, et al. 2002a. Ecological risk assessment of pesticide residues in coastal lagoons of Nicaragua. *J. Environ. Monit.* 4:778–787.
- Carvalho, F. P., F. Gonzalez-Farias, J.-P. Villeneuve, C. Cattini, M. Hernandez-Garza, L. D. Mee, et al. 2002b. Distribution, fate and effects of pesticide residues in tropical coastal lagoons of the northwest of Mexico. *Environ. Technol.* 23:1257–1270.
- Carvalho, F. P., S. Montenegro-Guillén, J.-P. Villeneuve, C. Cattini, I. Tolosa, J. Bartocci, et al. 2003. Toxaphene residues from cotton fields in soils and in the coastal environment of Nicaragua. *Chemosphere* 53:627–636.
- Carvalho, F. P. (2017). Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48-60.
- Casida, J. E. 2009. Pest toxicology: the primary mechanisms of pesticide action. *Chem. Res. Toxicol.* 22:609–619.
- Cengiz EI, Unlu E. 2006. Sublethal effects of commercial deltamethrin on the structure of the gill, liver and gut tissues of mosquitofish, *Gambusia affinis*: A microscopic study. *Environ Toxicol Pharmacol* 21:246–253.

- Chakravarty, S., 2014. World Agrochemical and Pesticide Market to Grow 8.7% annually from 2014 to 2018. Erişim tarihi: 05.06.2017. <http://www.marketresearchreports.com/blog/2014/01/06/world-agrochemical-and-pesticide-market-grow-87-annually-2014-2018#sthash.Ah9mn8eN.dpuf>
- Cloyd, R.A., 2012. Pesticide Mixtures: Understanding Their Use in Horticultural Production Systems. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service (MF-3045).
- Couillard, C.M., Hodson, P.V., 1996. Pigmented macrophage aggregates: A toxic response in fish exposed to bleached-kraft mill effluent? *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15: 1844–1854.
- Czarniewska E, Kasprzyk A, Ziemnicki K. 2003. Effect of paraquat and metoxychlor on antioxidant enzymes in frog *Rana esculenta* L. liver. *Biol Lett* 2:125–133.
- Çakıcı, Ö., 2013. Carbaryl-induced Histopathologic Alterations on testes of Levantine Frog, *Pelophylax bedriagae* (Anura: Ranidae) *Bulletin Environmental and Toxicology*, 91: 96-10.
- Çakıcı, Ö., 2014. Carbaryl-induced Histopathologic Alterations in the Digestive Tract of the Levantine Frog, *Pelophylax bedriagae* (Anura: Ranidae). *Toxicologic Pathology* 42(6):1032-1040.
- Çakıcı, Ö., 2015. Histopathologic changes in liver and kidney tissues induced by carbaryl in *Bufotes variabilis* (Anura: Bufonidae). *Environmental and Toxicologic Pathology*, 67, 237-243.
- Çavas T, Ergene-Gözükara S (2003) Micronuclei, nuclear lesions and interphase silverstained nucleolar regions (AgNORs) as cytogenotoxicity indicators in *Oreochromis niloticus* exposed to textile mill effluent. *Mutat Res* 538:81–91.
- Datta M, Kaviraj A (2003) Acute toxicity of the synthetic pyrethroid deltamethrin to freshwater catfish *Clarias gariepinus*. *B Environ Contam Tox* 70:296–299
- Davidson, C., 2004. Declining downwind: amphibian population declines in California and historical pesticide use. *Ecological Applications* 14, 1892–1902.
- De, A., R. Bose, A. Kumar, and S. Mozumdar. 2014. Targeted delivery of pesticides using biodegradable polymeric nanoparticles. Springer, Berlin.
- Decourtye, A., Devillers, J., Cluzeau, S., Charreton, M. and Pham-Deleguea Minh-Ha, (2004). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 410–419.
- Deer KA, Banka L, Nemcsok J, Abraham M. 1996. Effects of deltamethrin on hepatic microsomal cytochrome P450-dependent monooxygenases in carp. *J Environ Sci Health B* 31:637–644.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A., 2005. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı Ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre. <https://www.researchgate.net/publication/269064638>.
- Demirsoy, A., 2005. Omurgalılar (Yaşamın Temel Kuralları), Cilt III / Kısım I, Meteksan Basımevi, Ankara.
- Denizli, A., Şener, G., Özgür, E., 2013. Pestisitler. *Bilim ve Teknik* 69-71.
- Denoël, M., D’Hooghe, B., Ficetola, G. F., Basseur, C., De Pauw, E., Thomé, J. P., & Kestemont, P. (2012). Using sets of behavioral biomarkers to assess short-term

- effects of pesticide: a study case with endosulfan on frog tadpoles. *Ecotoxicology*, 21(4), 1240-1250.
- dos Santos Cunha, F., da Costa Sousa, N., Santos, R. F. B., Meneses, J. O., do Couto, M. V. S., de Almeida, F. T. C., ... & Fujimoto, R. Y. (2018). Deltamethrin-induced nuclear erythrocyte alteration and damage to the gills and liver of *Colossoma macropomum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(15), 15102-15110.
- Dubois, A. and Ohler, A., 1994. Frogs of the subgenus *Pelophylax* (Amphibia, Anura, Genus *Rana*): a catalogue of available and valid scientific names, with comments on name bearing types, complete synonymies, proposed common names and maps showing all type localities. *Zoologica Polonica*, 39:139-204.
- Edge, C.B., Gahl, M.K., Pauli, B.D., Thompson, D.G., Houlahan, J.E., 2011. Exposure of juvenile green frogs (*Lithobates clamitans*) in littoral enclosures to a glyphosate-based herbicide. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74, 1363–1369.
- EEA. 2013. Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation. European Environment Agency, Report No 1/2013. EEA, Copenhagen.
- Elfman L., N. Tooke, J. Patring, Detection of pesticides used in rice cultivation in streams on the Island of Leyte in the Philippines, *Agric. Water Manag.* 101 (2011) 81–87.
- El-Sayed YS, Saad TT, El-Bahr SM. 2007. Acute intoxication of deltamethrin in monosex Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* with special reference to the clinical, biochemical and haematological effects. *Environ Toxicol Pharmacol* 24:212–217.
- EUROSTAT. 2012. The REACH baseline study, 5 years update Summary report. Eurostat. Available at <http://ec.europa.eu/eurostat/en/web/products-statistical-workingpapers/-/KS-RA-12-024>.
- EUROSTAT. 2017. Chemicals production statistics. Data from September 2016. Eurostat. Available at http://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php/Chemicals_production_statistics.
- Ezemonye L, Tongo I. 2010. Sublethal effects of endosulfan and diazinon pesticides on glutathione-S-transferase (GST) in various tissues of adult amphibians (*Bufo regularis*). *Chemosphere* 81:214–217.
- FAO. 2002. International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. Retrieved on 2007-10-25.
- FAO. 2013. FAO statistical yearbook 2013: World Food and Agriculture. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FAO. 2017. Available at <http://www.fao.org/faostat/en/#home>.
- Fenoglio, C., Boncompagni, E., Fasola, M., Gandini, C., Comizzoli, S., Milanesi, G., Barni, S., 2005. Effects of environmental pollution on the liver parenchymal cells and Kupffer-melanomacrophagic cells of the frog *Rana esculenta*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60: 259–268.
- Froese, J. M., Smits, J. E., Forsyth, D. J., & Wickstrom, M. L. (2009). Toxicity and immune system effects of dietary deltamethrin exposure in tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 72(8), 518-526.

- Gallant, A.L., Klaver, R.W., Casper, G.S., Lannoo, M.J., 2007. Global rates of habitat loss and implications for amphibian conservation. *Copeia*, 967–979.
- Garbarino, J. R., E. Snyder-Conn, T. J. Leiker, and G. L. Hoffman. 2002. Contaminants in arctic snow collected over northwest Alaskan sea ice. *Water Air Soil Pollut.* 139:183–214.
- Golow AA, Godzi TA. 1994. Acute toxicity of deltamethrin and dieldrin to *Oreochromis niloticus* (LIN). *Bull Environ Contam Toxicol* 52: 351–354.
- Gonçalves, M.W., Gambale, P.G., Godoy, F.R., Alves, A.A., Rezende, P.A., Cruz, A., Macie, N., Nomura, F., Bastos, R., Marco-Jr, P., Silva, D., 2017. The agricultural impact of pesticides on *Physalaemus cuvieri* tadpoles (Amphibia: Anura) ascertained by comet assay. *Pensoft, Zoologia* 34: e19865, ISSN 1984-4689 (online).
- Goulet NB, Hontella A. 2003. Toxicity of cadmium, endosulfan and atrazine in adrenal steroidogenic cells of two amphibian species; *Xenopus laevis* and *Rana catesbeiana*. *Environ Toxicol Chem* 22: 2106–2113.
- Goulson, D., 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *J. Appl. Ecol.* 50 (997–987).
- Guo, J., Xu, J., Zhang, J., & An, L. (2018). Alteration of mice cerebral cortex development after prenatal exposure to cypermethrin and deltamethrin. *Toxicology letters*, 287, 1-9.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak dizisi No:52, T.C. Sağlık Bakanlığı Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Güler, Ç. 2011. Sessiz Bahar. Çeviri; “The Silent Spring”, Rachel Carson. Palme Yayıncılık, Ankara 368 syf.
- Hayes, T.B., Case, P., Chui, S., Chung, D., Haefele, C., Haston, K., Lee, M., Mai, V.P., Marjuoa, Y., Parker, J., Tsui, M., 2006. Pesticide mixtures, endocrine disruption, and amphibian declines: are we underestimating the impact? *Environ. Health Perspect.*
- Hernandez-Moreno D, Soler F, Miguez MP, Perez-Lopez M. 2010. Brain acetylcholinesterase, malondialdehyde and reduced glutathione as biomarkers of continuous exposure of tench, *Tinca tinca*, to carbofuran or deltamethrin. *Sci Total Environ* 408:4976–4983.
- Hero, J.M., Morrison, C., 2004. Frog declines in Australia: global implications. *Herpetological Journal* 14, 175–186.
- Hester, R. E., and R. M. Harrison (Ed.), 2017. Agricultural chemicals and the environment: issues and potential solutions, 2nd edn. *Issues in Environmental Science and Technology* No.43. The Royal Society of Chemistry, London.
- Hopkins WA. 2007. Amphibians as models for studying environmental change. *ILAR J* 48:270–277.
- Houlahan, J.E., Findlay, C.S., 2003. The effects of adjacent land use on wetland amphibian species richness and community composition. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 60, 1078–1094.
- İstanbuluoğlu, H., Oğur, R., Güleç, M., 2009. Pestisit maruziyeti ve nörolojik bozukluklar. *Genel Tıp Derg*;19(4), 187-195.
- Jamieson, A. J., T. Malkocs, S. B. Pierny, T. Fujii, and Z. Zhang. 2017. Bioaccumulation of persistent organic pollutants in the deepest ocean fauna. *Nat. Ecol. Evol.* 1:0051.

- Jayawardena, U. A., Angunawela, P., Wickramasinghe, D. D., Ratnasooriya, W. D., & Udagama, P. V. (2017). Heavy metal-induced toxicity in the Indian green frog: Biochemical and histopathological alterations. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(10), 2855-2867.
- Jelodar, H. T. and H. Fazli, 2012. Monthly changes in condition, hepatosomatic index and bioavailability in frogs (*Rana ridibunda*). *Research Journal of Biology*, 2: 9-14.
- Jha, A.N Ecotoxicological applications and significance of the comet assay, *Mutagenesis* 23 (2008) 207–221,
- Jing, X., Yao, G., Liu, D., Liu, C., Wang, F., Wang, P., Zhou, Z., 2017. Exposure of frogs and tadpoles to chiral herbicide fenoxaprop-ethyl. *Chemosphere*, 186, 832-838.
- Johnson, M.S., Aubee, C., Salice, C.J., Leigh, S.K.B., Liu, E., Pott, U., Pillard, D., 2017. A review of ecological risk assessment methods for amphibians: Comparative assessment of testing methodologies and available data. *Integr. Environ. Assess. Manag.* 13,601–613.
- Kale, S., N. B. K. Murthy, K. Raghu, P. D. Sherkane, and F. P. Carvalho. 1999. Studies on degradation of 14C-DDT in the marine environment. *Chemosphere* 39: 959–968.
- Karakoç, Ö., Nakiboglu, N., 2010. Ditiyokarbamat Pestisitleri ve Tayin Yöntemleri. *BAÜ FBE Dergisi*, Cilt:12, Sayı:1, 112-135.
- Karakuş, M., 2012. Ege Bölgesi'nin Bazı İlçelerinde Kum Sineklerinin Doğadan Toplanan Popülasyonlarında İnsektisit Hassasiyetinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir
- Karsavuran, Y., Erkan, S., Tosun, N., 2001. Pestisit Uygulamalarının Toprak Üzerindeki Olumsuz Etkileri. Iv. Ulusal Ekoloji Ve Çevre Kongres. Bodrum. <https://www.researchgate.net/publication/317545749>.
- Kaya H., Aydın, F., Gürkan, M., Yılmaz, S., Ates, M., Demir, V., Arslan, Z., 2016. A comparative toxicity study between small and large size zinc oxide nanoparticles in tilapia (*Oreochromis niloticus*): Organ pathologies, osmoregulatory responses and immunological parameters. *Chemosphere*, 144, 571-582.
- Keskin, M.Ç. 2018. Karasu havzasında tarım yapılan alanlarda yaşayan ova kurbağalarında (*Pelophylax ridibundus*) histopatolojik araştırmalar. Atatürk üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi.
- Kılıç, K. D., Çavuşoğlu, T., Yiğittürk, G., Erbaş, O., Çetin, E. Ö., & Uyanıkgil, Y. (2016). Sıçan testisinde subakut deltametrin maruziyetinin etkileri: Histopatolojik bir çalışma. *FNG & Bilim Tıp Dergisi*, 2(4): 266-271.
- Köhler, H. R., and R. Triebkorn. 2013. Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond? *Science* 341:759–765.
- Lewis, S. E., J. E. Brodie, Z. T. Bainbridge, K. W. Rohde, A. M. Davis, B. L. Masters, et al. 2009. Herbicides: a new threat to the Great Barrier Reef. *Environ. Pollut.* 157:2470–2484.
- Li, R., and J. Jin. 2013. Modeling of temporal patterns and sources of atmospherically transported and deposited pesticides in ecosystems of concern: a case study of toxaphene in the Great Lakes. *J. Geophys. Res. Atmos.* 118:11863–11874.

- Li, X.Y., Zeng, S.H., Zhang, W.H., Liu, L., Ma, S., Wang, J.J., 2013. Acute toxicity and superficial damage to goldfish from the ionic liquid 1-methyl-3-octylimidazolium bromide. *Environ. Toxicol.*, 28, 207-214.
- Lima, C.F.M., 2006. Effects of *Salvia officinalis* in the liver: relevance of glutathione levels. Universidade do Minho. p. 447 (Ph.D. thesis).
- Loumbourdis, N.S., Vogiatzis, A.K., 2002. Impact of cadmium on liver pigmentary system of the frog *Rana ridibunda*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53: 52–58.
- Macagnan, N., Rutkoski, C. F., Kolcenti, C., Vanzetto, G. V., Macagnan, L. P., Sturza, P. F., Hartmann, P.A., Hartmann, M. T. (2017). Toxicity of cypermethrin and deltamethrin insecticides on embryos and larvae of *Physalaemus gracilis* (Anura: Leptodactylidae). *Environmental Science and Pollution Research*, 24(25), 20699-20704.
- Mackey, M.J., Boone, M., 2009. Single and interactive effects of malathion, overwintered green frog tadpoles, and cyanobacteria on gray treefrog tadpoles. *Environmental Toxicology & Chemistry* 28, 637–643.
- Mann, R. M., Hyne, R. V., Choung, C. B., & Wilson, S. P. (2009). Amphibians and agricultural chemicals: review of the risks in a complex environment. *Environmental pollution*, 157(11), 2903-2927.
- Margni, M., Rossier, D., Crettaz, P., Jolliet, O., 2002. Life cycle impact assessment of pesticides on human health and ecosystems. *Agriculture, ecosystems & environment*, 93(1), 379-392.
- Marques, A., Custódio, M., Guilherme, S., Gaivão, I., Santos, M. A., & Pacheco, M. (2014). Assessment of chromosomal damage induced by a deltamethrin-based insecticide in fish (*Anguilla anguilla* L.)—a follow-up study upon exposure and post-exposure periods. *Pesticide biochemistry and physiology*, 113, 40-46.
- McGraw, K.J., 2003. Melanins, metals, and mate quality. *Oikos* 102: 402–406.
- Meek, M.E. (Bette), Boobis, A.R., Crofton, K.M., Heinemeyer, G., Raaij, M.W., Vickers, C., 2011. Risk assessment of combined exposure to multiple chemicals: a WHO/IPCS framework. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 60 (2).
- Mestres R, Mestres G. 1992. Deltamethrin: Uses and environmental safety. *Rev Environ Contam Toxicol* 124:1–18.
- Miller, G.T., 2002. *Living in the Environment* (12th Ed). Belmont: Wadsworth/Thomson Learning. ISBN 0-534-37697-5.
- Moreno-Gonzalez, R., and V. M. Leon. 2017. Presence and distribution of current-use pesticides in surface marine sediments from a Mediterranean coastal lagoon (SESpain). *Environ Sci Pollut Res Int.* 24:8033–8048.
- Moretto, A., Bachman, A., Boobis, A., Solomon, K.R., Pastoor, T.P., Wilks, M.F., Embry, M.R., 2016. A framework for cumulative risk assessment in the 21st century. *Crit. Rev.Toxicol.*
- Murphy, M. B., Hecker, M., Coady, K. K., Tompsett, A. R., Jones, P. D., Du Preez, L. H., ... & Kendall, R. J. (2006). Atrazine concentrations, gonadal gross morphology and histology in ranid frogs collected in Michigan agricultural areas. *Aquatic toxicology*, 76(3-4), 230-245.
- Narahashi T. 1992. Nerve membrane Na channels as targets of insecticides. *Trends Pharmacol Sci* 13:236–241.

- Nasia, M. M., Radovanović, T. B., Krizmanić, I. I., Prokić, M. D., Gavrić, J. P., Despotović, S. G., Gavrilović, B.R., Borković-Mitić, S.S., Pavlović, S.Z., Saičić, Z.S. (2018). Prooxidant effects of chronic exposure to deltamethrin in green toad *Bufo viridis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(30), 30597-30608.
- Nasuti C, Cantalamessa F, Gabianelli R (2003) Different effects of type I and type II pyrethroids on erythrocyte plasma membrane properties and enzymatic activity in rats. *Toxicology* 191:233–244
- Niemelä, J. 1992. EU project; priority setting for the purpose of future classification and labelling of dangerous substances (Contract No. B91/B4.3044/12200), Danish Environmental Protection Agency, Copenhagen, November 1992 and Jay Niemelä, 1994, Danish EPA.
- Öğreten, A. 2017. Pestisitler. Zirai Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü/DİYARBAKIR. <https://docplayer.biz.tr/48846374-Pestisitler-ayhan-ogreten-nisan-zirai-mucadele-arastirma-istasyonu-mudurlugu-diyarbakir.html>. 23.05.2019.
- Önen, Ö., Gündüz, Ö., İşisağ Üçüncü, S., 2011. Ham petrolün suda çözünebilir kısımlarının *Pelvicachromis pulcher* (Boulenger, 1901) (Cichlidae, Teleostei) bağırsak ve karaciğeri üzerindeki etkileri. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 17 (Suppl A), 105-110.
- Özelmas, U., and Akay, M. T. (1995). Histopathological investigations of the effects of malathion on dwarf lizards (*Lacerta parva* Boulenger 1887). *Bull Environ Contam Toxicol* 55, 730–37.
- Özeti, N., Yılmaz, İ., 1994. Türkiye Amfibileri, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi, 151: 221 s., Bornova/İzmir.
- Paoli, D., F. Giannandrea, M. Gallo, R. Turci, M. S. Cattaruzza, F. Lombardo, et al. 2015. Exposure to polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene, semen quality and testicular cancer risk. *J. Endocrinol. Invest.* 38:745–752.
- Papoulias, D. M., Schwarz, M. S., & Mena, L. (2013). Gonadal abnormalities in frogs (*Lithobates* spp.) collected from managed wetlands in an agricultural region of Nebraska, USA. *Environmental Pollution*, 172, 1-8.
- Parikh, P.H., Rangrez A., Adhikari Bagchi R., Desai B.N., 2010. Effect of Dimethoate on Some Histoarchitecture of Freshwater Fish *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). *The Bioscan*, 5 (1), 55-58.
- Parlak, H., Çakalarslan, Ö., Karaarslan, M.A., 2011. Ekotoksikoloji. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Yayınları, No:79 Ders Kitabı Dizisi No:39
- Pauly, D., 1983. Some simple methods for the assessment of tropical fish stocks. *FAO Fisheries Technical Paper*. FAO, Rome, 52 pp.
- Păunescu ,A., Ponopal, C.M., Drăghici, O., Marinescu, A.I.G., 2010a. Liver histopathologic alterations in the frog *Rana (Pelophylax) ridibunda* induce by the action of Reldan 40ec insecticide. *Analele Universitatii din Oradea-Fascicula Biologie*. Tom. XVII/1, pp. 166-169.
- Păunescu, A, Ponopal, C.M., Grigorean, V.T., Popescu, M., 2012a. Histopathological changes in the liver and kidney tissues of Marsh Frog (*Pelophylax ridibundus*) induced by the action of Talstar 10EC insecticide. *An U O Fasc Biol*, 19:5–10.

- Păunescu, A., Ponopal, C., Drăghici, O., Marinescu, A.G., 2010b. Histopathological responses of the liver tissues of *Rana ridibunda* to the Champions 50WP fungicide. *Annals Food Science and Technology*, 11 (2), 60-64.
- Păunescu, A., Ponopal, C.M., Marinescu, A.G., 2011. Lung toxicity induced by the action of Champion 50WP fungicide in marsh frog (*Pelophylax ridibundus*). *Studia Universitatis "Vasile Goldiș", Seria Științele Vieții* Vol. 21, issue 2, 2011, pp. 355-360.
- Păunescu, A., Ponopal, M.C., 2011. Nephrotoxic effects of Champions 50WP fungicides in the mars frog *Pelophylax ridibundus*. *Oltenia. Studii și comunicări. Științele Naturii*, Tom 27(1): 119-122.
- Paunescu, A., Ponopal, M.C., Dima, R., Grigorean, V.T., Valentin, T., Popescu, M., 2012b. Histopathological changes in marsh frog (*Pelophylax ridibundus*) lung tissue induced by the action of Roundup® herbicide. *Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studii și comunicari. Științele Naturii*. Tom. 28, No. 2/2012, 114-118.
- Paunescu, A., Soare, L.C., Fierascu, R.C., Fierascu, I., Ponopal, M.C., 2018. The Influence of Six Pesticides on Physiological Indices of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 100: 376-383.
- Pawlisz A.V., J. Busnarda, A. McLauchlin, P.-Y. Caux, R.A. Kent, Canadian water quality guidelines for deltamethrin, *Environ. Toxicol. Water* 13 (1998) 175–210,
- Pérez-Iglesias, J.M., Franco-Belussi, L., Moreno, L., Tripole, S., Oliveira, C., Natale, G.S., 2016. Effects of glyphosate on hepatic tissue evaluating melanomacrophages and erythrocytes responses in neotropical anuran *Leptodactylus latinasus*. *Environ Sci Pollut Res*, 23:9852–9861.
- Pisa, L.W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., Bonmatin, J.M., Downs, C.A., Goulson, D., Kreutzweiser, D.P., Krupke, C., Liess, M., McField, M., Morrissey, C.A., Noone, D.A., Settele, J., Simon-Delso, N., Stark, J.D., Van der Sluijs, J.P., Van Dyck, J., Wiemers, M., 2015. Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (2015):68.
- Poleksic, V. and Mitrovic-Tutundzic V., 1994. Fish gills as a monitor of sublethal and chronic effects of pollution. In: Muller, R., Lloyd, R. (Eds.), *Sublethal and Chronic Effects of Pollutants on Freshwater Fish*. Fishing News Books, Oxford, 339-352 p.
- Portier, C. J., B. K. Armstrong, B. C. Baguley, X. Baur, I. Belyaev, R. Bellé, et al. 2016. Differences in the carcinogenic evaluation of glyphosate between the International Agency for Research on Cancer (IARC) and the European Food Safety Authority (EFSA). *J. Epidemiol. Community Health*.
- Radovanovic, T.B., Nasia, M., Krizmanic, I.I., Prokic, M.D., Gavric, J.P., Despotovic, S.G., Gavrilovic, B.R., Borkovic-Mitic, S.S., Pavlovic, S.Z., Saicic, Z.S., 2017. Sublethal Effects Of The Pyrethroid Insecticide Deltamethrin On Oxidative Stress Parameters In Green Toad (*Bufo viridis* L.). *Environmental Toxicology And Chemistry*, Vol. 36, No. 10, Pp. 2814–2822.
- Rasmussen, J. J., P. Wiberg-Larsen, A. Baattrup-Pedersen, N. Cedergreen, U. S. McKnight, J. Kreuger, et al. 2015. The legacy of pesticide pollution: an overlooked factor in current risk assessments of freshwater systems. *Water Res.* 84:25–32.

- Relyea, R.A., Mills, N., 2001. Predator-induced stress makes the pesticide carbaryl more deadly to gray treefrog tadpoles (*Hyla versicolor*). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98, 2491–2496.
- Rendon-von Osten J, Ortiz-Arana A, Guilhermino L, Soares AM. 2005. In vivo evaluation of three biomarkers in the mosquitofish (*Gambusia yucatana*) exposed to pesticides. *Chemosphere* 58:627–636.
- Renuka, M.R., 2007. Effects of some pesticides on histopathological and biochemical aspects of *Euphyctis hexadactylus* (Lesson) Amphibia: Anura. Mahatma Gandhi University, p. 150 (Ph.D. thesis).
- Robert RJ. Fish Pathology. 3rd Ed. London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto.:Bailliere Tindall; 2001.
- Rojas, L., 2014. International Pesticide Market and Regulatory Profile. Erişim tarihi: 05.06.2014. http://wcropchemicals.com/pesticide_regulatory_profile/#_ftn1.
- Roser, M., and E. Ortiz-Ospina. 2017. 'World Population Growth'. Published online at OurWorldInData.org. Available at <https://ourworldindata.org/world-populationgrowth/>
- Rozanowska, M., Sarna, T., Land, E.J., Truscott, T.G., 1999. Free radical scavenging properties of melanin interaction of eu- and pheo-melanin models with reducing and oxidising radicals. *Free Radical Biology&Medicine*, 26: 518–525.
- Sai, L., Qu, B., Li, Y., Jia, Q., Bo, C., Liu, Y., Yu, G., Xie, L., Li, L., Ng, J.C., Peng, C., 2016. Continued Studies on the Effects of Simazine on the Liver Histological Structure and Metamorphosis in the Developing *Xenopus laevis*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 97:517–520.
- Sastry, K. V., and Malik, P. V. (1979). Studies on the effect of dimecron on the digestive system of a fresh water fish, *Channa punctatus*. *Arch Environ Contam Toxicol* 8, 397–407.
- Sataloğlu, N., Aydın, B., Turla, A., 2007. Pestisit Zehirlenmeleri. TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni, 6 (3), 169-174.
- Sayeed I, Parvez S, Pandey S, Bin-Hafeez B, Haque R, Raisuddin S. 2003. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch. *Ecotoxicol Environ Saf* 56:295–301.
- Simonich, S. L., and R. A. Hites. 1995. Global distribution of persistent organochlorine compounds. *Science* 269:1851–1854.
- Singh PB, Singh V (2008) Cypermethrin induced histological changes in gonadotrophic cells, liver, gonads, plasma levels of estradiol-17 β and 11-ketotestosterone, and sperm motility in *Heteropneustes fossilis* (Bloch). *Chemosphere* 72:422–431
- Singh, Z., J. Kaur, R. Kaur, and S. S. Hundal. 2016. Toxic effects of organochlorine pesticides: a review. *Am. J. Biosci.* 4:11–18.
- Smith, R., R. Middlebrook, R. Turner, R. Huggins, S. Vardy, and M. Warne. 2012. Large-scale pesticide monitoring across Great Barrier Reef catchments – Paddock to reef integrated monitoring, modelling and reporting program. *Mar. Pollut. Bull.* 65:117–127.
- Soufy, H., Soliman, M., El-Manakhly, E. 2007. Some biochemical and pathological investigations on monosex *Tilapia* following chronic exposure to carbofuran pesticides. *Global Veterinaria*, 1:45–52.

- Spirina, E.V., 2009. Morphophysiological adaptations in *Rana ridibunda* Pall. under the influence of pollution. *Bulletin of the Altai State Agrarian University*, 12 (62): 64-68. (Russian).
- Spolyarich, N., Hyne, R., Wilson, S., Palmer, C., & Byrne, M. (2010). Growth, development and sex ratios of spotted marsh frog (*Limnodynastes tasmaniensis*) larvae exposed to atrazine and a herbicide mixture. *Chemosphere*, 78(7), 807-813.
- Staicu AC, Munteanu MC, Costin D, Costache M, Dinischiotu A. 2007. Histological changes in deltamethrin-induced intoxication in *Carassius auratus gibelio* (Pisces-cyprinidae). *Biotechnol Anim Husb* 23:619–626.
- Stuart, S.N., Chanson, J.S., Cox, N.A., Young, B.E., Rodrigues, A.S.L., Fischman, D.L., Waller, R.W., 2004. Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science* 306, 1783–1786.
- Taylor, B., Skelly, D., Demarchis, L.K., Slade, M.D., Galusha, D., Rabinowitz, P.M., 2005. Proximity to pollution sources and risk of amphibian limb malformation. *Environmental Health Perspectives* 113, 1497–1501.
- Taylor, M. D., S. J. Klaine, F. P. Carvalho, D. Barcelo, and J. Everaarts (Eds). (2003). Pesticide residues in coastal tropical ecosystems. Distribution, fate and effects. Taylor & Francis Publ., CRC Press, London. 576 pp., (ISBN:0-415-23917-6).
- Tebourbi, O., M. Sakly, and K. B. Rhouma. 2011. Molecular Mechanisms of Pesticide Toxicity. in M. Stoytcheva (Ed.). Pesticides in the modern world – Pests control and pesticides. exposure and toxicity assessment. InTech Publ. <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modernworld-pests-control-and-pesticidesexposure-and-toxicity-assessment>.
- Tomizawa, M., and J. E. Casida. 2005. Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45:247–268.
- USEPA (Environmental Protection Agency), 2009. Types of Pesticides. Washington D.C., USA. (Online) <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>
- USEPA, 2007. Concepts, methods and data sources for cumulative health risk assessment of multiple chemicals, exposures and effects: a resource document. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Cincinnati (OH) (Report EPA/600/R-06/014F).
- USEPA. 1998. US Environmental Protection Agency – Office of Pollution Prevention and Toxics. Chemical hazard data. Availability study. What do we really know about the safety of high production volume chemicals? Washington DC. Available at www.epa.gov/HPV/pubs/general/hazchem.htm
- Van Meter, R.J., Glinski, D.A., Henderson, W.M., Purucker, S.T., 2015. Pesticide uptake across the amphibian dermis through soil and overspray exposures. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 69, 545–556.
- Van Meter, R.J., Glinski, D., Purucker, S.Y., Henderson, W.M., 2018. Influence of exposure to pesticide mixtures on the metabolomic profile in post-metamorphic green frogs (*Lithobates clamitans*). *Science of the Total Environment*, 624, 1348–1359.
- Velisek J, Juricikov_a J, Dobsikova R, Svobodova Z, Piackova V, Machova J, Novotny L. 2007. Effects of deltamethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ Toxicol Pharmacol* 23:297–301.

- Velmurugan, B., Selvanayagam, M., Cengiz, E. I., and Unlu, E. (2007). Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*. *Environ Toxicol Pharmacol* 24, 286–91.
- WHO. 1990. Public health impact of pesticides used in agriculture. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 2012. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. World Health Organization, Geneva.
- WHO. 2017. Agrochemicals, health and environment: directory of resources. Available at <http://www.who.int/heli/risks/toxics/chemicalsdirectory/en/index1.html>.
- WHO. 2010. WHO specifications and evaluations for public health pesticides-Deltamethrin. World Health Organization, Geneva.
- Yarsan, E., & Çevik, A. (2007). Vektör mücadelesinde biyopestisitler. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 64(1), 61-70.
- Yildirim, M. Z., Benli, A. Ç. K., Selvi, M., Özkul, A., Erkoç, F., & Koçak, O. (2006). Acute toxicity, behavioral changes, and histopathological effects of deltamethrin on tissues (gills, liver, brain, spleen, kidney, muscle, skin) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fingerlings. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 21(6), 614-620.
- Zhelev ZM, Tsonev CV, Arnaudova DN (2017) Health status of *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) (Amphibia: Ranidae) in a rice paddy ecosystem in southern Bulgaria: body condition factor and fluctuating asymmetry. *Acta Zool Bulg* 69(Suppl 8):169–177.
- Zhelev, Zh.M., Popgeorgiev, G.S. and Mehterov,N.H., 2015. Changes in the Hepatosomatic Index and Condition Factor in the populations of *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) from anthropogenically polluted biotopes in southern Bulgaria. Part II. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 21: 517–522.

ÖZGEÇMİŞ

01.01.1994 yılında Alhasaka (Suriye)'de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Alhasaka'da tamamladı. 2011 yılında girdiği Afurat Üniversitesi Biyoloji bölümünden 2015 yılında mezun oldu. 2016 yılında Türkiye Cumhuriyeti'ne geldi ve Türkçe dilini öğrenmeye başladı. 2017 yılında Tezli Yüksek Lisans yapma hakkını kazanarak Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda öğrenimine başladı. 2019 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladı. Yazar, halen Gaziantep'te ikamet eden Suriyeli çocukların eğitiminde öğretici olarak görev yapmaktadır.