



**BAZI İNSEKTİSİTLERİN ÇEŞİTLİ SOMATİK
HÜCRELERDE *İN VİVO* VE *İN VİTRO*
OLARAK GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ VE OLASI ETKİLERİN
KUŞBURNU (*Rosa canina* L.) BİTKİSİNE AİT
EKSTRELER KULLANILARAK GİDERİLMESİ**

Caner KASIMOĞLU

**Doktora Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Moleküler Biyoloji Bilim Dalı
Prof. Dr. Handan UYSAL
2016
Her hakkı saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**BAZI İNSEKTİSİTLERİN ÇEŞİTLİ SOMATİK HÜCRELERDE
İN VIVO VE *İN VİTRO* OLARAK GENOTOKSİK ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ VE OLASI ETKİLERİN KUŞBURNU (*Rosa canina*
L.) BİTKİSİNE AİT EKSTRELER KULLANILARAK
GİDERİLMESİ**

Caner KASIMOĞLU

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
Moleküler Biyoloji Bilim Dalı

ERZURUM
2016

Her hakkı saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

BAZI İNSEKTİSİTLERİN ÇEŞİTLİ SOMATİK HÜCRELERDE *İN VIVO* VE *İN VİTRO* OLARAK GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE OLASI ETKİLERİN KUŞBURNU (*Rosa canina* L.) BİTKİSİNE AİT EKSTRELER KULLANILARAK GİDERİLMESİ

Prof. Dr. Handan UYSAL danışmanlığında, **Caner KASIMOĞLU** tarafından hazırlanan bu çalışma **20/05/2016** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı – Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu**, **(5./5.)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : **Prof.Dr.Ömer Faruk ALGUR**

İmza :

Üye : **Prof.Dr.Şifa TÜRKOĞLU**

İmza :

Üye : **Prof.Dr.Göksel TOZLU**

İmza :

Üye : **Prof.Dr.Handan UYSAL**

İmza :

Üye : **Doç.Dr.Hasan TÜRKEZ**

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu **02/06/2016** tarih ve **23/24** nolu kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ertan YILDIRIM
Enstitü Müdürü

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

ÖZET

Doktora Tezi

BAZI İNSEKTİSİTLERİN ÇEŞİTLİ SOMATİK HÜCRELERDE *İN VIVO* VE *İN VITRO* OLARAK GENOTOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ VE OLASI ETKİLERİN KUŞBURNU (*Rosa canina* L.) BİTKİSİNE AİT EKSTRELER KULLANILARAK GİDERİLMESİ

Caner KASIMOĞLU

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

Danışman: Prof. Dr. Handan UYSAL

Bu çalışmada beş farklı insektisitlerin genotoksik etkileri *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART), insan periferik lenfosit hücrelerinde ise mikronükleus (MN) ve kardeş kromatit değişimi (KKD) testleri kullanılarak araştırılmıştır. Ayrıca aynı insektisitlerin olası genotoksik etkileri kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitkisine ait su ve etanol ekstraktları ile giderilmeye çalışılmıştır. SMART için normal kanatlı bireylerde toplam klon frekansı negatif kontrol grubunda 0,13 (%1 DMSO) ve 0,11 (%2,5 aseton), pozitif kontrol grubunda (1 ppm EMS) ise 0,64 olarak bulunmuştur. İnsektisitlerin en yüksek uygulama grupları için bu değer profenofosda 0,26, sipermetrinde 0,28, fenvaleratta 0,31, lufenuronda 0,26 ve tetradifonda 0,14 olarak hesaplanmıştır. Tetradifon hariç diğer insektisitlerdeki toplam klon frekansı artışı, DMSO ve aseton negatif kontrol grubuna göre pozitif etkili bulunmuştur ($P<0,05$). Dolayısı ile bu insektisitler normal kanatlı bireylerde genotoksik etkili kabul edilmiştir. Serrat kanatlı bireylerde ise sadece fenvalerat pozitif etkili bulunmuş ve DMSO negatif kontrol grubuna ait 0,09 olan toplam klon frekansı bu insektisitlerin en yüksek uygulama grubunda 0,23'e çıkmıştır. Kuşburnu ekstraktlarına ait iyileştirici etkinin belirlenmesi için de yalnızca pozitif etkili insektisitlerin en yüksek uygulama grubu ile çalışılmıştır. Kuşburnu su ekstresi (RC_{su}) normal kanatlı bireylerde toplam klon frekansı bakımından profenofosun etkisini 0,21'e, sipermetrini 0,19'a, fenvaleratı 0,23'e, lufenuronu da 0,19'a, etanol ekstresi (RC_{eta}) ise yine bu değerleri profenofosda 0,20'ye, sipermetrinde 0,23'e, fenvaleratta 0,21'e ve lufenuronda 0,20'ye düşürmüştür ($P<0,05$). Serrat kanat fenotipli bireylerde fenvaleratin en yüksek uygulama grubunda 0,23 olan toplam klon frekansı RC_{su} ile 0,15'e, RC_{eta} ile de 0,18'e kadar düşüş göstermiştir. Bu düşüş de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Elde edilen bu sonuçlar RC_{su} ve RC_{eta} 'nin antigenotoksik etkisini göstermektedir. MN ve KKD testlerinde de insektisitler doz artışına bağlı olarak mutasyon frekansını artırmıştır. Negatif kontrol grubuna göre gözlenen bu artışlar tetradifon hariç diğer insektisitlerde pozitif etkili bulunmuştur ($P<0,05$). Kuşburnu ekstraktları ise insektisitlerin en yüksek uygulama grubuna ait MN ve KKD frekanslarını önemli derecede azaltmıştır ($P<0,05$). Elde edilen tüm verilere göre kullanılan beş insektisitten profenofos, sipmetrin, fenvalerat ve lufenuron hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak genotoksik etkili bulunmuştur. Tetradifonda ise bu yönde bir etki belirlenememiştir. Çalışmanın ikinci kısmında ise kuşburnu ekstraktlarının kullanılan tüm test sistemlerinde insektisitlere ait genotoksik etkileri azalttığı dolayısı ile iyileştirici etkiye sahip olduğu gözlenmiştir.

2016, 152 sayfa

Anahtar Kelimeler: İnsektisit, Genotoksosite, Antigenotoksosite, Kuşburnu, Mikronükleus, SMART, KKD, *Drosophila melanogaster*, Periferik lenfosit kültürü

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

DETERMINATION OF *IN VIVO* AND *IN VITRO* GENOTOXIC EFFECTS OF SOME INSECTICIDES IN VARIOUS SOMATIC CELL AND MODULATION OF POSSIBLE EFFECTS BY USING EXTRACTS OF THE ROSEHIP PLANT (*Rosa canina* L.)

Caner KASIMOĞLU

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

Supervisor: Prof. Dr. Handan UYSAL

In this study, genotoxic effects of five different insecticides were investigated using somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila melanogaster*, micronucleus (MN) and sister chromatid exchange (SCE) tests in the human peripheral lymphocyte cells. Additionally, modulation of the possible genotoxic effects of the same insecticides were studied with the water and the ethanol extracts of rosehip plant (*Rosa canina* L.). Total clone frequencies in normal wing phenotype individuals for SMART were found 0,13 (1% DMSO) and 0,11 (2,5% acetone) in negative control group, 0,64 in the positive control group (1 ppm EMS). These values in the highest application groups of insecticides was calculated as 0,26 in profenophos, 0,28 in cypermethrin, 0,31 in fenvalerate, 0,26 in lufenuron and 0,14 in tetradifon. Increases in the total clone frequencies of the other insecticides except tetradifon were found positive effect according to the DMSO and acetone negative control groups ($P<0,05$). Therefore, these insecticides have been accepted genotoxic effect in the normal wing phenotype individuals. In the serrate winged individuals, only fenvalerate was found positive effect and the total clone frequency which is 0,09 in the DMSO negative control group has risen to 0,23 in the highest application group of this insecticide. The highest application groups of only positive effective insecticides were studied to determine therapeutic effects of the rosehip extracts. The total clone frequencies of the normal winged individuals decreased to 0,21 in profenofos, 0,19 in cypermethrin, 0,23 in fenvalerate, 0,19 in lufenuron with the water extract of the rosehip (RC_{wtr}) and 0,20 in profenofos, 0,23 in cypermethrin, 0,21 in fenvalerate, 0,20 in lufenuron with the ethanol extract (RC_{eth}) ($P<0,05$). In the serrate wing phenotype individuals, the total clone frequency which is 0,23 in the highest application group of fenvalerate has reduced to 0,15 with the RC_{wtr} and 0,18 with RC_{eth} . These declines were statistically significant ($P<0,05$). These results indicate the antigenotoxic effects of the RC_{wtr} and RC_{eth} . In the MN and SCE tests, insecticides increased the mutation frequencies depending on dose increases. The observed increases compared to the negative control group were found positive effect in the other insecticides except tetradifon. The rosehip extracts significantly decreased the MN and SCE frequencies of the highest applications of the insecticides. According to the all datas, profenofos, cypermethrin, fenvalerate and lufenuron were found genotoxic effective as both *in vivo* and *in vitro*. These effects could not be determined for tetradifon. In the second part of the study, it has been observed that the rosehip extracts have reduced genotoxic effects of the insecticides in all used test systems and have the curative effects.

2016, 152 pages

Keywords: Insecticides, Genotoxicity, Antigenotoxicity, Rosehip, Micronucleus, SMART, SCE, *Drosophila melanogaster*, The Peripheral Lymphocyte Culture

TEŞEKKÜR

Doktora Tezi olarak sunduğum bu çalışmanın tüm aşamalarında desteklerini esirgemeyen, önerileri ile her türlü katkıda bulunan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Handan UYSAL'a,

Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarının tüm imkânlarından yararlanmamı sağlayan Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Başkanlığı'na,

Bu çalışma ile ilgili yapıcı eleştiri ve yönlendirmelerinden dolayı tez izleme komitesi jüri üyelerimiz Sayın Prof. Dr. Ömer Faruk ALGUR ve Prof. Dr. Göksel TOZLU'ya,

Deneysel çalışmalarım sırasında bana yardımcı olan ekip arkadaşlarım; Deniz ALTUN, Arif AYAR, Halit KIZILET, Sedat ÜNVER ve Bircan DEMİR'e,

Tezin hazırlanma sürecinde bana manevi olarak destekte bulunan eşim Zeynep KASIMOĞLU'na ve çocuklarım Tuğba ve Muhammet Efe'ye,

Teşekkür ederim.

Caner KASIMOĞLU

Nisan, 2016

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. İnsektisitler	3
1.1.1. Profenofos	5
1.1.2. Sipermetrin	6
1.1.3. Fenvalerat	8
1.1.4. Lufenuron	9
1.1.5. Tetradifon	10
1.2. Genetik Toksikoloji.....	11
1.2.1. Genetik toksikolojide kullanılan bazı test teknikleri	12
1.2.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART).....	13
1.2.3. Mikronükleus (MN) testi.....	15
1.2.4. Kardeş kromatid değişimi (KKD) testi	17
1.3. Mutajenik Olabilecek Maddelere Karşı İyileştirici Olarak Bitkilerin Kullanılması	19
1.3.1. Kuşburnu (<i>Rosa canina</i> L.)	21
2. KAYNAK ÖZETLERİ	25
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	38
3.1. Kullanılan Kimyasallar Maddeler	38
3.2. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar	39
3.3. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)	41
3.3.1. <i>Drosophila melanogaster</i>	41
3.3.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi	44

3.3.3. Çaprazlama yapılacak ergin bireylerin ve trans-heterozigot larvaların elde edilmesi	45
3.3.4. SMART için insektisit ve bitki ekstrelerine ait uygulama gruplarının belirlenmesi	46
3.3.5. İnsektisit ve bitki ekstrelerinin uygulanması	48
3.3.6. Kanat preparatlarının hazırlanması ve analizi	48
3.3.7. Klon indüksiyon frekansının hesaplanması ve sonuçların istatistiksel analizi	52
3.4. Mikronükleus (MN) Testi	53
3.4.1. Hücre kültürünün hazırlanması	53
3.4.2. Preparatların hazırlanması ve boyanması	54
3.4.3. Mikroskopik inceleme	54
3.4.4. MN testinden elde edilen sonuçların istatistiksel analizi	56
3.5. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi	56
3.5.1. Hücre kültürünün hazırlanması	56
3.5.2. Preparatların hazırlanması ve boyanması	57
3.5.3. Mikroskopik inceleme	58
3.5.4. KKD testinden elde edilen sonuçların istatistiksel analizi	61
3.6. MN ve KKD test tekniklerine ait uygulama gruplarının belirlenmesi	61
3.7. Kuşburnu Bitkisine Ait Farklı Ekstrelerin Elde Edilmesi ve Uygulanması	62
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	64
4.1. İnsektisit Uygulaması Sonucu SMART İçin Elde Edilen Bulgular	64
4.1.1. Profenofos uygulaması	64
4.1.2. Sipermetrin uygulaması	67
4.1.3. Fenvalerat uygulaması	71
4.1.4. Lufenuron uygulaması	74
4.1.5. Tetradifon uygulaması	77
4.2. İnsektisitler ile Kuşburnu Bitkisine Ait Ekstrelerin Birlikte Uygulanması Sonucu SMART İçin Elde Edilen Bulgular	80
4.2.1. Profenofos insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması	80
4.2.2. Sipermetrin insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması	83
4.2.3. Fenvalerat insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması	84

4.2.4. Lufenuron insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması.....	88
4.3. İnsektisit Uygulaması Sonucu Mikronükleus Testinden Elde Edilen	
Bulgular	90
4.3.1. Profenofos uygulaması	93
4.3.2. Sipermetrin uygulaması.....	94
4.3.3. Fenvalerat uygulaması.....	96
4.3.4. Lufenuron uygulaması.....	98
4.3.5. Tetradifon uygulaması.....	99
4.4. İnsektisitlerin ve Kuşburnu Bitkisine Ait Ekstrelerin Uygulanması Sonucu	
MN Testinden Elde Edilen Bulgular	101
4.5. KKD Testinden Elde Edilen Bulgular	105
4.5.1. Profenofos uygulaması	105
4.5.2. Sipermetrin uygulaması.....	107
4.5.3. Fenvalerat uygulaması.....	110
4.5.4. Lufenuron uygulaması.....	112
4.5.5. Tetradifon uygulaması.....	114
4.6. İnsektisitlerin ve Kuşburnu Bitkisine Ait Ekstrelerin Uygulanması Sonucu	
Kardeş Kromatit Değişimi Testinden Elde Edilen Bulgular	116
5. TARTIŞMA	119
KAYNAKLAR	136
ÖZGEÇMİŞ	152

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<i>BdS</i>	Serratlık geni
BrdU	5-bromo-2-deoksiüridin
Ca	Kalsiyum
cm	Santimetre
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
EMS	Etil metansülfonat
EPA	Çevre koruma ajansı
<i>flr³</i>	<i>Flare</i> geni
g	Gram
H ₀	Orijinal (null) hipotez
H _a	Alternatif hipotez
KCl	Potasyum klorür
kg	Kilogram
KH ₂ PO ₄	Potasyum hidrojen fosfat
KİF	Klon indüksiyon frekansı
KKD	Kardeş kromatid değişimi
LD ₅₀	Bir popülasyondaki bireylerin yarısını öldüren uygulama dozu
M	Molar
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
MN	Mikronükleus
<i>mwh</i>	<i>multiple wing hair</i> =Çoklu kanat kıllığı geni
Na	Sodyum
Na ₂ HPO ₄	Sodyum hidrojen fosfat
NaCl	Sodyum klorür
NBİ	Nükleer bölünme indeksi

nm	Nanometre
O	Oksijen
°C	Santigrat derece
PBS	Fosfat tamponu
ppm	Milyonda bir birim
Rİ	Replikasyon indeksi
rpm	Dakikada dönüş sayısı
SMART	Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
<i>TM3</i>	Dengeleyici kromozom
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
α	Alfa
β	Beta
μg	Mikrogram
μM	Mikromolar

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Somatik mutasyon ve rekombinasyonların oluşum mekanizmalarına ait şematik gösterim.....	14
Şekil 1.2. MN oluşum mekanizmasının şematik gösterimi	16
Şekil 1.3. BrdU içeren ortamda mitoz sonucu oluşan kromatitlerin boyanmasının şematik gösterimi.....	18
Şekil 1.4. Harlequin (Hq) kromozomların şematik (a) ve mikroskopik (b) görünümü.....	18
Şekil 1.5. Kuşburnu bitkisinin doğal alandaki görünümü	22
Şekil 3.1. <i>D.melanogaster</i> 'in Oregon soyunun dişi ve erkek bireyleri. D: denge organı	42
Şekil 3.2. <i>D.melanogaster</i> 'in yaşam döngüsü	43
Şekil 3.3. <i>D.melanogaster</i> 'in serrat ve normal kanat fenotipine sahip bireyleri	44
Şekil 3.4. <i>flr</i> ³ /TM3 (a) ve <i>mwh/mwh</i> (b) bireylere ait kanat kılı yapıları (10x40).....	45
Şekil 3.5. Normal (a) ve serrat kanat (b) fenotipine ait sektörler (10x10).....	49
Şekil 3.6. Hazırlanan kanat preparatları.....	49
Şekil 3.7. Bir hücreli (a) ve iki hücreli (b) küçük tek tip klon.....	50
Şekil 3.8. Büyük tek tip klon	50
Şekil 3.9. İkiz klon.....	51
Şekil 3.10. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin şematik gösterimi.....	52
Şekil 3.11. Bir (a) ve iki (b) çekirdekli hücreler (10x100)	55
Şekil 3.12. Üç (a) ve dört (b) çekirdekli hücreler (10x100).....	55
Şekil 3.13. Birinci metafaz plağına ait mikroskop görüntüsü (10x100).....	59
Şekil 3.14. İkinci metafaz plağına ait mikroskop görüntüsü (10x100).....	59
Şekil 3.15. Üçüncü metafaz plağına ait mikroskop görüntüsü (10x100).....	60
Şekil 3.16. Bir ve iki KKD değişimi gerçekleşmiş kromozomlar (10x100).....	60
Şekil 3.17. Binükleuslu hücre (a) ve M2 hücre plağı (b) (10X100).....	62
Şekil 3.18. Kuşburnu meyvesi	63
Şekil 3.19. Kuşburnu ekstrelerinin hazırlanışı.....	63

Şekil 4.1. Profenofos uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	67
Şekil 4.2. Profenofos uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	67
Şekil 4.3. Sipermetrin uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	70
Şekil 4.4. Sipermetrin uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	70
Şekil 4.5. Fenvalerat uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	73
Şekil 4.6. Fenvalerat uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	73
Şekil 4.7. Lufenuron uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	76
Şekil 4.8. Lufenuron uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	76
Şekil 4.9. Tetradifon uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	79
Şekil 4.10. Tetradifon uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması	79
Şekil 4.11. Profenofos+kuşburnu ekstrelerinin uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması.....	81
Şekil 4.12. Sipermetrin+kuşburnu ekstrelerinin uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması.....	84
Şekil 4.13. Fenvalerat+kuşburnu ekstrelerinin uygulaması sonucu normal kanat fenotipine ait SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması.....	86
Şekil 4.14. Fenvalerat+kuşburnu ekstrelerinin uygulaması sonucu serrat kanat fenotipine ait SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması.....	86
Şekil 4.15. Lufenuron+kuşburnu ekstrelerinin uygulaması sonucu normal kanat fenotipine ait kanat benek testi değerlerinin karşılaştırılması.....	90
Şekil 4.16. Bir tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100).....	91
Şekil 4.17. İki tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)	91

Şekil 4.18. Üç tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)	92
Şekil 4.19. Dört tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)	92
Şekil 4.20. Profenofos uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması	94
Şekil 4.21. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması	96
Şekil 4.22. Fenvalerat uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması	97
Şekil 4.23. Lufenuron uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması	99
Şekil 4.24. Tetradifon uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması	100
Şekil 4.25. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin birlikte uygulanması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin toplu olarak karşılaştırılması	104
Şekil 4.26. Profenofos uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması	106
Şekil 4.27. Profenofos uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı	107
Şekil 4.28. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması	109
Şekil 4.29. Sipermetrin uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı	109
Şekil 4.30. Fenvalerat uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması	111
Şekil 4.31. Fenvalerat uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı	111
Şekil 4.32. Lufenuron uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması	113
Şekil 4.33. Lufenuron uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı	113
Şekil 4.34. Tetradifon uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması	115
Şekil 4.35. Tetradifon uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı	115

Şekil 4.36. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin birlikte uygulanması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması	118
---	-----



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Profenofosun fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	6
Çizelge 1.2. Sipermetrinin fiziksel ve kimyasal özellikleri	8
Çizelge 1.3. Fenvalerat insektisitinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	9
Çizelge 1.4. Lufenuron insektisitinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	10
Çizelge 1.5. Tetradifon insektisitinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	11
Çizelge 1.6. Kuşburnu bitkisinin sistematığı	21
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler	39
Çizelge 3.2. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanış şekilleri	40
Çizelge 3.3. Kullanılan tampon çözeltiler ve hazırlanış şekilleri	41
Çizelge 3.4. <i>D.melanogaster</i> 'in sistematığı	42
Çizelge 3.5. DMSO'da çözünen insektisitlere ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları	47
Çizelge 3.6. Asetonda çözünen insektisitlere ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları	47
Çizelge 3.7. Kuşburnu bitkisi ekstrelerine ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları	48
Çizelge 4.1. Profenofos uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler.....	66
Çizelge 4.2. Sipermetrin uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler	69
Çizelge 4.3. Fenvalerat uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler	72
Çizelge 4.4. Lufenuron uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler	75
Çizelge 4.5. Tetradifon uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler	78
Çizelge 4.6. Profenofos + kuşburnu ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu SMART için elde edilen değerler	82
Çizelge 4.7. Sipermetrin + kuşburnu ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu SMART için elde edilen değerler.....	82
Çizelge 4.8. Fenvalerat insektisiti+kuşburnu ekstrelerinin uygulanması sonucu SMART için elde edilen değerler.....	87
Çizelge 4.9. Lufenuron insektisiti+kuşburnu ekstrelerinin uygulanması sonucu kanat benek testinden elde edilen değerler.....	89

Çizelge 4.10. Profenofos uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri	93
Çizelge 4.11. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde gözlenen MN ve NBİ değerleri	95
Çizelge 4.12. Fenvalerat uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri	97
Çizelge 4.13. Farklı konsantrasyonlarda lufenuron uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri.....	98
Çizelge 4.14. Farklı konsantrasyonlarda tetradifon uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri.....	100
Çizelge 4.15. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri.....	102
Çizelge 4.16. Profenofos uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri	106
Çizelge 4.17. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri	108
Çizelge 4.18. Fenvalerat insektisitinin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri	110
Çizelge 4.19. Lufenuron uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri	112
Çizelge 4.20. Tetradifon uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri	114
Çizelge 4.21. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri	117

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızlı artışı ile birlikte besin ihtiyacı da artmış, bu durum teknolojik gelişmelere paralel olarak insanları yeni arayışlara yönlendirmiştir. Tarımsal üretimi artırmak için tarım zararlıları ile etkin mücadele de benimsenen yöntemlerden birisi olmuştur. Bu amaçla pestisit adı verilen çeşitli kimyasal maddeler geliştirilmiştir. Pestisit, haşerat (pest) olarak da bilinen zararlıları öldürmek için kullanılan madde anlamına gelmektedir. Hastalık taşıyan parazitler, bitki zararlısı böcekler, mantar ve yabani otlar bu zararlılara örnek olarak verilebilir (Öğüt 2012). Pestisitlerin kullanımı oldukça eskiye dayanmaktadır. Tarihsel süreç içinde M.Ö. 1000 yılında kükürt'ün, M.S. 900'lü yıllarda arseniğin ve 1690'da tütün ekstraktlarının böceklerle karşı kullanıldığı belirtilmiştir. Sentetik pestisitlerin kullanımına ise II. Dünya savaşıdan sonra başlanmıştır. Organokloroid insektisitlerden birisi olan DDT'nin insektisit özelliği 1939 yılında keşfedilmiş ve kullanımı yaygınlaşmıştır (Ağar vd 1991).

1940'lı yıllardan itibaren başlanan sentetik pestisit kullanımı, 1960'lı ve 70'li yıllarda hızla artmış, 1990'ların ikinci yarısından itibaren ise azalmaya başlamıştır (Pedigo 1996). Dünyadaki pestisit tüketimi, yıllık yaklaşık 3 milyon ton olup satış tutarı da ortalama 30 milyar dolara ulaşmıştır. Pestisit tüketiminin %80'i gelişmiş ülkeler tarafından gerçekleştirilmektedir (Öztürk 1997). Ülkemizdeki pestisit tüketimi AB ülkelerinin oldukça gerisinde olup, hektar başına kullanılan pestisit miktarı 1990'da 400-500 g iken, 2006 yılında 705 g'a ulaşmıştır. Ülkemizde pestisit tüketiminde 1979-2007 yılları arasında %270'lik artış gözlenmiştir (Delen 2008) ve 2007 yılında ülkemizdeki pestisit tüketiminin de 22,681 ton olduğu belirlenmiştir. Ülkemizdeki pestisit tüketiminin %42,02 si Akdeniz ve Ege Bölgesi'nde, %4,8'i ise Doğu Anadolu Bölgesinde gerçekleşmiştir (Tiryaki vd 2010). Aynı yazara göre pestisit kullanılmaksızın üretim yapılması halinde, üretim miktarında %60 hatta %100 kayıp olabilmektedir. Ülkemizde tarımı yapılan kültür bitkileri, sayıları 500'ü aşan hastalık ve zararlıların tehdidi altında olup yeterli mücadele yapılmadığı için toplam ürünün yaklaşık 1/3'i kayba uğramaktadır. Türkiye'de pestisitlerin kullanımında en önemli grubun %45 ile insektisitler olduğu, bunu %24 ile herbisitlerin izlediği, fungusitlerin ise %16 paya

sahip olduğu tespit edilmiştir (Kaya 2007). Türkiye’de tüketilen pestisitlerin yıllık satış tutarı, 1990–2000 yılları arasında 200–300 milyon dolar arasında değişmiştir (Dağ vd 2000).

Pestisitler tarımsal üretimin artırılması, gıdaların ve halk sağlığının korunmasında sağladığı faydalara rağmen çeşitli problemlere de yol açmaktadır. Pestisit uygulamasının %0,015- 6,0’sı hedef alınan canlı üzerine ulaşmakta, geri kalan %94-99,9’luk kısım ise hedef olmayan organizmalara ve toprağa ulaşmakta ya da sulara karışmaktadır (Tiryaki 2010). Pestisitler ayrıca insanlarda çeşitli zehirlenmelere de sebep olmaktadır (Çakır and Sarıkaya 2005). Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünyada yıllık üç milyon pestisit zehirlenmesi vakasının görüldüğünü ve bunların 220 000’inin ölümle sonuçlandığını (Darko and Akoto 2008), Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) da çok sayıda pestisitinin laboratuvar hayvanlarında kanserojen olduğunu belirtmiştir (Bolognesi 2003). Pestisitlerin birçoğunun mutajenik olduğu ve çeşitli gelişimsel problemlere yol açtığı da Giri *et al.* (2002) tarafından rapor edilmiştir. ABD’de yapılan bir araştırmada, annelerin %70’inin hamileyken pestisitlere maruz kaldığı ve %55’inin idrarında ölçülebilir seviyede pestisit varlığı tespit edilmiştir (Berkowitz *et al.* 2003). Avrupa’da ve özellikle ABD’de, insanları ve hedef olmayan organizmaları pestisitlerin zararlarından korumak için çeşitli çalışmalar yapılmış ve geleneksel pestisitlerin yerini daha spesifik, hedef olmayan organizmalar üzerinde daha az toksik etkili pestisitlerin alması sağlanmıştır (Horowitz and Ishaaya 2004).

Pestisitler, görünüşlerine, fiziksel yapılarına, kullanıldıkları zararlı gruplarına, formülasyon şekline, etken maddesine, zehirlilik derecelerine, kullanım tekniklerine bakılarak sınıflandırılabilir. Kullanıldıkları zararlı grubuna göre pestisitler; insektisit (böcek öldürücü), fungisit (mantar öldürücü), herbisit (yabani ot öldürücü), akarisit (örümcek öldürücü), bakterisit (bakteri öldürücü), nematosit (yuvarlak solucanları öldürücü) vb. çeşitli gruplara ayrılmaktadır (Akdoğan 2011). Pestisitler içerisinde zararlılara karşı en yaygın olarak kullanılan grup insektisitlerdir. Bu araştırmada da pestisitlerin alt gruplarından birisi olan insektisitler kullanılmıştır.

1.1. İnektisitler

İnektisitler, zararlı böcekleri kontrol etmek ve yayılmalarını önlemek için kullanılan, yumurtaları, larvaları ya da erginleri etkileyen kimyasal maddelerdir ve 20. yüzyılda zirai üretimin artmasını sağlayan en önemli faktörlerden birisi olmuştur. Yalnızca ziraatta değil tıp, veterinerlik ve endüstri alanlarında da kullanılmaktadır (Çalışkan 2010).

İnektisitler, sistemik, yüzeysel, doğal, sentetik, inorganik ve organik gibi çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir. Sistemik inektisitler; uygulanan bitkiler tarafından alınan ve bu bitkilerle beslenen böcekleri etkileyen inektisitlerdir ve bu gruba bir çeşit nörotoksin olan imidakloprid (Rortais *et al.* 2005) ve asetamiprid (Horowitz *et al.* 1998) örnek olarak verilebilir.

Yüzeysel inektisitler; bitkilerin yüzeyi ile temas eden böcekleri etkileyen inektisitlerdir. En bilinen ve yaygın olarak kullanılan örneği bir çeşit piretroid inektisit olan sipermetrindir (Çakır 2008). Doğal inektisitler; çeşitli bitki ekstraktlarından elde edilen nikotin, piretrin (Atamanalp ve Cengiz 2002) gibi inektisitlerdir. Sentetik inektisitlerin keşfinden önce gelişmiş ülkelerde oldukça fazla miktarda kullanılmışlardır (Isman 1997). İnorganik inektisitler de ikinci dünya savaşından önce kullanılmışlardır. Bor, flor, borik asit, arsenik, fosfor, sodyum florür böcekleri kontrol etmek amacı ile kullanılan inorganik kimyasallara örnek verilebilir (Ebeling 1995). Organik inektisitler ise günümüzde en fazla kullanılan inektisit grubudur. Büyük çoğunluğu sentetik olup, organokloroid, organofosfat, piretroid, neonikotinoid gibi çeşitleri bulunmaktadır.

Organokloroid inektisitler, yapısında klor bulunduran organik bileşiklerdir. En bilinen organokloroid inektisitler, halk arasında kısaca DDT olarak bilinen dikloro difenil trikloroetan ve heksaklorosikloheksandır (HCH). Bu inektisitler, tifüs ve sıtma gibi hastalıkların önlenmesinde uzunca süre kullanılmışlardır (Pham *et al.* 1996). Organokloroid inektisitlere dieldrin (Wassermann *et al.* 1982) ve tetradifon (Villarreal *et al.* 2000) gibi inektisitler de örnek verilebilir. Yağda çözünürlükleri ve kimyasal

stabiliteleri oldukça yüksektir. En kararlı insektisitler olarak kabul edilirler. Çoğunun yarılanma ömrü 10-15 yıl arasında değişmektedir (Erinç 1984). Bunun sonucu olarak ekosistemde uzun süre etkilerini gösterirler. Organizmaların özellikle yağ dokusunda birikme özelliğine sahiptirler. DDT ve metabolitlerinin vücuda alındıktan sonra yağ dokusunda ve sütte depolandığı bildirilmiştir. İnsanlarda oldukça toksik olan aldrin ve dieldrin gibi organokloroid insektisitlerin özellikle merkezi sinir sistemini etkilediği belirlenmiştir (WHO 1996).

Organofosfat insektisitler; fosfat veya kükürt içeren esterlerdir. Toz veya sıvı halde bulunurlar. Suda genellikle çok az çözünürken yağ ve organik çözücülerde iyi çözünürler. Organofosfat insektisitler çevrede uzun süre kalamazlar ve uygulamadan birkaç hafta sonra parçalanırlar (Kaya vd 2002). Organofosfat insektisitler, asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek toksik etki gösterirler. Herhangi bir sinirsel uyarının sinir sisteminde taşınması asetilkolin aracılığı ile gerçekleşir. Asetilkolin, sinapslarda geçişi sağladıktan sonra asetik asit ve kolin adı verilen maddelere hidroliz olur. Bu hidrolizi asetilkolin esteraz enzimi gerçekleştirir. Organofosfat insektisitler bu enzime bağlanarak enzimin görevini yapmasını engellerler. Dolayısı ile sinapslarda asetil kolin birikir ve sinirsel iletim olumsuz etkilenir. Bunun sonucunda parasempatik sinir sistemi aşırı çalışır, çizgili kaslar kasılı kalır, felç gerçekleşir ve kalbin uyarılmasına bağlı olarak kan basıncı artar (Koçak vd 2005; T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Teftiş Kurulu Başkanlığı 2005).

Sentetik piretroidler; piretrum adı verilen bitki ekstratlarından kimyasal olarak geliştirilen insektisit grubudur. Pireotu bitkilerine ait (*Chrysanthemum cinerariaefolium* ve *Chrysanthemum coccineum*) çiçeklerin kurutulması ve ekstrakte edilmesi ile elde edilen piretrumlar (Ecobichon 2001; Shafer *et al.* 2005), ilk kez 1800'lü yıllarda insektisit olarak pire, sivrisinek, kene gibi çeşitli böceklerle karşı kullanılmıştır (Çağlayan 2005). Piretrumlar ısı ve ışığa karşı dayanıklı olmadıklarından tarımsal kullanım için kimyasal benzerleri olan sentetik piretroidler geliştirilmiştir ve bugün tüm global insektisit pazarının %30'dan fazlası bu bileşiklere aittir (Reigart and Roberts 1999). 1979 yılında Balie ve Wood tarafından ışığa dayanıklı ve güçlü etkiye sahip

sipermetrin ve fenvalerat insektisitleri bulunmuştur (Oğuz ve Aydın 2001). Piretroidler, azot, kükürt, flor, klor ve brom gibi heteroatomları taşıyan çeşitli anolara sahiptir. Halojenli türevlerin insektisit aktivitesi daha yüksektir (Adelsbach and Tjeerdema 2003) Suda çözünürlükleri düşüktür. Piretroidler, asidik ve nötral pH'larda yavaş, alkali pH'larda ise çok hızlı bozulurlar. Nemli toprakta daha yüksek oranda olmak üzere fotolize uğrarlar. Püskürtme sonucu havaya yayılan piretroidler, güneş ışığı ve atmosferdeki fiziksel ya da kimyasal diğer etkenler ile 1-2 gün içerisinde yıkıma uğrarlar (Laskowski 2002). Toksik etkileri oldukça yüksek olan piretroidlerin sinir hücrelerinin aksonlarını etkileyerek sodyum kanallarının sürekli açık kalmasını sağladığı ifade edilmiştir (T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Teftiş Kurulu Başkanlığı 2005).

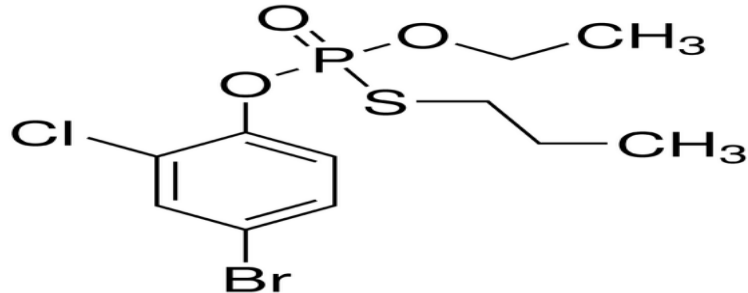
Aşırı insektisit kullanımı, böceklerde direnç gelişimi, çevre kirliliği, hedef olmayan organizmaları etkileme gibi çeşitli problemlere yol açmaktadır (Tanaka *et al.* 2000). Bunun sonucunda arılar, kuşlar, balıklar, omurgasızlar ve mikroorganizmalar gibi hedef olmayan organizmalarda ölümler, üreme potansiyellerinde azalma, tolerans gelişmesi sonucu insanlara hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolden çıkması ve ekosistemin yapısında bozulmalar görülmektedir (Çakır 2008). Bu çalışmada profenofos, sipermetrin, fenvalerat, lufenuron ve tetradifon gibi insektisitlerin somatik hücrelerdeki olası *in vitro* ve *in vivo* genotoksik etkileri araştırılmıştır.

1.1.1. Profenofos

Dünyada zirai ve evsel amaçlı olarak kullanılan geniş spektrumlu organofosfat insektisitlerden birisidir (Moustafa *et al.* 2007). Pamukta, meyve ağaçlarında ve sebzelerde böcekleri ve akarları kontrol etmek amacıyla kullanılır (Habiba *et al.* 1992; He *et al.* 2010). Oda sıcaklığında 13 gün stabil kalabilmektedir. Yüksek pH değerlerinde stabil özelliği azalmaktadır. PH değeri 9 iken yaklaşık 5 saat bozulmadan kalabilmektedir (İsmail *et al.* 2009). Profenofosun nörotoksik etki gösterdiği (Rao *et al.* 2003), asetilkolinesteraz enzimini inhibe ettiği, oksidatif strese neden olduğu (Kavitha and Rao 2009) bildirilmiştir. Zooplanktonlar ve böcekler üzerinde yüksek, balıklarda

orta, memelilerde ise düşük düzeyde toksik etkiye sahiptir (İsmail *et al.* 2009). Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından orta derecede toksik maddeler olarak kabul edilen II. sınıf toksik maddelerin içerisinde yer almaktadır. Profenofosun fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1. Profenofosun fiziksel ve kimyasal özellikleri

IUPAC ismi	O-4-bromo-2-chlorophenylO-ethylS-propyl hosphorothioate
Moleküler formülü	C ₁₁ H ₁₅ BrClO ₃ PS
Moleküler ağırlığı	374 g/mol
Kimyasal yapısı	
Yoğunluğu	1,482g/cm ³
Sudaki çözünürlüğü	28 mg/l

1.1.2. Sipermetrin

Sentetik piretroid insektisitlerden birisi olan sipermetrin, ilk kez 1974 yılında üretilmiş, 1977 yılında ise ticari olarak satılmaya başlanmıştır. Sipermetrinin etkin maddesi sarı renkli ve sıvı olup çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.2’de verilmiştir. Sipermetrin, birçok böcek türüne karşı etkilidir. Meyve ve sebze ekilen alanların yanında sığır, koyun ve kümes hayvanları gibi bazı evcil hayvanların dış parazitlerden korunmasında da kullanılır (Velisek *et al.* 2006). Ayrıca ev, depo, mağaza, sera, gemi, nakliye kamyonları gibi daha birçok yerde ilaçlama amacı ile kullanılabilir. Diğer insektisitlerde olduğu gibi sipermetrine de insanlar maruz kalabilmektedirler. Almanya’da yapılan bir araştırmada 1177 kişiden alınan idrar örnekleri analiz edildiğinde %65’inde sipermetrinin metabolitlerine rastlanmıştır (Schettgen *et al.* 2002).

Sipermetrin, balıklara ve sucul omurgasızlara yüksek derecede toksiktir ve LD₅₀ (96 saat) değeri Gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) 0,0082 mg/l, *Daphnia magna*'da ise 0,0002 mg/l'dir. Çeşitli piretroitlerin vücuttan atılmaları kuşlarda ve memelilerde 6-12 saat arasında iken alabalıklarda bu süre 48 saattir (Atamanalp ve Cengiz 2002). Balıklarda sipermetrin metabolizması ve atılması, memeli ve kuşlarla mukayese edildiğinde çok daha yavaş olmaktadır. Bu durum bu bileşiğin diğer organizmalara nazaran balıklara daha fazla toksik olduğunu açıklamaktadır. Sipermetrinin suda çözünürlüğü düşük olduğundan toprak partiküllerine kuvvetlice bağlanma eğilimi göstermektedir. Topraktaki yarı ömrü 4 gün ile 8 hafta arasında değişmektedir. Fakat daha kalıcı da olabilmektedir. Örneğin Kanada'daki tarım topraklarında kalıcılığının 4 ile 12 ay arasında olduğu tespit edilmiştir (Cox 1996).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından II. sınıf toksik madde olarak gruplandırılan sipermetrin memeli hayvanlarda, merkezi sinir sistemini, deriyi ve gözleri etkilemekte, alerjik reaksiyonlara, salya akmasına, bilinç kaybına, kas titremesine neden olabilmektedir (Elbetieha *et al.* 2001). Kuşlarda davranış bozukluklarına yol açtığı (Pascual and Peris 1992), insektisit olmasına rağmen bitkileri de negatif yönde etkilediği gözlenmiştir (Cox 1996; Chauhan *et al.* 1999). Sistemik olmayıp, temas ve mide yolu ile etkisini gösterir. Küçük dozları bile sinir sistemini etkilemektedir (Çakır 2008). Balıklar, arılar ve sucul böceklerde ise yüksek derecede toksik bir maddedir. Nörotoksik etki gösteren sipermetrin, sinir hücrelerindeki sodyum kanallarını bloke ederek depolarizasyon evresinin uzamasına neden olmaktadır (Velisek *et al.* 2006). Membran repolarizasyonunun ve kanalların kapanmasının gecikmesine yol açarak sinir iletimini engellemektedir (Nasuti *et al.* 2007). Ayrıca hücresel enerji üretimi, metal atomlarının taşınması ve kas kasılması ile ilgili bir enzim olan adenosin trifosfatazı da etkilemektedir (Cox 1996; Kakko *et al.* 2003). Piretroid insektisitlerin insan östrojen reseptörüne bağlanma potansiyellerinin olduğu ve dolayısıyla östrojenik aktivite gösterebilecekleri de ileri sürülmüştür (McCarthy *et al.* 2006). Erkek ratlara oral yolla uygulanan sipermetrin'in testislerin yapısını ve spermatogenezisi olumsuz yönde etkilediği Elbetieha *et al.* (2001) tarafından gösterilmiştir.

Çizelge 1.2. Sipermetrinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

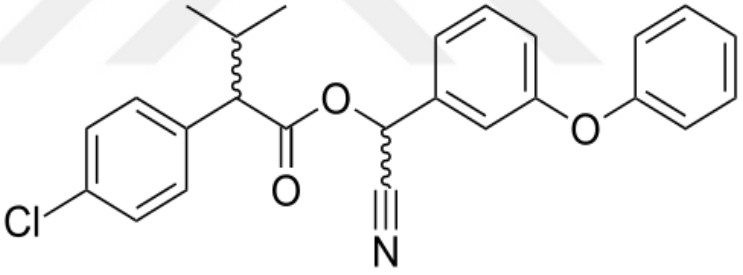
IUPAC ismi	[Cyano-(3-phenoxyphenyl)methyl]3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropane-1-carboxylate
Moleküler formülü	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Moleküler ağırlığı	416,30 g/mol
Kimyasal yapısı	
Yoğunluğu	1,249 g/cm ³
Sudaki çözünürlüğü	10 µg /L

1.1.3. Fenvalerat

Sentetik piretroid insektisitlerden birisi olan fenvalerat, özellikle gelişmiş ülkelerde oldukça fazla üretilir ve tarımda kullanılır. İlk kez 1976 yılında üretilmiştir. Meyvelerde elma iç kurdu, elma ağ kurdu, armut yaprak biti, mercimek ve nohutta yeşil kurt, mercimek tohum böceği, pamuk yaprak kurdu, Antep fıstığı yaprak biti, şekerpancarında yaprak böceği, pancar pireleri, toprak kurtları ve yaprak kurtlarına karşı kullanılır. Yarılanma ömrü kısadır ve çabuk bozulur (Shakoori *et al.* 1996). Fenvalerat, çevrede genellikle 10 haftadan fazla kalıcı olmayan bir insektisittir. Yarı-ömrü, tatlı sularda 2-6 gün, deniz suyunda 27-34 gün, toprakta 3-9 gündür. Bitkiler tarafından çok fazla absorbe edilmez ve birikmez (Eisler 1992). Akut teması takiben hem fenvalerat hem de metabolitlerinin süratle vücuttan atıldığı, fakat 30 günlük maruziyet sonrasında, fenvaleratın sıçan karaciğer ve böbreğinde biriktiği rapor edilmiştir (Misra and Sharma 1997). Narahashi *et al.* (1992)'a göre, fenvalerat gibi piretroid insektisitler, sodyum kanallarını uzun süre açık tutarak sinir sisteminin aşırı uyarılmasına ve felçlere neden olurlar. Kronik toksisite çalışmalarında, hem fare hem de sıçanlarda fenvalerat uygulaması sonucu, vücut ağırlığında azalma, karaciğer ağırlığında artış ve düz

endoplazmik retikulumda bozulmalar gözlenmiştir (Tos-Luty *et al.* 2001). Çeşitli araştırmacılar tarafından fenvalerat uygulamasının memelilerde karaciğer, dalak ve lenf bezleri gibi belirli doku ve organlarda histopatolojik değişikliklere neden olduğu, karaciğer lizozom enzimlerinin aktivitelerini artırdığı ve tümör uyarıcı olarak rol oynayabileceği bildirilmektedir (Miyamoto *et al.* 1986; Kaneko *et al.* 1988). Fenvaleratın endokrin ve üreme sistemi üzerine de etkilerinin olduğu rapor edilmiştir (Xia *et al.* 2004). Dünya Sağlık Örgütü tarafından II. sınıf toksik madde olarak kabul edilen bu insektisit fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1.3'te verilmiştir.

Çizelge 1.3. Fenvalerat insektisinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

IUPAC ismi	(RS)-alpha-Cyano-3-phenoxybenzyl(RS)-2-(4-hlorophenyl)-3-methylbutyrate
Moleküler formülü	C ₂₅ H ₂₂ ClNO ₃
Moleküler ağırlığı	419,90 g /mol
Kimyasal yapısı	
Yoğunluğu	1,175 g/cm ³
Sudaki çözünürlüğü	2 µg/L

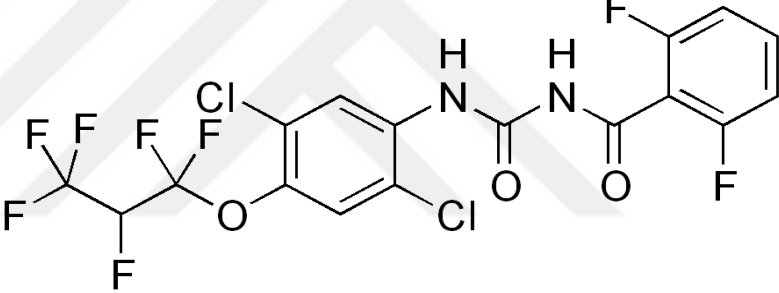
1.1.4. Lufenuron

Lufenuron, pamuk, sebze ve meyvelerdeki böcek larvalarına, kedi ve köpek gibi çeşitli evcil hayvanlardaki parazitlere ve evlerdeki hamam böceklerine karşı kullanılmaktadır. (Navarro-Llopis *et al.* 2004). Ayrıca maya ve küflere karşı da kullanılabilir (Wilson and Cain 1997). Lufenuron, kitin sentez inhibitörü olup, böcek larvalarının dış iskelet oluşumunu engelleyerek etkisini göstermektedir. Ergin böcekleri ise etkilememektedir (Bogwitz *et al.* 2005). Memeli hayvanların dış iskeleti olmadığı için

lufenurondan çok fazla etkilenmezler. Dünya Sağlık Örgütü tarafından düşük toksisiteli maddeler olarak kabul edilen III. sınıf toksik maddeler içerisinde gruplandırılmıştır.

Suda çözünürlüğü düşük olup, alkol, aseton, toluen gibi organik çözücülerde iyi çözünmektedir (Çizelge 1.4).

Çizelge 1.4. Lufenuron insektisitinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

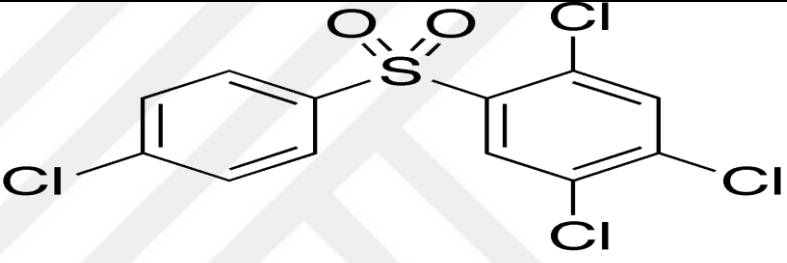
IUPAC ismi	1-[2,5-Dichloro-4-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxy)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea
Moleküler formülü	C ₁₇ H ₈ Cl ₂ F ₈ N ₂ O ₃
Moleküler ağırlığı	511,15 g/mol
Kimyasal yapısı	
Yoğunluğu	1,631 g/cm ³
Sudaki çözünürlüğü	<60 µg/L

1.1.5. Tetradifon

Tetradifon, birçok meyve ve sebze üzerinde insektisit ve akarisit olarak kullanılan organokloroid pestisitlerden birisidir (Çizelge 1.5). Önemli derecede çevresel kirliliklere (Caffarelli *et al.* 2004), mutajenik etkilere (Moriya *et al.* 1986) ve oksidatif strese (Badraoui *et al.* 2007b) neden olabileceği rapor edilmiştir. Besinler ile fazla miktarda tetradifon alınması sonucu iskelet sisteminde bozulmaların olduğu, kemiklerin kalsiyum ve fosfor içeriğinin değiştiği bildirilmiştir (Badraoui *et al.* 2007a). Badraoui *et al.* (2011) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise tetradifona maruz kalan sıçanların böbreklerinde çeşitli toksik etkilerin görüldüğü, morfolojik ve fonksiyonel bozulmaların ortaya çıktığı ifade edilmiştir. Oksidatif fosforilasyon sırasında mitokondrial ATP

sentetazı inhibe etmektedir (Villarroel *et al.* 2000). Bustamante and Pedersen (1973), tetradifonun sıçan karaciğer mitokondrilerindeki enerji üretiminden sorumlu proteinleri %50 oranında inhibe ettiğini bildirmiştir. Tetradifonun insanlar üzerinde de önemli etkilerinin olabileceği rapor edilmiştir (Badraoui *et al.* 2007b).

Çizelge 1.5. Tetradifon insektisitinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

IUPAC ismi	1,2,4-Trichloro-5-(4-chlorophenyl)sulfonylbenzene
Moleküler formülü	C ₁₂ H ₆ Cl ₄ O ₂ S
Moleküler ağırlığı	356,05 g/mol
Kimyasal yapısı	
Yoğunluğu	1,515 g/cm ³
Sudaki çözünürlüğü	78 µg/L

1.2. Genetik Toksikoloji

Toksikolojinin alt dallarından birisi olan genetik toksikoloji, organizmanın normal biyolojik işleyişi sırasında veya kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkenlere bağlı olarak hücrelerin DNA moleküllerinde meydana gelen değişiklikleri inceleyen bir bilim dalıdır (Vural 2005). “Genetik toksisite” ya da “genotoksisite”; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozomlardaki yapısal ve sayısal anormallikleri kapsayan genel bir terimdir. Genotoksik maddelerin DNA’da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması ise “genotoksik etki” olarak tanımlanmaktadır (Zeiger 2004). Çeşitli maddelerin mutajenik ve genotoksik potansiyellerini ölçebilmek için birçok genotoksisite testi geliştirilmiştir. Bugün genotoksik etkilerin incelenmesi amacı ile mikroorganizmalar, böcekler, bitkiler ve omurgalı hayvanlar üzerinde uygulanabilecek 200’den fazla

genotoksisite test metodu bulunmaktadır. Genetik toksikoloji testlerinden elde edilen sonuçlar aynı zamanda insan sağığı ile ilgili olarak ortaya çıkabilecek problemlerin tahmininde de kullanılabilmektedir. Bu nedenle bir türde DNA hasarı oluşturduğu bilinen bir kimyasal maddenin, diğler türlerde de benzer etkiler gösterebileceğini söylemek mümkündür.

1.2.1. Genetik toksikolojide kullanılan bazı test teknikleri

Genetik toksisite ya da genotoksisite testleri 1920'lerden beri kullanılmaktadır. Bu testler, çeşitli mekanizmalarla doğrudan ya da dolaylı olarak genetik materyalde meydana gelen hasarları saptamak amacıyla geliştirilmiş *in vitro* ve *in vivo* testlerden oluşmaktadır (Vural 2005). *In vitro* mutajenite testlerinde genotoksik etkisi araştırılacak olan madde, deney hayvanından veya insandan alınan dokulara belli konsantrasyonlarda uygulanır. Bu testlerin *in vivo* testlerden farkı, test edilen kimyasal maddenin canlıya değil ondan alınan dokuya dış ortamda uygulanmasıdır. Genotoksisite testleri ile mutajenlerin tanımlanması, insanda risk tayininin yapılması ve bu maddelere gereksiz maruziyetin önlenmesi genetik toksikolojinin başlıca amaçlarını oluşturmaktadır.

Yapılan araştırmalar sonucu, bileşiklerin genotoksik etkisinin saptanmasında bir testin yerine bir seri test sisteminin kullanılmasının daha olumlu sonuç verdiği ifade edilmiştir (Houk 1992). Sıklıkla kullanılan genotoksisite testlerine Allium testi (Levan 1938), Salmonella testi (Ames *et al.* 1975), mikronükleus testi (MN) (Mac Gregor *et al.* 1987), kardeş kromatid değişimi testi (KKD) (Latt *et al.* 1981), tek hücre jel elektroforezi (SCGE) (Fairbairn *et al.* 1995) ve somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) (Graf *et al.* 1984) örnek verilebilir.

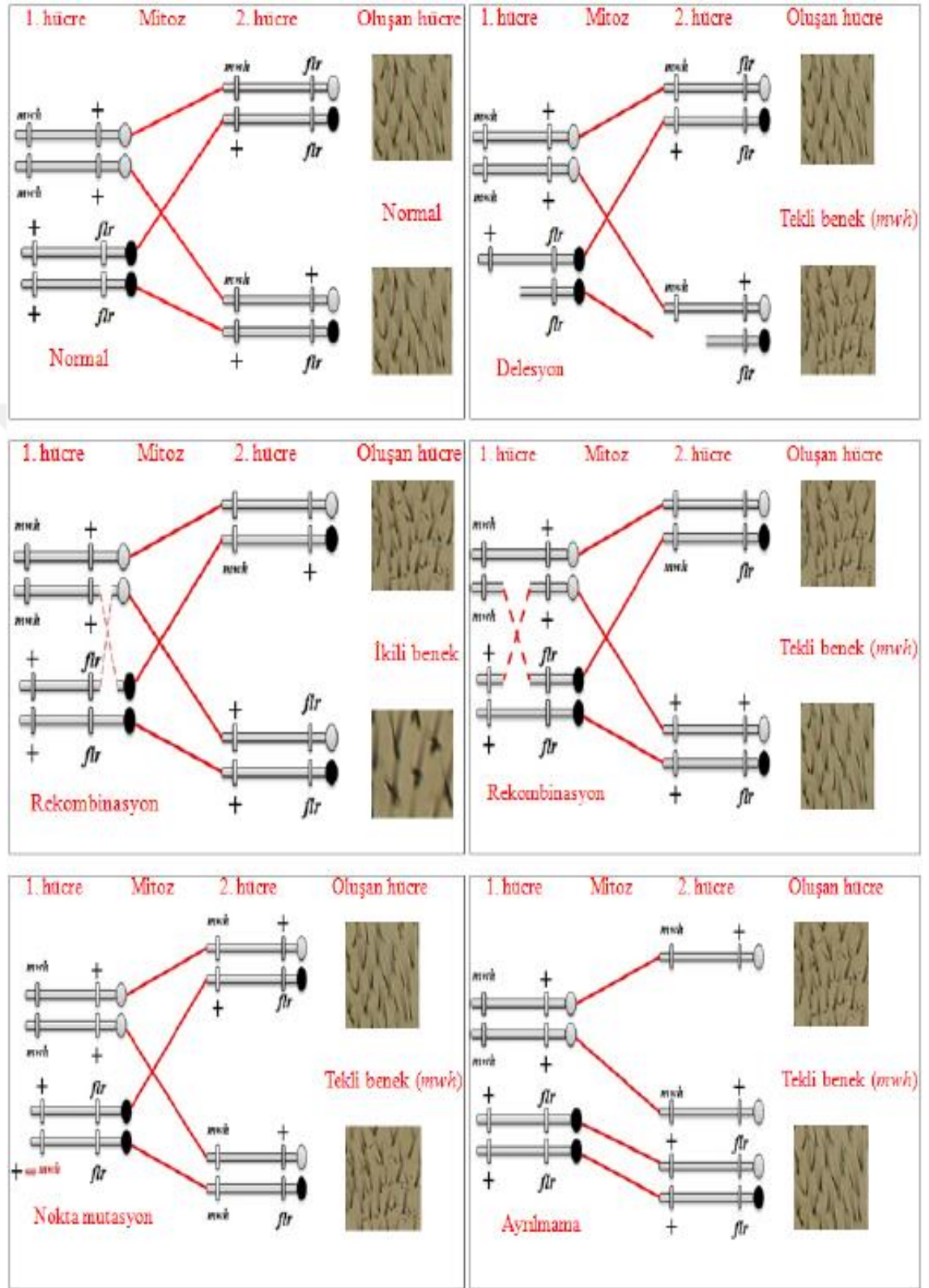
Bu çalışmada, *in vivo* somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile *in vitro* mikronükleus ve kardeş kromatid değişimi testleri kullanıldığı için, bu test tekniklerine ait detaylı bilgi verilmiştir.

1.2.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

In vivo mutajenite testlerinde deney hayvanlarına mutajenik etkisi araştırılacak madde belli konsantrasyonlarda ve beslenme, enjeksiyon gibi çeşitli yollarla verilmektedir. Bu testler genellikle böcek ve memeliler kullanılarak yapılmaktadır. Böceklerle yapılan genotoksisite testlerinden en yaygın olanı, genetik yapısı çok iyi bilinen *Drosophila*'nın mutant soylarının kullanıldığı somatik mutasyon ve rekombinasyon testidir.

Son yıllarda sıklıkla kullanılan SMART, çeşitli kimyasal maddelerin genotoksik aktivitelerinin saptanması için oldukça uygun ve etkili bir *in vivo* test sistemidir. Nokta mutasyon, delesyon, translokasyon, mitotik rekombinasyon ve kromozom kaybı veya ayrılmaması gibi çeşitli genetik sonuçların saptanmasına olanak sağlar (Graf *et al.* 1984, Graf *et al.* 1996; Graf *et al.* 1998). Mitotik rekombinasyonların ve mutasyonların etkilerinin fenotipte gözlenebilmesi bu testin en olumlu özelliğidir. Ayrıca işaretli genlerin trans-heterozigot sineklerde bulunması ve gözlenmesi, çalışmanın yöntem olarak kolay ve ucuz olması, hazırlanan materyalin saklanabilmesi de kullanılma nedenleri arasında sayılabilir. *Drosophila* ile yapılan bu *in vivo* test yöntemi, mikroorganizmal *in vitro* ve memeli *in vivo* genotoksisite test sistemleri arasında bağlantı oluşturmaktadır (Frei and Würzler 1996).

SMART, göz ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşittir. Her ikisi de erken embriyonik gelişim sırasında hücre gruplarının (imajinal disk) mitotik olarak çoğalması ve yetişkin sineğin vücut yapısını oluşturacak şekilde farklılaşması esasına dayanmaktadır (Graf *et al.* 1996; Graf *et al.* 1998). Testi yapabilmek için sadece bir generasyon yeterlidir ve tek bir sineğin kanadında yaklaşık 25 000 hücrenin analizine imkan verdiği için güvenilir bir testtir (Graf and Würzler 1996). Kanat hücre belirleyicileri olan *multiple wing hair* (*mwh*), ve *flare* (*flr*³) mutantlarının elde edilmesi sonucu bu test geliştirilmiştir (Graf *et al.* 1984). SMART'ta, tekli benekler, nokta mutasyon, delesyon ve iki işaret geni (*mwh* ve *flr*³) arasındaki mitotik rekombinasyonla oluşurken ikili benekler 3. kromozomun sentromeri ve *flr*³ geni arasındaki somatik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Somatik mutasyon ve rekombinasyonların oluşum mekanizmalarına ait şematik gösterim

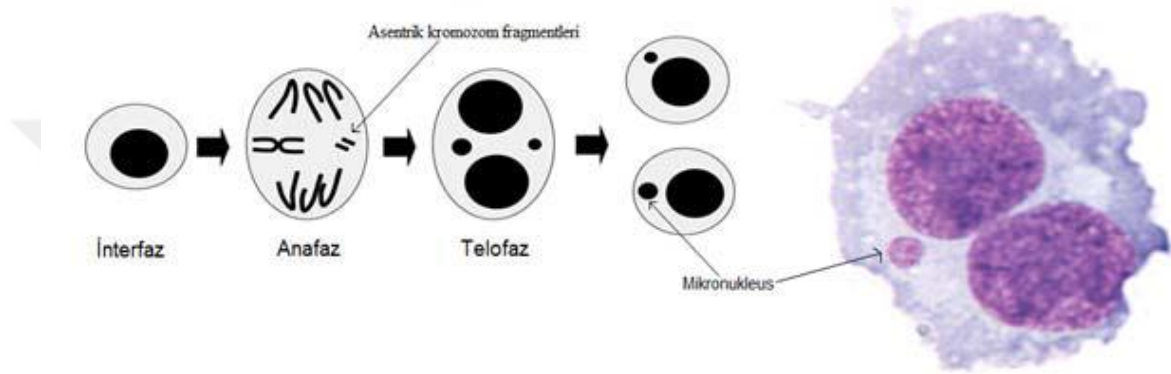
1.2.3. Mikronükleus (MN) testi

Mikronükleus tekniği; çeşitli kimyasal maddelerin ve fiziksel ajanların memelilerde genotoksik aktivitelerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir test tekniğidir (Cicchetti *et al.* 1999). Mikronükleuslar ilk olarak 1886 yılında Howell tarafından anemik kedilerin kırmızı kan hücrelerinde gözlenmiştir. 1901’de Jolly yaptığı çalışmalarla mikronükleusun varlığını doğrulamıştır. Bu nedenle mikronükleuslar hematolojide “Howell-Jolly cisimleri” olarak bilinirler (Anwar *et al.* 1994). Fenech (2000)’e göre mikronükleuslar, hücre bölünmesi sırasında anafazda geç kalan kromozom materyalinden veya iğ ipliklerinden ayrılarak kutuplara göç edemeyen kromozomlardan meydana gelmektedir. Telofazda ise ayrı kalmış kromozomlar ve fragmentlerin etrafında çekirdek zarı teşekkül etmekte ve böylece ana nükleustan daha küçük yapıda olan mikronükleuslar oluşmaktadır (Şekil 1.2).

MN testi, memelilerdeki test sistemleri arasında en ekonomik ve en kısa süreli yöntem olması nedeniyle genetik toksikoloji çalışmalarında çok geniş bir kullanım alanına sahiptir (Emecen ve Ünlü 1995). Günümüzde mikronükleus metodu; genotoksisite ve sitotoksisite çalışmalarında; kromozom kırığı, kromozom kaybı, kromozomların farklı şekillenmesi (nükleoplasmik köprüler), hücre bölünmesinin inhibe edilmesi, gen amplifikasyonu, nekrosis ve apoptosisin basit morfolojik ölçütler kullanılarak değerlendirilmesini sağlamaktadır (Fenech 2006). 1973’te Heddle tarafından mikronükleus yönteminin sıçan kemik iliğine uygulanmasıyla memelilerdeki kromozomal hasarlar belirlenmeye başlanmış, 1976 yılında ise Countryman ve Heddle tarafından insan lenfosit hücrelerine uygulanmıştır (Peace and Succop 1999). İzole lenfositler yerine, tam kanın kültüre alınmasının, mikronükleus yönteminde daha iyi deneysel koşullar ve sonuçlar sağladığı vurgulanmıştır (Migliore *et al.* 1989).

MN testinde incelenecek hücrelerin, birinci mitozlarını geçirmiş fakat sitoplâzma bölünmesinin gerçekleşmemiş olması gerekmektedir. Yani incelenecek hücreler iki çekirdeğe sahip olmalıdır. İki çekirdekli hücreler kültür ortamına sitokalsin-B eklenmesi ile oluşmaktadırlar. Sitokalsin-B; 1985 yılında Fenech ve Morley tarafından,

Helminthosporium dematioideum adlı küf mantarlarından elde edilen aktin polimeraz enziminin inhibitörü olan bir maddedir. Bu madde çekirdek bölünmesini durdurmazken, sitoplazma bölünmesini bloke eder (Fenech and Morley 1985; Falck *et al.* 1997). Bu sayede elde edilen binükleat (iki çekirdekli) hücrelerdeki mikronükleuslar değerlendirilerek genotoksik etkinin oranı belirlenebilmektedir (Cavallo *et al.* 2005).



Şekil 1.2. MN oluşum mekanizmasının şematik gösterimi

Mikronükleus testi; lenfosit ve eritrosit hücrelerinin yanında kemik iliği, dil, damak, dudakların iç kısmı, idrar kesesi, bronş epitelyumu gibi teknik açıdan mümkün olan tüm dokularda da uygulanabilmektedir (Tucker and Preston 1996). Sigara ve alkol kullanımı (Maffei *et al.* 2002), yaş (Thierens *et al.* 1996), cinsiyet (Barale *et al.* 1998) ve kullanılan ilaçlar (Peleвина *et al.* 2005) mikronükleus oluşumunu etkilemektedir.

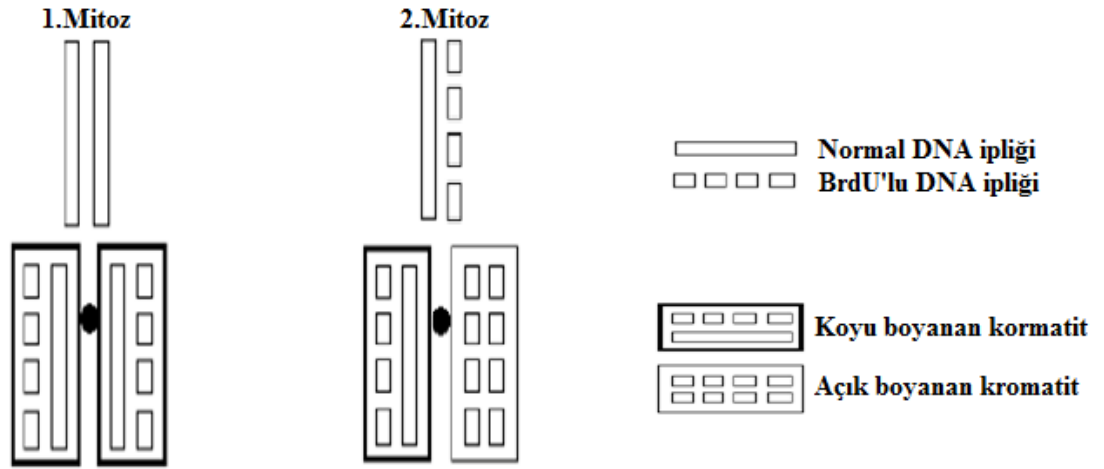
Değerlendirmeye alınacak mikronükleusların

- Esas çekirdek ile aynı yapıya sahip olması,
- Çaplarının esas çekirdeğin 1/3'ü ile 1/16'sı arasında bir büyüklükte olması
- Binükleat hücre içinde yer alması
- Hücrenin sitoplazma sınırlarının belirgin olması
- Ana çekirdeğe nükleoplazmik köprü ile bağlı olmaması.
- Esas çekirdekten ayrı oval veya yuvarlak olması.
- Asıl çekirdekle aynı renkte gözlenmesi gerekmektedir (Fenech 1993).

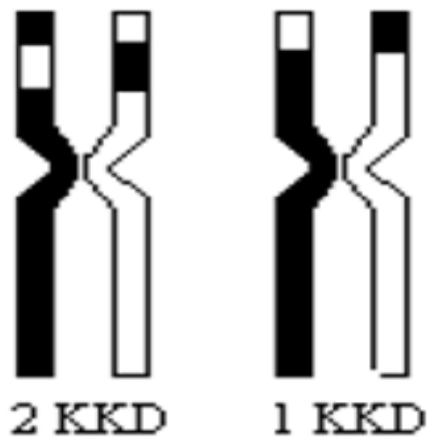
1.2.4. Kardeş kromatid değişimi (KKD) testi

Kısa süreli *in vitro* test tekniklerinden birisi olan kardeş kromatid değişimi (KKD) testi; bir kromozoma ait iki kromatidin homolog bölgelerindeki kırılan parçaların karşılıklı yer değiştirmesini belirlemeye yöneliktir (Sardaş and Karakaya 1990). Bu kromozomal değişiklikler ilk kez 1957 yılında Taylor tarafından bitki hücrelerinde tanımlanmıştır (Pery and Thomson 1984).

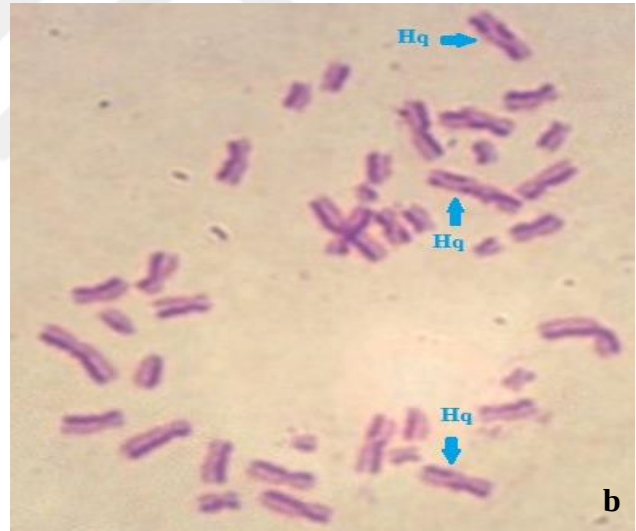
Periferik kan kültürü yönteminde ise lenfositlere ait kromozomların timin baz analogu olan 5-bromo-2-deoksiüridin (BrdU) varlığında iki mitoz evresi geçirmesi sağlanır. S evresinde gerçekleşen DNA replikasyonu semikonservatif olduğundan, BrdU kullanılmasıyla yeni oluşan DNA'ların bir zinciri normal diğer zincir brdU içerir. BrdU içeren ortamda ikinci kez DNA replikasyonunun gerçekleşmesiyle iki kardeş kromatit BrdU miktarı yönüyle farklılaşır. Bir kromatidin DNA'sının tek zinciri brdU içerirken diğer kromatidin DNA'sının her iki zinciride BrdU içerir. Bölünmenin bitimine kısa bir zaman kala kolsişin (kolsemit) gibi iğ ipliklerinin oluşumunu inhibe eden bir maddenin eklenmesiyle hücre bölünmesi ikinci mitozun metafaz evresinde durdurulur. Bu hücrelerin kromozomları mikroskopta incelendiğinde, sadece bir zinciri BrdU içeren kromatitler giemsa boyasından dolayı koyu görünürken, her iki zinciri de BrdU içeren kromatitler floresan hoechst boyası ile boyandığı için açık renkli görülür (Şekil 1.3). Kardeş kromatitlerde herhangi bir değişiklik oluşmuş ise farklı boyanmış bölümler içeren kromatitlere sahip kromozomlar oluşur. Bu kromozomlara “harlequin kromozom” adı verilir (Şekil 1.4). Mikroskopta yapılan incelemede harlequin kromozomlara rastlanması “kardeş kromatid değişimi=KKD” (sister chromatid exchange=SCE) olduğunu göstermektedir (Perry and Wolff 1974).



Şekil 1.3. BrdU içeren ortamda mitoz sonucu oluşan kromatitlerin boyanmasının şematik gösterimi



a



b

Şekil 1.4. Harlequin (Hq) kromozomların şematik (a) ve mikroskopik (b) görünümü

KKD oluşumunda; BrdU miktarı (Rodriquez-Reyes and Morales 2003), inkübasyon sıcaklığı (Carrona and Natarajan 1988), ortamın pH'sı (Tanrıverdi 1991) gibi kültür ortamına ait faktörlerin yanında sigara-alkol kullanımı (Tang *et al.* 1999), yaş (Ganguly 1995), cinsiyet (Anderson *et al.* 1986), fiziksel (UV ve X ışınları) ve kimyasal ajanlara (pestisitler vb.) maruz kalma (Baysal *et al.* 2003) gibi çeşitli faktörler de etkili olmaktadır (Türkez 2007).

Kimyasal ajanlar sonucu oluşan mutajenik etkinin belirlenmesinde sıklıkla KKD testi kullanılmaktadır (Bayel 2006). Son yıllarda çeşitli kimyasal maddelerin mutajen olup olmadıklarının ortaya çıkarılmasında, *in vivo* test tekniği olarak SMART ile kısa süreli *in vitro* testler olan mikronükleus (MN) ve kardeş kromatid değişimi (KKD) testleri kullanılmaktadır.

1.3. Mutajenik Olabilecek Maddelere Karşı İyileştirici Olarak Bitkilerin Kullanılması

Tek başına veya karışımlar halinde tedavide veya ilaç sanayide kullanılan bitkilere tıbbi bitkiler denilmektedir. Tıbbi bitkiler hakkındaki en eski kitap Çin Hükümdarı Hin-Nong tarafından M.Ö. 3700 yıllarında yazılmıştır. Hipokrat'ın yaşadığı devirde, Yunanlılar tıp ve tedavi alanlarında oldukça ilerlemiş ve birçok bitkiyi ilaç yapımında kullanmışlardır. İnsanlık tarihi boyunca birçok hastalık (seker hastalığı, sarılık, nefes darlığı vb.) bitkiler kullanılarak tedavi edilmeye çalışılmıştır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu). Sentetik ilaç yapımının artışı ile birlikte tıbbi bitkilerin kullanımının azalmasına rağmen yine de tedavide ve ilaç yapımında önemli yer tutmaktadır (Cowan 1999). Gelişmiş ülkelerde reçete ile satılan ilaçların yaklaşık %25'i bitkisel kökenli kimyasal maddelerdir (Principe 1991). Dünya Sağlık Örgütü geleneksel halk ilaçlarının kullanımının oldukça yaygın olduğunu (Akerele 1992) ve bu amaçla kullanılan 20 000 civarında bitki bulunduğunu bildirmiştir (Kalaycıoğlu ve Öner 1994). Tıbbi bitkiler özellikle soğuk algınlığı, üst solunum yolu enfeksiyonları, sindirim ve kalp-damar sistemi hastalıkları, zayıflama ve diyetlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Swerdlow 2000). Ülkemiz florasında bulunan yaklaşık 10 000 bitki türünün 650 kadarının tedavi amaçlı olarak kullanıldığı Baytop (1984) tarafından bildirilmiştir.

Daha önce yapılan çalışmalar ile çeşitli bitkilerin antimikrobiyal (Ray and Majumdar 1976), antioksidan (Pinsky *et al.* 1971), antigenotoksik (Kızılet *et al.* 2013) özelliklere sahip oldukları belirlenmiştir. Bu özelliklerden dolayı bitkiler çeşitli hastalıklara karşı iyileştirici olarak kullanılabilir. Bu yönde yapılmış çok sayıda çalışmada, örneğin karanfil (*Caryophyllus aromaticus*) ve şeker hastalığının tedavisinde kullanılan

Syzygium joabolanum (Nascimento *et al.* 2000) ve su mercimeği (*Lemna minor* L.) bitkilerinin (Gülçin *et al.* 2010) yüksek derecede antibakteriyel özellik gösterdiği, buğday çimeninin (*Triticum aestivum* L.) su ve etanol ekstrelerinin (Aydos *et al.* 2011), kuşburnu (*R.canina* L.) meyvelerinin (Kılıçgün ve Dehen 2009) antioksidan olduğu, Mersin ağacının (*Myrtus communis* L.) etil asetat ve metanol ekstrelerinin (Hayder *et al.* 2004), akasya ağacının (*Acacia salicina* Lindl) yapraklarından elde edilen aseton ve metanol ekstrelerinin (Mansour *et al.* 2007), bir elma türü olan *Aegle marmelos* L.'nin meyvelerinden elde edilen metanol ve aseton ekstrelerinin (Kaur *et al.* 2009) ve güve otu (*Origanum vulgare* L.) bitkisinin metanol ekstraktının (Özbek *et al.* 2008) antigenotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Genotoksisite testleri ile hem genotoksik maddeler hem de iyileştirici olarak kullanılan antigenotoksik maddeler belirlenebilmektedir. Dolayısı ile genotoksisiteyi belirlemek amacı ile kullanılan testler ile iyileştirici etkiler de araştırılabilmektedir. Örneğin SMART ile adaçayı (*Salvia officinalis*) yapraklarının (Patenkovic *et al.* 2009), bir üzüm çeşidi olan *Vitis vinifera* L bitkisinin tohumlarının (Alves de Rezende *et al.* 2009), uzak doğuda şifalı bitki olarak kullanılan *Panax ginseng*'in köklerinin (Pereira *et al.* 2008), kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvelerinin (Kızılet *et al.* 2013) ve İran'a ait endemik bir bitki olan ve şifalı bitki olarak kullanılan *Echium amoenum* Fisch. ve C.A. Mey bitkisinin (Uysal *et al.* 2015) antigenotoksik etkileri tespit edilmiştir. MN testi ile antigenotoksik etkileri belirlenen bitkilere Brezilya'da meyveleri yenilen, vitamin C, karetenoid ve fenolik bileşikler açısından zengin bir bitki türü olan *Caryocar brasiliense* Camb. (Miranda-Vilela *et al.* 2008), bir söğüt türü olan *Salix alba* L. (Pinto *et al.* 2010), bir nane türü olan *Melissa officinalis* L. (Carvalho *et al.* 2011) ve kuşburnu (Kasımoğlu and Uysal 2015) örnek verilebilir. KKD testi ile de Hindistan'da şifalı bitki olarak kullanılan *Centella asiatic* (Siddique *et al.* 2008), yeşil çay ekstreleri (Gupta *et al.* 2009), Hindistan'da yetiştirilen ve aromatik bir bitki türü olan *Ocimum sanctum* L. (Siddique *et al.* 2007), Hint kültüründe önemli bir bitki olan *Hemidesmus indicus* Linn. (Ananthi *et al.* 2010) gibi çeşitli bitkilerin antigenotoksik etkisi belirlenmiştir. Bu çalışmada da vitamin C ve fenolik bileşikler açısından zengin olan ve antioksidan

aktivite gösteren kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitkisinin antigenotoksik etkisi araştırılmıştır.

1.3.1. Kuşburnu (*Rosa canina* L.)

Rosaceae (Gülgiller) familyası içerisinde yer alan kuşburnu (*R.canina* L.) bitkisinin sistematigi Çizelge 1.6’da verilmiştir. Halk arasında yabangülü, itburnu, it gülü, gül elması gibi isimlerle de bilinmektedir. 18. ve 19. yüzyıllarda kuduz köpek ısırtığı tedavisinde kullanıldığından it gülü isminin buradan geldiği düşünülmektedir (Howard 1987). Kuşburnu bitkisi, Avrupa, Kuzeybatı Afrika ve Orta ve Batı Asya’da yetişmektedir. Ülkemizde ise Tokat, Sivas, Gümüşhane, Erzincan, Erzurum, Kars ve Van yörelerinde yaygın olmakla beraber diğer yörelerde de yayılış göstermektedir. Ülkemizin doğal florası içerisinde yer alan bu bitki, orman açıklıkları ve kayalık yamaçlarda bol olarak bulunmaktadır. Farklı iklimsel koşullara uyum gösteren kuşburnu, hem soğuğa hem de kuraklığa oldukça dayanıklı bir bitki olup 3000 m rakımlı bölgelerde bile yetişebilmektedir (Çelik 2007).

Çizelge 1.6. Kuşburnu bitkisinin sistematigi

Alem	Plantae (Bitkiler)
Şube	Magnoliophyta (Kapalı tohumlu bitkiler)
Sınıf	Magnoliopsida (Çift çenekliler)
Takım	Rosales
Familya	Rosaceae (Gülgiller)
Cins	Rosa
Tür	<i>Rosa canina</i> L.

Kuşburnu bitkisi, güçlü ve kıvrık yapılı dikenler içeren gövde ve dallara, kenarları dişli ve oval biçimli, çoğunlukla tüysüz yapraklara sahiptir. Yaprakları ilkbaharda açılır ve kışın dökülür. Hem saçak hem de 3m’ye kadar inen kazık kökleri ile kuvvetli bir kök yapısına sahiptir. Zararlılara ve zorlu koşullara dayanıklı kökleri boya yapımında kullanılabilir. Kuşburnu çiçeğinin taç yaprakları beyaz veya uçuk pembe renklidir. Haziranda açan çiçekler yirmi gün sonra meyveye dönüşür. Sonbaharda

olgunlaşan kuşburnu meyvelerinin (Şekil 1.5) içi tüylü olup renkleri parlak kırmızıdır. İçerisinde yaklaşık 20-40 adet tohum bulunduran kuşburnu meyveleri, 3-5 gr ağırlığa ve 1-2 cm uzunluğa sahiptirler (Çelik 2007).



Şekil 1.5. Kuşburnu bitkisinin doğal alandaki görünümü

İnsan sağlığı açısından başta beslenme olmak üzere birçok yararı bulunan kuşburnu bitkisinin çayı, hoşafı, reçeli, pekmezi, nektarı ve meyve suyu yapılmaktadır. Ayrıca gıdalarda renk maddesi olarak kullanılan karoten pigmenti üretiminde de kullanılmaktadır (Oszmianski and Chomin 1993). Kozmetik sanayinde ise kuşburnu tohumlarındaki yağlardan faydalanılmaktadır (Gonzales *et al.* 1989). Kuşburnunda insan sağlığına zararlı pestisit ve arsenik, kurşun, civa gibi ağır metallerin bulunmayışı, onun güvenli bir şekilde bebek gıdası olarak kullanımını sağlamaktadır (Akyüz vd 1996).

C vitamini açısından dünyanın en zengin meyvelerinden biri olan kuşburnunun 1000-1700 mg/100g oranında C vitamini içerdiği yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Bu yönüyle C vitamini açısından zengin olduğu bilinen turuncgillere göre çok daha fazla C vitaminine sahip olduğu tespit edilmiştir. Kuşburnunun olgunlaşmaya başlamasıyla C vitamini içeriği maksimuma çıkmakta, bu dönemde meyveler parlak kırmızı olmaktadır. C vitaminine ek olarak kuşburnu meyvelerinin B1, B2, E ve K vitaminlerini ve karoten maddesini de içerdiği belirlenmiştir (Akyüz vd 1996). Kuşburnu meyvelerinin kuru madde oranının %15–40, suda çözünür kuru madde oranının %14–27, toplam şeker oranının %7–46, askorbik asit miktarının 1100–5050 mg/100g (Ayaz vd 1996), kül oranının %6,10–7,72, sakaroz miktarının ise %1,08–2,00 (Bayram ve Aslan 1996) arasında değiştiği belirtilmiştir. Yıldız ve Nergiz (1996), yaptıkları çalışmada kuşburnunun içerdiği vitaminler arasında en az dayanıklı olanın C vitamini olduğunu vurgulamışlardır. Kuşburnunun olgunlaşmaya başladığı sırada C vitamini içeriğinin maksimum olduğu, olgunlaşma ile birlikte meyvelerin parlak kırmızı renk aldığı, koyu kırmızıya dönüşüp yumuşadığında ise C vitamini oranının düştüğü belirtmişlerdir. Yavru ve Kadioğlu (1997), kuşburnu meyvelerinden çay, reçel ve marmelât hazırlanması sırasında önemli C vitamini kayıplarının olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan analizler sonucunda kuşburnu marmelatlarındaki kaybın %33–66, kuşburnu çayındaki kaybın ise %44–77 arasında olduğu saptanmıştır ve 60°C'de 270 dakikalık inkübasyonda C vitamini kaybı %13,5, kuru meyvelerin 80 dakika kaynatılması sırasındaki kaybın ise %15 olduğu gözlemlenmiştir.

Kuşburnu meyvelerinin mineral maddeler yönü ile de oldukça zengin olduğu bilinmektedir. Kuşburnu meyvelerinin bileşiminde potasyum, sodyum, kalsiyum, magnezyum, demir, mangan, bakır, çinko, sülfat ve nitrat gibi mineraller bulunmaktadır (Çelik 2007). Bunun dışında önemli miktarda karotenoid (Barros *et al.* 2010), fenolik bileşikler (Montazeri *et al.* 2011), folik asit (Stralsjö *et al.* 2003) ve önemli yağ asitlerine (Nowak 2005) sahiptirler.

Kuşburnunun pH değerinin meyveler olgunlaştıkça düştüğü ve olgunlaştığında bu değer 3,7–4,4 aralığında olduğu, ekşiliğinin içerdiği sitrik asit ve malik asitten,

kokusunun ise asetik asitten kaynaklandığı ifade edilmiştir (Yıldız ve Nergiz 1996). Ercisli (2007), kuşburnu türleri üzerine yaptığı çalışmada en yüksek fenolik içeriğe kuru maddede 96 mg/g ile *R.canina*'da rastlandığını ifade etmiştir.

Haploit kromozom sayısı 7 olan kuşburnu bitkisinde genelde pentaploidi gözlenir. Ayrıca tetraploid veya heksaploid olan bireylere de rastlanabilmektedir. Kuşburnu bitkisi tohumla, kök sürgünü ile aşılama, daldırma ve doku kültürü gibi yöntemlerle ve çelikleme ile çoğalabilmektedir. Bu çoğalma şekilleri içinde en uygun ve ekonomik olanı çelikle çoğalmadır. Kuşburnu tohumları yüksek oranda absisik asit (ABA) içerdiği için kolayca çimlendirilemezler. Kuşburnu tohumlarını çimlenme olgunluğuna getirmek için, asit ile aşındırma ve hormon ile vitamin uygulamaları gerekmektedir.

Birçok yörede soğuk algınlığı ve gribin tedavisinde (Tumbas *et al.* 2012) kullanılan kuşburnu bitkisinin aynı zamanda osteoartrit hastalarında ağrıları azalttığı (Warholm *et al.* 2003), romatizma (Willich *et al.* 2010) ve diyabet (Orhan *et al.* 2009) hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceği, sindirim sisteminde koruyucu etkilerinin olduğu (Gürbüz *et al.* 2003), gastrit, mide gazı, hiyatus hernisi (mide fitiği), mide ekşimesi ve karın ağrısı tedavisinde de kullanıldığı (Anonim 2011) bildirilmiştir. İtalya ve Arnavutluk'ta kuşburnunun öksürük, karın ağrısı ve hatta böcek ısırıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanıldığı ifade edilmiştir (Pieroni and Quave 2005). Kuşburnu tohumu ile beslenmiş farelerde plazma kolesterol ve trigliserid oranının önemli derecede azaldığı gözlenmiş ve kuşburnu tohumlarının diyetik insan gıdalarında kullanılabileceğini de bildirilmiştir (Kadikal vd 1999).

Bu çalışmada, bazı insektisitlerin genotoksik etkilerinin *D. melanogaster*'de SMART ile insan periferik lenfosit hücrelerinde ise MN ve KKD gibi kısa süreli testler ile belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca bu insektisitlerin muhtemel genotoksik etkilerine karşı kuşburnu bitkisi meyvelerinden elde edilen su ve etanol ekstraktlarının antigenotoksik etkilerinin olup olmadığı yine aynı test yöntemleri ile araştırılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Bakhitova and Pashin (1988) tarafından yapılan bir çalışmada, Çin hamsterlerinin V-79 hücrelerinde ve fare kemik iliğinin polikromatik eritrositlerinde sipermetrinin genotoksik etkisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda sipermetrinin subtoksik ve toksik konsantrasyonlarda mikronükleus oluşumunu artırdığı belirlenmiştir.

Sipermetrinin fare kemik iliği hücrelerinde *in vivo* etkilerini araştıran bir başka çalışma sonucunda, hem kromozomal aberasyon hem de mikronükleus değerlerinin kontrole göre önemli derecede arttığı ayrıca sipermetrinin anormal sperm miktarını da önemli derecede artırdığı gözlemlenmiştir (Bhunya and Pati 1988).

El Nahas *et al.* (1989) tarafından yapılan çalışmada, profenofosun farelerin spermatogonium hücrelerinde kromozomal bozukluklara yol açtığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar profenofos uygulaması ile birlikte spermelerde anormalliklerin olduğunu, sperm sayısının ve canlılığının önemli derecede azaldığını rapor etmişlerdir.

Pati and Bhunya (1989), fenvaleratın 100, 150 ve 200 mg/kg dozlarının farelerde sitogenetik etkilerinin olup olmadığını *in vivo* test sistemleri ile araştırmışlar ve 150, 200mg/kg uygulama gruplarında kromozomal bozuklukların ve mikronükleus oluşumunun önemli derecede arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca sperm anormalliklerinin de doz artışıyla birlikte arttığını gözlemlemişlerdir.

Puig *et al.* (1989), fenvaleratın insan lenfosit hücrelerinde hücre döngüsünü etkilediğini, kromozomal bozukluk ve KKD frekansını önemli derecede artırdığını gözlemişlerdir.

Fenvalerat uygulaması ile insanlarda görülen benzeri etkiler, Çin hamster yumurtalık (CHO) hücrelerinde de gözlenmiştir. Bu maddenin hem kromozomal bozukluklara hem de kardeş kromatit değişimine neden olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca hücre döngüsünü etkilediği ve mitotik indeksi azalttığı da belirlenmiştir (Caballo *et al.* 1992).

Profenofosun 0,1 ve 1 µg/L uygulamaları Avustralya tatlı su karidesinde (*Paratya australiensis*) asetilkolinesteraz enzimini %40 oranında inhibe etmiştir. Letal doz olarak belirlenen 10 µg/L uygulama grubunda ise bu inhibisyon %80 oranında gerçekleşmiştir (Abdullah *et al.* 1994).

Wilson and Cryan (1997), lufenuronun *D. melanogaster*'in üremesi ve gelişmesi üzerine etkisini belirlemek için yaptıkları çalışmada, 1 ppm'den daha düşük konsantrasyonlara maruz kalan larvalarda ölümlerin bir sonraki larval veya pupal evrede gerçekleştiğini, erginleşen bireylerin ise dış iskeletin etkilenmesinden dolayı uçamadıkları gözlenmiştir. 10 ppm gibi yüksek konsantrasyonlar ile beslenen larvaların da bulunduğu evredeki gelişimini tamamladığı fakat sonraki evreye geçişi sırasında öldüğü belirlenmiştir. Yine bu konsantrasyon ile beslenen 3. evre larvaların pupalaştığı fakat pupaların anormal olduğu ve ergine dönüşemediği, erginleşen bireylerin ise canlı kaldığı fakat oogenezin baskılandığı bildirilmiştir.

Fahmy and Abdalla (1998), erkek farelerin üreme ve vücut hücrelerinde kromozomal aberasyon testini kullanarak yaptıkları çalışmada, profenofosun kemik iliği ve sperm hücrelerinde doz artışına bağlı olarak kromozomal bozukluklara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Sipermetrinin 1/10, 1/25 ve 1/50 LD₅₀ konsantrasyonlarının 28 gün boyunca oral yolla uygulanması sonucu erkek winstar sıçanların kemik iliği hücrelerinin kromozomlarında sayısal ve yapısal değişiklikler araştırılmış ve en yüksek iki dozda kromozomlarda sayısal değişiklikler olduğu gözlenmiştir (Institoris *et al.* 1999).

Villarroel *et al.* (2000), tetradifonun *Daphnia magna*'nın büyümesi, üremesi ve ömür uzunluğu üzerine etkilerini araştırmıştır. Konsantrasyon artışına bağlı olarak üremede ve büyümede azalma olmasına rağmen ömür uzunluğu herhangi bir şekilde etkilenmemiştir.

Giray *et al.* (2001) tarafından sıçanlara 170 mg/kg'lık tek doz veya 5 gün boyunca 75 mg/kg olacak şekilde sipermetrin uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, sipermetrinin hem karaciğer hem de beyinde serbest radikallerden kaynaklanan doku hasarına neden olduğu gözlenmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, 7 gün boyunca 100 mg/kg fenvalerata maruz kalan sıçanların, karaciğer dokusunda glutatyon peroksidaz aktivitesinin ve lipit peroksidasyonunun arttığı, glutatyon içeriğinin ise azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışma ile fenvaleratin sıçan karaciğerinde oksidatif stresi artırıcı bir madde olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Giray *et al.* 2001).

Giri *et al.* (2002), farelerin kemik iliği hücrelerinde fenvaleratin 5, 10 ve 20 mg/kg dozlarının genotoksik etkilerini KKD ve kromozomal aberasyon testleri ile belirlemeye çalışmışlardır. Yapılan çalışma sonucunda her üç konsantrasyonda da KKD frekansının önemli derecede arttığı tespit edilmiştir. Kromozomal aberasyon testinde ise sadece en yüksek uygulama grubunda elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Araştırmacılar elde ettikleri verilerden yola çıkarak fenvaleratin güçlü bir KKD uyarıcısı ancak zayıf klastojen olarak düşünülebileceğini belirtmişlerdir.

Abd-Alla *et al.* (2003), kitin sentez inhibitörü olan lufenuronun *Drosophila melanogaster*'de mitotik hücrelerde kromozomal bozukluklara neden olup olmadığını eşeye bağlı resesif letalite testini (SLRL) kullanarak çalışmışlar ve tükrük bezi hücrelerindeki politen kromozomlarda asinapsiye, beyin nöroblastlarının mitotik kromozomlarında anormalliğe yol açtığını tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, lufenuronun *D. melanogaster*'in eşey ve somatik hücrelerinde potansiyel bir mutajen olabileceğini bildirmişlerdir.

Giri *et al.* (2003), KKD testini kullanarak fare kemik iliği hücrelerinde sipermetrin ve karbosülfatin genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Her iki insektisitinde farklı dozlarının kullanıldığı çalışma sonucunda, hem sipermetrin hem de karbosülfatin KKD frekansını artırdığı gözlenmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri sonuçlara göre; karbosülfatin

genetik bozukluklara neden olma potansiyelinin sipermetrinden daha yüksek olduğunu da belirtmişlerdir.

Bueno and Freitas (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, lufenuronun zar kanatlı bir böcek türü olan *Chrysoperla externa*'nın yumurta ve larvaları üzerine toksik etkisi araştırılmıştır. Çalışma ile lufenuronun yumurtaların canlılığı üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Ancak lufenurona maruz kalmış yumurtalardan çıkan larvalarda ölüm oranının yüksek olduğu hatta yumurtadan çıkan larvaların birinci ve ikinci evrede deri değiştiremediği gözlenmiştir. Araştırmacılar, lufenuronun *C.externa*'nın hem yumurtaları hem de larvaları üzerine toksik etki gösterdiği sonucuna ulaşmışlardır.

1/30, 1/10 ve 1/5 LD₅₀ konsantrasyonlarında sipermetrin ile 1, 7 ve 14 gün beslenen erkek farelerin karaciğer hücrelerinde comet testi ile belirgin DNA hasarı gözlenmiştir. Fakat uygulamadan sonra genotoksik etkilerde zamanla azalma olduğu da belirtilmiştir (El-Khatib *et al.* 2005).

Mukhopadhyay *et al.* (2004), jel elektroforez ve comet testi ile sipermetrinin genotoksik etkilerini *D.melanogaster*'in 1. evre larvalarının beyin ve bağırsaklarında *in vivo* olarak araştırmışlardır. Bu amaçla, 22 saatlik birinci evre larvalar standart *Drosophila* besiyerine katılan 0,0004, 0,0008, 0,002, 0,2 ve 0,5 ppm sipermetrine maruz bırakılmıştır. 96 saat sonra larvaların beyin ve bağırsak diseksiyonu yapılmış ve hazırlanan hücre süspansiyonu comet testi ile incelenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sipermetrinin tüm uygulama gruplarında hem beyin hem de bağırsak hücrelerinde DNA hasarının arttığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre, sipermetrin en düşük konsantrasyonlarda bile genotoksik olarak rapor edilmiştir.

Xia *et al.* (2004) tarafından yapılan çalışmada, fenvalerata maruz kalan 12 işçinin semen parametreleri, sperm hareket yetenekleri (motilite) ve kromozomal bozukluk olup olmadığı araştırılmıştır. Araştırma sonucunda fenvalerat ve metabolitlerinin insan spermalarında morfolojik anormalliklere ve genotoksik defektlere neden olduğu

bulunmuştur. Fenvalerat uygulamasının eşey kromozomlarında ve özellikle 18. kromozomda nullisomi oranını önemli derecede artırdığı da gözlenmiştir.

Fenvaleratın 250, 500 ve 1000 ppm'lik konsantrasyonları ile 28 gün beslenen erkek farelerde oksidatif strese bağlı hasarlar araştırılmıştır. Yüksek dozlarda uygulama sonucu karaciğer, timus, dalak ve eritrositlerde lipit peroksidasyonuna bakılarak oksidatif stresin arttığı tespit edilmiştir (Prasanthi *et al.* 2005).

Saxena *et al.* (2005), *Allium sativum*'un kök meristem hücrelerini 24 saat boyunca sipermetrinin 1, 2, 4, 8 ve 16 ppm'lik konsantrasyonlarına maruz bırakmış ve uygulamadan sonra yapılan hücre analizlerinde mitotik indeksin azaldığı ve kromozomal bozuklukların meydana geldiği rapor edilmiştir.

Lufenuronun akut (0,5mg/g beden ağırlığı) ve kronik (0,01 mg/g beden ağırlığı) dozlarının memeliler üzerine olası genotoksik etkilerinin belirlenmesi amacı ile kısa süreli test teknikleri kullanılarak yapılan çalışmada, mikro ve makro DNA hasarları araştırılmıştır. Mikro DNA hasarı dominant letalite testi ile, makro DNA hasarı ise fare kemik iliği hücrelerinin kromozomları değerlendirilerek belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, kemik iliği kromozomlarında farklı aberasyon tiplerinin ve mikronükleuslu polikromatik eritrosit sayısının önemli derecede arttığı gözlenmiştir. Bu da lufenuronun pozitif klastojenik ajan olabileceğini göstermektedir (Abou Gabal 2006).

Lufenuron uygulamasına bağlı olarak farelerin spermalarında önemli yapısal değişikliklerin olduğu elektron mikroskobu ile yapılan incelemeler sonucunda da belirlenmiştir. Bu değişiklikler çekirdek bozulması, anormal kromatin yoğunlaşması ve spermin baş bölgesinin morfolojik değişimi olarak ifade edilmiştir. Ayrıca mitokondriyal anormalliklerin olduğu, periferik ve merkezi mikrotübüllerde eksilmelerin gerçekleştiği de gözlenmiştir (Abou Gabal 2006).

Patel *et al.* (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, sipermetrinin genotoksik etkileri farelerin beyin, böbrek, karaciğer ve dalak gibi çeşitli organlarında comet testi ile

belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, swiss albino erkek farelere beş gün boyunca 12,5, 25, 50, 100 ve 200 mg/kg dozlarda sipermetrin verilmiş ve doza bağlı olarak bütün organlarda DNA hasarında artış gözlenmiştir. En fazla DNA hasarı beyinde gözlenirken, bunu sırasıyla dalak, böbrek, kemik iliği, karaciğer ve lenfositler izlemiştir.

Prabhavathy Das *et al* (2006) tarafından da insan periferik lenfositlerinde kromozomal aberasyon ve comet testini kullanılarak profenofosun etkilerini araştırılmış ve kromozomal aberasyon testi ile kromozomlarda kırıklar ve gapların oluştuğu, comet testinde ise DNA kırıklarının olduğu tespit edilmiştir. Aynı araştırmacılar, profenofosun insan lenfosit hücrelerinde apoptozise ve nekrozise neden olduğunu da belirlemişlerdir (Prabhavathy Das *et al.* 2006).

Badraoui *et al.* (2007b) tarafından yapılan bir çalışmada, 12 haftalık dişi sıçanlara 2430 mg/kg tek doz tetradifon uygulamasının doğrudan genotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Çalışmada, farelerin kemik iliği hücrelerinde oluşan kromozomal aberasyon ve KKD değerleri ile bazı serum parametreleri belirlenmiştir. Kromozomal aberasyon ve KKD frekanslarında önemli bir artışın olmadığı fakat vitamin E seviyesinde ve toplam antioksidan durumunda önemli derecede azalma gözlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlara göre, tetradifon oksidatif strese yol açarak dolaylı mutajen olma potansiyeline sahiptir.

Lufenuron ve profenofosun sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik ve histokimyasal etkilerinin araştırıldığı çalışmada, karaciğerde toplardamar tıkanıklıklarının olduğu, hepatositlerin çoğunun soluk boyandığı ve bazılarının nekroz özellik gösterdiği yönünde bulgular elde edilmiştir. Böbreklerin ise iltihaplı hücreler içerdiği ve glomeruluslarda hücre büyümesinin olduğu ifade edilmiştir. Çalışma ile hem lufenuronun hem de profenofosun histopatolojik ve histokimyasal etkilerinin olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Lufenuronun etkisinin profenofostan daha güçlü olduğu da belirlenmiştir (Farraq and Shalby 2007).

Profenofosun beyaz albino sıçanlar üzerindeki genotoksik etkileri mikronükleus testi ile kemik iliği hücreleri kullanılarak araştırılmıştır. Sıçanlar 28 gün boyunca profenofosun 1/20 LD₅₀, 1/40 LD₅₀, 1/80 LD₅₀ dozlarına maruz bırakılmışlardır. Profenofos uygulamasının polikromatik eritrositlerde mikronükleus frekansını artırdığı, karaciğer, böbrek, dalak ve testislerde patolojik değişikliklere yol açtığı da belirlenmiştir (Hammam and Abd el mottaleb 2007).

Moustafa *et al.* (2007), 16 haftalık wistar sıçanlarını 65 gün boyunca 17,8 mg/kg profenofos içeren besinlerle beslemişler ve testislerdeki erkek spesifik genlerinin ekspresyonu ile yine testislerdeki histopatolojik değişiklikleri araştırmışlardır. Sonuç olarak epitel dokuda, seminifer tüplerinde ve lyding hücrelerinde bozulmalar olduğunu gözlemişler ve elde ettikleri verilerden yola çıkarak profenofosun erkek farelerin üreme sistemi üzerinde toksik etkili bir madde olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, gözledikleri bu değişikliklerin genlerin ekspresyonu ile bağlantılı olabileceğini de ileri sürmüşlerdir.

Fenvaleratın bir tür sazan balığı olan *Cirrhinus mrigala*'nın solungaç, böbrek, karaciğer ve bağırsak dokularında histopatolojik değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Bu amaçla, balıklar fenvaleratın 1,5 ve 3,0 ppb iki sub-letal konsantrasyonuna maruz bırakıldıktan sonra incelenen dokularda nekrozis, hiperplazi gibi çeşitli değişikliklerin olduğu gözlenmiştir (Velmurugan *et al.* 2007).

D.melanogaster'in bazı gelişimsel parametreleri üzerine sipermetrinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada LD₅₀ değeri 80 ppm ile 110 ppm arasında bulunmuştur. Daha sonra 10, 20 ve 40 ppm sipermetrin içeren besi ortamında *D.melanogaster*'in beslenmesi sağlanmış ve yumurta verimi, yumurta ve larva gelişimi değerleri araştırılmıştır. Yumurta veriminde herhangi bir değişiklik olmazken yumurta ve larva gelişiminde azalma gözlenmiştir. Sipermetrinin toksik etkilerinin erken gelişim evrelerinde daha güçlü olduğu da tespit edilmiştir (Karataş and Bahçeci 2008).

Profenofosun alabalık solucanı veya kırmızı solucan olarak bilinen *Eisenia foetida* üzerine akut toksisitesi ile ilgili yapılan çalışmada, 24 ve 48 saatlik LD₅₀ değerleri 4,56 ve 3,55 µg/cm² olarak tespit edilmiştir. Profenofosun etkisi sonucu morfolojik ve histolojik değişikliklerin oluştuğu, bedende kopmalar, lezyonlar, beze şeklinde hücre kümelenmeleri ve uzunlamasına kas parçalanmaları gözlemlendiği ifade edilmiştir (Reddy and Rao 2008)

5 ve 50 ppm profenofos ile 65 gün boyunca beslenen sıçanlarda testis ve seminal keselerin etkilendiği, serum asetilkolinesteraz aktivitesinin inhibe olduğu ve 50 ppm'lik uygulamanın ağırlıkta azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Her iki uygulama konsantrasyonunda da sperm sayısının azaldığı, anormal morfolojili sperm sayısının ise arttığı rapor edilmiştir. 50 ppm profenofos uygulaması sonucu sperm hareketliliğinin ve serum testosteron miktarının önemli derecede azaldığı da gözlemlenmiştir (El Hoda and Zidan 2009).

İsmail *et al.* (2009) tarafından yapılan çalışma ile 1,04 g ağırlığa, 4,25 cm uzunluğa sahip 3 aylık sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) profenofosun 96 saatlik LD₅₀ değerinin 62,4 µg/L olduğu, profenofos uygulaması ile birlikte denge, hareket ve davranışsal bozuklukların ortaya çıktığı görülmüştür.

Kavitha and Rao (2009), Siyah Mozambik balıklarını (*Oreochromis mossambicus*) 28 gün boyunca profenofosun sub-letal konsantrasyonuna (30 mg/L) maruz bırakarak, çeşitli dokulardaki antioksidan enzimlerin aktivitelerini araştırmışlar ve süperoksit dismutaz aktivitesinin, solungaçlarda ve kaslarda kısa süreli olarak arttığını fakat beyinde azaldığını, katalaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin ise solungaçlarda inhibe olduğunu gözlemişlerdir. Aynı araştırmacılar profenofosun lipid peroksidasyonunda da önemli derecede artışa yol açtığını belirlemişlerdir.

Mansour *et al.* (2009), 28 gün boyunca 26,53 ve 53,07 mg/kg dozlarda uygulanan profenofosun erkek sıçanların katalaz aktivitesinde ve lipid peroksidasyonunda artışa neden olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca A, C, E vitaminleri ile β-karoten miktarının

serumda azalmasının profenofos uygulaması ile bağlantılı olabileceği, yine profenofosun oksidatif strese, bazı biyokimyasal parametrelerde ve antioksidan enzimlerde değişikliklere yol açtığı sonucuna da varmışlardır.

Wistar sıçanlarına deri yolu ile 50 mg/kg sipmetrin uygulanmış ve 30 gün sonra katalaz aktivitesi ile lipit peroksidasyonunda artış gözlenirken glutatyon peroksidaz ve glutatyon değerleri ve 60 gün sonra da süperoksit dismutaz aktivitesinde azalma belirlenmiştir (Raina *et al.* 2009).

Vijayavel and Balasubramania (2009) yaptıkları çalışmada, fenvaleratın 4,0, 6,5 ve 8,5 µg/L dozlarının kaplan karidesinin (*Penaeus monodon*) karaciğer, pankreas, kas ve solungaç dokularında oksidatif strese neden olma potansiyelini araştırmışlardır. Fenvalerat uygulamasına bağlı olarak lipit peroksidasyonun arttığı, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin aktivitelerinde ise azalmalar olduğu gözlenmiştir. Araştırmacılara göre, bu sonuçlar fenvaleratın subletal dozlarının bile hayvanları oksidatif strese maruz bıraktığını düşündürmektedir.

Profenofosun akut toksisitesi ve genotoksik etkileri bir kurbağa türü olan *Rana spinosa* üzerinde araştırılmıştır. 24 saatlik uygulamada LD₅₀ değeri 1,59 mg/L olarak belirlenen profenofosun kurbağa iribaşları üzerinde yüksek derecede öldürücü etkisi ve alyuvarlarda da DNA hasarı tespit edilmiştir. Mikronükleus testi ile de profenofosa bağlı olarak mikronükleus frekansının arttığı, dolayısıyla genotoksik olabileceği belirlenmiştir (Li *et al.* 2010).

Tetradifonun hematolojik parametreler üzerine subkronik etkilerini belirlemeye yönelik yapılan bir araştırmada, tetradifon uygulaması sonucunda farelerin eritrositlerde oksidatif stresin ortaya çıktığı ve hematolojik bileşenlerin bozulduğu gözlenmiştir (Badraoui *et al.* 2011).

Geçmişten günümüze alternatif tedavi amaçlı ve halk arasında yeme, demleme ve değme yolu ile sıklıkla kullanılan birçok bitkinin iyileştirici olarak düşünüldüğü çeşitli

alışmalar mevcuttur. Farklı bitki türlerine ait ekstraktların kullanıldığı çalışmalardan bazıları ve sonuçları kronolojik olarak aşağıda verilmiştir.

Kong *et al.* (1995), siklofosfaminin mutajenik etkisini am yaprağı etanol ekstraktının inhibe ettiğini bildirmiştir. Araştırıcılar alışmalarında MN ve KKD testlerini kullanarak bitki ekstresinin etkisi ile siklofosfaminin sebep olduğu MN ve KKD frekanslarındaki artışın önemli derecede azaldığını ve am yaprağı ekstresinin etkili bir antimutajen olduğunu rapor etmişlerdir.

Isırgan otu, adaçayı, kuşburnu bitkilerinin hem genotoksik hem de antigenotoksik etkileri Ames testi ile araştırılmış ve çalışılan bitkilerden hiçbirinin genotoksik etki göstermediğı belirlenmiştir. Ayrıca tüm besinlerin sodyum azidin (NaN₃) mutajenik etkilerini azalttığı, en yüksek antimutajenik aktivitenin ısırgan otu (%46,32) ve kuşburnunda (%44,03) gzlendiğı de bildirilmiştir (Karakaya ve Kavas 1999).

zcan (2000), kuşburnu (*R.canina*) metanol ekstresinin antioksidan aktivite gösterdiğini, en yüksek aktivitenin ise %0,4'lk konsantrasyonda gerçekleştiğini tespit etmiştir.

R.canina meyvelerinin polifenolik bileşikleri ve antioksidan aktivitesinin belirlenmeye çalışıldığı bir araştırmada, bitki ekstratlarının hem hücre içinde hem de hücre dışında serbest oksijen radikallerini inhibe ettiğı gözlenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda kuşburnunun antioksidan aktivitesinin sadece içerdiği C vitamininden değıl aynı zamanda fenolik bileşiklerden de kaynaklandığı anlaşılmıştır (Daels-Rakotoarison *et al.* 2002).

Kaya (2003) tarafından yapılan bir başka çalışmada, yine kuşburnunda bol miktarda bulunan askorbik asidin antimutajenik etkisi *Drosophila* kanat benek testi ile araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan etil metansülfonat (EMS), metil metansülfonat (MMS) ve N-nitrozo N-etilüre (ENU) gibi mutajen maddelerin genotoksik etkisinin askorbik aside bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir.

Kuşburnu meyvelerinin içerdği başka bir fenolik bileşik olan metil gallatın (Hvattum 2002) serbest radikallere, lipid peroksidasyonuna ve oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, hidrojen peroksitin neden olduğu DNA hasarının güçlü bir şekilde inhibe edildiği belirlenmiştir. Metil gallatın, fare periferik kan hücrelerinde potasyum bromat (KBrO₃) uygulaması sonucu ortaya çıkan mikronükleus oluşumunu inhibe ettiği de gözlenmiştir. Çalışma sonucunda metil gallatın antigenotoksik ve antioksidan olduğu, lipid peroksidasyonunu inhibe ettiği ve DNA hasarına karşı koruyucu özellik gösterdiği belirlenmiştir (Lee *et al.* 2005).

Özbek *et al.* (2008), kekik (*Origanum vulgare* L.) bitkisine ait metanol ekstraktının antimutajenik etkilerini Ames testi ile araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, sodyum azid (NaN₃), 4-Nitro-1-quinoline oksit (4NQO) ve 2-aminofluorene (2AF) gibi mutajen maddelere karşı kekik ekstraktının 5, 0,5 ve 0,05 µg/plate dozlarının antimutajenik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Kanser, diyabet, kronik inflamasyon, kalp-damar hastalıkları tedavisinde Dünya’da en çok kullanılan bitkilerden birisi olan *Panax ginseng* C.A.Meyer (Araliaceae) bitkisinin su ekstraktı, doksorubisinin (0,125 mg/mL) genotoksik etkisini azaltmıştır. SMART kullanılarak yapılan bu çalışmada, *P. ginseng* ekstraktının antirekombinojenik aktiviteye sahip olduğu da belirlenmiştir (Pereira *et al.* 2008).

Serteser *et al.* (2008) tarafından yapılan çalışmada, birçok bitki ile birlikte kuşburnunun %50 metanol/su ekstresinin antioksidan özelliği araştırılmıştır. Çalışma sonucunda, *R.canina*’nın güçlü bir serbest radikal giderici ve doğal bir antioksidan kaynağı olduğu olduğu belirlenmiştir.

Ames testi kullanılarak yapılan bir çalışmada, kuşburnu ile aynı familyada yer alan kestane gülü (*Rosa roxburghi* Tratt) bitkisine ait su ekstresinin 2-asetilaminoflorin ve aflatoksin B1 gibi maddelerin mutajenik etkilerine karşı iyileştirici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada 45 g/L askorbik asit ve 65 g/L polifenol içeren kestane gülü ekstresinin sıçan karaciğer hücrelerinde oksidatif strese karşı koruyucu özelliğinin

olduğu da gözlenmiştir. Elde edilen verilere göre, *R. roxburghi* meyvelerinin antioksidan özelliği ve sağlığı koruyucu potansiyeli bulunmaktadır (Westhuizen *et al.* 2008).

Kılıçgün ve Dehen (2009), çeşitli *in vitro* test sistemleri ile kuşburnu bitkisini farklı dozlarda (%1, %2, %3, %4, %8) kullanarak ona ait antioksidan etkileri belirlemeye çalışmışlardır. Çalışma sonucunda %3'lük konsantrasyonun en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ancak tüm konsantrasyonların DNA hasarı üzerine koruyucu etkilerinin bulunduğu gözlenmiştir.

Ökseotu (*Viscum album*) meyvelerine ait etanol ekstraktının antioksidan ve antimutajenik etkilerinin kromozomal aberasyon testi ile belirlenmeye çalışıldığı bir araştırmada, mutajen madde olarak trikloroetilen (TCE) kullanılmış ve ökse otu ekstraktının TCE'nin etkilerine karşı koruyucu özelliğe sahip olduğu görülmüştür. Ökseotu ekstraktının uygulaması sonucu insan lenfosit hücrelerinde mitotik indeksin arttığı da belirlenmiştir (Alpsoy *et al.* 2010).

Egea *et al.* (2010), kültürü yapılmayan alıç (*Crataegus azarolus* L.), adi alıç (*Crataegus monogyna* Jacq.), güvem eriği (*Prunus spinosa* L.), böğürtlen (*Rubus ulmifolius* Schott), üvez (*Sorbus domestica* L.) ve kuşburnu (*R. canina* L.) bitkilerinin antioksidan özelliklerini belirlemek amacı ile yaptıkları çalışmada, fenolik bileşikler ve karoten yönü ile kuşburnunun diğer bitkilerden daha zengin ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, bu özelliklerinden dolayı da kuşburnu meyvelerinin gıda üretiminde kullanılabileceği bildirmişlerdir.

Jang *et al.* (2010) hurma meyvelerinin (*Diospyros kaki* Fuyu) tohum, kabuk gibi çeşitli kısımlarından elde edilen su, metanol, etanol ve aseton ekstrelerinin antigenotoksik etkilerini comet testi ile araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada, bütün hurma ekstrelerinin 200 μ M H₂O₂'nin neden olduğu DNA hasarını inhibe ettiğini ancak tohum ekstrelerinin etkisinin daha güçlü olduğunu belirtmişlerdir.

Sankar *et al.* (2010), sıçanlarda sipermetrinin genotoksik etkilerine karşı zerdeçalda bulunan ve bir pigment olan kurkuminin koruyucu özelliğini araştırmıştır. Bu amaçla yapılan çalışmada, 25 mg/kg dozda sipermetrin ile beslenen sıçanların kemik iliği hücrelerinde mikronükleus frekansının, kan hücrelerinde ise DNA hasarının arttığı gözlenmiştir. Kurkumin uygulamasından sonra ise mikronükleus frekansında önemli derecede düşüş gözlenmiş ve kurkuminin sipermetrinin genotoksik etkilerini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır.

Kuşburnu meyvelerinde bulunan fenolik bileşiklerden birisi olan protokatehuik asidin (Khadem and Marles 2010) genotoksik ve antigenotoksik etkileri *Drosophila* kanat benek testi ile belirlenmeye çalışılmıştır. Farklı dozlarda uygulanan protokatehuik asidin herhangi bir genotoksik etkisinin olmadığı ve hatta hidrojen peroksidin etkilerine karşı da antigenotoksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Anter *et al.* 2011).

Montazeri *et al.* (2011) tarafından kuşburnu metanol ekstraktının güçlü bir antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Tumbas *et al.* (2012), kuşburnunun vitamin C ve polifenol açısından oldukça zengin olduğunu ve kuşburnu çaylarının gösterdiği antioksidan aktivitenin vitamin C ve fenolik bileşiklerden kaynaklandığını gözlemişlerdir. Bu bileşenler de hücre çoğalmasını artırıcı, oksidatif reaksiyonlar üzerinde düzenleyici ve beslenmede kullanılan gıdalar için önemli kabul edilmiştir.

Kızılet *et al.* (2013) tarafından SMART kullanılarak yapılan bir çalışmada kuşburnunun etanol ekstresinin etil metansülfonatın (EMS) mutajenik etkisini azalttığı gözlenmiştir.

Uysal *et al.* (2015) tarafından yine SMART kullanılarak yapılan bir çalışmada, İran'a ait endemik bir tür olan *Echium amoenum* Fisch. and Mey (Boraginaceae) bitkisinin metanol ve kloroform ekstraktlarının da EMS'nin genotoksik etkisini azalttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar kloroform ekstraktının iyileştirici etkisinin metanol ekstresinden daha fazla olduğunu ifade etmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Bu çalışmada, ilk olarak profenofos, sipermetrin, fenvalerat, lufenuron ve tetradifon insektisitlerinin olası genotoksik etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla *D. melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART), insan periferik lenfosit hücrelerinde ise mikronükleus (MN) ve kardeş kromatit değişimi (KKD) testleri kullanılmıştır. Çalışmanın ikinci kısmında ise bu insektisitlerin neden olduğu/olabileceği genotoksik etkileri gidermek veya azaltmak amacı ile kuşburnu bitkisinin su (RC_{su}) ve etanol (RC_{eta}) ekstraktları besiyerlerine katılmıştır. Sonuçların belirlenebilmesi için yine aynı test yöntemleri ile çalışılmıştır.

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada profenofos, sipermetrin, fenvalerat, lufenuron ve tetradifon insektisitleri ile *in vivo* ve *in vitro* test tekniklerinin uygulanabilmesi için, dimetil sülfoksit (DMSO), aseton, etil metansülfonat (EMS), eter, etanol, propiyonik asit, *Drosophila* besiyeri, gliserol, kloral hidrat, arap zımkı, kromozom medium, kolşisin, sitokalsin B, glasiyal asetik asit, metanol, 5-bromo-2-deoksiüridin (BrdU), hoechst 33258 boyası, giemsa boyası, sodyum hidrojen fosfat, potasyum dihidrojen fosfat, potasyum klorür, sodyum klorür, sodyum sitrat, immersiyoyn yağı gibi çeşitli kimyasal maddeler de kullanılmıştır. Kullanılan tüm kimyasal maddeler Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarına ait olup 2009/79 ve 2011/112 nolu Bilimsel Araştırma Projeleri aracılığı ile temin edilmiştir. Tüm kimyasal maddelerin saflık dereceleri, katalog numaraları ve alındığı firmalar Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Test Tekniği	Kimyasal Madde	Saflık Oranı (%)	Katalog No	Firma Adı
SMART MN KKD	Profenofos	98,2	41198-08-7	Sigma
	Sipermetrin	95,1	52315-07-8	Sigma
	Fenvalerat	>97	51630-58-1	Sigma
	Lufenuron	99,7	103055-07-8	Sigma
	Tetradifon	99,4	116-29-0	Sigma
	Etil metansülfonat		62-50-0	Sigma
	Dimetil sülfoksit	99,5	67-68-5	Riedel
	Aseton	99,5	67-64-1	Riedel
	Entellan		1079610100	Merck
SMART	Drosophila instant medium			Carolina
	Agar agar		9002-18-0	Merck
	Propiyonik asit	99	79-09-4	Merck
	Dietil eter	99	60-29-7	Merck
	Etil alkol	99,5	64-17-5	Merck
	Kloral hidrat	98	302-17-0	Sigma
	Arap zımkı		9000-01-5	Sigma
	Gliserol	87	56-81-5	Merck
MN-KKD	Kromozom medium		F5023	Biochrom
	Kolsişin		477-30-5	Biochrom
	Sitokalazin B	98	14930-96-2	Sigma
	Glasiyal asetik asit	99,8	64-19-7	Sigma
	Metanol	99,7	67-56-1	Sigma
	5-bromo-2-deoksiüridin	99	59-14-3	Sigma
	Hoechst 33258 boyası	98	23491-45-4	Sigma
	Giemsa boyası		1092040500	Merck
	Disodyum hidrojen fosfat	99	7558-79-4	Fluka
	Sodyum dihidrojen fosfat	98	13472-35-0	Fluka
	Potasyum klorür	>99	7447-40-7	Sigma
	Sodyum klorür	99,5	7647-14-5	Merck
	Sodyum sitrat	99	6132-04-3	Merck
	İmmersiyon yağı		1046990100	Merck

3.2. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

Bu çalışmada etil metansülfonat, faure, hipotonik, tespit, 5-bromo-2-deoksiüridin (BrdU), Hoechst (Bisbenzimid) fluoressan, 2xSSC, giemsa boyası gibi çeşitli çözeltiler ve söranson, fosfat (PBS), Mc II Vaine tamponları kullanılmıştır. Bu çözelti ve tamponların kullanıldığı testler ve hazırlanış şekilleri Çizelge 3.2 ve 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan çözeltiler ve hazırlanış şekilleri

Kullanılan Çözeltiler	Test Tekniği	Çözeltilerin Hazırlanışı
Etil metansülfonat	SMART MN KKD	%50'lik alkolde hazırlandıktan sonra son konsantrasyonu 0,7µg/mL olacak şekilde kültür tüplerine konulur
Faure solüsyonu	SMART	30 gr gam arabik, 20ml gliserol, 50 gr kloral hidrat ve 50 ml saf su karıştırılmış ve daha sonra filtre edilerek hazırlanmıştır. Oda sıcaklığında uzun süre kullanılabilir.
BrdU çözeltisi	KKD	10 ml saf suda 30,7 mg toz BrdU çözüldükten sonra alüminyum folyoya sarılıp -20°C'de saklanmıştır.
Hipotonik çözelti	MN KKD	0,5592 gr KCl 100ml saf suda çözüldükten sonra 37°C'de bekletilmiştir. Her çalışmadan önce taze olarak hazırlanmalıdır.
Tespit çözeltisi	MN KKD	1/3 oranında glasiyal asetik asit/metanol karışımından oluşur. Her çalışmadan önce hazırlanıp -20°C'de tutulmalıdır.
Hoechst fluoresan boyası	KKD	Son konsantrasyonu 2,5 mg/ml olacak şekilde Hoechst 33258 boyası saf suya katılarak hazırlanmış ve alüminyum folyoya sarılıp +4°C'de saklanmıştır.
2xSSC çözeltisi	KKD	1,74 gr NaCl ve 0,882 gr sodyum sitrat 100 ml saf su içeren iki ayrı şişede çözüldükten sonra eşit hacimde karıştırılmıştır. Çözeltinin PH değeri sitrik asit ile 7,2'ye ayarlanmıştır.
Giemsa boyası	MN KKD	5 ml giemsa boyasının 90 ml'lik söranson tamponu içine çözünmesi ile elde edilmiştir.

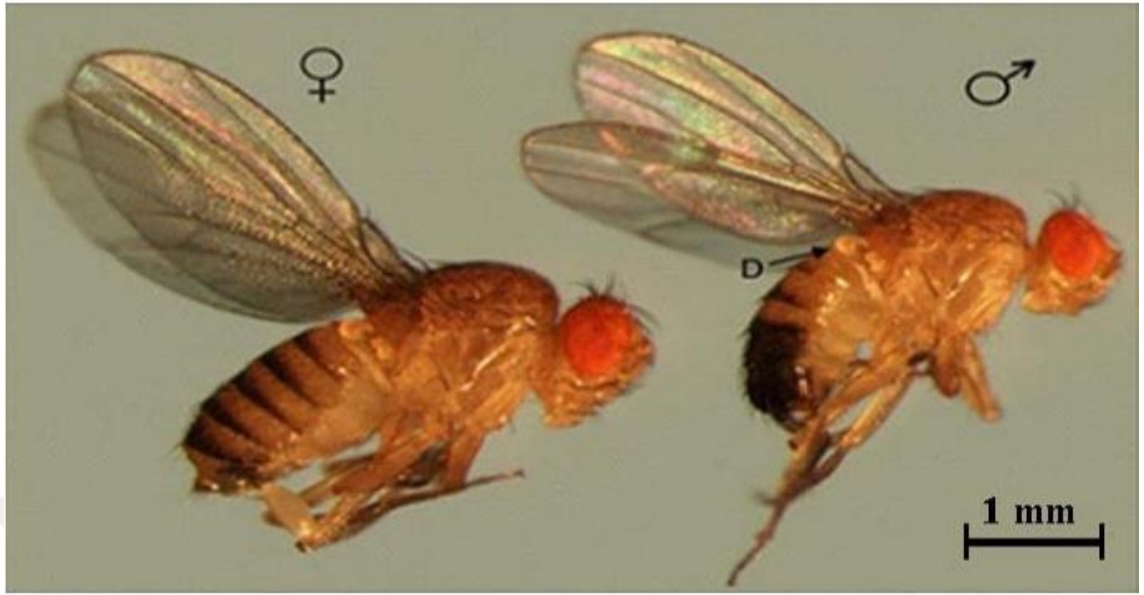
Çizelge 3.3. Kullanılan tampon çözeltiler ve hazırlanış şekilleri

Tampon Çözelti	Test Tekniği	Tampon Çözeltilerin Hazırlanışı
Söranson tamponu	MN KKD	4,537 gr KH_2PO_4 500 ml saf suda çözülerek A solüsyonu, 5,935 gr Na_2HPO_4 500 ml saf suda çözülerek de B solüsyonu hazırlanmıştır. A solüsyonundan alınan bir miktar çözelti ile B solüsyonunun pH değeri 6,8'e ayarlanmış ve söranson tamponu olarak kullanılmıştır.
Fosfat tamponu (PBS)	MN KKD	8 gr NaCl, 0,2 gr KCl, 0,2 gr KH_2PO_4 ve 2,32 gr Na_2HPO_4 alınmış ve 1 litre saf suda çözülmüştür. Hazırlanan bu çözelti oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.
Mc II Vaine tamponu	KKD	İki tampondan oluşmaktadır. 1. tampon 19,2 gr/l oranında sitrik asit solüsyonu (0,1M), 2. tampon ise 28,4gr/l'lik Na_2HPO_4 solüsyonu (0,2M) içermektedir. 1. tampondan 8ml, 2.tampondan ise 92 ml alınarak karıştırılması sonucu hazırlanır. 1. tampon ile pH değeri 7,1'e ayarlanır.

3.3. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)

3.3.1. *Drosophila melanogaster*

İn vivo genotoksik test yöntemi SMART'ta meyve sineği olarak bilinen *D.melanogaster* kullanılmaktadır. *D.melanogaster* çürümüş meyveler üzerinde beslenip çoğalabilen Diptera takımına ait bir sinek türüdür (Şekil 3.1). *D. melanogaster*'in sistematigi Çizelge 3.4'te verilmiştir. Genetik araştırmalarda kullanılan model organizmalardan biri olan *D.melanogaster* ile ilgili ilk çalışmalar 1910 yılında Thomas Morgan tarafından yapılmıştır.



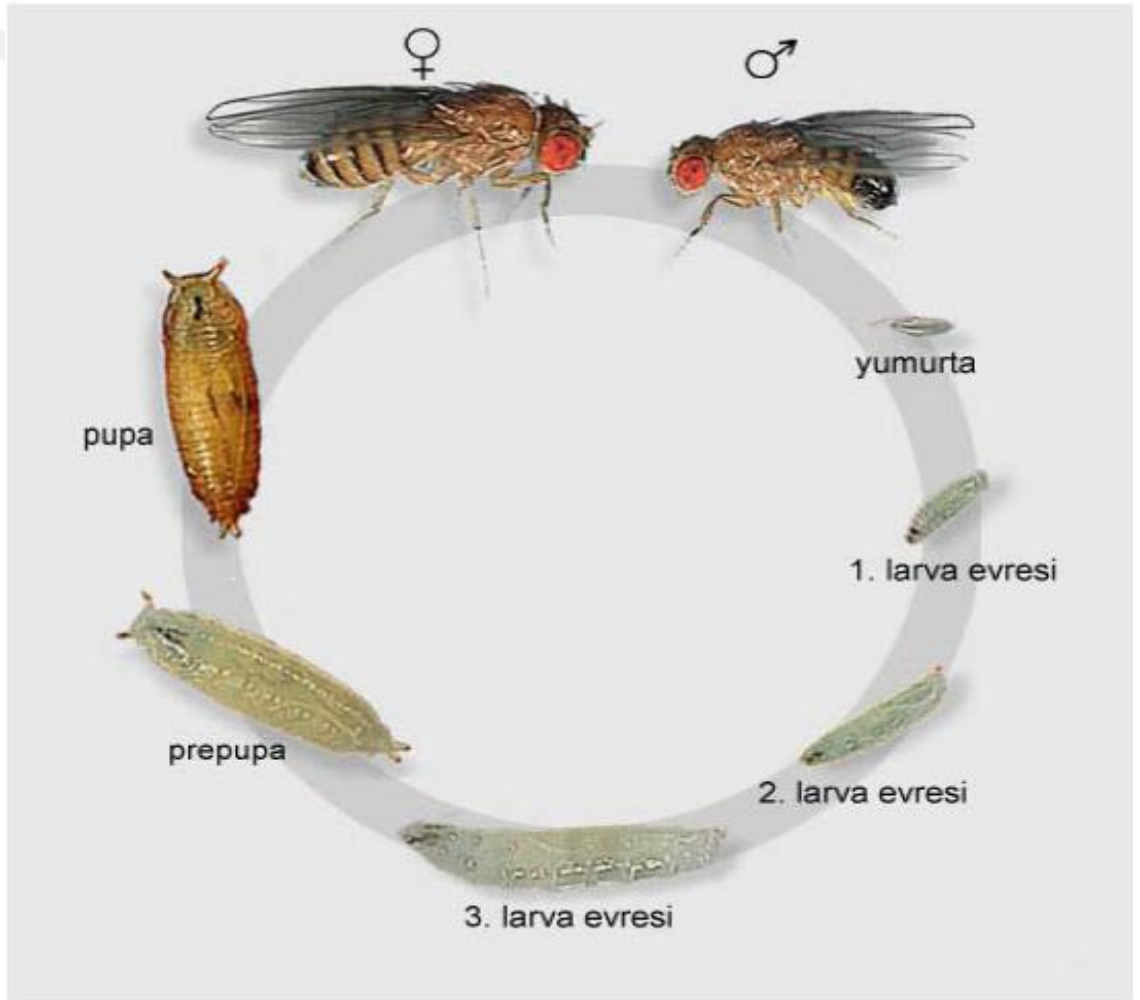
Şekil 3.1. *D.melanogaster*'in Oregon soyunun dişi ve erkek bireyleri. D: denge organı

Çizelge 3.4. *D.melanogaster*'in sistematığı

Alem	Animalia	Hayvanlar alemi
Şube	Arthropoda	Eklem bacaklılar
Alt şube	Mandibulata-Antennata	Çeneliler-Antenliler
Sınıf	Insecta-Hexapoda	Böcekler
Alt sınıf	Pterygota	Kanatlı böcekler
Üst takım	Mecopteroidea/Panorpoidea	Uzun kanatlılar
Takım	Diptera	İki kanatlılar
Alt takım	Brachycera	Sinekler/Kısa antenliler
Familya	Drosophilidae	Sirke/Meyve sinekleri
Cins	<i>Drosophila</i>	Sirke/Meyve sinekleri
Tür	<i>Drosophila melanogaster</i>	Sirke/Meyve sineği

D. melanogaster, çürümekte olan meyvelerin ve bazı tatlı sıvıların (meyve suyu, şarap, sirke, bira v.s) kokusuna pozitif kemotaksi göstermektedir. Ayrıca, bitki öz suları, dışkılar ve mantarlar içinde de gelişebilmektedirler. Ev sineğinin 1/3'ü kadar olup,

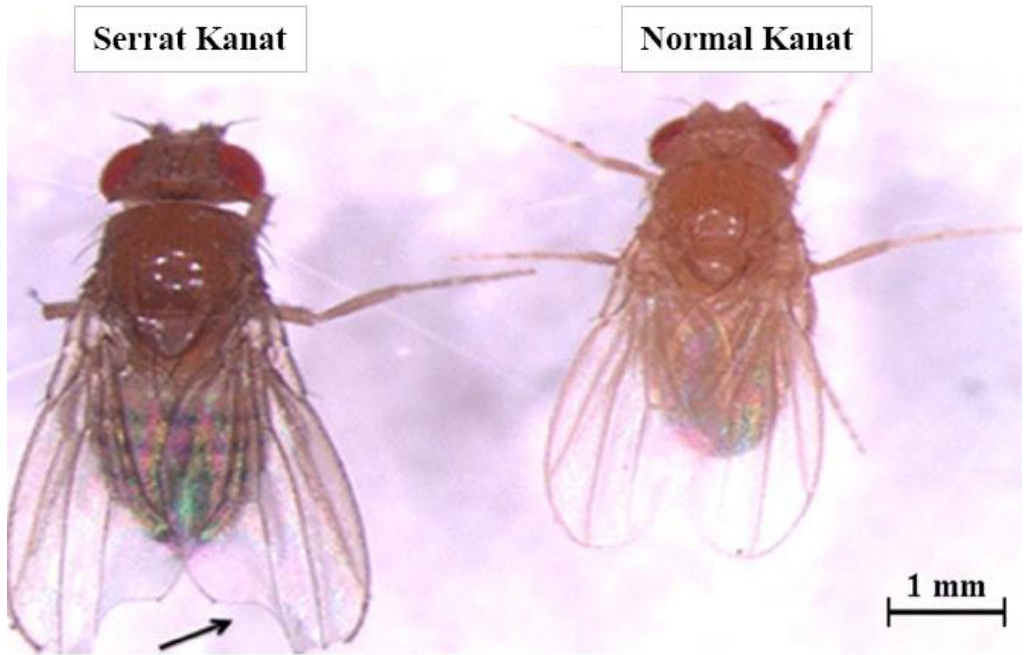
ikinci çift kanatları halter adı verilen topuz şeklinde bir denge organına dönüşmüştür (Şekil 3.1). Larvalarının ağız çengelleri bulunmaktadır. Pupa, üçüncü larva evresinden kalma bir deri ile sarılır. Arista tipi antenleri çok kısa ve birbirinden farklı şekilleri olan segmentlerin birleşmesiyle meydana gelmiştir. *D. melanogaster*'de tam başkalaşıma (holometabol) ait üç larva evresinden sonra prepupa ve pupa evreleri görülmektedir (Uysal vd 2006). Ergin birey yaklaşık 9-10 günlük gelişim evrelerinden sonra oluşmaktadır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. *D.melanogaster*'in yaşam döngüsü

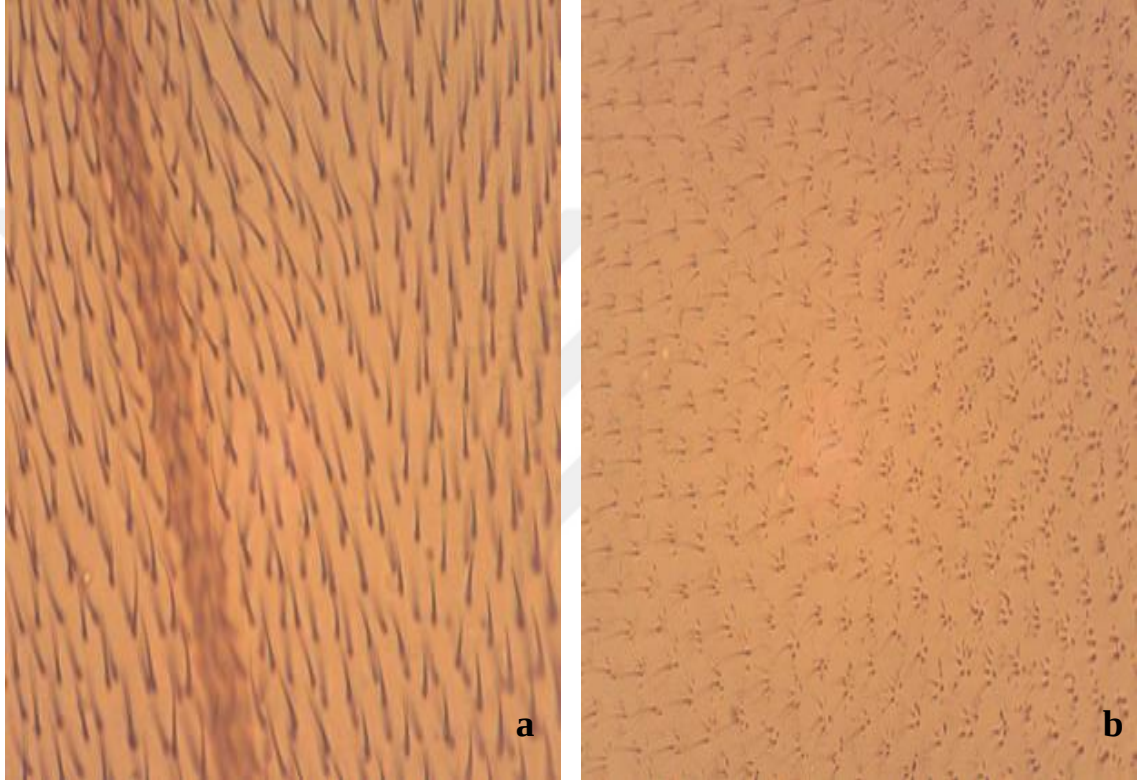
3.3.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi

Nokta mutasyon, delesyon ve mitotik rekombinasyon gibi çeşitli değişikliklerin fenotipte gözlenmesi esasına dayanan *in vivo* bir test sistemi olan SMART, son yıllarda genetik toksisitenin belirlenmesinde sıkça kullanılmaktadır. Göz ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşidi bulunmaktadır. Bu testin sonuçları ergin bireylerdeki göz, kanat gibi yapıların oluşumunu sağlayan larval imajinal disklerdeki hücre gruplarında meydana gelen mutasyonlara göre belirlenir. Bu çalışmada kanat benek testi kullanılmıştır ve kanat benek testinde *flare* (*flr*³) ve *mwh* (*multiple wing hair*-çoklu kanat kılları) işaret genlerinden yararlanılmaktadır. *Flare* (*flr*³, 3-38,8) geni, kanatlarda körelmiş, nokta şeklinde kıl oluşumuna neden olmaktadır. Bu gen homozigot durumda letal etki göstermektedir. Dolayısıyla ergin bireyler oluşamamaktadır. Bu geninin embriyonik letal etkisinden bireyleri korumak için dengeleyici TM3 kromozomu kullanılmaktadır. *Flare* işaret genini taşıyan bireylerde ayrıca kanat kenarlarının testere dişi şeklinde olmasına neden olan *BdS* geni de bulunmaktadır. Bu geni taşıyan bireyler serrat kanatlı olarak adlandırılmaktadır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. *D.melanogaster*'in serrat ve normal kanat fenotipine sahip bireyleri

Serrat kanat fenotipine sahip bireylerde *flare* işaret geni bulunmaktadır. Bu bireyler normal kanat kılına sahiptirler (Şekil 3.4a). Diğer işaret geni olan *mwh* (multiple wing hair=çoklu kanat kılları, 3-0,3) ise aynı hücrede üç veya daha fazla sayıda kanat kılı oluşumuna yol açmaktadır (Şekil 3.4b).



Şekil 3.4. *flr*³/TM3 (a) ve *mwh/mwh* (b) bireylere ait kanat kılı yapıları (10x40)

3.3.3. Çaprazlama yapılacak ergin bireylerin ve trans-heterozigot larvaların elde edilmesi

Bu çalışmada *D.melanogaster*'in *flare* ♀♀ ile *mwh* ♂♂ kullanılmıştır. Bu soylar Akdeniz Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiş ve Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda standart besin ortamında, ideal koşullarda (25±1°C ve %60 bağıl nem) kültüre alınmıştır. *Flare* ♀♀'in virgin olarak elde edilebilmesi için 4 saat aralıklarla birey toplaması yapılmış ve bu dişi bireyler ayrı bir besi ortamında tutulmuştur. Daha sonra

virgin olarak toplanan bu *flare* ♀♀ ile *mwh* ♂♂ 8 saat aynı besiyerinde tutularak çaprazlanması sağlanmıştır. Çaprazlama yapılacak her şişeye 60 *flare* dişi ve 60 *mwh* erkek konulmuştur. Toplanacak larvaların aynı gelişim evresinde olması için 8 saatin sonunda çaprazlanan bireyler besiyerinden uzaklaştırılmıştır. Çaprazlama sonucu oluşan 72 saatlik 3. evre trans-heterezigot larvalar farklı konsantrasyonlarda insektisit ve kuşburnu bitkisine ait ekstrakterler içeren hazır *Drosophila* besiyerine (*Drosophila* Instant Medium) aktarılmıştır.

3.3.4. SMART için insektisit ve bitki ekstrakterlerine ait uygulama gruplarının belirlenmesi

Çalışmada kullanılan profenofos, sipmetrin ve fenvalerat insektisitleri için %1'lik dimetil sülfoksit (DMSO), lufenuron ve tetradifon için ise %2,5'lik aseton çözücü olarak kullanılmıştır. Bu çözücüler ile negatif kontrol grubu oluşturulmuştur. Pozitif kontrol grubu olarak ise 1 ppm etil metansülfonat ile (EMS) çalışılmıştır. İnsektisit ve bitki ekstrakterlerine ait uygulama grupları, larval ölüm ve hayatta kalış oranlarına bakılarak belirlenmiştir. Bu amaçla 100 adet trans-heterozigot larva farklı konsantrasyonlarda insektisit içeren besiyerlerine eklenmiş ve erginleşen bireyler sayılmıştır. Larvaların yaklaşık olarak yarısının ölümüne neden olan insektisit konsantrasyonları (LD₅₀) en üst uygulama grubu olarak seçilmiş ve diğer konsantrasyonlar bu değere göre belirlenmiştir. DMSO ve aseton insektisitlerin çözücüsü olarak kullanıldığı için larval ölüm ve hayatta kalış oranları çözücüler baz alınarak hazırlanmıştır. Buna göre profenofos için; 0,025, 0,05, 0,075 ve 0,1 ppm, sipmetrin için; 3, 4, 5 ve 6 ppm, fenvalerat için; 2,5, 5, 7,5 ve 10 ppm ve lufenuron için; 1, 2, 3 ve 4 ppm'lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir. Tetradifon ise 200 ppm'in üzerindeki konsantrasyonlarda yeterince çözünmediği için en yüksek konsantrasyon 200 ppm olarak belirlenmiş ve uygulama grupları olarak 50, 100, 150 ve 200 ppm'lik konsantrasyonlar seçilmiştir. DMSO'da çözünen insektisitlere ait konsantrasyonlar ile larva ölüm ve hayatta kalış oranları Çizelge 3.5'de, asetonunda çözünen insektisitlere ait konsantrasyonlar ile larva ölüm ve hayatta kalış oranları ise Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.5. DMSO’da çözünen insektisitlere ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları

Uygulama grupları (ppm)	Larva sayısı	Larva ölüm Oranları (%)	Hayatta kalış oranları (%)
DMSO (%1) (Negatif Kontrol)	100	2 ^a	98 ^a
PROFENOFOS			
0,025	100	7 ^b	93 ^b
0,05	100	11 ^c	89 ^c
0,075	100	25 ^e	75 ^e
0,1	100	53 ⁱ	47 ⁱ
SİPERMETRİN			
3	100	12 ^c	88 ^c
4	100	21 ^d	79 ^d
5	100	43 ^g	57 ^g
6	100	54 ⁱ	46 ⁱ
FENVALERAT			
2,5	100	5 ^a	95 ^a
5	100	16 ^c	84 ^c
7,5	100	29 ^f	71 ^f
10	100	45 ^h	55 ^h

İstatistikî değerlendirmeler grup içi ve gruplar arası yapılmıştır. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Çizelge 3.6. Asetonda çözünen insektisitlere ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları

Uygulama grupları (ppm)	Larva sayısı	Larva ölüm oranları (%)	Hayatta kalış oranları (%)
ASETON (%2,5)(Negatif Kontrol)	100	4 ^a	96 ^a
LUFENURON			
1	100	9 ^b	91 ^b
2	100	7 ^b	93 ^b
3	100	29 ^d	71 ^d
4	100	48 ^e	52 ^e
TETRADİFON			
50	100	11 ^c	89 ^c
100	100	16 ^c	84 ^c
150	100	9 ^b	91 ^b
200	100	12 ^c	88 ^c

İstatistikî değerlendirmeler grup içi ve gruplar arası yapılmıştır. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler p<0,05 düzeyinde önemlidir.

Bitki ekstrelerine ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları Çizelge 3.7’de verilmiştir. Yapılan ön denemler ile kuşburnu bitkisinin hem su hem de etanol ekstreleri için %1’lik konsantrasyonun larvalar üzerinde herhangi bir toksik etkisinin olmadığı görülmüş ve uygulama grubu olarak seçilmiştir.

Çizelge 3.7. Kuşburnu bitkisi ekstrelerine ait larval ölüm ve hayatta kalış oranları

Uygulama grupları (ppm)	Larva Sayısı	Larva ölüm oranları(%)	Hayatta kalış oranları (%)
Saf su	100	3 ^a	97 ^a
RC _{su} (%1)	100	3 ^a	97 ^a
RC _{eta} (%1)	100	5 ^a	95 ^a

İstatistikî değerlendirmeler grup içi yapılmıştır. Aynı sütunda aynı harflerle gösterilen değerler $p>0,05$ düzeyinde önemsizdir.

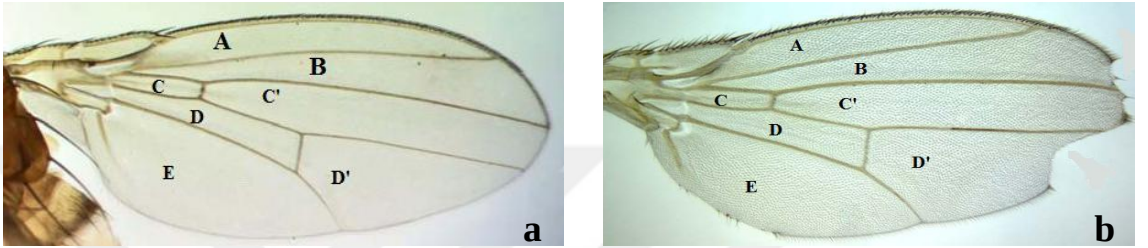
3.3.5. İnsektisit ve bitki ekstrelerinin uygulanması

Çalışmada kullanılan insektisitler DMSO ve asetonda çözüldükten sonra saf su ile seyreltilerek istenilen konsantrasyonlarda insektisit çözeltileri hazırlanmıştır. Belirlenen konsantrasyonlarda insektisit içeren 4 ml’lik bu çözeltilere 1gr hazır Drosophila besini ilave edilerek kültür tüpleri hazırlanmıştır. Kuşburnu bitkisine ait su ve etanol ekstreleri ise insektisitlerin en yüksek uygulama grupları ile birlikte kullanılmıştır. Kültür tüplerine en yüksek insektisit konsantrasyonuna ek olarak %1’lik bitki ekstresi eklenmiştir. Hazırlanan kültür tüplerinin içerisine 200 trans-heterozigot larva eklenerek 24 saat beslenmeleri sağlanmıştır. Bu larvalardan erginleşen en az 80 birey eter ile bayıltılarak kanat preparatları hazırlanmak üzere %70’lik etil alkol içerisinde +4°C’de saklanmıştır.

3.3.6. Kanat preparatlarının hazırlanması ve analizi

Ergin bireyler normal (Şekil 3.5a) ve serrat (Şekil 3.5b) kanat fenotipine göre ayrıldıktan sonra bu bireylerin kanatları faure solüsyonu içerisinde binoküler mikroskop

altında ince uçlu pensler ile vücuda bağlandığı bölgeden ince uçlu pens yardımı ile ayrılmıştır. Bu işlem sırasında kanat ve üzerindeki kılların zarar görmemesine dikkat edilmiştir. Vücuttan ayrılan kanatlar uygun aralıklar ile lam üzerine yerleştirilmiş ve kurumaya bırakılmıştır (Şekil 3.6). Daha sonra lam entellan ile kaplanmış ve üzeri hava kaparcığı kalmayacak şekilde lamel (24x66 mm) ile kapatılmıştır.



Şekil 3.5. Normal (a) ve serrat kanat (b) fenotipine ait sektörler (10x10)

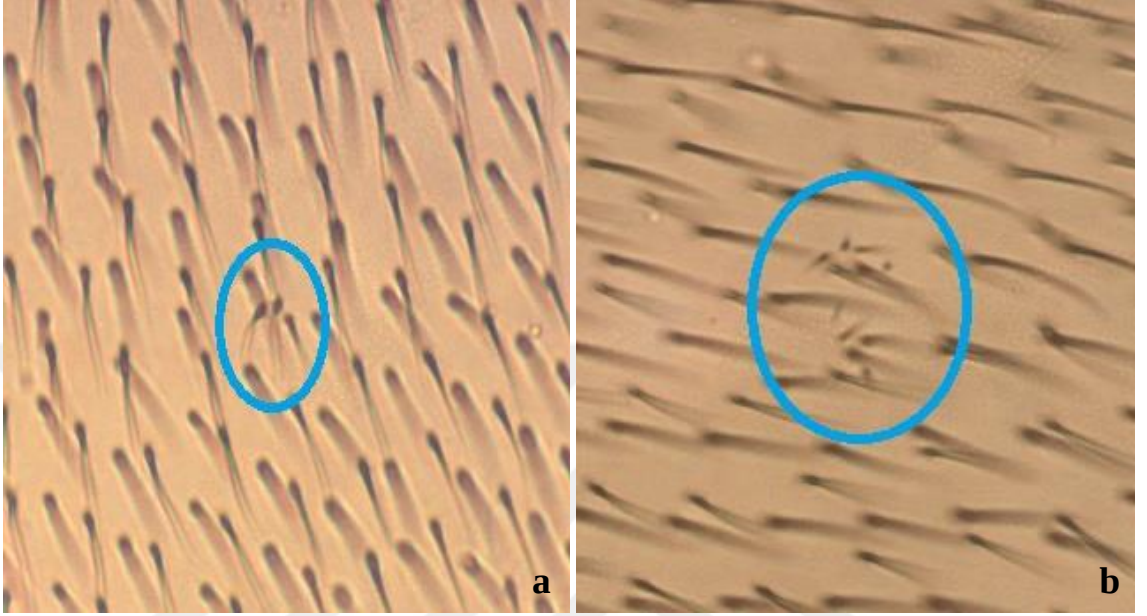
Hazırlanan kanat preparatları Nikon (ECLIPSE E100) marka binoküler mikroskopta 10x40 büyütme ile incelenmiştir. İncelemenin kolay olması için kanatlar A, B, C, C', D, D' ve E olmak üzere sektörlerle ayrılmış (Şekil 3.5a-b) ve kanatların hem dorsal hem de ventral yüzü ayrı ayrı değerlendirilmiştir.



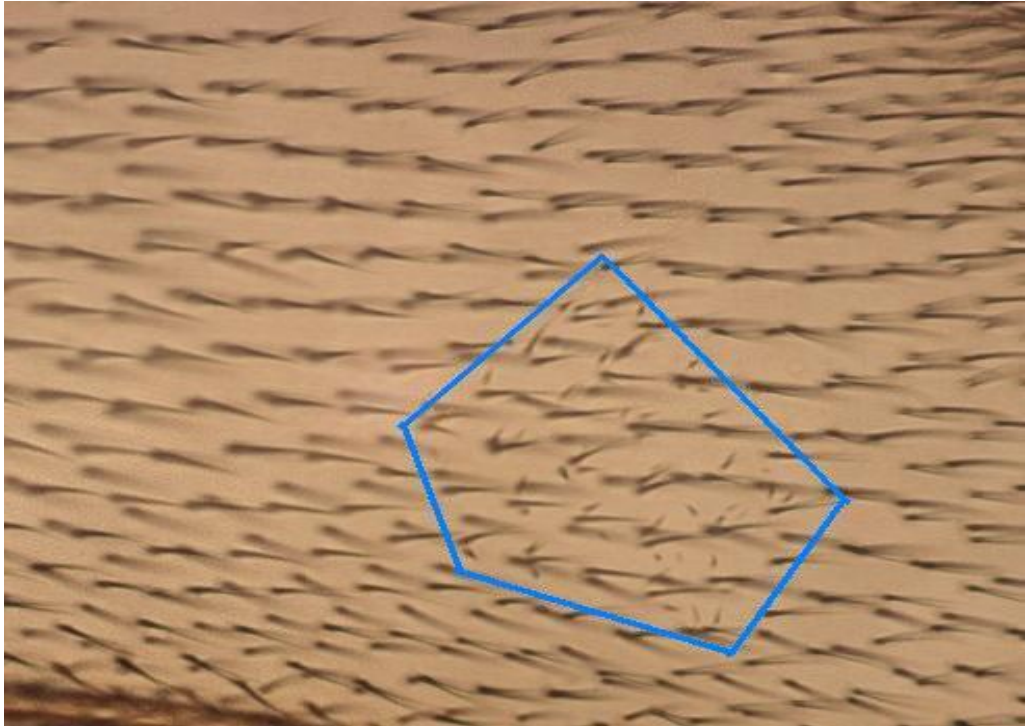
Şekil 3.6. Hazırlanan kanat preparatları

İnceleme sonucunda gözlenen mutant hücre klonları kaydedilmiştir. Tekli klonlar *mwh* veya *flare* fenotipinde iken, ikiz klonlar *mwh* ve *flare* fenotiplerini birlikte taşımaktadır. Tekli klonlar arasında bir (Şekil 3.7a) ve iki (Şekil 3.7b) hücreli olanlar küçük tek tip,

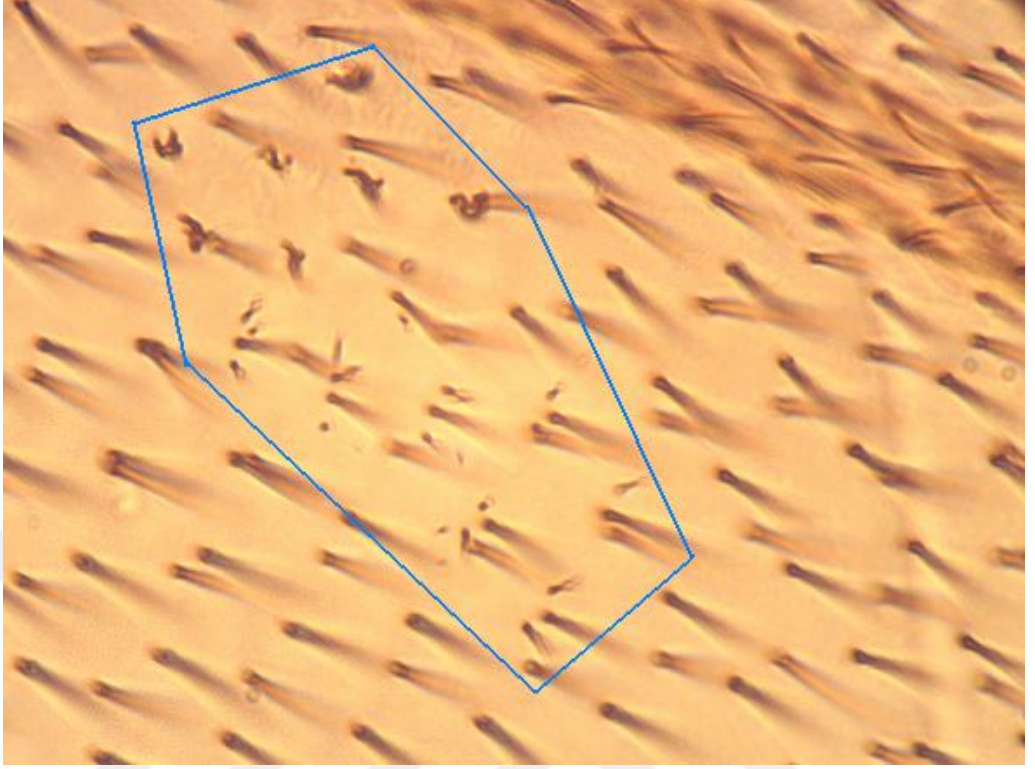
üç ve daha fazla sayıda hücre gruplarından oluşanlar ise büyük tek tip (Şekil 3.8) olarak isimlendirilmektedir.



Şekil 3.7. Bir hücreli (a) ve iki hücreli (b) küçük tek tip klon

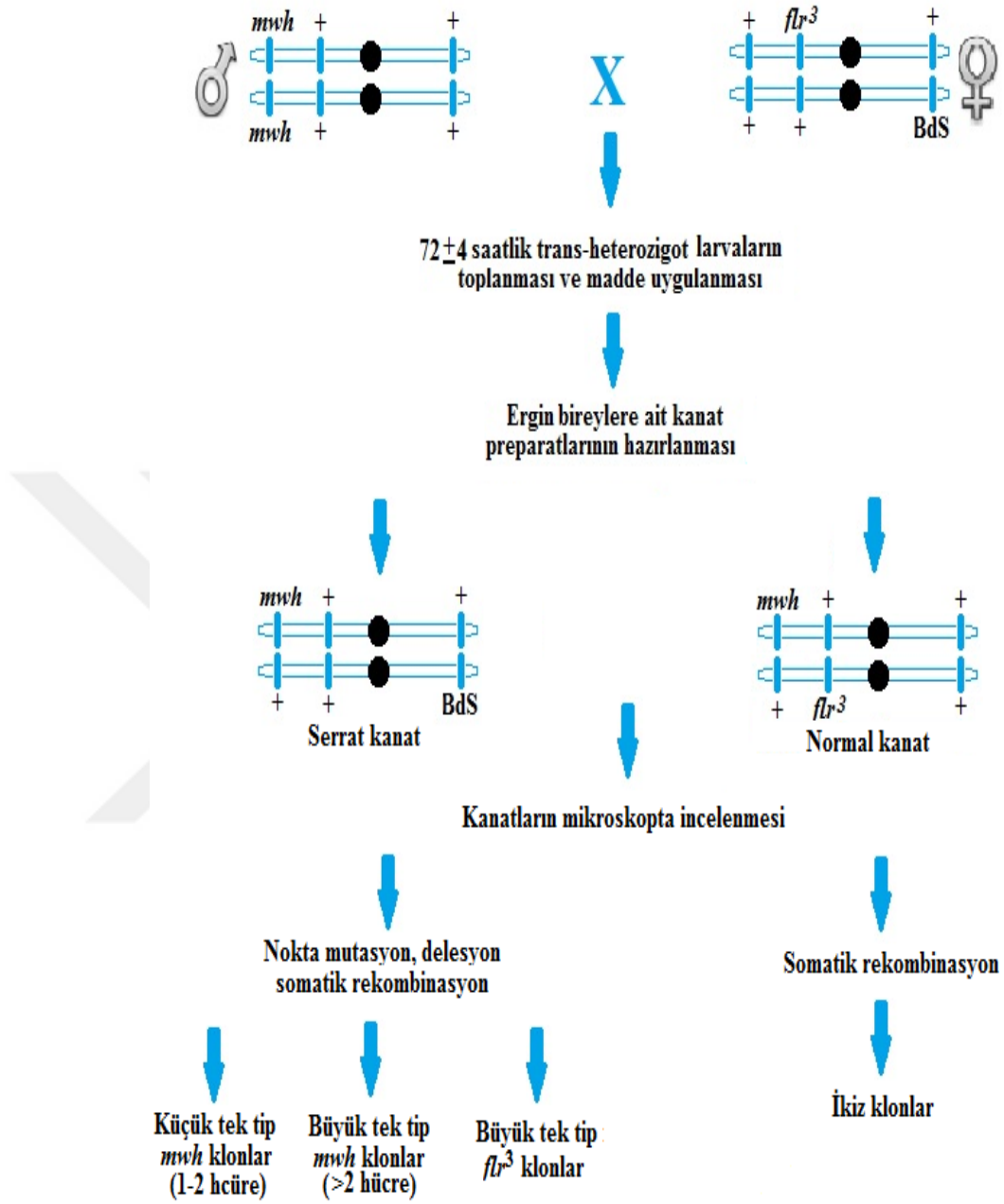


Şekil 3.8. Büyük tek tip klon



Şekil 3.9. İkiz klon

Küçük tek tip klonlar sadece *mwh* içermekte iken büyük tek tip klonlar *mwh* veya *flare* olabilmektedir. Üç veya daha fazla sayıdaki *mwh* ve *flare* hücreler büyük tek tip klon olarak adlandırılmıştır. İkiz klonlar ise hem *mwh* hem de *flare* hücrelerini yan yana içermektedirler (Şekil 3.9) (Graf *et al.* 1984). SMART'ın tüm aşamaları Şekil 3.10'da özetlenmiştir.



Şekil 3.10. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinin şematik gösterimi

3.3.7. Klon indüksiyon frekansının hesaplanması ve sonuçların istatistiksel analizi

Klon indüksiyon frekansı (KİF) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmaktadır. Bu formülde “f” *mwh* klonların indüksiyonlarının ortalama frekansını, “n” gözlenmiş olan toplam *mwh* klon sayısını, “N” kanat sayısını, “C” ise bir kanattaki incelenebilecek

hücre sayısını vermektedir. Yapılan çalışmalar sonucu bir kanatta incelenebilecek toplam hücre sayısının yaklaşık olarak 24 000 olduğu belirlenmiştir (Würgler and Vogel 1986).

$$f = \frac{n}{NC} \times 10^5$$

SMART'tan elde edilen sonuçların istatistiksel analizi Microsta bilgisayar programı ile yapılmıştır. Bu programda; orijinal (null) hipotez (H0) ve alternatif hipotez (Ha) olmak üzere iki farklı uygulama bulunmaktadır. Orijinal (null) hipotez (H0) ile uygulama grupları ile kontrol grupları arasında istatistiksel farkın olmadığı; alternatif hipotez (Ha)'de ise uygulama gruplarında gözlenen mutasyon oranının kontrol grubuna göre m defa daha fazla sayıda olduğu varsayılmıştır. İki hipotezin hesaplanması ile oluşan sonuçlar pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) ve negatif (-) olarak belirlenmiştir (Frei and Würgler 1988).

3.4. Mikronükleus (MN) Testi

3.4.1. Hücre kültürünün hazırlanması

- 1) Steril hücre kültür tüplerine 6 ml kromozom B mediumu konulmuştur.
- 2) Sigara içmeyen, sağlıklı, genç dört bireyden alınan heparinize periferik kandan 0,5 ml eklenmiş ve 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır.
- 3) İnkübasyonun 24. saatinde profenofos, sipermetrin, fenvalerat, lufenuron ve tetradifon insektisitlerinin farklı konsantrasyonlarını içeren 0,25 ml'lik çözelti eklenmiştir.
- 4) Kültür tüplerine 48. saatte 3µg/ml oranında sitokalsin ilave edilmiş ve tekrar 37°C'deki etüve bırakılmıştır.
- 5) 72. saatte inkübasyon bitirilmiş ve etüvden çıkarılan kültür tüpleri 10 dakika 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir.
- 6) Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar pastör pipeti ile atılmıştır.

- 7) Kültür tüplerinin alt kısmında kalan çökeltinin üzerine daha önceden hazırlanmış hipotonik çözelti ilave edilmiş ve 37 C’de 5 dk. bekletilmiştir.
- 8) S renin bitiminde kültür tüpleri 10 dakika 1000 rpm’de santrifüj edilmiş ve süpernatant aynı şekilde uzaklaştırılmıştır.
- 9) Kalan çökeltilerin üzerine glasiyal asetik asit /metanol (1/3) karışımından oluşan soğuk tespit solüsyonundan 10 ml eklenmiş ve 10 dakika 1000 rpm’de santrifüj edilerek süpernatantlar uzaklaştırılmıştır.
- 10)   kelti oluşmaması için ilk tespit solüsyonu damlatılarak katılmış ve kültür tüpleri de çalkalayıcı yardımıyla sürekli karıştırılmıştır.
- 11) Tespit çözeltisinden geçirme işlemine tüplerdeki sıvı berraklaşınca kadar devam edilmiştir. Tespit   zeltisinin her eklenişinden sonra tüpler yine aynı hız ve sürede santrifüj edilip süpernatantlar atılmıştır.
- 12) Süpernatantların son kez atılışından sonra dipte kalan çözelti pastör pipeti ile iyice karıştırılmıştır.

3.4.2. Preparatların hazırlanması ve boyanması

Kültür tüplerinin dip kısmındaki çözelti, +4 C’de soğuk tespit çözeltisinin içerisinde tutulan lamaların üzerine yaklaşık 30 cm yükseklikten damlatılmıştır. Lamaların  zerine çalışma ile ilgili bilgiler yazıldıktan sonra preparatlar 3 gün süre ile kurumaya bırakılmıştır. Preparatlar kuruduktan sonra 13 dakika taze olarak hazırlanmış giemsa boyasında tutulmuştur. S renin sonunda preparatlar musluk suyunda yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Boyama işleminden sonra preparatlar entellanla kaplanmış ve üzerlerine lamel kapatılarak incelemeye hazır hale getirilmiştir.

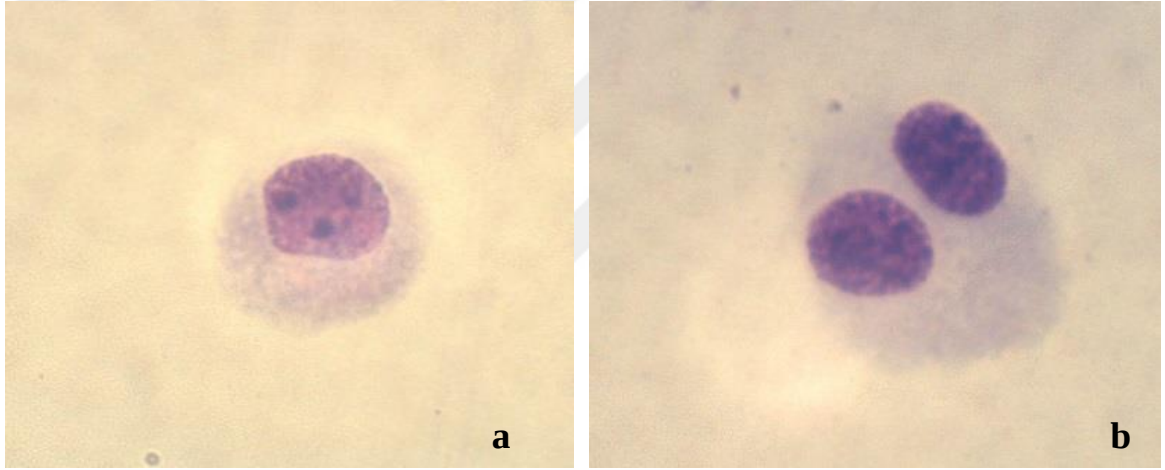
3.4.3. Mikroskopik inceleme

Hazırlanan preparatlar Nikon (ECLIPSE E100) marka binoküler ışık mikroskopunda 10x40 büyütmede incelenmiş ve Boeco (BM-180/T/SP) marka trinoküler ışık mikroskobu ile fotoğraflar çekilmiştir. Sitotoksik etkiyi belirlemek amacı ile her donöre ait prepareatlardan 1000 hücre incelenmiş ve bir ( ekil 3.11a), iki ( ekil 3.11b),   

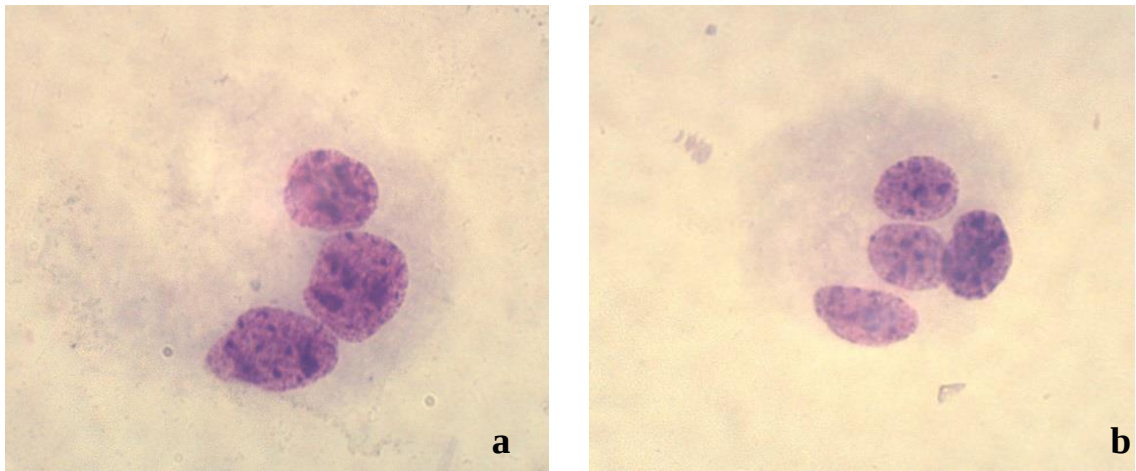
(Şekil 3.12a) ve dört çekirdekli (Şekil 3.12b) hücre sayısı belirlenmiştir. Elde edilen bu değerler kullanılarak aşağıdaki formüle göre nükleer bölünme indeksi (NBI) hesaplanmıştır (Fenech 2000).

$$\text{NBI} = (N1 \times 1 + N2 \times 2 + N3 \times 3 + N4 \times 4) / 1000$$

(N1: 1 nükleuslu hücre sayısı; N2: 2 nükleuslu hücre sayısı; N3: 3 nükleuslu hücre sayısı; N4: 4 nükleuslu hücre sayısı)



Şekil 3.11. Bir (a) ve iki (b) çekirdekli hücreler (10x100)



Şekil 3.12. Üç (a) ve dört (b) çekirdekli hücreler (10x100)

Genotoksik etkiyi belirlemek amacı ile her uygulama grubu için toplam 4000 tane iki çekirdekli (binükleus) hücre incelenmiş ve bu hücrelerdeki mikronükleuslar sayılmıştır. Mikronükleusların çekirdekle aynı yoğunlukta boyanmasına, çekirdeğin 1/3'ünden daha küçük olmasına ve ana çekirdekler ile bitişik olmamasına dikkat edilmiştir (Fenech 2000).

3.4.4. MN testinden elde edilen sonuçların istatistiksel analizi

Elde edilen MN ve NBİ değerlerine SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 13. 0 programı ile istatistiksel analiz uygulanmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarına ait değerler tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testleri ile karşılaştırılmıştır.

3.5. Kardeş Kromatit Değişimi (KKD) Testi

3.5.1. Hücre kültürünün hazırlanması

- 1) Steril hücre kültür tüplerine 6 ml kromozom B besiyeri konulmuştur.
- 2) Her kültür tüpüne 12 damla heparinize periferik kan damlatılmıştır.
- 3) Her kültür tüpüne 10 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde 0,25 ml 5-bromodeoksiuridin (BrdU) ilave edilmiş, tüpler alüminyum folyo ile sarılmış ve 37°C'de 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.
- 4) İnkübasyonun 24. saatinde kültür tüplerine, daha önceden belirlenmiş konsantrasyonlarda insektisit ve bitki ekstraktlarından 0,25 ml konulmuştur. Kültür tüpleri iyice karıştırıldıktan sonra tekrar 37°C'ye ayarlı etüve konulmuştur.
- 5) İnkübasyonun 70. saatinde her tüpe 0,2 ml kolsişin damlatılmış ve tüpler tekrar inkübasyona bırakılmıştır.
- 6) 72 saatin sonunda etüvden çıkarılan kültür tüpleri 1000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiştir.
- 7) Santrifüj işleminden sonra kültür tüplerinden süpernatantlar uzaklaştırılmıştır.

- 8) Kùltür tüplerinde kalan çökeltinin üzerine daha önceden hazırlanmış hipotonik çözeltiden konulmuştur. Kùltür tüpleri, içerisindeki çökelti ile hipotonik çözeltinin iyice karışması sağlandıktan sonra 37°C'ye ayarlı etüvde 25 dk bekletilmiştir.
- 9) Sürenin bitiminde kùltür tüpleri yine 1000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatantları atılmıştır.
- 10) 10 ml soğuk tespit çözeltisi çalkalayıcıda karıştırılarak kùltür tüplerine ilave edilmiş ve yine santrifüj işlemi yapılmıştır. Soğuk tespitten geçirme işlemine kùltür tüplerindeki çözelti berraklaşınca kadar devam edilmiştir. Çalkalayıcıda (Vorteks) karıştırma sadece ilk tespitte uygulanmıştır.
- 11) Tüplerdeki süpernatant son kez atıldıktan sonra dipte kalan çökelti pastör pipeti ile iyice karıştırılmıştır.

3.5.2. Preparatların hazırlanması ve boyanması

- 1) Kùltür tüplerindeki çökelti iyice karıştırıldıktan sonra pastör pipeti ile 25-30 cm yükseklikten soğuk tespit içerisinde tutulmuş lamaların üzerine damlatılmıştır. Bu şekilde çözeltinin lamaların üzerine iyice yayılması sağlanmıştır. Hazırlanan preparatlar üç gün ışığı görmeyen bir ortada kurumaya bırakılmıştır.
- 2) Preparatlar 100 ml fosfat (PBS) tampon çözeltisi içerisinde 15 dk. tutulduktan sonra bu çözeltinin içerisine son konsantrasyonu 0,5 mg/ml olacak şekilde Hoechst floresan boyası eklenmiş ve aynı çözelti içerisinde 25dk. daha bekletilmiştir.
- 3) PBS tamponundan çıkarılan preparatlar McIlVaine tamponu içerisinde 5dk bekletildikten sonra tepsiye dizilmiş ve yine McIlVaine tamponu ilave edilip üzerine lameller kapatılmıştır.
- 4) Tepsiye dizilen preparatlar 366 nm dalga boylu ultraviyole ışığı altında bir saat bekletilmiştir.
- 5) UV ışığına maruz bırakıldıktan sonra preparatlar musluk suyunda yıkanmış ve içerisinde 2xSSC çözeltisi bulunan şalelere dizilmiştir. Bu çözelti içerisinde 65°C'ye ayarlı sıcak su banyosunda 60 dk tutulmuştur.
- 6) Su banyosundan çıkarılan preparatlar musluk suyunda yıkanmış ve 13 dk giemsa boyasında bekletilerek boyanması sağlanmıştır.

7) Giemsa boyasından çıkarılan preparatlar musluk suyunda yıkandıktan sonra kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra ise entellan ile kaplanarak üzerine lamel kapatılmış ve incelemeye hazır hale getirilmiştir.

3.5.3. Mikroskopik inceleme

Preparatlar Nikon (ECLIPSE E100) marka binoküler mikroskopta immersiyon yağı kullanılarak 10x100 büyütmede incelenmiştir. Preparatlara ait fotoğraflar ise Boeco (BM-180/T/SP) marka trinoküler ışık mikroskopunda çekilmiştir.

Replikasyon indeksini (Rİ) hesaplamak için kan alınan her kişi için toplam 100 hücre incelenmiş ve bu hücreler birinci, ikinci ve üçüncü metafaz plağı olarak ayrılmış, sayıları belirlenmiştir. Elde edilen verilerden yola çıkarak aşağıdaki formüle göre Rİ değeri hesaplanmıştır.

$$R\dot{I} = (M1 \times 1 + M2 \times 2 + M3 \times 3) / 100$$

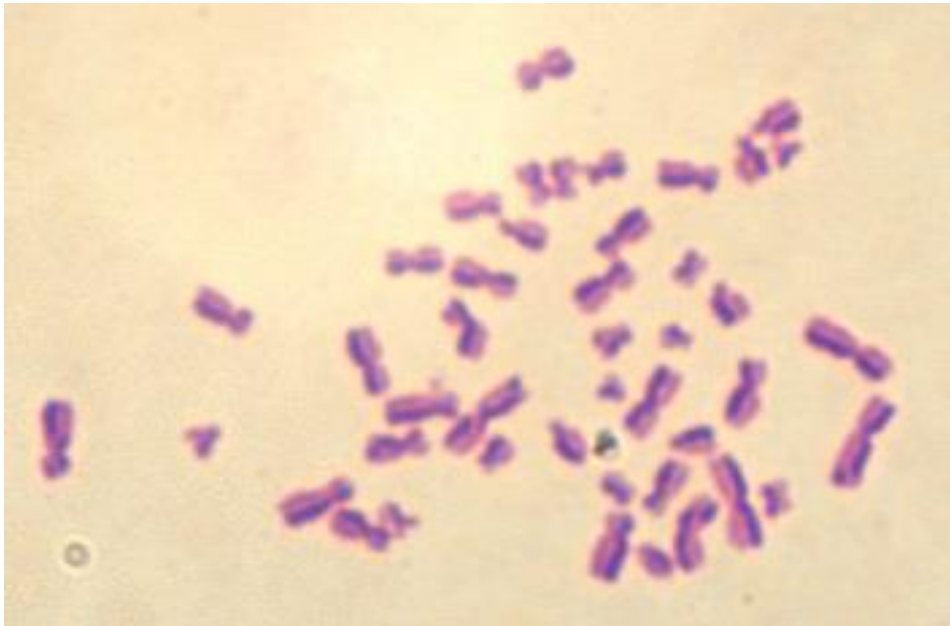
(M1: 1. Mitozdaki hücre sayısı; M2: 2. Mitozdaki hücre sayısı; M3: 3. Mitozdaki hücre sayısı)

Birinci mitoz bölünmeyi geçirmiş olan hücreler birinci metafaz plağı veya M1 hücresi olarak adlandırılmıştır. Bu hücrelerde kromozomların her iki kromatitide giemsa ile boyandığı için koyu renkli görünmektedirler (Şekil 3. 13).



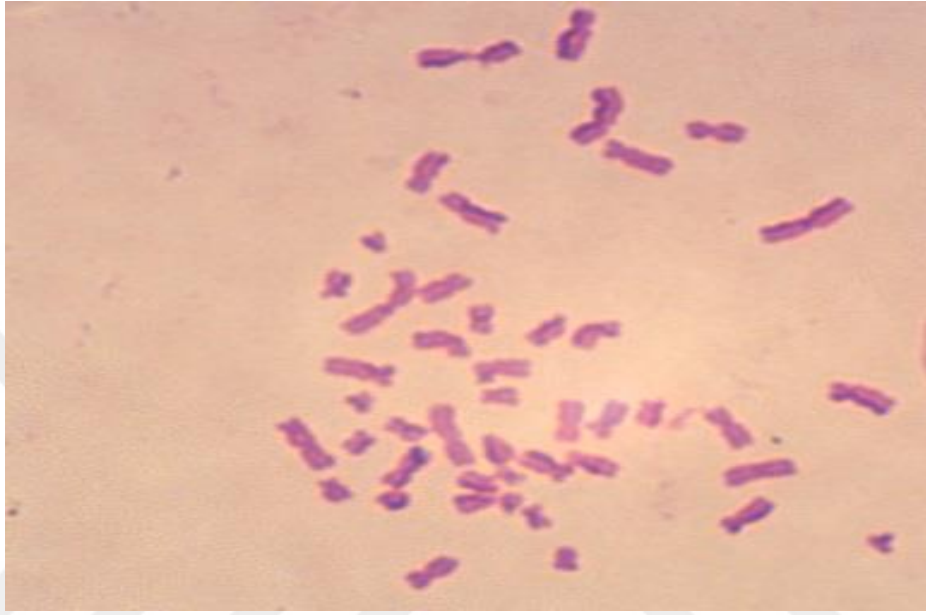
Şekil 3.13. Birinci metafaz plağına ait mikroskop görüntüsü (10x100)

İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreler ikinci metafaz plağı veya M2 hücresi olarak adlandırılmıştır. Bu hücrelerde ise kromozomun kromatitlerinden birisi giemsa ile boyandığı için koyu renkli diğeri ise Hoechst floresan boyası ile boyandığı için açık renkli görülmektedir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14. İkinci metafaz plağına ait mikroskop görüntüsü (10x100)

Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren M3 hücresinde ise bazı kromozomların bir kromatiti koyu bir kormatiti ise açık renkli boyanmıştır. Bazı kromozomların ise her iki kromatiti de açık renkli boyanmıştır (Şekil 3.15).



Şekil 3.15. Üçüncü metafaz plağına ait mikroskop görüntüsü (10x100)



Şekil 3.16. Bir ve iki KKD değişimi gerçekleşmiş kromozomlar (10x100)

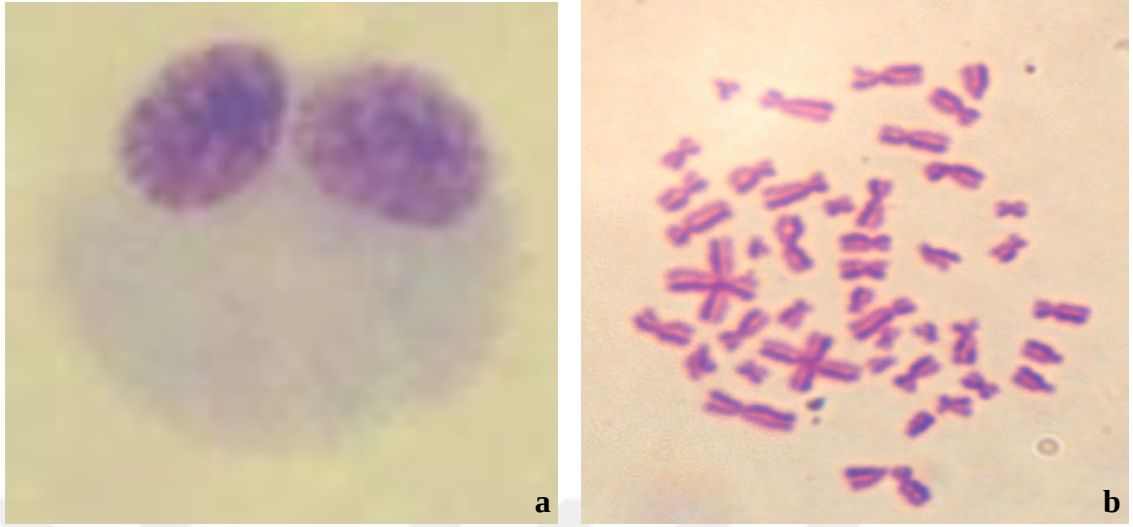
KKD sayısını belirlemek için kan alınan her kişiye ait 25 tane M2 metafaz plağı incelenmiştir (Şekil 3.14). Uygulama grupları dört donörden oluştuğu için her uygulama grubuna ait toplam 100 M2 metafaz plağının görüntüsüne bakılmıştır. M2 metafaz plaklarında kromatitlerden biri açık biri ise koyu renklidir. Açık renkli kromatitte koyu, koyu renkli kromatitte ise açık renkli bölgeler KKD değişimini göstermektedir. İncelenen M2 metafaz plaklarında bu tip bölgelerin sayısı belirlenerek KKD sayısı bulunmuştur. Kromozomun uç kısmındaki değişimler bir, orta kısmındaki değişimler ise iki KKD olarak sayılmıştır (Şekil 3.16). Sentromerdeki geçiş bölgeleri ise KKD olarak kabul edilmemiştir.

3.5.4. KKD testinden elde edilen sonuçların istatistiksel analizi

Elde edilen KKD ve Rİ değerlerinin istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 13. 0 programı ile yapılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarına ait veriler tek değişkenli varyans analizi (ANOVA) ve Tukey testleri ile karşılaştırılmıştır.

3.6. MN ve KKD test tekniklerine ait uygulama gruplarının belirlenmesi

MN testi için uygulama grupları; NBİ değerlerine ve binükleuslu hücre (Şekil 3.17a) sayısına, KKD testi için ise Rİ değerlerine ve M2 hücre sayısına (Şekil 3.17b) bakılarak belirlenmiştir. Ön çalışmalar neticesinde hem MN hem de KKD testleri için aynı uygulama grupları belirlenmiştir. Buna göre; profenofos için 0,25, 0,5, 0,75 ve 1 ppm, sipermetrin için 20, 30, 40 ve 50 ppm, fenvalerat için 25, 50, 75 ve 100 ppm, lufenuron için 10, 20, 30 ve 40 ppm, tetradifon için ise 50, 100, 150 ve 200 ppm'lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir.



Şekil 3.17. Binükleuslu hücre (a) ve M2 hücre plağı (b) (10X100)

Negatif kontrol grubu olarak profenofos, sipermetrin ve fenvalerat için %1'lik DMSO, lufenuron ve tetradifon için ise %1'lik aseton, tüm uygulama grupları için de pozitif kontrol grubu olarak 5 mM'lık EMS kullanılmıştır.

3.7. Kuşburnu Bitkisine Ait Farklı Ekstrelerin Elde Edilmesi ve Uygulanması

Kuşburnu bitkisinin meyveleri (Şekil 3.18) olgunlaşma dönemi olan eylül ayında Erzurum ilinin Aşkale ilçesine bağlı Kapıkale köyünün 2000–2200 m rakımlı dağlık alanlarından toplanmıştır. Kuşburnu meyveleri direkt ışık görmeyen temiz bir ortamda kurutulmuştur. Daha sonra blender yardımıyla hem meyvesi hem de içindeki tohumları öğütülmüştür. Kuşburnunun etanol ekstresi Çakır *et al.* (2005)'e göre hazırlanmıştır. Etanol ekstresini hazırlamak için, öğütülmüş kuşburnu örnekleri dört gün etanolde bekletilmiştir. Her günün sonunda bitki-etanol karışımı filtre edilmiş ve açığa çıkan çözültiden etanol uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan özüt etanol ekstresi (RC_{eta}) olarak kullanılmıştır. Kuşburnunun su ekstresi ise Halici *et al.* (2005) tarafından uygulanan yöntem baz alınarak hazırlanmıştır. Buna göre; 200 ml distile suya 100 gr öğütülmüş kuşburnu konulmuştur. Kuşburnu-su karışımı 50°C'ye ayarlanmış su banyosunda iki saat süreyle tutulmuş ve daha sonra filtre edilmiştir. Açığa çıkan çözülti liyofilizatörden geçirilerek kuşburnu bitkisinin su ekstresi (RC_{su}) elde edilmiştir. SMART için larval

mortalite değerleri baz alınmış ve bitki ekstrelerine (şekil 3. 19) ait uygulama konsantrasyonu %1 olarak seğilmiştir. Yapılan n çalışmalar neticesinde MN ve KKD testi için bitki ekstrelerine ait uygulama dozu ise 100 ppm olarak belirlenmiştir.



şekil 3.18. Kuşburnu meyvesi



şekil 3.19. Kuşburnu ekstrelerinin hazırlanışı

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu çalışmada profenofos, sipermetrin, fenvalerat, lufenuron ve tetradifon insektisitlerinin genotoksik etkileri araştırılmış ve olası genotoksik etkiler kuşburnu bitkisine ait su ve etanol ekstreleri ile giderilmeye çalışılmıştır. Bu amaçla *in vivo* test tekniği olan SMART ile *in vitro* test teknikleri olan MN ve KKD testleri kullanılmıştır. Çalışmada ilk önce her test tekniğine ait uygulama konsantrasyonları belirlenmiştir. Uygulama konsantrasyonları belirlendikten sonra sırasıyla SMART, MN ve KKD testlerinin uygulamaları yapılmıştır. Elde edilen sonuçlarla ilgili istatistikî değerlendirme yapılmış ve genotoksik etkili bulunan insektisitlerin bu etkileri bitki ekstreleri ile giderilmeye çalışılmıştır.

4.1. İnsektisit Uygulaması Sonucu SMART İçin Elde Edilen Bulgular

D. melanogaster'in mutant *flr*³ dişileri ile *mwh* erkeklerinin çaprazlanması sonucu elde edilen 3. evre trans-heterozigot larvalar, insektisitlere ait deney grupları ile 24 saat beslenmiştir. Bu larvalardan erginleşen bireylerin normal (Şekil 3.5a) ve serrat (Şekil 3.5b) kanatları ayrı ayrı incelenmiş ve her kanat tipindeki bir hücreli (Şekil 3.7a) ve iki hücreli (Şekil 3.7b) küçük tek tip, büyük tek tip (Şekil 3.8) ve ikiz klonlar (Şekil 3.9) ayrı ayrı değerlendirilerek insektisitlere ait mutasyon frekans değerleri elde edilmiştir.

4.1.1. Profenofos uygulaması

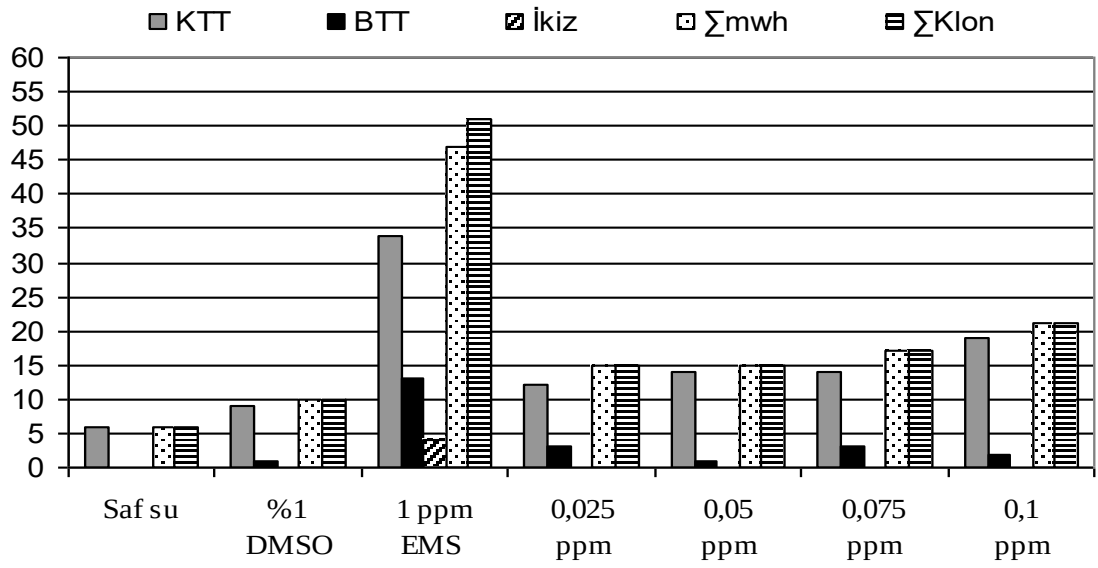
Çalışmada kullanılan ilk insektisit olan profenofosun *D. melanogaster*'in larvalarında toksik etki gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 3.5). Çizelge 3.5'de de görüldüğü gibi, negatif kontrol grubunda (%1 DMSO) %98 olan hayatta kalış oranının profenofosun en yüksek uygulama grubunda (0,1 ppm) %47'ye düştüğü belirlenmiştir. Bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

Profenofosa ait SMART'tan elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1, Şekil 4.1 ve 4.2'de gösterilmiştir. Normal kanatta profenofosun en yüksek uygulama grubunda (0,1 ppm) belirgin bir mutasyon artışı gözlenmiştir. DMSO kontrol grubunda küçük tek tip (KTT) klon frekansı 0,11; büyük tek tip (BTT) klon frekansı 0,01; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,13 olarak hesaplanmıştır. Pozitif kontrol grubunda (1 ppm EMS) ise KTT frekansı 0,43; BTT frekansı 0,16; ikiz klon frekansı 0,05; toplam mwh frekansı 0,59 ve toplam klon frekansı ise 0,64 bulunmuştur. Profenofosun en yüksek uygulama grubunda (0,1 ppm) ise bu değerler sırasıyla 0,24; 0,03 ve 0,26 olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında profenofosun en yüksek uygulama grubuna (0,1 ppm) ait KTT, toplam mwh ve toplam klon frekanslarındaki yükseliş istatistiksel olarak $P < 0,05$ düzeyinde pozitif etkili (+), BTT klon frekansındaki artış ise önemsiz etkili (i) sonuç vermiştir ($P > 0,05$). Negatif kontrol grubunda 0,51 olan KİF değeri ise profenofosun en yüksek uygulama grubunda 1,08'ya yükselmiştir.

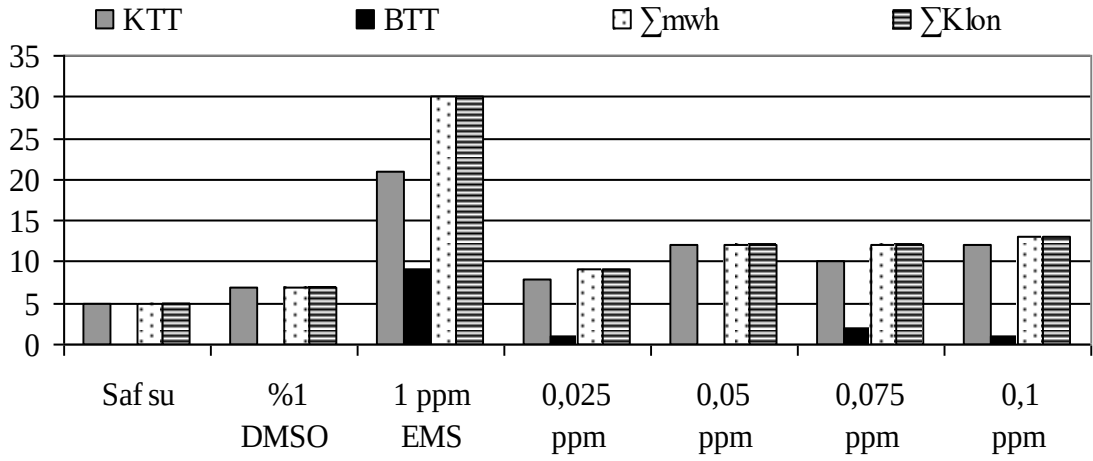
Serrat kanatta ise; DMSO kontrol grubuna ait KTT, toplam mwh ve toplam klon frekanslarının tümü 0,09; BTT klon frekansı ise 0,00 olarak hesaplanmıştır. Pozitif kontrol grubunda (1 ppm EMS) KTT frekansı 0,26; BTT frekansı 0,11; toplam mwh ve toplam klon frekansı ise 0,38 olarak tespit edilmiştir. Profenofosun en yüksek uygulama grubunda (0,1 ppm) ise KTT klon frekansı 0,15; BTT klon frekansı 0,01; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,18 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.1 ve Şekil 4.2). Negatif kontrol grubunda 0,36 olan KİF değeri ise profenofosun en yüksek uygulama grubunda 0,67'ya yükselmiştir. Negatif kontrol grubuna göre tüm klon frekanslarında gözlenen yükselişler istatistiksel olarak önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P > 0,05$).

Çizelge 4.1. Profenofos uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama grupları (ppm)	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon İndüksiyon Frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
Saf su	80	6	(0,08)		0	(0,00)		0	(0,00)		6	(0,08)		6	(0,08)		0,31
DMSO (%1)	80	9	(0,11)		1	(0,01)		0	(0,00)		10	(0,13)		10	(0,13)		0,51
EMS (1 ppm)	80	34	(0,43)	+	13	(0,16)	+	4	(0,05)	+	47	(0,59)	+	51	(0,64)	+	2,61
PROFENOFOS																	
0,025	80	12	(0,15)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	15	(0,19)	i	15	(0,19)	i	0,77
0,05	80	14	(0,18)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	15	(0,19)	i	15	(0,19)	i	0,77
0,075	80	14	(0,18)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	17	(0,21)	i	17	(0,21)	i	0,87
0,1	80	19	(0,24)	+	2	(0,03)	i	0	(0,00)	i	21	(0,26)	+	21	(0,26)	+	1,08
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
Saf su	80	5	(0,06)		0	(0,00)					5	(0,06)		5	(0,06)		0,26
DMSO (%1)	80	7	(0,09)		0	(0,00)					7	(0,09)		7	(0,09)		0,36
EMS (1ppm)	80	21	(0,26)	+	9	(0,11)	+				30	(0,38)	+	30	(0,38)	+	1,54
PROFENOFOS																	
0,025	80	8	(0,10)	i	1	(0,01)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46
0,05	80	12	(0,15)	i	0	(0,00)	i				12	(0,15)	i	12	(0,15)	i	0,61
0,075	80	10	(0,13)	i	2	(0,03)	i				12	(0,15)	i	12	(0,15)	i	0,61
0,1	80	12	(0,15)	i	1	(0,01)	i				13	(0,18)	i	13	(0,18)	i	0,67
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	



Şekil 4.1. Profenofos uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması



Şekil 4.2. Profenofos uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması

4.1.2. Sipermetrin uygulaması

Sipermetrin uygulaması ile larvalara ait ölüm ve hayatta kalış oranları Çizelge 3.5'de verilmiştir. Bu çizelgeye göre, %1 DMSO negatif kontrol grubunda %98 olan hayatta kalış oranı sipermetrinin en yüksek uygulama grubu olan 6 ppm'de %46'ya düşmüştür.

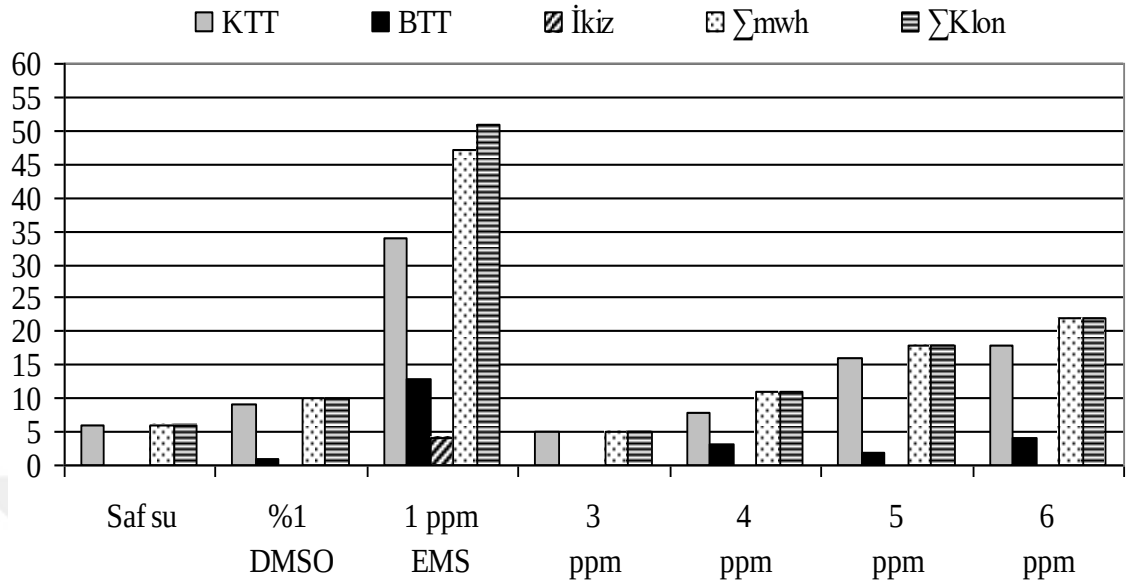
Bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Larval ölüm oranları için LD_{50} değerleri dikkate alınarak sipermetrin için 3, 4, 5 ve 6 ppm uygulama grubu olarak seçilmiştir.

Normal kanatta; sipermetrin uygulama gruplarına ait KTT klon frekansları sırasıyla; 0,06; 0,10; 0,20 ve 0,23; BTT klon frekansları 0,00; 0,04; 0,03 ve 0,05; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise sırasıyla 0,06; 0,14; 0,23 ve 0,28 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.3). DMSO kontrol grubunda 0,11 olan KTT klon frekansı, sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda (6 ppm) 0,23'e, 0,01 olan BTT klon frekansı da 0,05'e yükselmiştir. Fakat her iki klon tipinde de gözlenen bu yükselişler istatistiksel olarak önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$). Toplam mwh ve toplam klon frekansı ise negatif kontrol grubunda 0,13 iken, sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda (6 ppm) 0,28'e yükselmiştir. Benzer yükseliş KİF değerinde de gözlenmiştir. Kontrol grubunda 0,51 olan KİF değeri, sipermetrin en yüksek uygulama grubunda (6 ppm) 1,13 olarak hesaplanmıştır. Toplam mwh ve toplam klon frekanslarında gözlenen bu yükseliş istatistiksel olarak pozitif etkili (+) bulunmuştur ($P<0,05$).

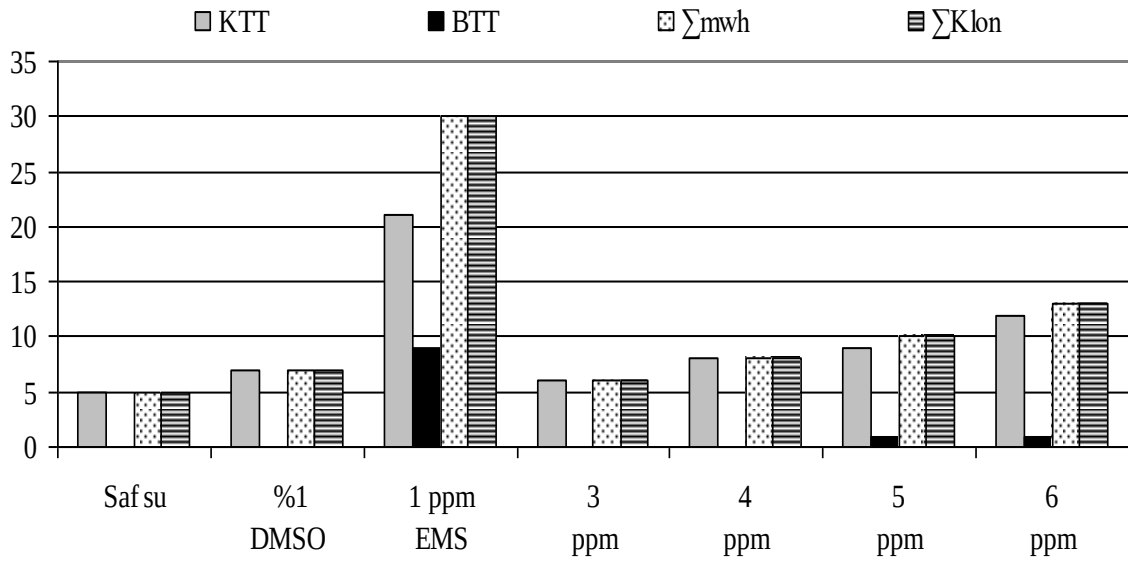
Serrat kanatta ise; sipermetrin uygulama gruplarına ait KTT klon frekansları sırasıyla; 0,08; 0,10; 0,11 ve 0,15; BTT klon frekansları 0,00; 0,00; 0,01 ve 0,01; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise sırasıyla 0,08; 0,10; 0,13 ve 0,16 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2 ve Şekil 4.4). Kontrol grubunda 0,09 olan KTT klon frekansı, sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda (6 ppm) 0,15'e; 0,00 olan BTT klon frekansı 0,01'e; 0,09 olan toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,16'ya yükselmiştir. Negatif kontrol grubunda 0,36 olan KİF değeri ise sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda 0,67 olarak hesaplanmıştır. Tüm klon tiplerinde gözlenen bu yükselişler istatistiki açıdan önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$).

Çizelge 4.2. Sipermetrin uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
Saf su	80	6	(0,08)		0	(0,00)		0	(0,00)		6	(0,08)		6	(0,08)		0,31
DMSO (%1)	80	9	(0,11)		1	(0,01)		0	(0,00)		10	(0,13)		10	(0,13)		0,51
EMS (1 ppm)	80	34	(0,43)	+	13	(0,16)	+	4	(0,05)	+	47	(0,59)	+	51	(0,64)	+	2,61
Sipermetrin																	
3	80	5	(0,06)	i	0	(0,00)	i	0	(0,00)	i	5	(0,06)	i	5	(0,06)	i	0,26
4	80	8	(0,10)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	11	(0,14)	i	11	(0,14)	i	0,56
5	80	16	(0,20)	i	2	(0,03)	i	0	(0,00)	i	18	(0,23)	i	18	(0,23)	i	0,92
6	80	18	(0,23)	i	4	(0,05)	i	0	(0,00)	i	22	(0,28)	+	22	(0,28)	+	1,13
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
Saf su	80	5	(0,06)		0	(0,00)					5	(0,06)		5	(0,06)		0,26
DMSO (%1)	80	7	(0,09)		0	(0,00)					7	(0,09)		7	(0,09)		0,36
EMS (1ppm)	80	21	(0,26)	+	9	(0,11)	+				30	(0,38)	+	30	(0,38)	+	1,54
Sipermetrin																	
3	80	6	(0,08)	i	0	(0,00)	i				6	(0,08)	i	6	(0,08)	i	0,31
4	80	8	(0,10)	i	0	(0,00)	i				8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,41
5	80	9	(0,11)	i	1	(0,01)	i				10	(0,13)	i	10	(0,13)	i	0,51
6	80	12	(0,15)	i	1	(0,01)	i				13	(0,16)	i	13	(0,16)	i	0,67
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	



Şekil 4.3. Sipermetrin uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması



Şekil 4.4. Sipermetrin uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması

4.1.3. Fenvalerat uygulaması

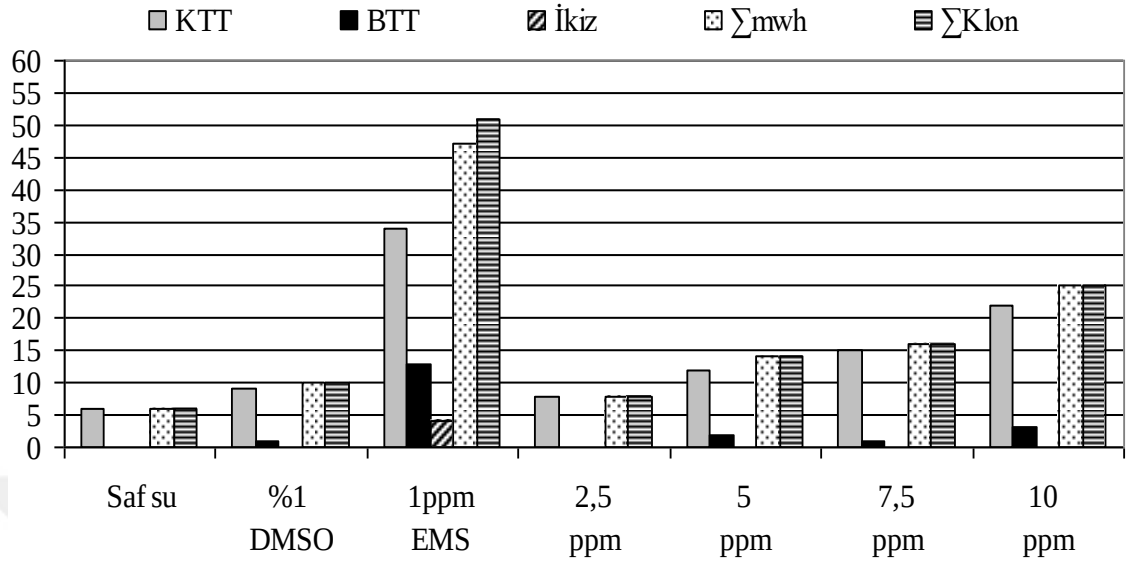
Fenvalerat uygulaması sonucu trans-heterozigot larvalarda görülen ölüm ve hayatta kalış oranları Çizelge 3.5’de verilmiştir. Çizelgeye göre, DMSO negatif kontrol grubunda %98 olan hayatta kalış oranı fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (10 ppm) %55 olarak tespit edilmiştir. Bu değer aynı zamanda LD₅₀ değeri olarak kabul edilmiştir. Hayatta kalış oranları bakımından kontrol ve uygulama grupları arasında gözlenen farklılık $P<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Larvalara ait ölüm ve hayatta kalış oranları göz önünde bulundurularak fenvalerat için 2,5; 5; 7,5 ve 10 ppm’lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir.

Normal kanat için; fenvalerat uygulama gruplarına ait KTT klon frekansları sırasıyla; 0,10; 0,15; 0,19 ve 0,28; BTT klon frekansları 0,00; 0,03; 0,01 ve 0,04; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,10; 0,18; 0,20 ve 0,31 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.5). DMSO kontrol grubunda 0,11 olan KTT klon frekansı, fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (10 ppm) 0,28’e; 0,01 olan BTT klon frekansı 0,04’e; 0,13 olan toplam mwh ve toplam klon frekansı 0,31, 0,51 olan KİF değeri ise 1,28’e yükselmiştir. KTT, toplam mwh ve toplam klon frekanslarındaki yükselişler istatistiki açıdan pozitif etkili (+) ($P<0,05$), BTT klon frekansındaki artış ise önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$).

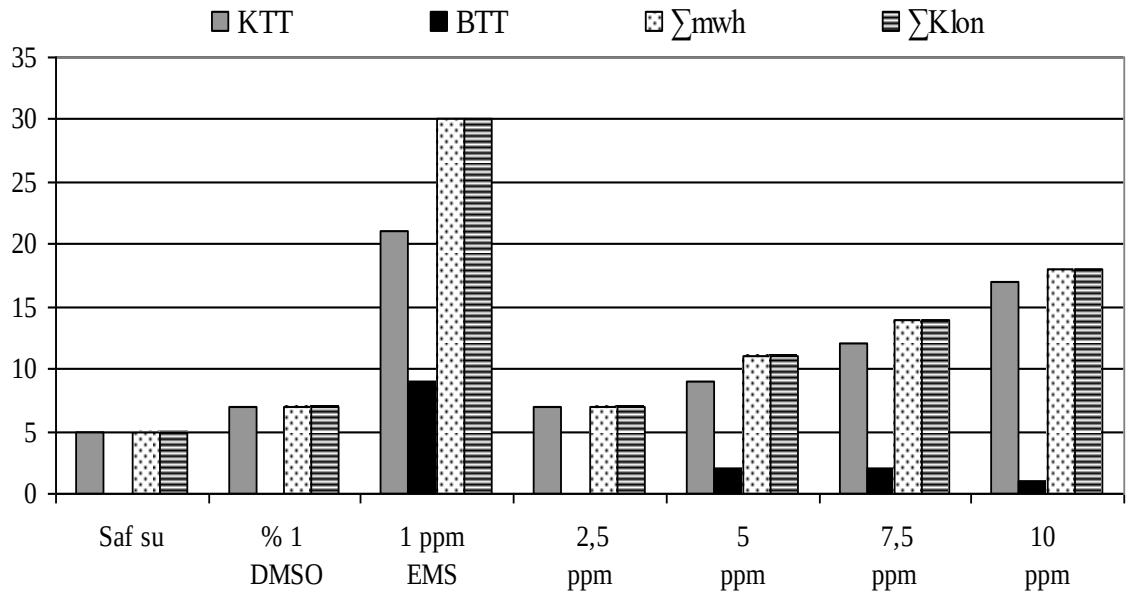
Serrat kanatta ise; fenvaleratın tüm uygulama gruplarına ait KTT klon frekansı sırasıyla 0,09; 0,11; 0,15 ve 0,21; BTT klon frekansları 0,00; 0,03; 0,03 ve 0,01; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise sırasıyla 0,09; 0,14; 0,18 ve 0,23 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3 ve Şekil 4.6). Negatif kontrol grubunda 0,09 olan KTT klon frekansı, fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (10 ppm) 0,21’e; 0,00 olan BTT klon frekansı 0,01’e; 0,09 olan toplam mwh ve toplam klon frekansı ise 0,23’e yükselmiştir. KİF değeri ise 0,36 dan 0,92’ye yükselmiştir. Serrat kanat sonuçları içerisinde, diğer insektisitlerden farklı olarak fenvalerat, KTT, toplam mwh ve toplam klon frekansı yönüyle istatistiksel olarak pozitif etkiye (+) sebep olmuştur ($P<0,05$). BTT klon frekansındaki gözlenen yükseliş ise önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$).

Çizelge 4.3. Fenvalerat uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
Saf su	80	6	(0,08)		0	(0,00)		0	(0,00)		6	(0,08)		6	(0,08)		0,31
DMSO (%1)	80	9	(0,11)		1	(0,01)		0	(0,00)		10	(0,13)		10	(0,13)		0,51
EMS (1 ppm)	80	34	(0,43)	+	13	(0,16)	+	4	(0,05)	+	47	(0,59)	+	51	(0,64)	+	2,61
Fenvalerat																	
2,5	80	8	(0,10)	i	0	(0,00)	i	0	(0,00)	i	8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,41
5	80	12	(0,15)	i	2	(0,03)	i	0	(0,00)	i	14	(0,18)	i	14	(0,18)	i	0,72
7,5	80	15	(0,19)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	16	(0,20)	i	16	(0,20)	i	0,82
10	80	22	(0,28)	+	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	25	(0,31)	+	25	(0,31)	+	1,28
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
Saf su	80	5	(0,06)		0	(0,00)					5	(0,06)		5	(0,06)		0,26
DMSO (%1)	80	7	(0,09)		0	(0,00)					7	(0,09)		7	(0,09)		0,36
EMS (1ppm)	80	21	(0,26)	+	9	(0,11)	+				30	(0,38)	+	30	(0,38)	+	1,54
Fenvalerat																	
2,5	80	7	(0,09)	i	0	(0,00)	i				7	(0,09)	i	7	(0,09)	i	0,36
5	80	9	(0,11)	i	2	(0,03)	i				11	(0,14)	i	11	(0,14)	i	0,56
7,5	80	12	(0,15)	i	2	(0,03)	i				14	(0,18)	i	14	(0,18)	i	0,72
10	80	17	(0,21)	+	1	(0,01)	i				18	(0,23)	+	18	(0,23)	+	0,92
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	



Şekil 4.5. Fenvalerat uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması



Şekil 4.6. Fenvalerat uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması

4.1.4. Lufenuron uygulaması

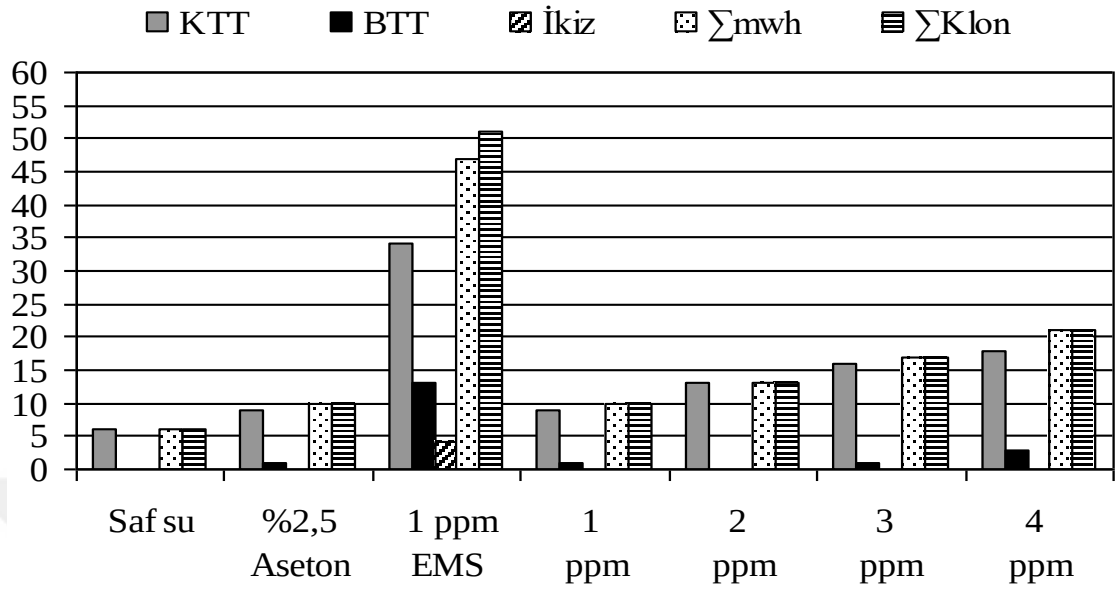
Lufenuron uygulaması sonucu elde edilen larval ölüm ve hayatta kalış oranları Çizelge 3.6'da verilmiştir. Çizelge 3.6'ya göre %2,5 aseton negatif kontrol grubunda %96 olan hayatta kalış oranı lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (4 ppm) %52'ye düşmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$). Larval ölüm ve hayatta kalış oranları LD_{50} değeri olarak değerlendirilmiş ve lufenuron için 1, 2, 3 ve 4 ppm'lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir.

Normal kanatta; %2,5 aseton negatif kontrol grubuna ait KTT, BTT, toplam mwh ve toplam klon frekansları sırası ile; 0,10; 0,01; 0,11 ve 0,11 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7). Lufenuron uygulama gruplarında ise KTT klon frekansları sırası ile 0,11; 0,16; 0,20 ve 0,23; BTT klon frekansları 0,01; 0,00; 0,01 ve 0,04; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise sırası ile 0,13; 0,16; 0,21 ve 0,26 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.7). Negatif kontrol grubunda 0,10 olan KTT klon frekansının lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (4 ppm) 0,23'e, 0,01 olan BTT klon frekansının 0,04'e, 0,13 olan toplam mwh ve toplam klon frekanslarının ise 0,26'ya, 0,46 olan KİF değerinin ise 1,08'e yükseldiği gözlenmiştir. BTT klon frekansı hariç diğer klon frekanslarında gözlenen yükselişler istatistiksel açıdan pozitif etkili (+) bulunmuştur ($P<0,05$). BTT klon frekansındaki yükseliş ise önemsiz (i) etkili bulunmuştur ($P>0,05$).

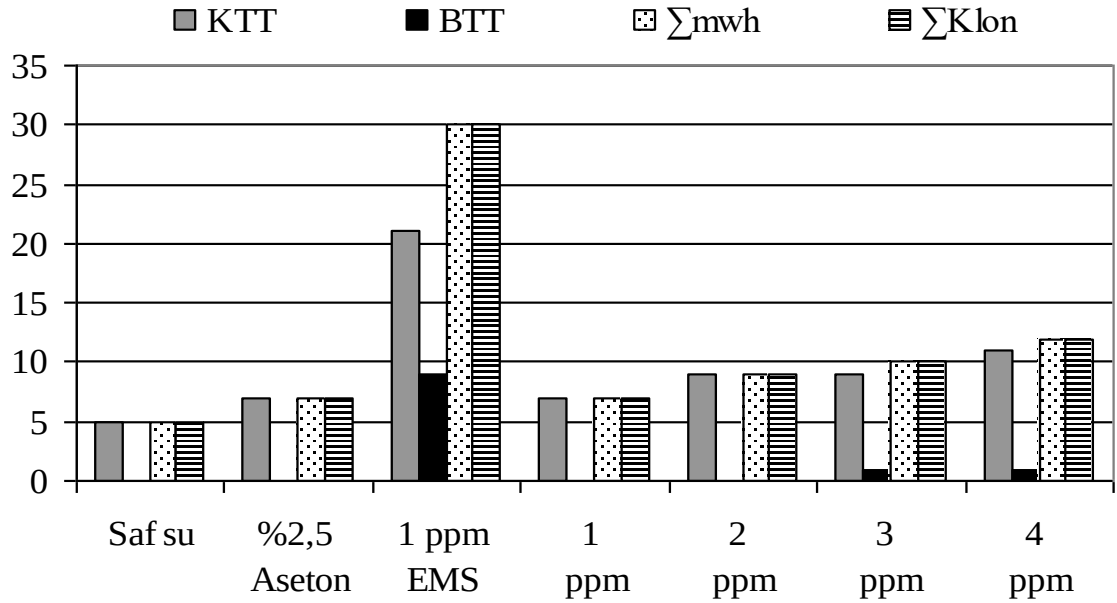
Serrat kanatta ise; negatif kontrol grubuna (%2,5 aseton) ait BTT klon frekansı 0,00, diğer klon frekansları ise 0,09 olarak tespit edilmiştir. Lufenuron uygulama gruplarında ise KTT klon frekansları sırasıyla; 0,09; 0,11; 0,11 ve 0,14; BTT klon frekansları 0,00; 0,00; 0,01 ve 0,01; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,09; 0,11; 0,13 ve 0,15 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). KİF değerleri ise negatif kontrol grubunda 0,36, uygulama gruplarında ise sırasıyla 0,36; 0,46; 0,51 ve 0,62 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.8). Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tüm klon frekanslarında ve KİF değerinde artış olmasına rağmen, bu artışlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.4. Lufenuron uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama Grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
Saf su	80	6	(0,08)		0	(0,00)		0	(0,00)		6	(0,08)		6	(0,08)		0,31
Aseton (%2,5)	80	8	(0,10)		1	(0,01)		0	(0,00)		9	(0,11)		9	(0,11)		0,46
EMS (1 ppm)	80	34	(0,43)	+	13	(0,16)	+	4	(0,05)	+	47	(0,59)	+	51	(0,64)	+	2,61
Lufenuron																	
1	80	9	(0,11)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	10	(0,13)	i	10	(0,13)	i	0,51
2	80	13	(0,16)	i	0	(0,00)	i	0	(0,00)	i	13	(0,16)	i	13	(0,16)	i	0,67
3	80	16	(0,20)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	17	(0,21)	i	17	(0,21)	i	0,87
4	80	18	(0,23)	+	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	21	(0,26)	+	21	(0,26)	+	1,08
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
Saf su	80	5	(0,06)		0	(0,00)					5	(0,06)		5	(0,06)		0,26
Aseton (%2,5)	80	7	(0,09)		0	(0,00)					7	(0,09)		7	(0,09)		0,36
EMS (1ppm)	80	21	(0,26)	+	9	(0,11)	+				30	(0,38)	+	30	(0,38)	+	1,54
Lufenuron																	
1	80	7	(0,09)	i	0	(0,00)	i				7	(0,09)	i	7	(0,09)	i	0,36
2	80	9	(0,11)	i	0	(0,00)	i				9	(0,11)	i	9	(0,11)	i	0,46
3	80	9	(0,11)	i	1	(0,01)	i				10	(0,13)	i	10	(0,13)	i	0,51
4	80	11	(0,14)	i	1	(0,01)	i				12	(0,15)	i	12	(0,15)	i	0,62
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	



Şekil 4.7. Lufenuron uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması



Şekil 4.8. Lufenuron uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması

4.1.5. Tetradifon uygulaması

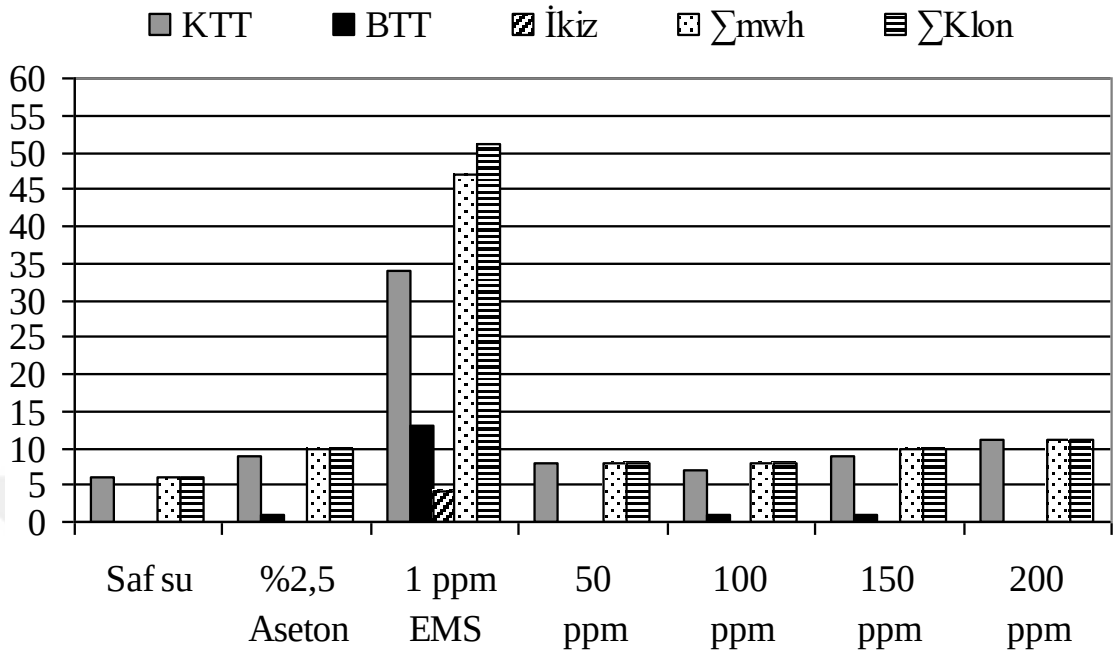
Tetradifon uygulaması sonucu elde edilen larval ölüm ve hayatta kalış oranları da Çizelge 3.6'de verilmiştir. Çizelgeye göre negatif kontrol grubunda (%2,5 aseton) %96 olan hayatta kalış oranı tetradifonun en yüksek uygulama grubunda (200 ppm) %88'e düşmüştür. Bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Larva ölüm ve hayatta kalış oranları göz önünde bulundurularak, tetradifon için 50, 100, 150 ve 200 ppm'lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir. 200 ppm'in üzerindeki konsantrasyonlarda tetradifon yeterince çözünmediği için çalışma yapılamamıştır.

Normal kanatta; aseton negatif kontrol grubuna (%2,5 aseton) ait KTT, BTT, toplam mwh ve toplam klon frekansları sırası ile; 0,10; 0,01; 0,11 ve 0,11 olarak tespit edilmiştir. Tetradifon uygulama gruplarında ise KTT klon frekansları sırası ile 0,10; 0,09; 0,11 ve 0,14; BTT klon frekansları 0,00; 0,01; 0,01 ve 0,00; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise sırası ile 0,10; 0,10; 0,13 ve 0,14 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.9). Negatif kontrol grubunda 0,10 olan KTT klon frekansının tetradifonun en yüksek uygulama grubunda (200 ppm) 0,14'e, 0,11 olan toplam mwh ve toplam klon frekanslarının ise 0,14'e, 0,46 olan KİF değerinin ise 0,56'ya yükseldiği gözlenmiştir. BTT ve ikiz klon frekansı hariç diğer klon frekanslarında ve KİF değerinde gözlenen yükselişler istatistiksel açıdan önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$).

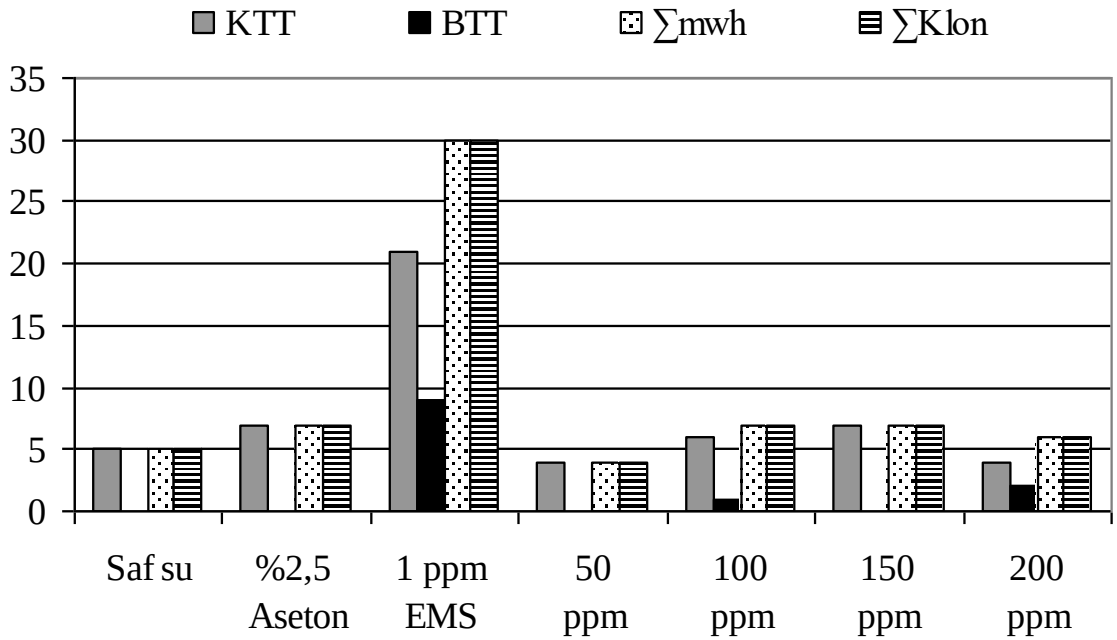
Serrat kanatta ise; negatif kontrol grubuna (%2,5 aseton) ait BTT klon frekansı 0,00, diğer klon frekansları ise 0,09 olarak tespit edilmiştir. Tetradifon uygulama gruplarında ise KTT klon frekansları sırasıyla; 0,05; 0,08; 0,09 ve 0,05; BTT klon frekansları 0,00; 0,01; 0,00 ve 0,03; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,05; 0,09; 0,09 ve 0,08 olarak tespit edilmiştir. KİF değerleri ise negatif kontrol grubunda 0,36, uygulama gruplarında ise sırasıyla 0,23; 0,36; 0,36 ve 0,31 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.10). Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece BTT klon frekanslarında artış gözlenmiş, fakat istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$).

Çizelge 4.5. Tetradifon uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama Grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (<i>mwh/flr³</i>)																	
Saf su	80	6	(0,08)		0	(0,00)		0	(0,00)		6	(0,08)		6	(0,08)		0,31
Aseton (%2,5)	80	8	(0,10)		1	(0,01)		0	(0,00)		9	(0,11)		9	(0,11)		0,46
EMS (1 ppm)	80	34	(0,43)	+	13	(0,16)	+	4	(0,05)	+	47	(0,59)	+	51	(0,64)	+	2,61
Tetradifon																	
50	80	8	(0,10)	i	0	(0,00)	i	0	(0,00)	i	8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,41
100	80	7	(0,09)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	8	(0,10)	i	8	(0,10)	i	0,41
150	80	9	(0,11)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	10	(0,13)	i	10	(0,13)	i	0,51
200	80	11	(0,14)	i	0	(0,00)	i	0	(0,00)	i	11	(0,14)	i	11	(0,14)	i	0,56
Serrat kanat (<i>mwh/TM3</i>)																	
Saf su	80	5	(0,06)		0	(0,00)					5	(0,06)		5	(0,06)		0,26
Aseton (%2,5)	80	7	(0,09)		0	(0,00)					7	(0,09)		7	(0,09)		0,36
EMS (1ppm)	80	21	(0,26)	+	9	(0,11)	+				30	(0,38)	+	30	(0,38)	+	1,54
Tetradifon																	
50	80	4	(0,05)	i	0	(0,00)	i				4	(0,05)	i	4	(0,05)	i	0,23
100	80	6	(0,08)	i	1	(0,01)	i				7	(0,09)	i	7	(0,09)	i	0,36
150	80	7	(0,09)	i	0	(0,00)	i				7	(0,09)	i	7	(0,09)	i	0,36
200	80	4	(0,05)	i	2	(0,03)	i				6	(0,08)	i	6	(0,08)	i	0,31
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	



Şekil 4.9. Tetradifon uygulaması sonucu normal kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması



Şekil 4.10. Tetradifon uygulaması sonucu serrat kanat fenotipi için SMART'a ait değerlerin karşılaştırılması

4.2. İnsektisitler ile Kuşburnu Bitkisine Ait Ekstrelerin Birlikte Uygulanması Sonucu SMART İçin Elde Edilen Bulgular

Deneysel çalışmaların ikinci kısmı için insektisitler+RC_{su}/RC_{eta} uygulama grupları oluşturulmuştur. Tetradifon hariç kullanılan tüm insektisitlerin en yüksek uygulama grubunda (Çizelge 4.1; 4.2; 4.3; 4.4 ve 4.5) genotoksik etki gözlenmiş olduğu için, kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin insektisitler ile birlikte kullanımında pozitif etkili olan en yüksek uygulama grupları tercih edilmiştir. Bu uygulama grupları profenofos için 0,1 pmm, sipermetrin için 6 ppm, fenvalerat için 10 ppm ve lufenuron için 4 ppm'dir. Kuşburnu bitkisinin su ve etanol ekstrelerin bu grupları ile birlikte kullanılmıştır. Öncelikle kuşburnu bitkisine ait su ve etanol ekstrelerinin *D.melanogaster*'in trans-heterozigot larvaları üzerine toksik etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla larvalara ait ölüm ve hayatta kalış oranları belirlenmiştir (Çizelge 3.7). Çizelgeye göre, bitki ekstreleri için çözücü olarak kullanılan saf su ile %1'lik su ekstresinde (RC_{su}) larvaların hayatta kalış oranı %97, %1'lik etanol ekstresinde (RC_{eta}) ise %95 olarak bulunmuştur. Negatif kontrol grubu olarak kullanılan saf su ile %1'lik bitki ekstrelerine ait hayatta kalış değerleri arasında istatistiksel olarak ($P>0,05$) fark bulunmadığı için %1'lik bitki ekstresi konsantrasyonunun toksik etki göstermediği sonucuna ulaşılmış ve bu konsantrasyon uygulama grubu olarak seçilmiştir.

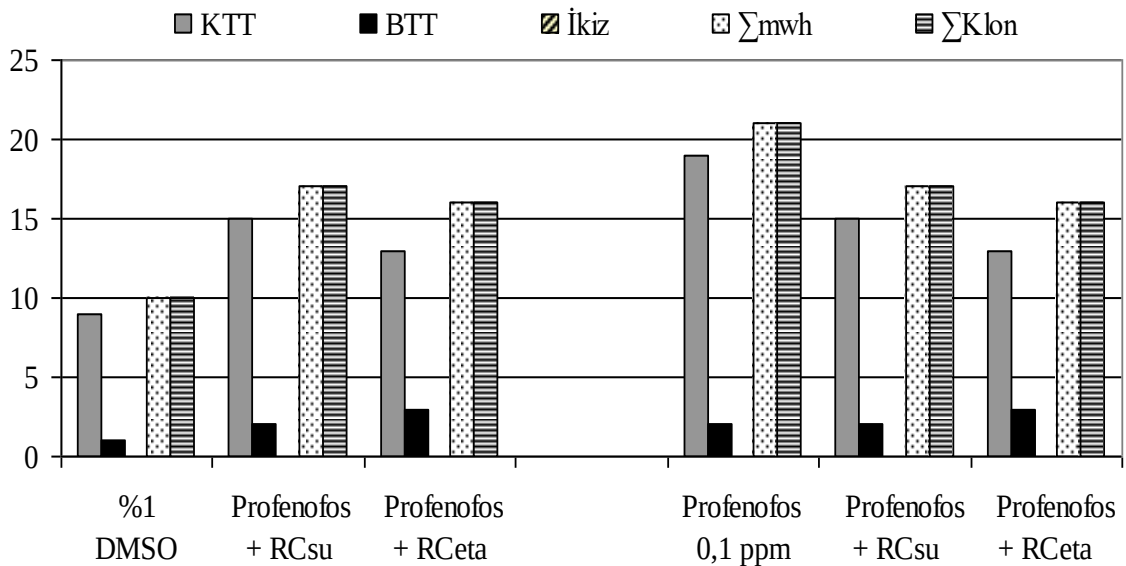
4.2.1. Profenofos insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması

Normal kanatta; profenofosun en yüksek konsantrasyonu (0,1 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} uygulama grubunda KTT, BTT, toplam mwh ve toplam klon frekansları sırası ile 0,19; 0,03; 0,21 ve 0,21, RC_{eta} uygulama grubunda ise sırasıyla 0,16; 0,04; 0,20 ve 0,20 olarak tespit edilmiştir. KİF değerleri ise RC_{su} uygulama grubunda 0,87, RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,82 olarak hesaplanmıştır. İkiz klon frekansları ise her iki uygulamada da 0,00 bulunmuştur (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.11).

DMSO negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; negatif kontrol grubunda 0,11 olan KTT klon frekansı RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında sırasıyla; 0,19 ve 0,16; 0,01

olan BTT klon frekansı 0,03 ve 0,04; 0,13 olan toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,21 ve 0,17; 0,51 olan KİF değeri ise 0,87 ve 0,82 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.11). İkiz klon frekansı hariç diğer tüm klon frekanslarında artış gözlenmiş, fakat bu artışlar önemsiz (i) etkili bulunmuştur ($P>0,05$). Yani profenofos ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları negatif kontrol grubuna göre mutasyon frekansında istatistiksel olarak önemli bir artışa yol açmamıştır.

Profenofosun en yüksek uygulama grubu (0,1 ppm) ile karşılaştırıldığında ise; RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında KTT, toplam mwh ve toplam klon frekansları yönüyle azalmalar gözlenmiştir (Çizelge 4.6 ve Şekil 4.11). Şöyle ki; profenofosun en yüksek uygulama grubunda 0,24 olan KTT klon frekansı RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında sırasıyla 0,19 ve 0,16'ya; 0,26 olan toplam mwh ve toplam klon frekansları ise RC_{su} uygulama grubunda 0,21'e ve RC_{eta} uygulama grubunda 0,20'ye düşmüştür. Bu düşüşler istatistiksel olarak negatif etkili bulunmuştur ($P<0,05$). Serrat kanatta ise profenofosun en yüksek uygulama grubu pozitif etkili bulunmadığı için bitki ekstraları ile iyileştirici etki çalışılmamıştır.



Şekil 4.11. Profenofos+kuşburnu ekstralarının uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması

Çizelge 4.6. Profenofos+kuşburnu ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)		1	(0,01)		0	(0,00)		10	(0,13)		10	(0,13)		0,51
Profenofos + RC _{su}	80	15	(0,19)	i	2	(0,03)	i	0	(0,00)	i	17	(0,21)	i	17	(0,21)	i	0,87
Profenofos + RC _{eta}	80	13	(0,16)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	16	(0,20)	i	16	(0,20)	i	0,82
Profenofos 0,1	80	19	(0,24)		2	(0,03)		0	(0,00)		21	(0,26)		21	(0,26)		1,08
Profenofos + RC _{su}	80	15	(0,19)	-	2	(0,03)	i	0	(0,00)	i	17	(0,21)	-	17	(0,21)	-	0,87
Profenofos + RC _{eta}	80	13	(0,16)	-	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	16	(0,20)	-	16	(0,20)	-	0,82

Çizelge 4.7. Sipermetrin+kuşburnu ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu SMART için elde edilen değerler

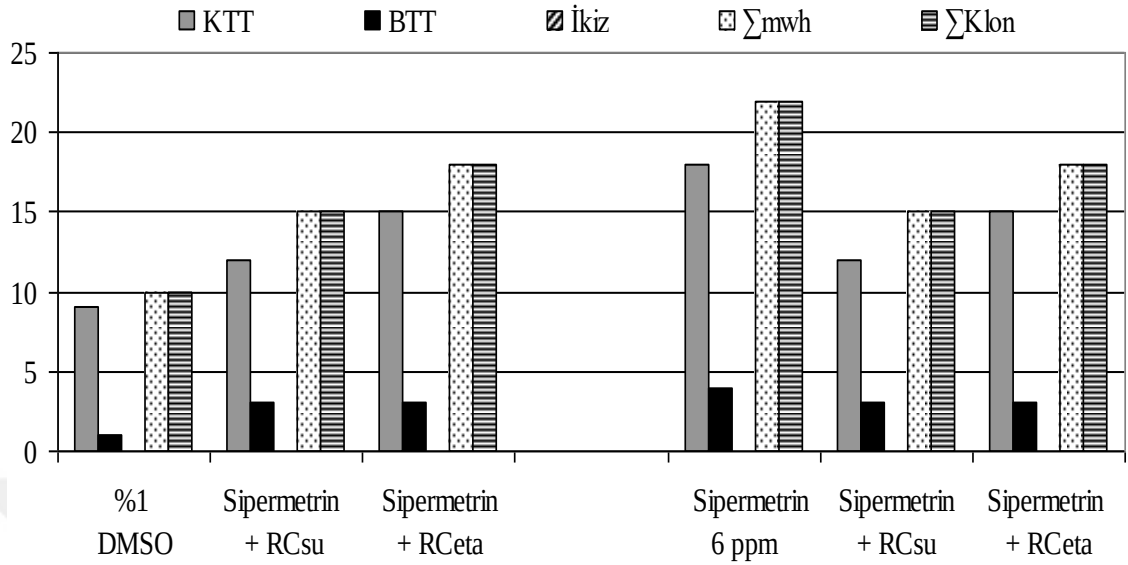
Uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)		1	(0,01)		0	(0,00)		10	(0,13)		10	(0,13)		0,51
Sipermetrin + RC _{su}	80	12	(0,15)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	15	(0,19)	i	15	(0,19)	i	0,77
Sipermetrin + RC _{eta}	80	15	(0,19)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	18	(0,23)	i	18	(0,23)	i	0,92
Sipermetrin 6	80	18	(0,23)		4	(0,05)		0	(0,00)		22	(0,28)		22	(0,28)		1,13
Sipermetrin +RC _{su}	80	12	(0,15)	-	3	(0,04)	-	0	(0,00)	i	15	(0,19)	-	15	(0,19)	-	0,77
Sipermetrin +RC _{eta}	80	15	(0,19)	-	3	(0,04)	-	0	(0,00)	i	18	(0,23)	-	18	(0,23)	-	0,92
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	

4.2.2. Sipermetrin insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması

Normal kanatta; sipermetrinin en yüksek konsantrasyonu (6 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} uygulama grubunda KTT, BTT, ikiz klon, toplam mwh ve toplam klon frekansları sırasıyla 0,15; 0,04; 0,00; 0,19 ve 0,19; RC_{eta} uygulama grubunda ise bu değerler 0,19; 0,04; 0,00; 0,23 ve 0,23 olarak tespit edilmiştir. KİF değeri ise RC_{su} uygulama grubunda 0,77; RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,92 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12).

RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları ile DMSO negatif kontrol grubu karşılaştırıldığında; DMSO kontrol grubunda 0,11 olan KTT klon frekansı, RC_{su} uygulama grubunda 0,15'e, RC_{eta} uygulama grubunda 0,19'a; 0,01 olan BTT klon frekansı hem RC_{su} hem de RC_{eta} uygulama grubunda 0,04'e; 0,13 olan toplam mwh ve toplam klon frekansları ise RC_{su} uygulama grubunda 0,19'a, RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,23'e; 0,51 olan KİF değeri ise RC_{su} uygulama grubunda 0,77'ye, RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,92'ye yükselmiştir (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12). Mutasyon frekanslarında gözlenen bu yükselişler istatistiksel açıdan önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$). İkiz klon frekansında ise kontrol grubuna göre herhangi bir yükseliş olmamıştır.

RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları ile sipermetrinin en yüksek uygulama grubu (6 ppm) karşılaştırıldığında ise; KTT, BTT, toplam mwh ve toplam klon frekanslarında istatistiksel olarak negatif etkili (-) kabul edilen azalmalar görülmüştür. Şöyle ki; sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda 0,23 olan KTT klon frekansı RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında sırasıyla 0,15 ve 0,19'a; 0,05 olan BTT klon frekansı her iki uygulama grubunda da 0,04'e; 0,28 olan toplam mwh ve toplam klon frekansı ise 0,19 ve 0,23'e düşmüştür (Çizelge 4.7 ve Şekil 4.12). Benzer düşüşler KİF değerlerinde de gözlenmiştir. En yüksek uygulama grubunda 1,13 olan KİF değeri, RC_{su} uygulama grubunda 0,77; RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,92 olarak hesaplanmıştır. Serrat kanatta ise sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda pozitif (+) etki gözlenmediği için, pofenofosta olduğu gibi, bitki ekstreleri ile iyileştirici çalışılması yapılmamıştır.



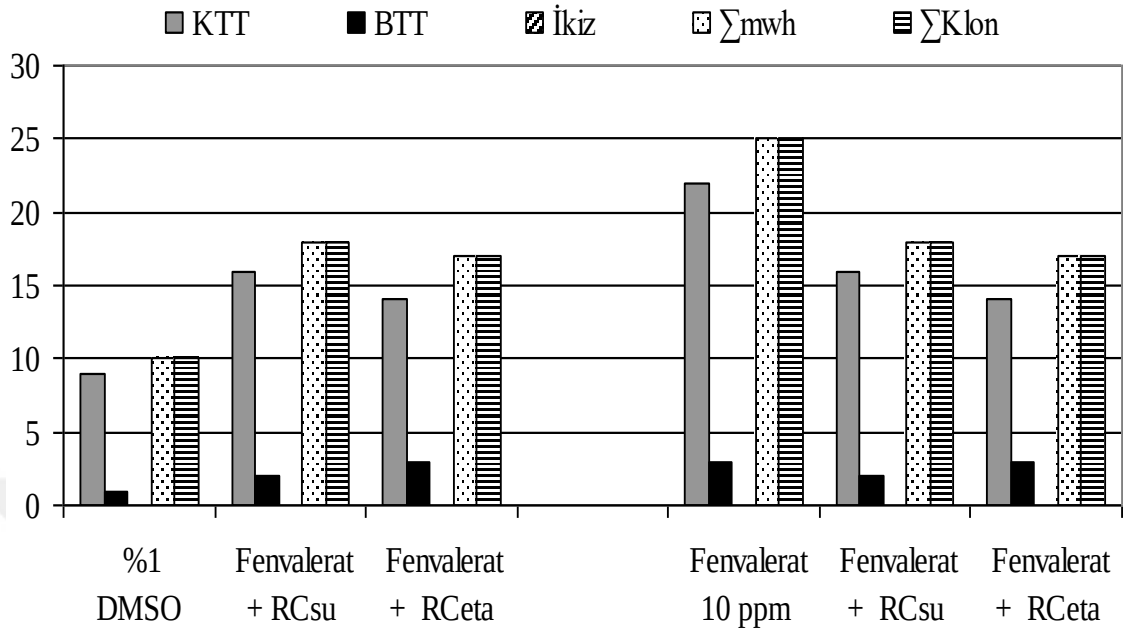
Şekil 4.12. Sipermetrin+kuşburnu ekstralarının uygulaması sonucu SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması

4.2.3. Fenvalerat insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstraların uygulanması

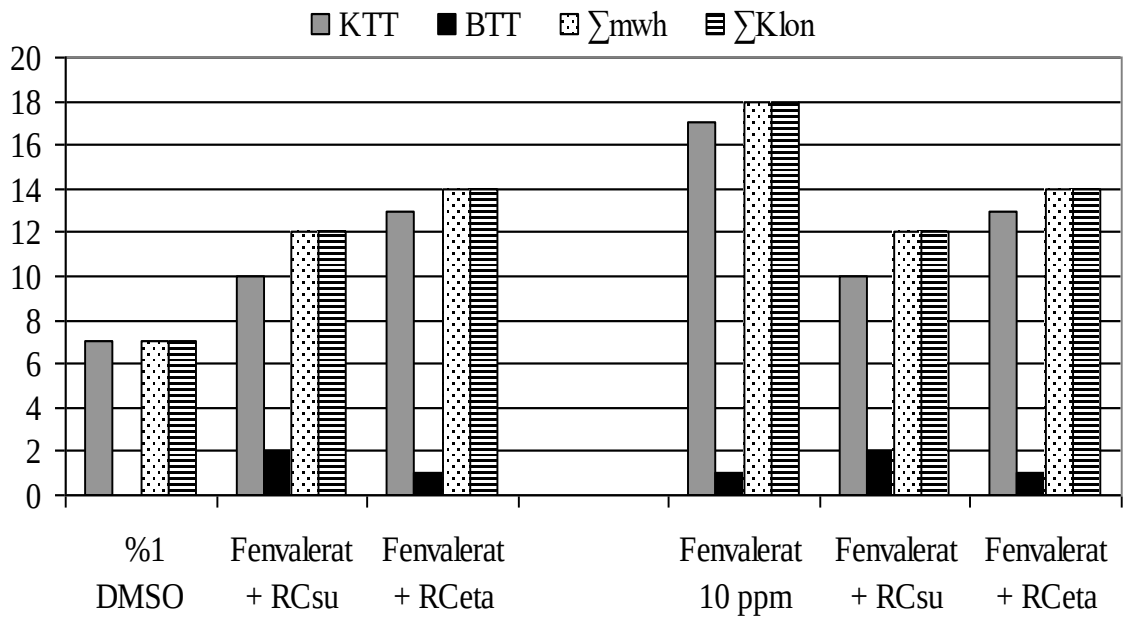
Normal kanatta; fenvaleratın en yüksek uygulama grubu (10 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} uygulama grubunda KTT klon frekansı 0,20; BTT klon frekansı 0,03; ikiz klon frekansı 0,00; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,23 olarak tespit edilmiştir. RC_{eta} uygulama grubunda ise KTT klon frekansı 0,18; BTT klon frekansı 0,04; ikiz klon frekansı 0,00; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,21 olarak belirlenmiştir. KİF değerleri ise RC_{su} uygulama grubunda 0,92; RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,87 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.13). RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları negatif kontrol grubu (%1 DMSO) ile karşılaştırıldığında; 0,11 olan KTT klon frekansının 0,20 (RC_{su}) ve 0,18 (RC_{eta})’e; 0,01 olan BTT klon frekansının 0,03 (RC_{su}) ve 0,04 (RC_{eta})’e; 0,13 olan toplam mwh ve toplam klon frekansının ise 0,23 (RC_{su}) ve 0,21(RC_{eta})’e yükseldiği gözlenmiştir. 0,51 olan KİF değeri ise 0,92 (RC_{su}) ve 0,87 (RC_{eta}) olarak hesaplanmıştır. Mutasyon frekanslarında gözlenen tüm bu artışlar istatistiksel olarak önemsiz etkili (i) bulunmuştur (P>0,05). RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları fenvaleratın en yüksek uygulama grubu (10 ppm) ile karşılaştırıldığında ise; 0,28 olan KTT klon frekansının 0,20 (RC_{su}) ve 0,18 (RC_{eta})’e; 0,31 olan toplam mwh ve toplam klon

frekansının ise 0,23 (RC_{su}) ve 0,21(RC_{eta})’e; 1,28 olan KİF değerinin ise 0,92 (RC_{su}) ve 0,87’ye (RC_{eta}) düştüğü gözlenmiştir. En yüksek uygulama grubunda 0,04 olan BTT klon frekansı sadece RC_{su} uygulama grubunda 0,03’e düşmüştür. Diğer uygulama grubunda aynı kalmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.13). Mutasyon frekanslarında gözlenen tüm bu azalışlar istatistiksel olarak negatif etkili (-) bulunmuştur ($P<0,05$).

Serrat kanatta ise; RC_{su} uygulama grubunda KTT klon frekansı 0,13; BTT klon frekansı 0,03; toplam mwh ve toplam klon frekansı ise 0,15 olarak belirlenmiştir. RC_{eta} uygulama grubunda ise KTT klon frekansı 0,16; BTT klon frekansı 0,01; toplam mwh ve toplam klon frekansı ise 0,18 olarak tespit edilmiştir. KİF değerleri ise 0,62 (RC_{su}) ve 0,72 (RC_{eta}) olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.14). RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları negatif kontrol grubu (%1 DMSO) ile karşılaştırıldığında; kontrol grubunda 0,09 olan KTT klon frekansı 0,13 (RC_{su}) ve 0,16 (RC_{eta})’ya; 0,00 olan BTT klon frekansı 0,03 (RC_{su}) ve 0,01 (RC_{eta})’e; 0,09 olan toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,15 (RC_{su}) ve 0,18 (RC_{eta})’e yükselmiştir. Tüm bu yükselişler istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P>0,05$). 0,36 olan KİF değeri ise 0,62 (RC_{su}) ve 72 (RC_{eta}) olarak belirlenmiştir. RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları fenvaleratın en yüksek uygulama grubu ile karşılaştırıldığında ise; KTT klon frekansı 0,21’den 0,13 (RC_{su}) ve 0,16 (RC_{eta})’ya; toplam mwh ve toplam klon frekansları ise 0,23’ten 0,15 (RC_{su}) ve 0,18 (RC_{eta})’e düşmüştür (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.14). Gözlenen bu düşüşler istatistiksel olarak negatif etkili (-) bulunmuştur ($P<0,05$). 0,01 olan BTT klon frekansı ise RC_{su} uygulama grubunda 0,03’e yükselmiş fakat bu yükseliş önemsiz etkili (i) kabul edilmiştir ($P>0,05$).



Şekil 4.13. Fenvalerat+kuşburnu ekstralarının uygulaması sonucu normal kanat fenotipine ait SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması



Şekil 4.14. Fenvalerat+kuşburnu ekstralarının uygulaması sonucu serrat kanat fenotipine ait SMART için elde edilen değerlerin karşılaştırılması

Çizelge 4.8. Fenvalerat insektisiti+kuşburnu ekstralarının uygulanması sonucu SMART için elde edilen değerler

Uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr ³)																	
DMSO (%1)	80	9	(0,11)		1	(0,01)		0	(0,00)		10	(0,13)		10	(0,13)		0,51
Fenvalerat +RC _{su}	80	16	(0,20)	i	2	(0,03)	i	0	(0,00)	i	18	(0,23)	i	18	(0,23)	i	0,92
Fenvalerat +RC _{eta}	80	14	(0,18)	i	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	17	(0,21)	i	17	(0,21)	i	0,87
Fenvalerat 10	80	22	(0,28)		3	(0,04)		0	(0,00)		25	(0,31)		25	(0,31)		1,28
Fenvalerat +RC _{su}	80	16	(0,20)	-	2	(0,03)	-	0	(0,00)	i	18	(0,23)	-	18	(0,23)	-	0,92
Fenvalerat +RC _{eta}	80	14	(0,18)	-	3	(0,04)	i	0	(0,00)	i	17	(0,21)	-	17	(0,21)	-	0,87
Serrat kanat (mwh/TM3)																	
DMSO (1%)	80	7	(0,09)		0	(0,00)					7	(0,09)		7	(0,09)		0,36
Fenvalerat+RC _{su}	80	10	(0,13)	i	2	(0,03)	i				12	(0,15)	i	12	(0,15)	i	0,62
Fenvalerat+RC _{eta}	80	13	(0,16)	i	1	(0,01)	i				14	(0,18)	i	14	(0,18)	i	0,72
Fenvalerat 10	80	17	(0,21)		1	(0,01)					18	(0,23)		18	(0,23)		0,92
Fenvalerat +RC _{su}	80	10	(0,13)	-	2	(0,03)	i				12	(0,15)	-	12	(0,15)	-	0,62
Fenvalerat +RC _{eta}	80	13	(0,16)	-	1	(0,01)	i				14	(0,18)	-	14	(0,18)	-	0,72
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	

4.2.4. Lufenuron insektisiti ile kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulanması

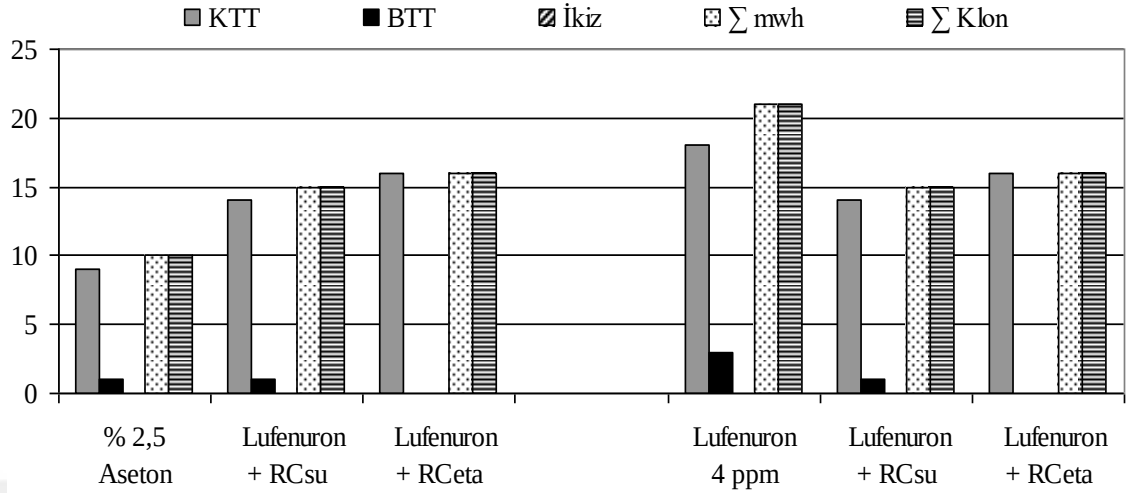
Normal kanatta; lufenuronun en yüksek konsantrasyonu (4 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} uygulama grubunda KTT, BTT, ikiz klon, toplam mwh ve toplam klon frekansları sırası ile 0,18; 0,00; 0,00; 0,19 ve 0,19 ve RC_{eta} uygulama grubunda ise sırasıyla 0,20; 0,00; 0,00; 0,20 ve 0,20 olarak tespit edilmiştir. KİF değerleri ise RC_{su} uygulama grubunda 0,77; RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,82 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.15).

Negatif kontrol grubu (%2,5 aseton) ile karşılaştırıldığında; kontrol grubunda 0,10 olan KTT klon frekansı RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında sırasıyla; 0,18 ve 0,20; 0,01 olan BTT klon frekansı 0,01 ve 0,00; 0,11 olan toplam mwh ve toplam kon frekansları ise 0,19 ve 0,20 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.15). KTT, toplam mwh ve toplam klon frekanslarında artışlar gözlenmiş, fakat bu artışlar önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P>0,05$). Yani lufenuron ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları negatif kontrol grubuna göre mutasyon frekansında istatistiksel olarak önemli bir artışa yol açmamıştır.

Lufenuronun en yüksek uygulama grubu (4 ppm) ile karşılaştırıldığında ise; RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında KTT, BTT, toplam mwh ve toplam klon frekansları yönüyle azalma gözlenmiştir. Şöyle ki; lufenuronun en yüksek uygulama grubunda 0,23 olan KTT klon frekansı RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında sırasıyla 0,18 ve 0,20'ye; 0,04 olan BTT klon frekansı RC_{su} uygulama grubunda 0,01'e ve RC_{eta} uygulama grubunda ise 0,00'a; 0,26 olan toplam mwh ve toplam klon frekansları ise RC_{su} uygulama grubunda 0,19'a ve RC_{eta} uygulama grubunda 0,20'ye düşmüştür (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.15). Bu düşüşler istatistiksel olarak negatif etkili (-) bulunmuştur ($P<0,05$). Tüm gruplarda ikiz klon frekansı ise 0,00 olarak belirlenmiştir. Lufenuronun en yüksek uygulama grubunda 1,08 olan KİF değeri de 0,77 (RC_{su}) ve 0,82 (RC_{eta})'ye düşmüştür. Serrat kanatta ise lufenuronun en yüksek uygulama grubu pozitif etkili (+) bulunmadığı için, diğer insektisitlerde olduğu gibi, bitki ekstreleri ile iyileştirici etki çalışması yapılmamıştır.

Çizelge 4.9. Lufenuron insektisiti+kuşburnu ekstralarının uygulaması sonucu kanat benek testinden elde edilen değerler

Uygulama grupları (ppm)	Kanat sayısı (N)	Küçük tek tip (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip (>2hücre) (m=5)			İkiz klon (m=5)			Toplam mwh klon (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (KİF)
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal kanat (mwh/flr^3)																	
Aseton (%2,5)	80	8	(0,10)		1	(0,01)		0	(0,00)		9	(0,11)		9	(0,11)		0,46
Lufenuron+ RC _{su}	80	14	(0,18)	i	1	(0,01)	i	0	(0,00)	i	15	(0,19)	i	15	(0,19)	i	0,77
Lufenuron+ RC _{eta}	80	16	(0,20)	i	0	(0,00)	i	0	(0,00)	i	16	(0,20)	i	16	(0,20)	i	0,82
Lufenuron 4	80	18	(0,23)		3	(0,04)		0	(0,00)		21	(0,26)		21	(0,26)		1,08
Lufenuron + RC _{su}	80	14	(0,18)	-	1	(0,01)	-	0	(0,00)	i	15	(0,19)	-	15	(0,19)	-	0,77
Lufenuron + RC _{eta}	80	16	(0,20)	-	0	(0,00)	-	0	(0,00)	i	16	(0,20)	-	16	(0,20)	-	0,82
No: klon sayısı; Fr: frekans; D: istatistiksel sonuçların gösterimi; +: pozitif; -: negatif; i: önemsiz fark; m:çarpım faktörü																	



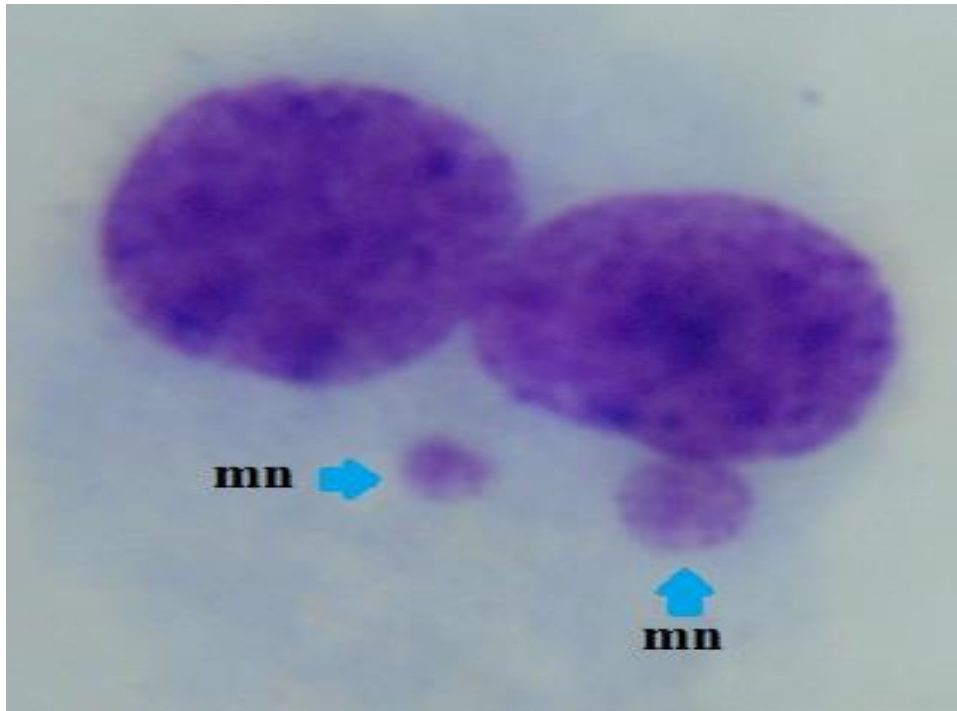
Şekil 4.15. Lufenuron+kuşburnu ekstrelerinin uygulaması sonucu normal kanat fenotipine ait kanat benek testi değerlerinin karşılaştırılması

4.3. İnsektisit Uygulaması Sonucu Mikronükleus Testinden Elde Edilen Bulgular

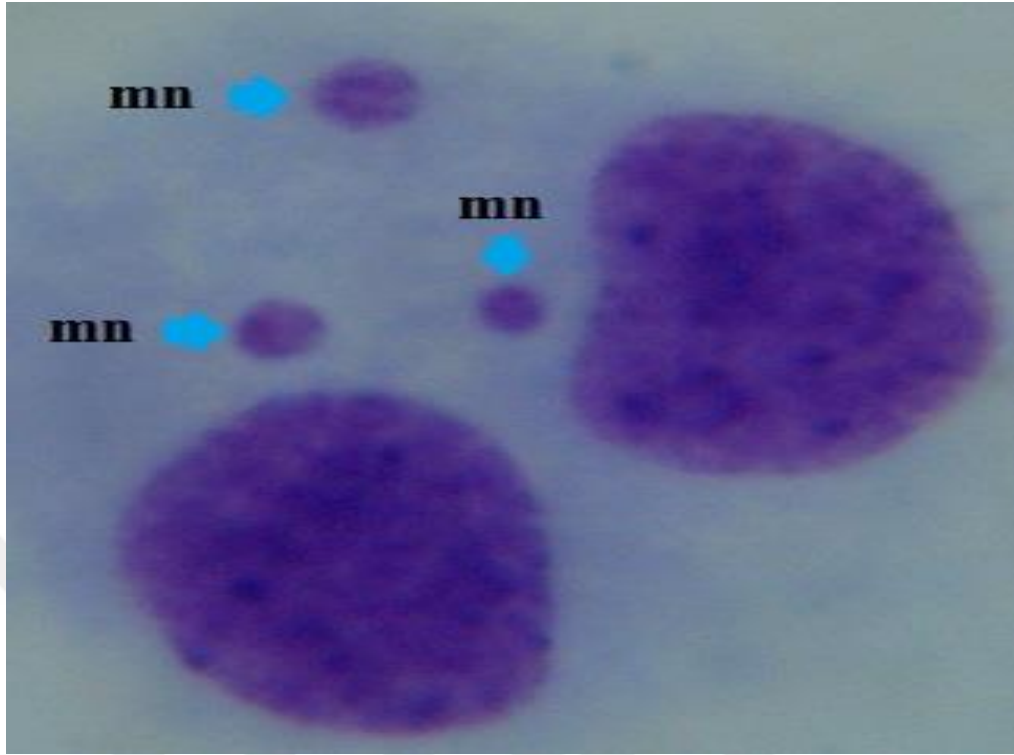
MN testi ile ilgili olarak ilk önce kontrol, insektisit ve bitki ekstrelerine ait uygulama grupları belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan ön çalışmalarda, inceleme yapılacak yeterince binükleuslu hücre (Şekil 3. 17a) sayısının elde edildiği konsantrasyonlar belirlenmiştir. Ayrıca hücre bölünme oranını gösteren nükleer bölünme indeksi (NBİ) de göz önünde bulundurulmuştur. Uygulama grupları belirlendikten sonra, dört farklı donörden alınan periferik kan kültürünün içerisine insektisitler eklenmiş ve MN testi uygulanmıştır. Profenofos, sipermetrin ve fenvalerat için %1'lik DMSO, lufenuron ve tetradifon için ise %1'lik aseton negatif, 1mM'lık EMS ise pozitif kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Bitki ekstrelerine ait uygulama grupları ise 100 ppm olarak belirlenmiş ve insektisitlerin en yüksek konsantrasyonu ile birlikte uygulanmıştır. Daha sonra mikronükleus içeren binükleuslu hücrelerin (Şekil 4.16–19) sayısı belirlenmiş ve binükleus hücrelerdeki mikronükleus yüzdesine göre mikronükleus frekansı hesaplanmıştır.



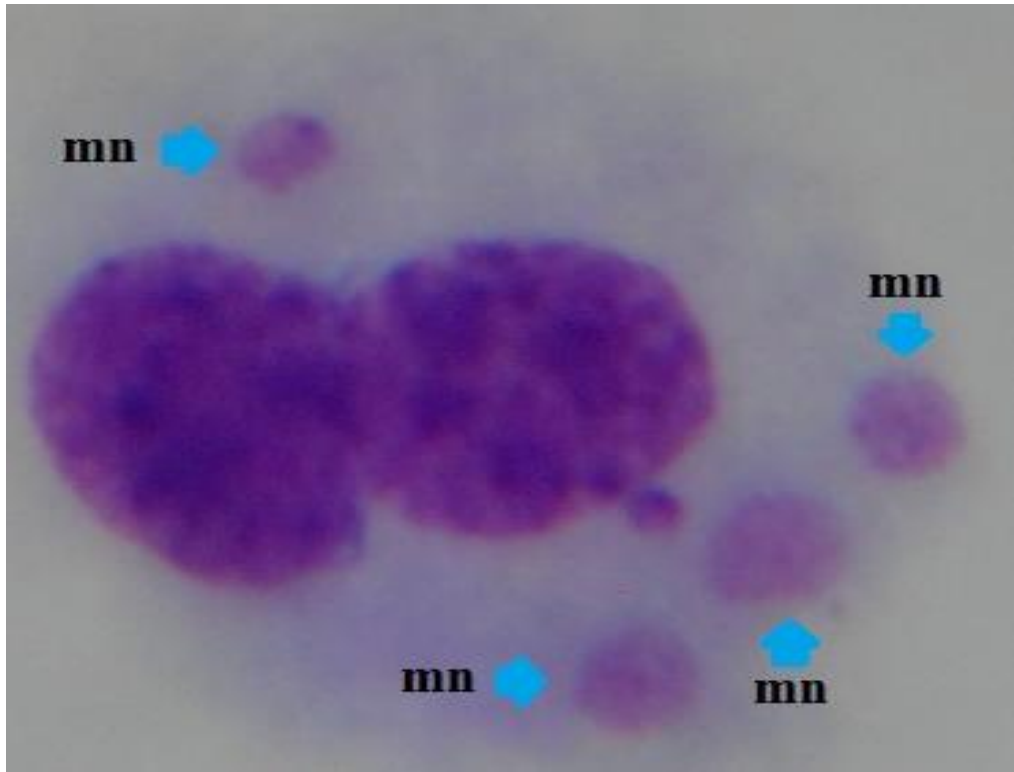
Şekil 4.16. Bir tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)



Şekil 4.17. İki tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)



Şekil 4.18. Üç tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)



Şekil 4.19. Dört tane mikronükleus içeren binükleuslu hücre (10X100)

4.3.1. Profenofos uygulaması

Yapılan ön çalışmalar neticesinde profenofosun 1 ppm'den daha yüksek uygulamalarında binükleuslu hücre sayısının yeterli düzeyde olmadığı gözlenmiştir. DMSO negatif kontrol grubunda $1,62 \pm 0,16$ olan NBİ'nin profenofos'un en yüksek uygulama grubunda (1 ppm) $1,25 \pm 0,15$ 'e kadar düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.20). NBİ değerinde gözlenen bu düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuş ($P < 0,05$) ve profenofosun insan lenfosit hücrelerinde toksik etki gösterdiği sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenle en yüksek uygulama grubu 1 ppm ve diğer uygulama grupları da 0,25; 0,5 ve 0,75 ppm olmak üzere dört doz olarak belirlenmiştir. 1 ppm'in üzerindeki konsantrasyonlarda ise çalışma yapılamamıştır.

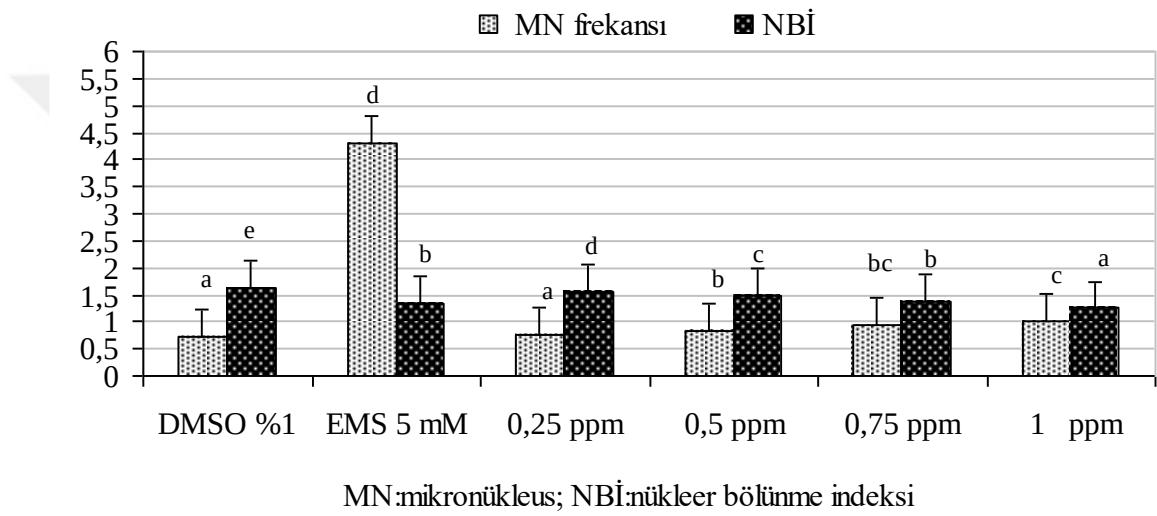
Çizelge 4.10. Profenofos uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri

Uygulama Grupları	İncelenen Binükleuslu Hücre Sayısı	Binükleuslu Hücreler İçindeki MN Sayısı			Ortalama MN Frekansı $\pm$ S.H. (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ S.H. (NBİ)
		(1)	(2)	(3)		
DMSO (%1)	4000	27	1	-	$0,73 \pm 0,24^a$	$1,62 \pm 0,16^e$
EMS (5 mM)	4000	110	19	8	$4,30 \pm 1,70^d$	$1,35 \pm 0,19^b$
Profenofos (ppm)	0,25	4000	30	-	$0,75 \pm 0,25^a$	$1,56 \pm 0,21^d$
	0,5	4000	31	1	$0,83 \pm 0,44^b$	$1,49 \pm 0,18^c$
	0,75	4000	36	1	$0,95 \pm 0,40^{bc}$	$1,37 \pm 0,15^b$
	1	4000	37	2	$1,03 \pm 0,60^c$	$1,25 \pm 0,15^a$

MN: Mikronükleus; S.H.: Standart hata; * Duncan testine göre gruplar arasındaki fark $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir.

Profenofos uygulama gruplarında (0,25-1ppm) ortalama mikronükleus frekansları sırasıyla $0,75 \pm 0,25$, $0,83 \pm 0,44$, $0,95 \pm 0,40$ ve $1,03 \pm 0,60$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.20). Negatif kontrol grubunda $0,73 \pm 0,24$ olan ortalama MN frekansının,

profenofosun tüm uygulama gruplarında yükseldiği gözlenmiştir. Profenofosun en düşük uygulama grubu (0,25 ppm) hariç diğer uygulama gruplarında gözlenen yükselişler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). 5 mM EMS pozitif kontrol grubunda ise belirlenen $4,30\pm1,70$ 'lik MN frekansı, profenofosun tüm uygulama gruplarına göre oldukça yüksek bulunmuştur. Pozitif kontrol grubuna ait MN frekansındaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0,05$).



Şekil 4.20. Profenofos uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması

4.3.2. Sipermetrin uygulaması

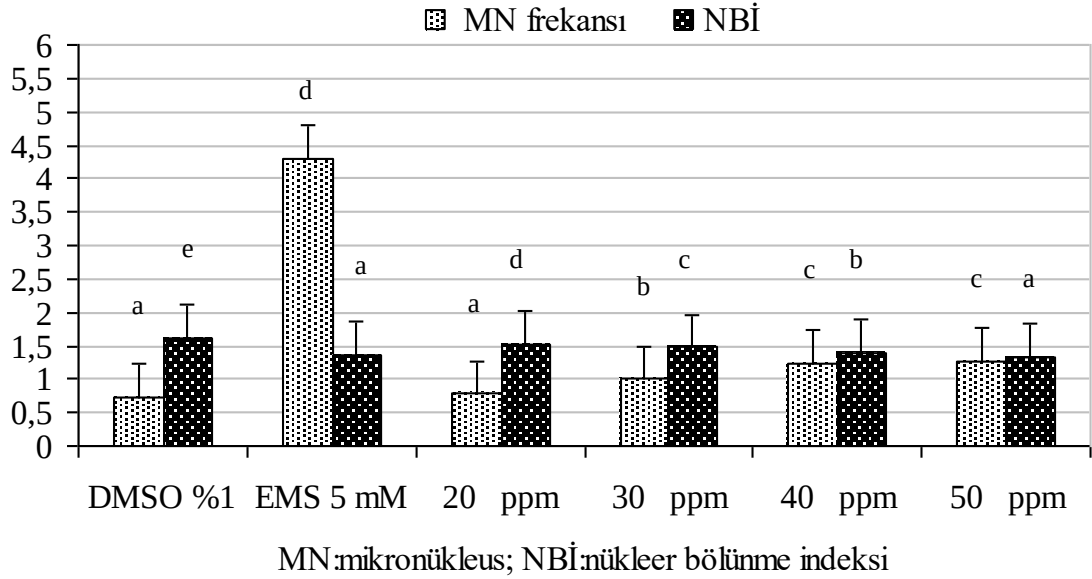
Ön çalışmalar ve elde edilen NBİ değerleri sonucunda sipermetrin insektisine ait uygulama grupları 20, 30, 40 ve 50 ppm olarak belirlenmiştir. 50 ppm'in üzerindeki değerlerde ise yeterince binükleuslu hücre elde edilememiştir. Belirlenen uygulama gruplarına ait NBİ değerleri, sırasıyla $1,53\pm0,13$; $1,47\pm0,22$; $1,38\pm0,13$ ve $1,33\pm0,11$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.21). DMSO negatif kontrol grubunda ise NBİ değeri $1,62\pm0,16$ bulunmuştur. Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sipermetrinin tüm uygulama gruplarına ait NBİ değerlerini istatistiksel olarak önemli derecede düşürdüğü gözlenmiştir ($P<0,05$). NBİ değerlerindeki bu düşüşler sipermetrinin insan lenfosit hücrelerinde toksik etkili olduğunu göstermektedir.

Sipermetrin uygulama grubunda, doz artışına bağlı olarak ortalama MN frekansı en düşük uygulama grubunda (20 ppm) $0,78 \pm 0,56$, en yüksek uygulama grubunda (50 ppm) ise $1,28 \pm 0,52$ olarak tespit edilmiştir. $0,73 \pm 0,24$ MN frekansına sahip DMSO kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, 30, 40 ve 50 ppm’lik deney gruplarına ait MN frekanslarında gözlenen farklar istatistikî olarak ($P < 0,05$) anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.11 ve Şekil 4.21).

Çizelge 4.11. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde gözlenen MN ve NBİ değerleri

Uygulama Grupları	İncelenen Binükleuslu Hücre Sayısı	Binükleuslu Hücreler İçindeki MN Sayısı			Ortalama MN Frekansı $\pm$ S.H. (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ S.H. (NBİ)
		(1)	(2)	(3)		
DMSO (%1)	4000	27	1	-	$0,73 \pm 0,24^a$	$1,62 \pm 0,16^e$
EMS (5 mM)	4000	110	19	8	$4,30 \pm 1,70^d$	$1,35 \pm 0,19^a$
Sipermetrin (ppm)	20	29	1	-	$0,78 \pm 0,56^a$	$1,53 \pm 0,13^d$
	30	36	2	-	$1,00 \pm 0,64^b$	$1,47 \pm 0,22^c$
	40	44	1	1	$1,23 \pm 0,65^c$	$1,38 \pm 0,13^b$
	50	47	2	-	$1,28 \pm 0,52^c$	$1,33 \pm 0,11^a$

MN: Mikronükleus; S.H.: Standart hata; * Duncan testine göre gruplar arasındaki fark $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.21. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBI değerlerinin karşılaştırılması

4.3.3. Fenvalerat uygulaması

Yapılan ön çalışmalar ve elde edilen NBI değerleri neticesinde fenvaleratın uygulama grupları 25, 50, 75 ve 100 ppm olarak belirlenmiştir. Çünkü 100 ppm'in üzerindeki değerlerde binüçlü hücre sayısı azaldığı için çalışma yapılamamıştır. DMSO negatif kontrol grubunda $1,62 \pm 0,16$ olan NBI değerinin uygulama gruplarında doz artışına bağlı olarak $1,54 \pm 0,15$ 'den $1,27 \pm 0,21$ 'e düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.22). NBI değerindeki düşüş istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

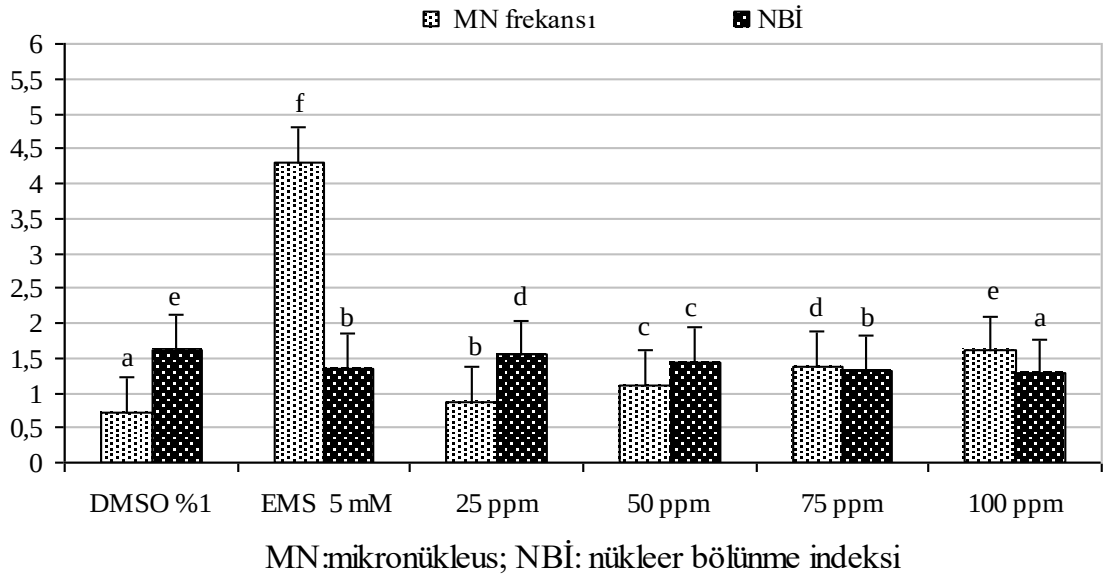
DMSO kontrol grubunda $0,73 \pm 0,24$ olan MN frekansı, en düşük uygulama grubunda (25 ppm) $0,88 \pm 0,45$, en yüksek uygulama grubunda (100 ppm) ise $1,60 \pm 0,45$ olarak tespit edilmiştir. DMSO kontrol ve fenvalerat uygulama grupları arasındaki MN frekansı farkı istatistikî olarak ($P < 0,05$) önemli bulunmuştur (Çizelge 4.12 ve Şekil 4.22).

Çizelge 4.12. Fenvalerat uygulaması sonucu insan periferal lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri

Uygulama Grupları	İncelenen Binükleuslu Hücre Sayısı	Binükleuslu Hücreler İçindeki MN Sayısı			Ortalama MN Frekansı $\pm$ S.H. (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ S.H. (NBİ)
		(1)	(2)	(3)		
DMSO(%1)	4000	27	1	-	0,73 $\pm$ 0,24 ^a	1,62 $\pm$ 0,16 ^e
EMS (5 mM)	4000	110	19	8	4,30 $\pm$ 1,70 ^f	1,35 $\pm$ 0,19 ^b

Fenvalerat (ppm)	25	4000	35	-	-	0,88 $\pm$ 0,45 ^b	1,54 $\pm$ 0,15 ^d
	50	4000	40	2	-	1,10 $\pm$ 0,50 ^c	1,43 $\pm$ 0,23 ^c
	75	4000	53	1	-	1,38 $\pm$ 0,42 ^d	1,32 $\pm$ 0,27 ^b
	100	4000	57	2	1	1,60 $\pm$ 0,45 ^e	1,27 $\pm$ 0,21 ^a

MN:Mikronükleus; S.H.:Standart hata; * Duncan testine göre gruplar arasındaki fark P<0,05 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.22. Fenvalerat uygulaması sonucu insan periferal lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması

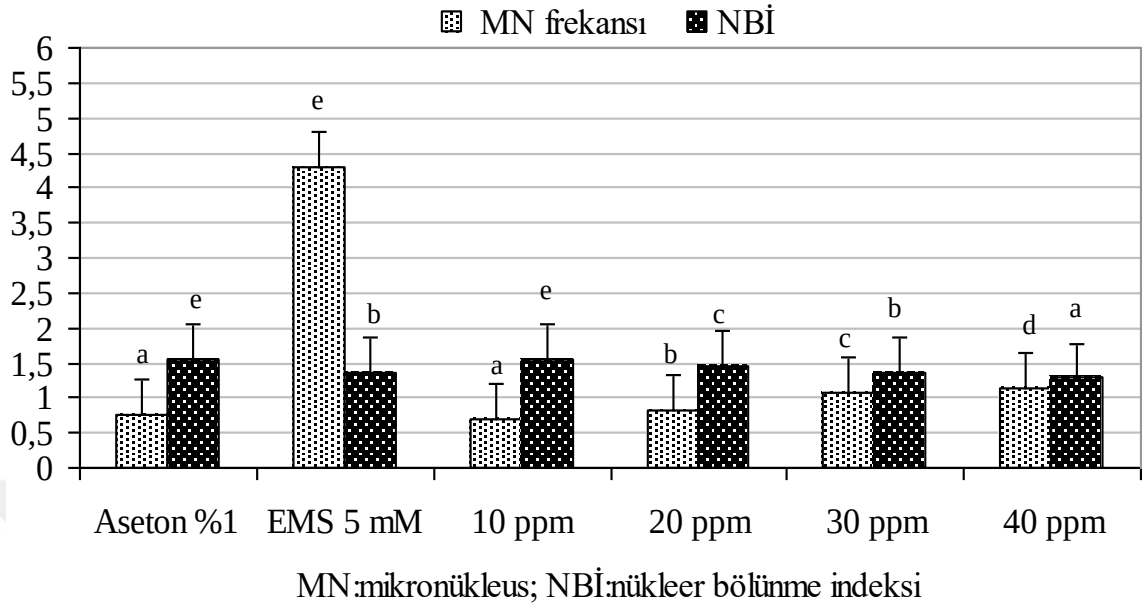
4.3.4. Lufenuron uygulaması

Bir diğer insektisit olan lufenuron için ön çalışmalar neticesinde 10, 20, 30 ve 40 ppm'lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir. Uygulama grupları belirlendikten sonra yapılan MN testine göre lufenuron uygulama gruplarına ait MN frekansları sırasıyla $0,70 \pm 0,22$; $0,85 \pm 0,39$; $1,08 \pm 0,38$ ve $1,15 \pm 0,44$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.13 ve Şekil 4.23). Negatif kontrol grubunda (%1'lik aseton) $0,75 \pm 0,23$ olan MN frekansı, lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) 1,15'e yükselmiştir. 10 ppm uygulama grubu dışında tüm uygulama gruplarında (20, 30 ve 40 ppm) MN frekansı bakımından gözlenen artışlar istatistikî açıdan anlamlı bulunmuştur ($P < 0,05$). Aseton kontrol grubunda $1,54 \pm 0,12$ olan NBİ değeri ise lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) $1,28 \pm 0,35$ 'e düşmüştür. NBİ'de gözlenen bu düşüşte, istatistikî açıdan önemli kabul edilmiştir ($P < 0,05$).

Çizelge 4.13. Farklı konsantrasyonlarda lufenuron uygulaması sonucu insan periferall lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri

Uygulama Grupları	İncelenen Binükleuslu Hücre Sayısı	Binükleuslu Hücreler İçindeki MN Sayısı				Ortalama MN Frekansı $\pm$ S.H. (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ S.H. (NBİ)
		(1)	(2)	(3)	(4)		
Aseton (%1)	4000	30	-	-	-	$0,75 \pm 0,23^a$	$1,54 \pm 0,12^e$
EMS (5 mM)	4000	110	19	8	-	$4,30 \pm 1,70^e$	$1,35 \pm 0,19^b$
Lufenuron (ppm)	10	28	-	-	-	$0,70 \pm 0,22^a$	$1,56 \pm 0,22^e$
	20	32	1	-	-	$0,85 \pm 0,39^b$	$1,45 \pm 0,20^c$
	30	37	1	-	1	$1,08 \pm 0,38^c$	$1,36 \pm 0,34^b$
	40	42	2	-	-	$1,15 \pm 0,44^d$	$1,28 \pm 0,35^a$

MN: Mikronükleus; S.H.: Standart hata; * Duncan testine göre gruplar arasındaki fark $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.23. Lufenuron uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBI değerlerinin karşılaştırılması

4.3.5. Tetradifon uygulaması

NBI değerleri göz önünde bulundurularak tetradifon için 50, 100, 150 ve 200 ppm'lik konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmiştir. Tetradifon uygulama gruplarına ait MN frekansları sırasıyla $0,78 \pm 0,34$; $0,73 \pm 0,45$; $0,75 \pm 0,45$ ve $0,80 \pm 0,52$; NBI değerleri ise $1,48 \pm 0,22$, $1,46 \pm 0,28$, $1,45 \pm 0,32$ ve $1,53 \pm 0,25$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.14 ve Şekil 4.24).

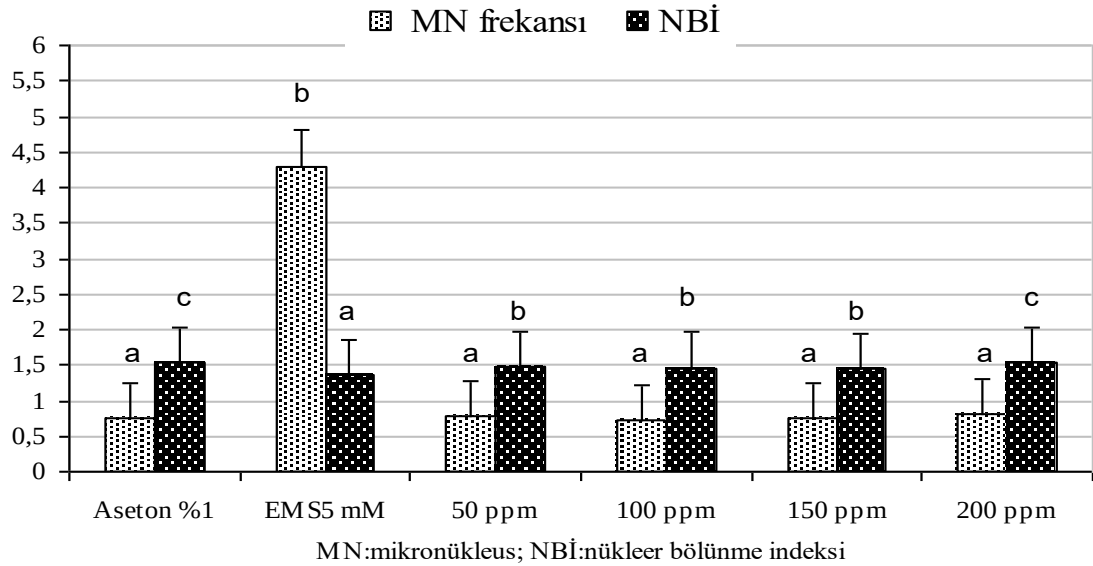
Negatif kontrol grubunda $0,75 \pm 0,23$ olan MN frekansının tetradifonun en yüksek uygulama grubunda (200 ppm) $0,80 \pm 0,52$ 'ye yükseldiği gözlenmiştir. Fakat bu yükseliş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). Negatif kontrol grubunda $1,54 \pm 0,12$ olan NBI değerinin ise tetradifonun tüm uygulama gruplarında düştüğü ve bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($P < 0,05$).

Çizelge 4.14. Farklı konsantrasyonlarda tetradifon uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri

Uygulama Grupları	İncelenen Binükleuslu Hücre Sayısı	Binükleuslu Hücreler İçindeki MN Sayısı			Ortalama MN Frekansı $\pm$ S.H. (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ S.H. (NBİ)
		(1)	(2)	(3)		
Aseton (%1)	4000	30	-	-	0,75 $\pm$ 0,23 ^a	1,54 $\pm$ 0,12 ^c
EMS (5 mM)	4000	110	19	8	4,30 $\pm$ 1,70 ^b	1,35 $\pm$ 0,19 ^a

Tetradifon (ppm)	50	4000	31	-	-	0,78 $\pm$ 0,34 ^a	1,48 $\pm$ 0,22 ^b
	100	4000	29	-	-	0,73 $\pm$ 0,45 ^a	1,46 $\pm$ 0,28 ^b
	150	4000	28	1	-	0,75 $\pm$ 0,45 ^a	1,45 $\pm$ 0,32 ^b
	200	4000	32	-	-	0,80 $\pm$ 0,52 ^a	1,53 $\pm$ 0,25 ^c

MN:Mikronükleus; S.H.:Standart hata; * Duncan testine göre gruplar arasındaki fark P<0,05 düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.24. Tetradifon uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerlerinin karşılaştırılması

4.4. İnsektisitler ve Kuşburnu Bitkisine Ait Ekstrelerin Uygulanması Sonucu MN Testinden Elde Edilen Bulgular

Profenofosun en yüksek uygulama grubu (1 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında NBİ değerleri sırasıyla $1,28 \pm 0,22$ ve $1,30 \pm 0,18$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). 1 ppm uygulama grubunda $1,25 \pm 0,15$ olan NBİ değerinin, RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında yükseldiği gözlenmiştir, fakat bu iki grup arasındaki yükseliş istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). Ancak 1 ppm profenofos ile RC_{su} ve RC_{eta} arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Ortalama MN frekansları ise $0,93 \pm 0,45$ (RC_{su}) ve $0,90 \pm 0,48$ (RC_{eta}) olarak belirlenmiştir. 1 ppm uygulama grubunda $1,03 \pm 0,60$ olan ortalama MN frekansı, RC_{su} ile $0,93 \pm 0,45$ 'e, RC_{eta} ile de $0,90 \pm 0,48$ 'e düşmüştür (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). Profenofos + RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarına ait ortalama MN frekansında gözlenen düşüşler istatistikî açıdan önemli iken ($P < 0,05$), RC_{su} ve RC_{eta} uygulama grupları arasındaki farklar önemsizdir ($P > 0,05$).

Sipermetrinin en yüksek uygulama grubu (50ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} 'nın lenfosit hücrelerinde MN frekansını azalttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). 50 ppm'lik sipmetrin uygulama grubunda $1,28 \pm 0,52$ olan MN frekansı RC_{su} ile $1,00 \pm 0,48$ 'e, RC_{eta} ile $1,08 \pm 0,44$ 'e kadar gerilemiştir. NBİ'de RC_{su} için $1,37 \pm 0,21$ ve RC_{eta} için $1,35 \pm 0,16$ olarak bulunmuştur (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). Sipmetrin+ RC_{eta} ve sipmetrin + RC_{su} uygulamasından sonra, MN frekansında gözlenen azalma ve NBİ'de gözlenen artış istatistiksel olarak ($P < 0,05$) önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.15. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstralarının birlikte uygulanması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBİ değerleri

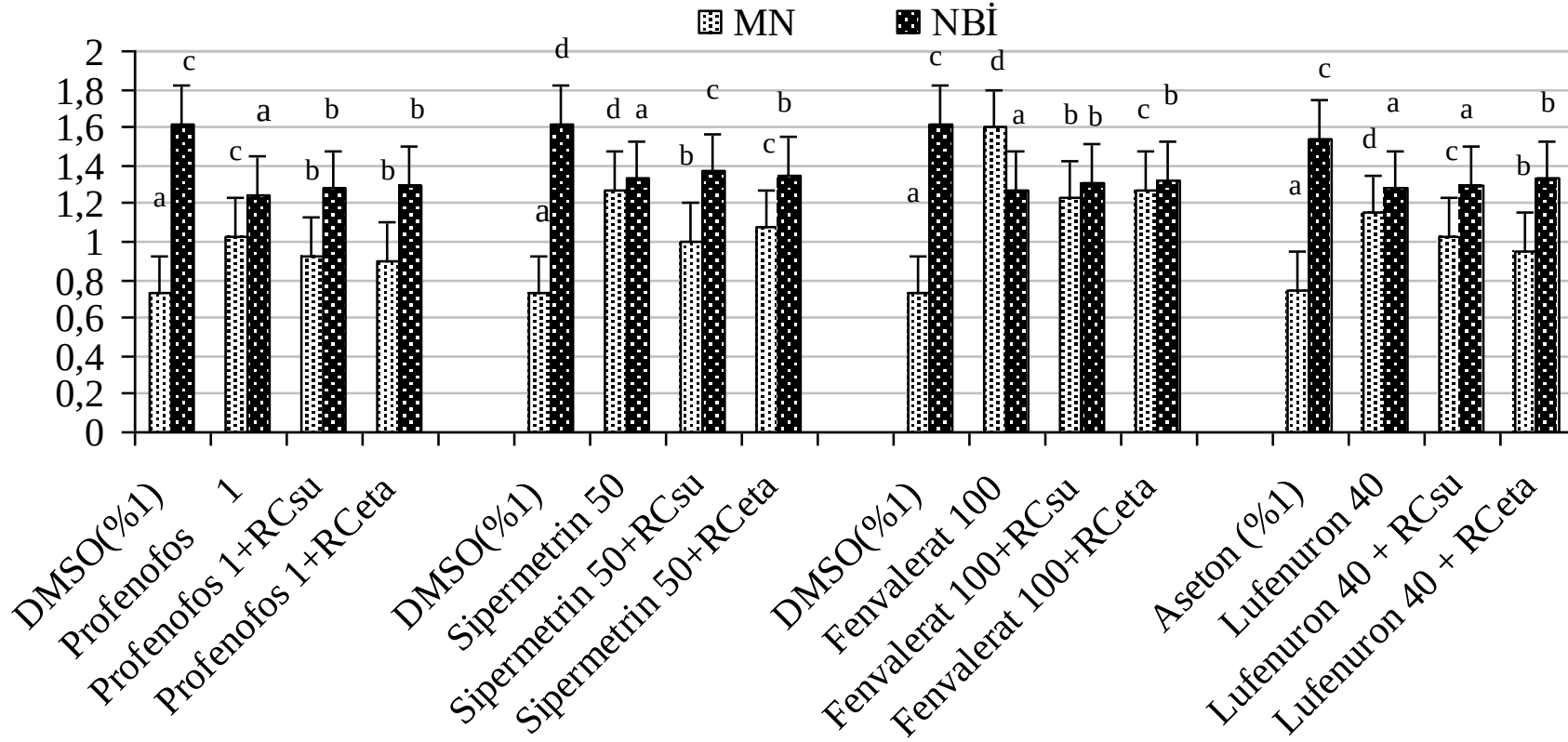
Uygulama Grupları (ppm)	İncelenen Binükleuslu Hücre Sayısı	Binükleuslu Hücreler İçindeki MN Sayısı			Ortalama MN Frekansı $\pm$ S.H. (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ S.H. (NBİ)
		(1)	(2)	(3)		
DMSO(%1)	4000	27	1	-	0,73 $\pm$ 0,24 ^a	1,62 $\pm$ 0,16 ^c
Profenofos 1	4000	37	2	-	1,03 $\pm$ 0,60 ^c	1,25 $\pm$ 0,15 ^a
Profenofos 1+RC _{su}	4000	33	2	-	0,93 $\pm$ 0,45 ^b	1,28 $\pm$ 0,22 ^b
Profenofos 1+RC _{eta}	4000	36	-	-	0,90 $\pm$ 0,48 ^b	1,30 $\pm$ 0,18 ^b
DMSO(%1)	4000	27	1	-	0,73 $\pm$ 0,24 ^a	1,62 $\pm$ 0,16 ^d
Sipermetrin 50	4000	47	2	-	1,28 $\pm$ 0,52 ^d	1,33 $\pm$ 0,11 ^a
Sipermetrin 50+RC _{su}	4000	38	1	-	1,00 $\pm$ 0,48 ^b	1,37 $\pm$ 0,21 ^c
Sipermetrin 50+RC _{eta}	4000	41	1	-	1,08 $\pm$ 0,44 ^c	1,35 $\pm$ 0,16 ^b
DMSO(%1)	4000	27	1	-	0,73 $\pm$ 0,24 ^a	1,62 $\pm$ 0,16 ^c
Fenvalerat 100	4000	57	2	1	1,60 $\pm$ 0,45 ^d	1,27 $\pm$ 0,21 ^a
Fenvalerat 100+RC _{su}	4000	45	2	-	1,23 $\pm$ 0,38 ^b	1,31 $\pm$ 0,18 ^b
Fenvalerat 100+RC _{eta}	4000	49	1	-	1,28 $\pm$ 0,45 ^c	1,32 $\pm$ 0,20 ^b
Aseton (%1)	4000	30	-	-	0,75 $\pm$ 0,23 ^a	1,54 $\pm$ 0,12 ^c
Lufenuron 40	4000	42	2	-	1,15 $\pm$ 0,44 ^d	1,28 $\pm$ 0,35 ^a
Lufenuron 40 + RC _{su}	4000	41	-	-	1,03 $\pm$ 0,42 ^c	1,30 $\pm$ 0,23 ^a
Lufenuron 40 + RC _{eta}	4000	36	1	-	0,95 $\pm$ 0,42 ^b	1,33 $\pm$ 0,25 ^b

MN:Mikronükleus; S.H.:Standart hata; * Duncan testine göre gruplar arasındaki fark P<0,05 düzeyinde önemlidir.

Fenvalerat'ın en yüksek uygulama grubu (100 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} lenfosit hücrelerinde MN frekansını düşürmüştür (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). Şöyle ki; 100 ppm'lik fenvalerat uygulama grubunda 1,60 $\pm$ 0,45 olan ortalama MN frekansı, RC_{su} ile 1,23 $\pm$ 0,38'e, RC_{eta} ile 1,28 $\pm$ 0,45'e kadar gerilemiştir. NBİ'de RC_{su} için 1,31 $\pm$ 0,18 ve RC_{eta} için 1,32 $\pm$ 0,20 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). RC_{eta} ve RC_{su}

uygulaması sonucunda MN frekansında gözlenen azalma ile NBİ'de gözlenen artış istatistiksel olarak ($P<0,05$) anlamlı bulunmuştur.

Lufenuronun en yüksek dozu olan (40 ppm) ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} 'nın MN frekansını azalttığı gözlenmiştir. Lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) $1,15\pm0,44$ olan ortalama MN frekansı RC_{su} ile $1,03\pm0,42$ 'ye, RC_{eta} ile de $0,95\pm0,42$ 'ye düşmüştür (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında ortalama MN frekansında gözlenen azalma istatistikî açıdan önemlidir ($P<0,05$). Lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) $1,28\pm0,35$ olan NBİ ise RC_{su} 'da $1,30\pm0,23$, RC_{eta} 'da $1,33\pm0,25$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.25). NBİ'de gözlenen bu artışlar RC_{eta} için önemli iken ($P<0,05$), RC_{su} uygulama grubunda önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$).



Şekil 4.25. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstraktların birlikte uygulanması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan MN ve NBI değerlerinin toplu olarak karşılaştırılması

4.5. KKD Testinden Elde Edilen Bulgular

KKD testi için uygulama gruplarının belirlenmesi amacı ile ön çalışmalar yapılmıştır. Ön çalışmalar neticesinde, hem insektisit hem de bitki ekstreleri için MN testine ait konsantrasyonlar KKD testi için de uygulama grubu olarak belirlenmiştir. Bu ön çalışmalarda ikinci mitozu geçirmekte olan (M2) hücrelerinin sayısına ve replikasyon indeksine (Rİ) dikkat edilmiştir. Dört erkek donörden alınan periferik kan kullanılarak yapılan KKD testinde, her uygulama grubu için toplam 400 hücre incelenmiş ve Rİ değerleri hesaplanmıştır. Ayrıca her donör için 25 tane M2 hücre plağı gözlenmesi esas alınmıştır. Yeterince M2 hücre plağı elde edilemeyen konsantrasyonlar uygulama grubu olarak seçilmemiştir. Belirlenen uygulama gruplarına ait M2 hücreleri incelenerek KKD frekansı hesaplanmıştır. KKD testinden elde edilen değerler Çizelge 4.16–4.20’de verilmiştir.

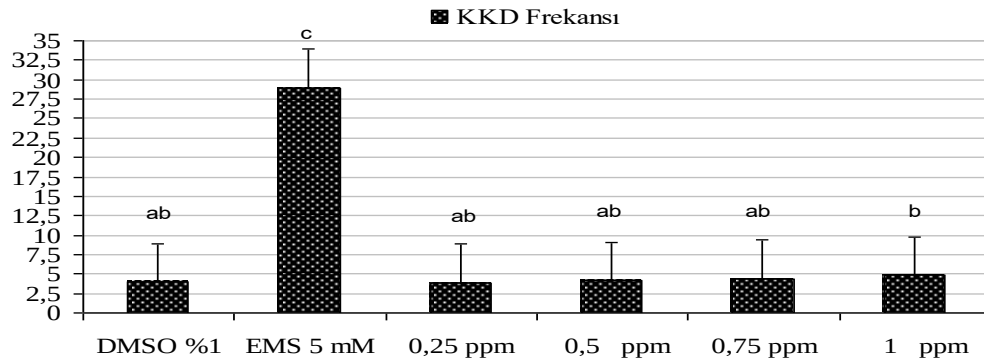
4.5.1. Profenofos uygulaması

Farklı konsantrasyonlarda (0,25, 0,5, 0,5 ve 1 ppm) profenofos uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinden elde edilen ortalama KKD frekansları sırasıyla $3,99 \pm 0,40$; $4,10 \pm 0,37$; $4,41 \pm 0,45$ ve $4,81 \pm 0,48$ iken bu oranlar pozitif kontrol grubunda (5 mM EMS) $28,90 \pm 1,12$, negatif kontrol grubunda (%1 DMSO) ise $3,95 \pm 0,41$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.26). Negatif kontrol grubu ve profenofos uygulama grupları KKD frekansı bakımından karşılaştırıldığı zaman 0,25 ppm uygulama grubu dışındaki tüm uygulama gruplarında belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu artış kontrol ve uygulama grupları için $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Profenofos uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri

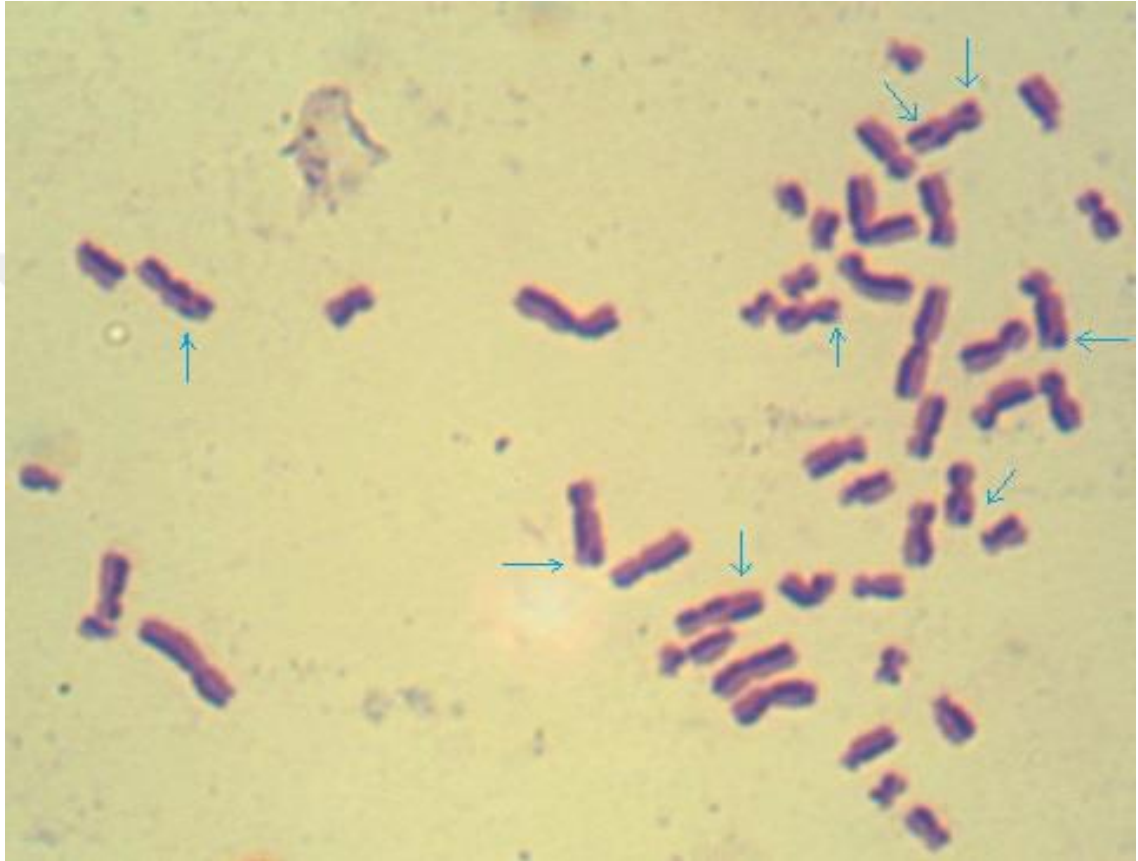
Uygulama Grupları	Min-Max KKD	Ortalama KKD Sayısı ± S.H.	M1	M2	M3	Replikasyon İndeksi (Rİ)
DMSO (%1)	1-8	3,95±0,41 ^{ab}	72	133	195	2,30 ^e
EMS (5 mM)	8-40	28,90±1,12 ^c	126	171	103	1,94 ^{bc}
Profenofos (ppm)	0.25	3,99±0,40 ^{ab}	38	260	102	2,16 ^d
	0,5	4,10±0,37 ^{ab}	51	269	80	2,07 ^c
	0,75	4,41±0,45 ^{ab}	103	241	56	1,88 ^b
	1	4,81±0,48 ^b	158	219	23	1,66 ^a
KKD:Kardeş kromatid değişimi; S.H.:Standart hata; Min:Minimum; Max:Maksimum; M ₁ :Mitoz 1; M ₂ :Mitoz 2; M ₃ :Mitoz 3; Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar p<0,05 düzeyinde önemlidir.						

Minimum-maksimum KKD değerleri karşılaştırıldığı zaman ise en yüksek değerin 8–40 ile EMS pozitif kontrol grubuna ait olduğu belirlenmiştir. Profenofos uygulama grubundaki M2 hücreleri (Şekil 4.27) incelendiğinde ise en yüksek minimum-maksimum KKD değerine 1 ppm’lik uygulama grubunda (2–10), en düşük minimum-maksimum KKD frekansına ise 0,25 ppm’lik uygulama grubunda (1–6) rastlanmıştır (Çizelge 4.16).



Şekil 4.26. Profenofos uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansları değerlerinin karşılaştırılması

Negatif kontrol grubunda 2,30 olan replikasyon indeksinin (Rİ) profenofosun en yüksek uygulama grubunda (1 ppm) 1,66'ya kadar düştüğü ve bu azalışında istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0,05$) gözlenmiştir (Çizelge 4.16 ve Şekil 4.26).



Şekil 4.27. Profenofos uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı

4.5.2. Sipermetrin uygulaması

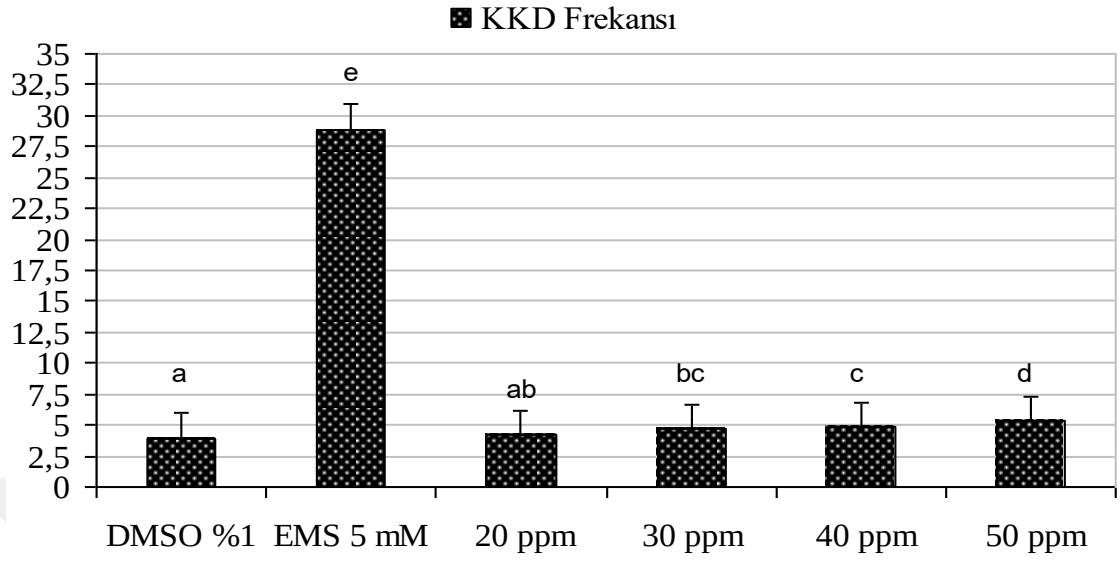
Sipermetrin uygulama grubunda gözlenen KKD frekansları 20, 30, 40 ve 50 ppm için sırasıyla $4,23\pm0,44$; $4,63\pm0,50$; $4,86\pm0,53$ ve $5,35\pm0,67$ olarak tespit edilmiştir. DMSO negatif kontrol grubunda ise bu değer $3,95\pm0,41$ ve EMS pozitif kontrol grubunda $28,90\pm1,12$ 'tür (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.28). 20 ppm uygulama grubunda $4,23\pm0,44$ olan KKD frekansı, negatif kontrol grubuna göre artmış olmakla birlikte aralarındaki fark önemli değildir ($P>0,05$). Ancak 30–50 ppm uygulama gruplarında KKD frekansı için gözlenen artış hem kontrole göre hem de uygulama grupları arasında $P<0,05$

düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.17 ve Şekil 4.28). KKD içeren M2 hücre plakları (Şekil 4.29) incelendiğinde; en yüksek minimum-maksimum KKD değerleri 50 ppm uygulama grubunda (2–12), en düşük minimum-maksimum KKD değerleri ise 20 ppm uygulama grubunda (1–9) tespit edilmiştir. Negatif kontrol grubunda 2, 30 olan Rİ değeri ise sipermetrin uygulama gruplarında 2,18'den 1,61'e kadar düşmüştür. Replikasyon indeksinde gözlenen bu azalışın istatistiksel olarak önemli olduğu ($P<0,05$) belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

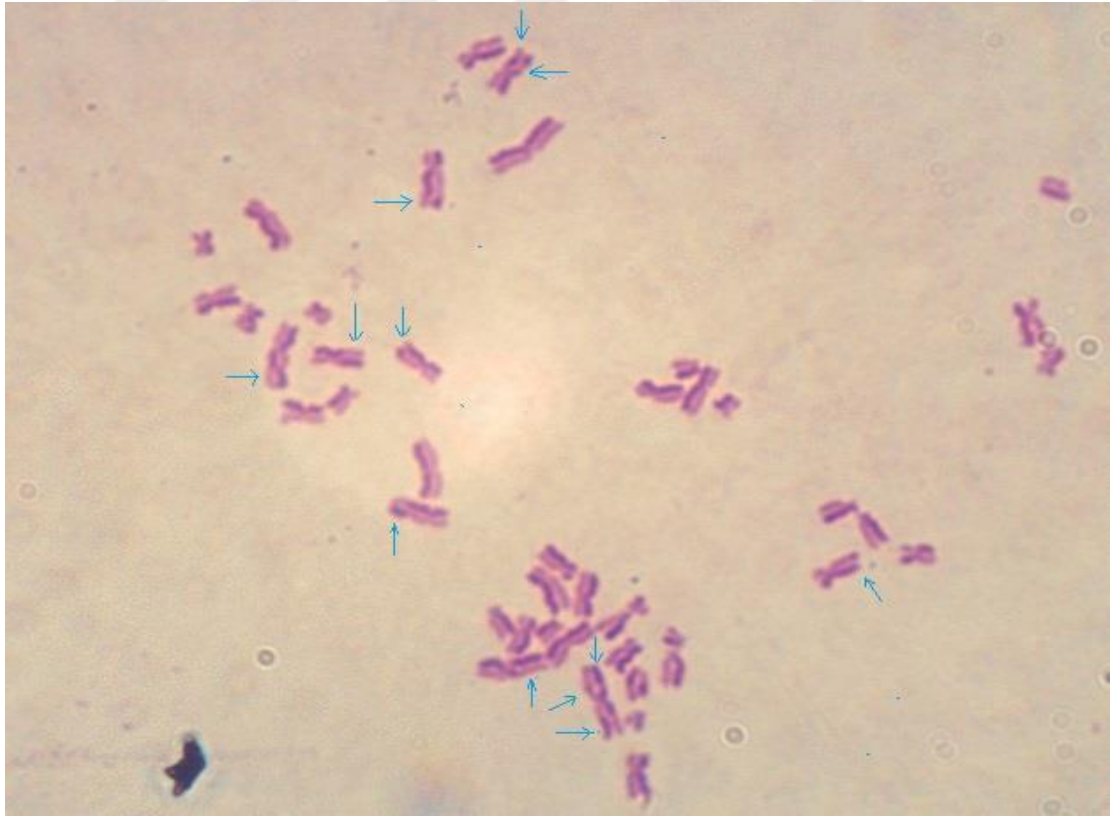
Çizelge 4.17. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri

Uygulama Grupları		Min- Max KKD	Ortalama KKD Sayısı $\pm$ S.H.	M1	M2	M3	Replikasyon İndeksi (Rİ)
DMSO (%1)		1-8	3,95 $\pm$ 0,41 ^a	72	133	195	2,30 ^e
EMS (5 mM)		8-40	28,90 $\pm$ 1,12 ^e	126	171	103	1,94 ^b
Sipermetrin (ppm)	20	1-9	4,23 $\pm$ 0,44 ^{ab}	42	244	114	2,18 ^d
	30	1-10	4,63 $\pm$ 0,50 ^{bc}	55	255	90	2,09 ^c
	40	1-9	4,86 $\pm$ 0,53 ^c	98	257	45	1,87 ^b
	50	2-12	5,35 $\pm$ 0,67 ^d	163	229	8	1,61 ^a

KKD:Kardeş kromatid değişimi; S.H.:Standart hata; Min:Minimum; Max:Maksimum; M₁:Mitoz 1; M₂:Mitoz 2; M₃:Mitoz 3; Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark $p<0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.28. Sipermetrin uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değęerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.29. Sipermetrin uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı

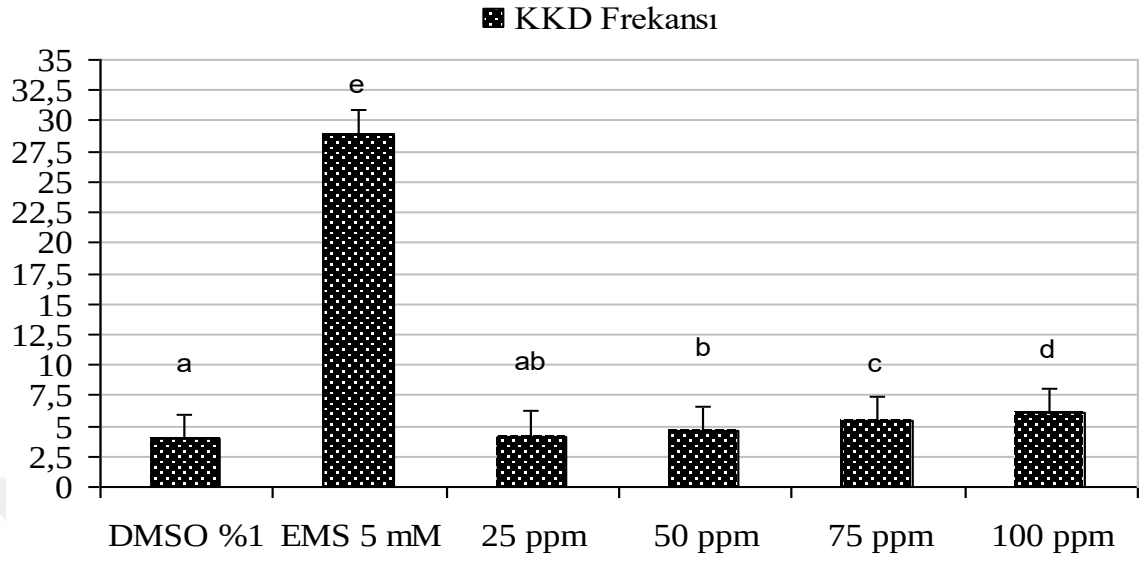
4.5.3. Fenvalerat uygulaması

Farklı konsantrasyonlarda fenvalerat uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde gözlenen KKD frekansları 25, 50, 75 ve 100 ppm uygulama grupları için sırasıyla, $4,19 \pm 0,55$; $4,65 \pm 0,52$; $5,41 \pm 0,58$ ve $6,07 \pm 0,66$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.30). DMSO negatif kontrol grubunda $3,95 \pm 0,41$ olan KKD frekansının tüm uygulama gruplarında arttığı gözlenmiştir (Çizelge 4.18 ve Şekil 4.30). Bu artış 25 ppm uygulama grubu dışında diğer tüm uygulama grupları istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$). Çizelge 4.18’de görüldüğü gibi en yüksek KKD frekansı $28,90 \pm 1,12$ ile EMS pozitif kontrol grubunda görülmüştür. Fenvalerat uygulama gruplarında KKD içeren M2 hücreleri (Şekil 4.31) içerisinde en az 1 en fazla ise 12 KKD sayılmıştır (Çizelge 4.18). Ayrıca DMSO negatif kontrol grubunda 2,30 olan replikasyon indeksinin (Rİ) fenvalerat uygulama gruplarında 2,19’dan 1,62’ye düştüğü de gözlenmiştir (Çizelge 4.18). Rİ değerinde gözlenen bu düşüş istatistiksel olarak $P < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Fenvalerat insektisitinin uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri

Uygulama Grupları	Min-Max KKD	Ortalama KKD Sayısı $\pm$ S.H.	M1	M2	M3	Replikasyon İndeksi (Rİ)
DMSO (%1)	1-8	$3,95 \pm 0,41^a$	72	133	195	$2,30^e$
EMS (5 mM)	8-40	$28,90 \pm 1,12^e$	126	171	103	$1,94^b$
Fenvalerat (ppm)	25	$4,19 \pm 0,55^{ab}$	46	231	123	$2,19^d$
	50	$4,65 \pm 0,52^b$	65	247	88	$2,06^c$
	75	$5,41 \pm 0,58^c$	97	251	52	$1,89^b$
	100	$6,07 \pm 0,66^d$	166	221	13	$1,62^a$

KKD:Kardeş kromatid değişimi; S.H.:Standart hata; Min:Minimum; Max:Maksimum; M₁:Mitoz 1; M₂:Mitoz 2; M₃:Mitoz 3; Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki farklar $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.30. Fenvalerat uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değeriğerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.31. Fenvalerat uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı

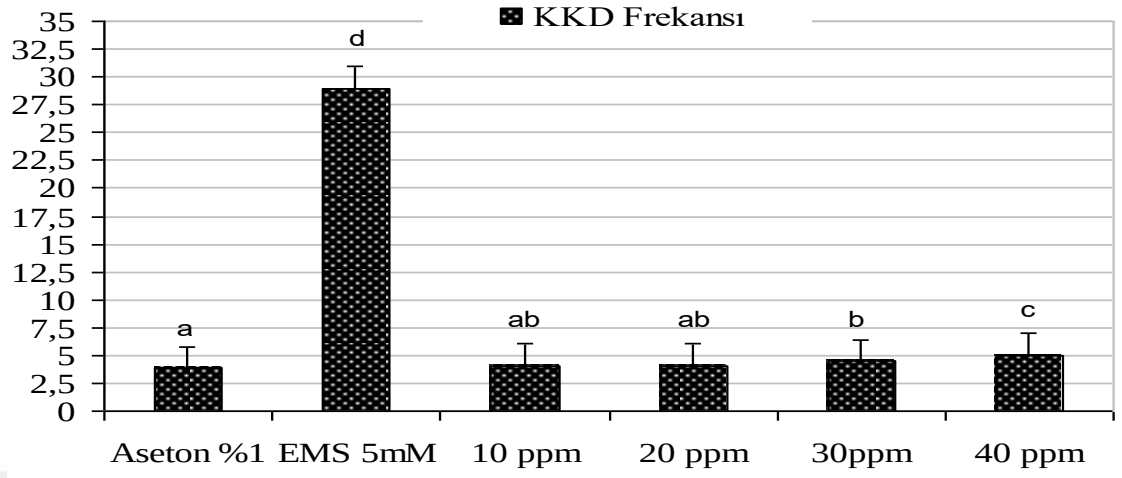
4.5.4. Lufenuron uygulaması

EMS pozitif kontrol grubunda $28,90 \pm 1,12$, aseton negatif kontrol grubunda $3,82 \pm 0,44$ olan KKD frekansının farklı konsantrasyonlarda lufenuron uygulaması sonucu en düşük uygulama grubunda (10 ppm) $4,05 \pm 0,54$, en yüksek uygulama grubunda da (40 ppm) $4,98 \pm 0,52$ olduğu belirlenmiştir. Doz artışına bağlı olarak KKD frekansında gözlenen bu artış ilk iki uygulama grubunda (10-20ppm) $4,05 \pm 0,54$ ve $4,09 \pm 0,48$ olup değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($P > 0,05$). Ancak kontrol grubu ve 30–40 ppm uygulama grupları arasındaki fark önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur (Çizelge 4.19 ve Şekil 4.32). Lufenuron uygulama grubuna ait M2 hücrelerinde (Şekil 4.33) minimum-maksimum KKD değerleri de 40 ppm uygulama grubunda en yüksek (2–11), 10 ppm uygulama grubunda ise en düşük (1–8) bulunmuştur. Yine negatif kontrol grubunda 2,09 olan Rİ değeri, en yüksek lufenuron uygulama grubunda (40 ppm) 1,74'e düşmüştür (Çizelge 4.19). Lufenuron uygulaması ile birlikte periferik lenfosit hücrelerinin replikasyon indeksinde gözlenen bu azalış tüm uygulama grupları için istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

Çizelge 4.19. Lufenuron uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri

Uygulama Grupları	Min-Max KKD	Ortalama KKD Sayısı $\pm$ S.H.	M1	M2	M3	Replikasyon İndeksi (Rİ)
Aseton (%1)	1-10	$3,82 \pm 0,44^a$	90	186	124	$2,09^d$
EMS (5 mM)	8-40	$28,90 \pm 1,12^d$	126	171	103	$1,94^c$
Lufenuron (ppm)	10	$4,05 \pm 0,54^{ab}$	77	161	162	$2,21^e$
	20	$4,09 \pm 0,48^{ab}$	84	189	127	$2,10^d$
	30	$4,44 \pm 0,50^b$	113	247	40	$1,81^b$
	40	$4,98 \pm 0,52^c$	125	256	19	$1,74^a$

KKD:Kardeş kromatid değişimi; S.H.:Standart hata; Min:Minimum; Max:Maksimum; M₁:Mitoz 1; M₂:Mitoz 2; M₃:Mitoz 3; Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.32. Lufenuron uygulaması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.33. Lufenuron uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı

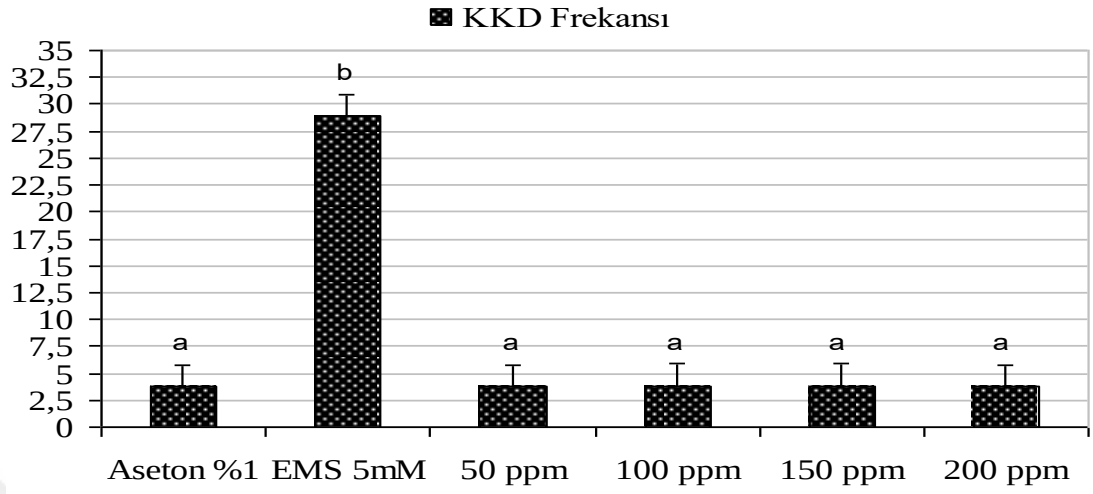
4.5.5. Tetradifon uygulaması

Tetradifon uygulama gruplarına ait M2 hücrelerinde (Şekil 4.35) gözlenen minimum KKD değeri 0 (100 ve 150 ppm), maksimum KKD değeri ise 7 (200 ppm) olarak bulunmuştur. Ortalama KKD sayıları ise sırasıyla $3,75 \pm 0,52$; $3,84 \pm 0,48$; $3,86 \pm 0,50$ ve $3,81 \pm 0,46$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.20 ve Şekil 4.34). Aseton negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 100 ve 150 ppm’lik konsantrasyonlarda ortalama KKD sayısında artış meydana gelmiştir. Fakat bu artış önemsiz etkili (i) bulunmuştur ($P > 0,05$). Rİ değerleri ise sırasıyla 2,12; 2,13; 2,12 ve 2,08 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.20). Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sadece en yüksek uygulama grubunda (200 ppm) Rİ değeri düşmüş, diğer uygulama gruplarında ise yükselmiştir. Fakat negatif kontrol grubuna göre gözlenen bu düşme ve yükselmeler istatistiksel olarak $P > 0,05$ seviyesinde önemli bulunmamıştır.

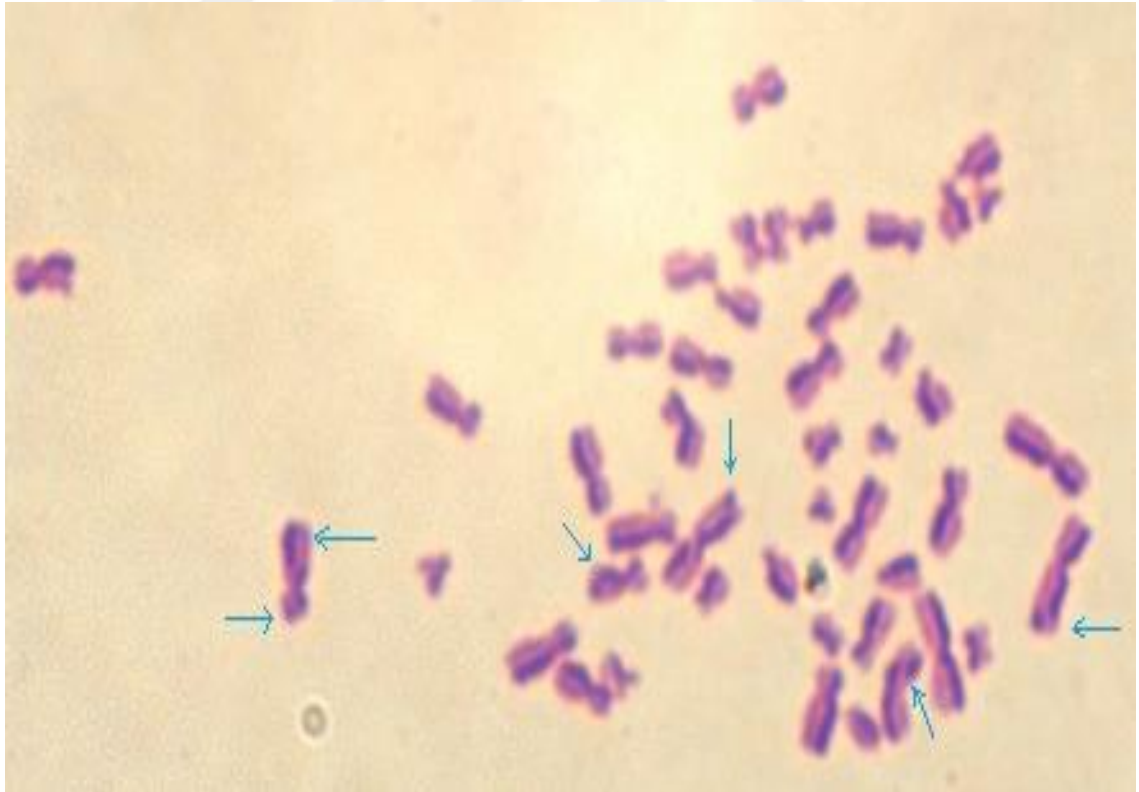
Çizelge 4.20. Tetradifon uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve Rİ değerleri

Uygulama Grupları (ppm)	Min-Max KKD	Ortalama KKD Sayısı $\pm$ S.H.	M1	M2	M3	Replikasyon İndeksi (Rİ)
Aseton (%1)	1-10	$3,82 \pm 0,44^a$	90	186	124	$2,09^a$
EMS (5 mM)	8-40	$28,90 \pm 1,12^b$	126	171	103	$1,94^b$
Tetradifon (ppm)	50	$3,75 \pm 0,52^a$	95	162	143	$2,12^a$
	100	$3,84 \pm 0,48^a$	81	186	133	$2,13^a$
	150	$3,86 \pm 0,50^a$	89	175	136	$2,12^a$
	200	$3,81 \pm 0,46^a$	93	181	126	$2,08^a$

KKD:Kardeş kromatid değişimi; S.H.:Standart hata; Min:Minimum; Max:Maksimum; M₁:Mitoz 1; M₂:Mitoz 2; M₃:Mitoz 3; Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.34. Tetradifon uygulaması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4.35. Tetradifon uygulama grubuna ait KKD gözlenen M2 hücre plağı

4.6. İnsektisitler ve Kuşburnu Bitkisine Ait Ekstrelerin Uygulanması Sonucu Kardeş Kromatit Değişimi Testinden Elde Edilen Bulgular

Profenofosun en yüksek konsantrasyonu (1 ppm) ile birlikte kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulaması sonucu elde edilen KKD frekansları; RC_{su} için $4,32 \pm 0,42$; RC_{eta} için ise $4,46 \pm 0,40$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.36). Bu değerler, profenofos'un en yüksek uygulama grubunun (1 ppm) KKD frekansı ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli bir düşüşün olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$). Profenofos'un en yüksek uygulama grubunda 1,66 olan $R\dot{I}$ değeri ise; RC_{su} uygulama grubunda 1,84'e, RC_{eta} uygulama grubunda ise 1,79'a yükselmiştir (Çizelge 4. 21). Bu yükseliş de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

Sipmetrinin en yüksek konsantrasyonu ile birlikte uygulanan RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında gözlenen KKD frekansları sırası ile $5,13 \pm 0,42$ ve $5,02 \pm 0,46$ olarak belirlenmiştir. Sipmetrinin en yüksek uygulama grubunda (50 ppm) $5,35 \pm 0,67$ olan KKD frekansının, bitki ekstrelerinin uygulaması sonucu düştüğü ve 50 ppm sipmetrin uygulama grubu ile karşılaştırıldığı zaman bunun istatistiksel olarak önemli olduğu gözlenmiştir ($P < 0,05$) (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.36). $R\dot{I}$ değeri ise sipmetrinin en yüksek uygulama grubunda (50 ppm) 1,61, RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında sırasıyla 1,75 ve 1,81 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.21). Sipmetrinin en yüksek uygulama grubuna göre RC_{su} ve RC_{eta} uygulama gruplarında gözlenen $R\dot{I}$ değerindeki yükseliş istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0,05$).

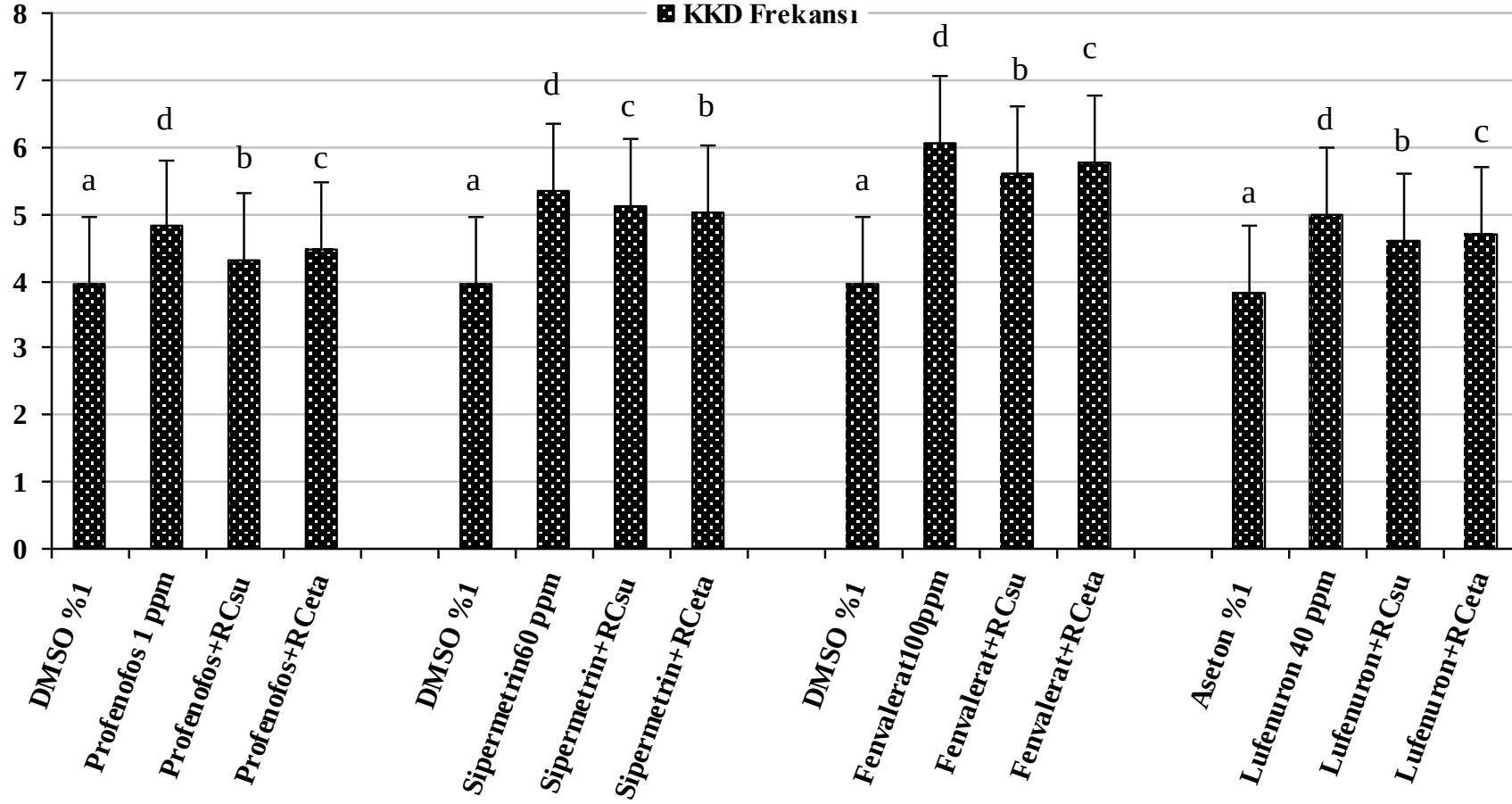
Fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (100 ppm) $6,07 \pm 0,66$ olan KKD frekansının, RC_{su} uygulama gruplarında $5,61 \pm 0,51$ 'e, RC_{eta} uygulama gruplarında ise $5,78 \pm 0,54$ 'e düştüğü tespit edilmiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.36). Bu düşüşler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (100 ppm) 1,62 olan $R\dot{I}$ değeri ise, RC_{su} uygulama grubunda 1,74'e, RC_{eta} uygulama grubunda da 1,71'e yükselmiştir (Çizelge 4.21). $R\dot{I}$ değerlerinde gözlenen bu yükselişler de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$).

KKD testinde pozitif etkili bulunan son insektisit olan lufenuronda ise; en yüksek konsantrasyon (40 ppm) ile birlikte kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin uygulaması sonucu elde edilen KKD frekansları, RC_{su} için $4,61 \pm 0,56$, RC_{eta} için ise $4,69 \pm 0,50$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.21 ve Şekil 4.36). Lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) $4,98 \pm 0,52$ olan KKD frekansının hem RC_{su} hem de RC_{eta} uygulama gruplarında azaldığı gözlenmiştir ($P < 0,05$). Ayrıca lufenuronun en yüksek uygulama grubunda 1,74 olan $R\dot{I}$ değeri, RC_{su} uygulama grubunda 1,79'a, RC_{eta} uygulama grubunda ise 1,77'ye yükselmiştir (Çizelge 4.21). Bu yükselişler de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Çalışmada kullanılan beşinci insektisit olan tetradifon KKD testinde pozitif etkili bulunmadığı için bitki ekstreleri ile iyileştirici etki çalışılmamıştır.

Çizelge 4.21. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstrelerinin birlikte uygulanması sonucu insan periferik lenfosit hücrelerinde oluşan KKD ve $R\dot{I}$ değerleri

Uygulama Grupları	Min-Max KKD	Ortalama KKD Sayısı $\pm$ S.H.	M1	M2	M3	Replikasyon İndeksi ($R\dot{I}$)
DMSO(%1)	1-8	$3,95 \pm 0,41^a$	72	133	195	$2,30^c$
Profenofos 1 ppm	2-10	$4,81 \pm 0,48^d$	158	219	23	$1,66^a$
Profenofos 1+ RC_{su}	2-9	$4,32 \pm 0,42^b$	115	236	49	$1,84^b$
Profenofos 1+ RC_{eta}	0-9	$4,46 \pm 0,40^c$	131	224	45	$1,79^b$
DMSO(%1)	1-8	$3,95 \pm 0,41^a$	72	133	195	$2,30^c$
Sipermetrin 50 ppm	2-12	$5,35 \pm 0,67^d$	163	229	8	$1,61^a$
Sipermetrin 50+ RC_{su}	1-10	$5,13 \pm 0,42^c$	129	242	29	$1,75^b$
Sipermetrin 50+ RC_{eta}	2-9	$5,02 \pm 0,46^b$	116	245	39	$1,81^b$
DMSO(%1)	1-8	$3,95 \pm 0,41^a$	72	133	195	$2,30^c$
Fenvalerat 100 ppm	3-12	$6,07 \pm 0,66^d$	166	221	13	$1,62^a$
Fenvalerat 100+ RC_{su}	1-10	$5,61 \pm 0,51^b$	131	241	28	$1,74^b$
Fenvalerat 100+ RC_{eta}	2-11	$5,78 \pm 0,54^c$	139	240	21	$1,71^b$
Aseton (%1)	1-10	$3,82 \pm 0,44^a$	90	186	124	$2,09^d$
Lufenuron 40 ppm	2-11	$4,98 \pm 0,52^d$	125	256	19	$1,74^a$
Lufenuron 40 + RC_{su}	1-10	$4,61 \pm 0,56^b$	109	266	25	$1,79^c$
Lufenuron 40 + RC_{eta}	0-12	$4,69 \pm 0,50^c$	120	251	29	$1,77^b$

KKD:Kardeş kromatid değişimi; S.H.:Standart hata; Min:Minimum; Max:Maksimum; M_1 :Mitoz 1; M_2 :Mitoz 2; M_3 :Mitoz 3;Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.36. İnsektisitler ve kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin birlikte uygulanması sonucu insan periferel lenfosit hücrelerinde oluşan KKD frekansı değerlerinin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kullanılan ilk insektisit olan profenofos, *D. melanogaster*'in larvaları üzerine toksik etki göstermiştir. Şöyle ki; DMSO negatif kontrol grubunda %2 olan larval ölüm oranı profenofosun en yüksek uygulama grubunda (0,1 ppm) %53 olarak gerçekleşmiştir (Çizelge 3.5). Kısa süreli test teknikleri kullanılarak yapılan çalışmalarda da profenofosun yine toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. MN testinde nükleer bölünme indeksine (NBİ) ve KKD testinde de replikasyon indeksine (Rİ) ait değerlere bakılarak toksik etki tespit edilmiştir. DMSO negatif kontrol grubunda NBİ değeri $1,62 \pm 0,16$, Rİ değeri ise 2,30 olarak hesaplanmıştır. Bu değerler profenofosun en yüksek uygulama grubunda (1 ppm) ise sırasıyla $1,25 \pm 0,15$ (Çizelge 4.10) ve 1,66'ya (Çizelge 4.16) düşmüştür. Kontrol ve deney grupları için gözlenen tüm bu değerler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Profenofosun toksik etki gösterdiği yönünde daha önce farklı organizmalarla yapılmış çalışmalar mevcuttur. Abdullah *et al.* (1994), profenofosun Avustralya tatlı su karideslerinde (*Paratya australiensis*) asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek nörotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Prabhavathy Das *et al.* (2006) tarafından yapılan bir çalışmada, profenofosun insan lenfosit hücrelerinde apoptozis ve nekrozise neden olduğu gözlenmiştir. 28 gün boyunca profenofosa maruz kalan sıçanların karaciğer, böbrek, dalak ve testis dokularında patolojik değişikliklerin olduğu da belirlenmiştir (Hammam and Abd el mottaleb 2007). Reddy and Rao (2008) ise profenofosa maruz kalan alabalık solucanlarında (*Eisenia foetida*) vücutta kopmalar, lezyonlar, hücre bezeleri ve kas parçalanmaları şeklinde çeşitli histolojik ve morfolojik değişikliklerin gözlemlendiğini dile getirmiştir. Profenofos uygulaması ile birlikte sazan balıklarında (*Cyprinus carpio*) denge, hareket ve davranış bozukluklarının gözlemlendiği ve üreme sistemi üzerinde toksik etkilerinin bulunduğu İsmail *et al.* (2009) tarafından rapor edilmiştir. Yine profenofos uygulaması ile birlikte farelerin spermalarında anormalliklerin olduğu, sperm sayısı ve canlılığının önemli derecede azaldığı (El Nahas *et al.* 1989; El Hoda and Zidan 2009), 16 haftalık wistar sıçanlarının ise seminifer tüplerinde ve leyding hücrelerinde bozulmaların gözlemlendiği rapor edilmiştir (Moustafa *et al.* 2007).

Genotoksik etkileri belirlemek amacıyla yapılan SMART, MN ve KKD testlerinin her üçünde de profenofosun pozitif etkili olduğu belirlenmiştir. SMART testinde DMSO negatif kontrol grubuna ait toplam klon frekansı 0,13 iken, bu değer profenofosun en yüksek uygulama grubunda (0,1 ppm) 0,26'ya yükselmiştir (Çizelge 4. 1). Gözlenen bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). DMSO negatif kontrol grubunda $0,73\pm0,24$ olan MN frekansı ve $3,95\pm0,41$ olan KKD frekansı, profenofosun en yüksek uygulama grubunda (1 ppm) sırasıyla $1,03\pm0,60$ ve $4,81\pm0,48$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.10 ve 4.16). Profenofos uygulaması sonucu hem MN hem de KKD frekansında gözlenen bu artışlar da istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Profenofosun genotoksik etkili olduğuna yönelik çeşitli araştırmalar bulunmaktadır. Profenofosun farelerin spermatogonium hücrelerinde (El Nahas *et al.* 1989), kemik iliği ve sperm hücrelerinde (Fahmy and Abdalla 1998) kromozomal bozukluklara yol açtığı, sıçanların polikromatik eritrositlerde ise mikronükleus frekansını artırdığı gözlenmiştir (Hammam and Abd el Mottaleb 2007). İnsan periferik lenfosit hücrelerinde ise kromozomal kırıklara, gaplara ve DNA hasarlarına neden olduğu bildirilmiştir (Prabhavathy Das *et al.* 2006). Profenofosa maruz kalan *Rana spinosa* kurbağa iribaşlarının alyuvarlarında da alkalın jel elektroforezi ile DNA hasarının olduğu tespit edilmiştir (Li *et al.* 2010). Yine bu insektisitinin etkisi ile farelerde hiperploidi, poliploidi, kromozomlarda gruplaşmaların oluştuğu ve anafaz evresinde kromatitlerin eşit dağılmadığı gözlenmiştir (Ganguly and Bhattacharya 2006). Profenofos uygulaması ile birlikte insan lenfosit hücrelerinde kromozomal kırıklar artmakta (Topaktaş and Speit 1989), gap ve fragment oluşumu (Prabhavathy Das *et al.* 2006) gözlenmektedir. Profenofosla aynı grupta yer alan metil paration (Singh *et al.* 1984), dimetoat (Dolara *et al.* 1992) ve malation (Balaji and Sasikala 1993) insektisitleri de doz artışına bağlı olarak KKD frekansını artırmıştır.

Bu çalışmada kullanılan insektisitlerden bir diğeri olan sipermetrin uygulaması sonucu doz artışına bağlı olarak larval ölüm oranı artış göstermiş ve en yüksek uygulama grubunda (6 ppm) %54'e kadar yükselmiştir (Çizelge 3.5). Ancak bu oran DMSO negatif kontrol grubunda yalnızca %2 olarak bulunmuştur. Elde edilen bu veriden yola çıkarak sipermetrinin de profenofos gibi *D. melanogaster* larvaları üzerine toksik etki

gösterdiği anlaşılmıştır. *In vitro* çalışmalar için kullanılan insan lenfosit hücrelerinde ise sipermetrin uygulaması, NBI'yi $1,62 \pm 0,16$ 'dan $1,33 \pm 0,11$ 'e (Çizelge 4.11), RI'yi de $2,30$ 'dan $1,61$ 'e (Çizelge 4.17) kadar düşürmüştür. DMSO negatif kontrol grubuna göre ortaya çıkan bu düşüşler istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0,05$). Elde edilen bu sonuçlara göre, sipermetrinin insan lenfosit hücrelerinin bölünmesini olumsuz etkilediği dolayısı ile sitotoksik etkili olduğu tespit edilmiştir. Daha önce yapılan çeşitli araştırmalarda da sipermetrin için benzeri sonuçlar elde edilmiştir. Karataş ve Bahçeci (2008), sipermetrinin *D. melanogaster*'in gelişim evrelerini etkilediğini, yumurta ve larval gelişimi azalttığını, toksik etkilerin erken gelişim evrelerinde daha belirgin olduğunu ifade etmişlerdir. Sipermetrinin memeli hayvanlarda özellikle merkezi sinir sistemi, deri ve gözleri etkilediği, bilinç kaybına, kas titremesine ve salya akmasına (Elbetieha *et al.* 2001), kuşlarda davranış bozukluklarına (Pascual and Peris 1992; Walker 2003) neden olduğu rapor edilmiştir. Yine bu insektisit in gökkuşuğ alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) nörotoksik etki gösterdiği, sinir hücrelerindeki sodyum kanallarını bloke ettiği ve depolarizasyon evresinin uzamasına yol açtığı (Velisek *et al.* 2006), hücrel enerji üretimini, kas kasılması ile ilgili bir enzim olan ATPaz'ı etkilediği (Cox 1996; Kakko *et al.* 2003), östrojenik aktivite gösterebileceği (McCarthy *et al.* 2006) bildirilmiştir. Ayrıca erkek ratların testis yapısına ve spermatogeneze zarar verdiği de Elbetieha *et al.* (2001) tarafından gözlenmiştir.

Bu çalışma ile hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak sipermetrinin genotoksik etki gösterdiği sonucuna da ulaşılmıştır. *In vivo* test olan SMART'ta normal kanat için negatif kontrol grubundaki toplam klon frekansı $0,13$ iken en yüksek sipermetrin uygulama grubunda (6 ppm) bu değer $0,28$ 'e çıkmıştır (Çizelge 4.2). Toplam klon frekansındaki artış pozitif etkili ($P < 0,05$) bulunmuştur. Dolayısı ile sipermetrinin *D. melanogaster*'de doz artışına bağlı olarak genotoksik etkili olduğu belirlenmiştir. *In vitro* sipermetrin uygulaması ile birlikte hem MN hem de KKD frekanslarında istatistiksel olarak önemli kabul edilen artışlar gözlenmiştir ($P < 0,05$). Şöyle ki; DMSO negatif kontrol grubunda $0,73 \pm 0,24$ olan MN frekansı, sipermetrinin en yüksek uygulama grubunda (50 ppm) $1,28 \pm 0,52$ 'ye, $3,95 \pm 0,41$ olan KKD frekansı da $5,35 \pm 0,67$ 'ye yükselmiştir (Çizelge 4.11 ve 4.17). İstatistiksel olarak önemli olan bu

artışlar, sipermetrinin insan lenfosit hücrelerinde de genotoksik etkili olduğunu göstermektedir. Sipermetrinin genotoksik etkili olduğu daha önce yapılan çalışmalar ile farklı organizmalar için de belirlenmiştir. Bakhitova and Pashin (1988) sipermetrinin, Çin hamsterlerinin V-79 hücrelerinde ve farelerin kemik iliği hücrelerinde mikronükleus oluşumunu artırdığını rapor etmişlerdir. Yine çeşitli araştırmacılar sipermetrinin farelerin kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyona yol açtığını (Bhunya and Pati 1988), KKD frekansını artırdığını (Giri *et al.* 2003), karaciğer hücrelerinde DNA kırıklarına neden olduğunu (El-Khatip *et al.* 2005; Patel *et al.* 2006) bildirmiştir. Benzer sonuçlar sıçanlarda da gözlenmiştir. Onların kemik iliği hücrelerinde sipermetrin, kromozomların yapı ve sayısında değişikliklere (Institoris *et al.* 1999) ve mikronükleus frekansında artışa neden olmuştur (Sankar *et al.* 2010). Mukhopadhyay *et al.* (2004) tarafından yapılan bir araştırmada, jel elektroforezi ve comet testi ile *D. melanogaster*'in 1. evre larvalarında sipermetrine bağlı olarak DNA hasarının meydana geldiği belirlenmiştir. Saxena *et al.* (2005)'a göre de soğan (*Allium sativum*) kök meristem hücrelerinde sipermetrin, kromozomal bozukluklara neden olmaktadır. Daha önce yapılan bu çalışmalara ait bulgular bizim araştırma bulgularımızı destekler niteliktedir.

Bu çalışmada kullanılan fenvalerat insektisitinin 24 saatlik uygulanması sonucu *D. melanogaster*'in 3. evre larvalarında ölüm oranı, doz artışına bağlı olarak diğer insektisitlerde olduğu gibi yine yükselmiştir. En yüksek uygulama grubu olan 10 ppm'de larval ölüm oranı %45'e kadar çıkmıştır. DMSO negatif kontrol grubunda ise bu oran yalnızca %2 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.5). Negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında en yüksek fenvalerat uygulama grubunda gözlenen larval ölüm oranındaki artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Bu da fenvaleratın *D. melanogaster*'in larvalarında toksik etkili olduğunu göstermektedir. Fenvalerat hem MN testinde NBİ değerini, hem de KKD testinde Rİ değerini düşürdüğü için insan lenfosit hücrelerinde de toksik etkili bulunmuştur. Şöyle ki; DMSO negatif kontrol grubunda NBİ değeri $1,62\pm0,16$, Rİ değeri ise 2,30 iken fenvaleratın en yüksek uygulama gruplarında (100 ppm) bu değerler sırası ile $1,27\pm0,21$ ve 1,62 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.12 ve 4.18). Tüm bu düşüşler istatistiksel olarak $P<0,05$ düzeyinde

önemlidir. Bu çalışmada hem *in vivo* hem de *in vitro* test sistemleri ile fenvaleratın toksik etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Fenvaleratın toksik etkilerinin olduğu daha önce yapılan çalışmalarda da çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Fenvaleratın sodyum kanallarını uzun süre açık tutarak sinir sisteminin aşırı uyarılmasına ve felçlere neden olduğu Narahashi *et al.* (1992) tarafından bildirilmiştir. Fenvalerat uygulaması sonucu doz artışına bağlı olarak hem fare hem de sıçanlarda vücut ağırlığında azalma, karaciğer ağırlığında artış ve düz endoplazmik retikulumda bozulmalar gözlenmiştir (Tos-Luty *et al.* 2001). Çeşitli araştırmacılara göre, bu insektisit memeli karaciğer, dalak ve lenf bezlerinde histopatolojik değişikliklere sebep olmakta ve tümör oluşumunu da uyarmaktadır (Miyamoto *et al.* 1986; Kaneko *et al.* 1988). Yine fenvalerat insan lenfosit hücrelerinde (Puig *et al.* 1989), Çin hamsterlarının yumurtalık (CHO) hücrelerinde (Caballo *et al.* 1992) hücre döngüsünü etkilemektedir. Xia *et al.* (2004)'a göre, fenvalerata maruz kalan tarım işçilerinin spermelerinde morfolojik anormallikler meydana gelirken fenvalerat gibi piretroid insektisitlerden olan metomil ve permetrinin *Myzus persicae* yaprak bitlerinde ömür uzunluğunu kısalttığı da gözlenmiştir (Hsieh and Allen 1986). Benzeri olumsuz durumlar, akuatik organizmalar ile yapılan araştırmalarda da görülmüştür. Örneğin sazan balıklarının (*Cirrhinus mrigala*) solungaç, böbrek, karaciğer ve bağırsak dokularında nekrozis, hiperplazi ve üreme sisteminde görülen gelişimsel anormallikler bunlardan bir kaçıdır (Velmurugan *et al.* 2007).

Bu çalışmanın bir diğer parametresi olan insektisitlere ait genotoksik etkilerin belirlenmesi için uygulamalarımız sonucu SMART'ta DMSO negatif kontrol grubuna ait normal kanat fenotipinde toplam klon frekansı 0,13 ve fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (10 ppm) bu değer 0,31 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). İki grup arasında toplam klon frekansı bakımından gözlenen farklılık istatistiki olarak pozitif etkili (+) bulunmuştur ($P<0,05$). Serrat kanatta ise DMSO negatif kontrol grubuna ait toplam klon frekansı 0,09, fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (10 ppm) ise 0,23 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Toplam klon frekansında gözlenen artış istatistiksel olarak yine önemli bulunmuştur ($P<0,05$). “Doz artışına bağlı olarak toksik etkili olan fenvalerat, aynı zamanda somatik mutasyonları uyardığı için genotoksik etkilidir” diyebiliriz. Bu etki hem normal fenotipli hem de serrat kanatlı

bireyler için geçerlidir ve diğer insektisitlerden farklı olarak fenvalerat *D. melanogaster*'in her iki fenotipinde de mutajenik etki göstermiştir.

Fenvaleratın genotoksik etkisi kısa süreli test teknikleri kullanılarak da gözlenmiştir. MN testinde DMSO negatif kontrol grubuna ait $0,73 \pm 0,24$ olan MN frekansı fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (100 ppm) 1,60'a yükselmiştir (Çizelge 4. 12). Daha düşük dozlarda da negatif kontrole göre yine artışlar gözlenmiştir. Fenvalerat uygulaması ile birlikte tüm dozlarda negatif kontrol grubuna göre gözlenen bu artış istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir ($P < 0,05$). Yine bir diğer *in vitro* çalışma olan KKD testinde negatif kontrol grubu için $3,95 \pm 0,41$ olan KKD frekansı da fenvaleratın en yüksek uygulama grubunda (100 ppm) $6,07 \pm 0,66$ 'ya çıkmıştır (Çizelge 4.18). Bu maddenin diğer uygulama gruplarında da benzeri sonuçlar elde edilmiş ve negatif kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir ($P < 0,05$). Tüm bu verilerden dolayı "fenvalerat insan lenfosit hücrelerinde de mutajenik etkilidir" diyebiliriz. Fenvaleratın benzer etkiler gösterdiğine yönelik literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Pati and Bhunya (1989) farelerde 150 ve 200 mg/kg fenvalerat uygulamasının kromozomal bozukluklara neden olduğunu ve mikronükleus frekansını önemli derecede artırdığını rapor etmişlerdir. Caballo *et al.* (1992) fenvaleratın Çin hamster yumurtalık (CHO) hücrelerinde kromozomal bozukluklara yol açtığını ve kardeş kromatit değişimine neden olduğunu belirlemiştir. Giri *et al.* (2002)'a göre, farelerde 5, 10 ve 20 mg/kg fenvalerat KKD frekansını önemli derecede artırmaktadır. Fenvalerata maruz kalan kişilerin eşey kromozomlarında ve 18. kromozomda nullisomi gibi çeşitli genotoksik defektlerin olduğu da Xia *et al.* (2004) tarafından bildirilmiştir. Yine fenvaleratla aynı grupta yer alan permetrin de *D. melanogaster*'de genotoksik etki göstermiştir (Budak 2005). Bir başka piretroid insektisit olan deltametrin de farelerde kromozom anomalilerine sebep olmakta ve mikronükleus frekansını önemli derecede artırmaktadır (Bhunya and Pati 1990).

Diğer insektisitlerde olduğu gibi lufenuron insektisinin de *D. melanogaster* larvaları üzerine toksik etkilerini belirlemek için larval ölüm ve hayatta kalış oranları belirlenmiştir. 4 ppm uygulama grubunda 3. evre larvaların %48'i ölmüştür. Negatif

kontrol grubu olan %2,5 asetonda ise bu oran yalnızca %4 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6). Negatif kontrol grubuna göre lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (4 ppm) gözlenen larval ölüm oranı, istatistiksel olarak önemlidir ve bu insektisit *D. melanogaster* larvalarında toksik etki meydana getirmektedir. Lufenuronun farklı canlı gruplarında toksik etkili olduğu çeşitli araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir. Wilson and Cryan (1997) tarafından yapılan çalışmada, 1 ppm'den daha düşük konsantrasyonlarda lufenurona maruz kalan *D. melanogaster* larvalarında ve pupalarında ölümlerin gerçekleştiği gözlenmiştir. 10 ppm'den daha yüksek konsantrasyonlar ile beslenen larvaların ise bir sonraki evreye geçmeden öldükleri rapor edilmiştir. Lufenuronun diğer eklembacaklılarda da toksik etkili olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Bueno and Freitas (2004), zar kanatlı bir eklembacaklı türü olan *Chrysoperla externa* larvalarının lufenurondan etkilendiğini bildirmiştir. Lufenurona maruz kalan yumurtalardan çıkan larvalarda ölüm oranının yüksek olduğu, canlı kalan larvaların ise birinci ve ikinci evrede deri değiştiremediği gözlenmiştir. Lufenuronla benzer etkilere sahip kromazin insektisiti de yüksek dozlarda *D.melanogaster* larvalarının ölümüne neden olmaktadır. Düşük dozlarda ise larvaların pupaya dönüşümünü etkilememekte fakat pupaların erginleşmesini engellemektedir (Wilson 1997).

Bu çalışmada, lufenuronun insan lenfosit hücreleri üzerine etkisi de araştırılmış ve MN testi ile NBİ, KKD testi ile de Rİ değerleri tespit edilmiştir. Negatif kontrol grubunda (%1 aseton) NBİ değeri $1,54 \pm 0,12$; Rİ değeri ise 2,09 olarak hesaplanmıştır. En yüksek lufenuron uygulama grubunda (40 ppm) ise bu değerler sırası ile $1,28 \pm 0,35$ ve 1,74 olarak bulunmuştur (Çizelge 4.13 ve 4.19). Negatif kontrol grubuna göre, hem NBİ hem de Rİ değerlerinde gözlenen düşüşler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0,05$). Bu sonuçlar, lufenuronun da insan lenfosit hücrelerinde toksik etkili olduğunu göstermektedir. Lufenuronun memelilerde toksik etki gösterdiğine yönelik daha önce yapılmış araştırmalar bulunmaktadır. Farrag and Shalby (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, lufenuron ve profenofosun sıçanların karaciğer toplardamarlarında tıkanık ve nekrozlara sebep olduğu gözlenmiştir. Böbreklerde ise iltihaplı hücreler ile normalden daha büyük glomerulus hücrelerine rastlanmıştır. Yine aynı çalışma ile hem profenofos

hem de lufenuronun histopatolojik ve histokimyasal etkileri belirlenmiş ve aynı araştırmacılar tarafından lufenuronun toksik etkilerinin profenofostan daha fazla olduğu da vurgulanmıştır. Abou Gabal (2006) tarafından yapılan çalışmada ise lufenurona maruz kalan farelerin spermalarında elektron mikroskobu ile gözlenen yapısal değişikliklerin olduğu, spermaların baş bölgesinin morfolojisinin değiştiği gözlenmiştir. Ayrıca mitokondriyal anormallikler ile mikrotübüllerde eksilmelerin gerçekleştiği de bildirilmiştir.

Kanat benek testinde, normal kanat fenotipi için lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (4 ppm) elde edilen toplam klon frekansı 0,26 olarak hesaplanmıştır. Aseton negatif kontrol grubunda ise bu değer 0,11 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Aseton negatif kontrol grubuna göre, lufenuron uygulaması sonucunda toplam klon frekansında ortaya çıkan artış istatistiksel olarak $P < 0,05$ düzeyinde önemlidir. Bu nedenle lufenuron *D.melanogaster*'in normal kanat fenotipine sahip bireylerinde genotoksik etkili bulunmuştur. Abd-Alla *et al.* (2003) tarafından yapılan çalışmada da lufenuronun *D.melanogaster*'de mutajenik etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmacılar eşeye bağlı resesif letalite (SLRL) testi ile *D.melanogaster*'in tükrük bezi hücrelerindeki politen kromozomlarda asinapsi, beyin nöroblastlarının kromozomlarında da anormallikler gözlediklerini bildirmişlerdir. Dolayısı ile lufenuronun *D.melanogaster*'de potansiyel bir mutajen olabileceğini vurgulamışlardır. Serrat kanatta ise aynı etki gözlenmemiştir. Serrat kanatta da negatif kontrol grubuna göre lufenuronun en yüksek uygulama grubuna ait tüm klon frekanslarında artış gözlenmiş (Çizelge 4.4) fakat bu artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($P > 0,05$). MN testinde ise aseton negatif kontrol grubuna ait MN frekansı $0,75 \pm 0,23$ iken lufenuronun en yüksek uygulama grubunda (40 ppm) $1,15 \pm 0,44$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.13). KKD testinde ise aseton negatif kontrol grubuna ait KKD frekansı $3,82 \pm 0,44$, lufenuronun en yüksek uygulama grubuna ait KKD frekansı ise $4,98 \pm 0,52$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.19). Lufenuron uygulaması ile birlikte hem MN hem de KKD frekansında gözlenen artışlar istatistiksel olarak pozitif etkili (+) kabul edilmiştir ($P < 0,05$). Bu verilerden dolayı lufenuronun insan lenfosit hücrelerinde mutajenik etkiye sahip bir insektisit olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Kısa süreli test teknikleri ile lufenuronun genotoksik etki

gösterdiğini belirleyen araştırmalar bulunmaktadır. Abou Gabal (2006), lufenuronun akut (0,5 mg/g vücut ağırlığı) ve kronik (0,1 mg/g vücut ağırlığı) dozlarına maruz bırakılan farelerin kemik iliği hücrelerinde farklı tipte kromozomal bozuklukların ve mikronükleuslu polikromatik eritrosit sayısının önemli derecede arttığını gözlemiştir. Bu nedenle aynı araştırmacı tarafından lufenuronun pozitif klastojenik ajan olabileceği vurgulanmıştır. Lufenuron gibi böceklerde kitin üretimini engelleyen diflubenzuran insektisiti de farelerde doza bağlı olarak genotoksik etki göstermiştir (Barros *et al.* 2013). Bu sonuçlar çalışmamızda elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada kullanılan son insektisit olan tetradifon, *D. melanogaster*'in 3. evre larvaları üzerine çok fazla toksik etki göstermemiştir. Tetradifonun belirlenen en yüksek konsantrasyonu olan 200 ppm'de larval ölüm oranı %12 olarak belirlenmiştir. Larval ölüm oranı %16'ı ile en fazla 100 ppm uygulama grubunda gözlenmiştir. %2,5 aseton negatif kontrol grubunda ise larval ölüm oranı %4 olarak bulunmuştur (Çizelge 3.6). Bu değer negatif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem 100 hem de 200 ppm uygulama gruplarında larval mortalite için gözlenen artışlar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0,05$). Kısa süreli test tekniklerinde ise tetradifon uygulaması ile elde edilen en düşük NBİ değeri $1,45\pm0,32$, Rİ değeri ise 2,08'dir (Çizelge 4.14 ve 4.20). Aseton negatif kontrol grubunda ise bu değerler sırasıyla $1,54\pm0,12$ ve 2,09 olarak belirlenmiştir. Tetradifon uygulaması sonucu NBİ değerindeki azalma istatistiksel olarak önemli ($P<0,05$), Rİ değerindeki azalma ise önemsiz etkili bulunmuştur. Ancak tetradifon uygulaması ile bulunan NBİ değeri, diğer dört insektisit grubuna göre düşüktür ve daha az toksik bulunmuştur. KKD testinde ise tetradifonun lenfosit hücreleri üzerine toksik etki göstermediği görülmüştür.

SMART, MN ve KKD testlerinin tümünde tetradifon genotoksik açıdan pozitif etkili bulunmamıştır ($P>0,05$). SMART sonucu tetradifonun en yüksek uygulama grubunda (200 ppm) normal kanat fenotipli bireylerin toplam klon frekansında artış gözlenmiştir. Aseton negatif kontrol grubunda toplam klon frekansı 0,11 iken tetradifonun en yüksek uygulama grubunda bu değer 0,14 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.5). Fakat bu artış istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur ($P>0,05$). Serrat kanatta ise tetradifon

uygulaması sonucu toplam klon frekansında herhangi bir artış meydana gelmemiştir (Çizelge 4.5). Tüm bu verilerden dolayı “tetradifon *D. melanogaster*’de mutajenik etkili değildir” diyebiliriz. MN testinde, aseton negatif kontrol grubunda $0,75 \pm 0,23$ olan MN frekansı tetradifonun en yüksek uygulama grubunda (200 ppm) $0,80 \pm 0,52$ ’ye yükselmiştir (Çizelge 4.14). KKD testinde ise aseton negatif kontrol grubuna ait $3,82 \pm 0,44$ olan KKD frekansı tetradifon uygulama gruplarında en fazla $3,86 \pm 0,50$ ’ya (150 ppm) çıkmıştır (Çizelge 4.20). Hem MN hem de KKD frekansında artış gözlenmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak önemsiz (i) etkili bulunmuştur ($P > 0,05$). MN ve KKD testlerinden elde edilen bu sonuçlara göre, tetradifonun insan lenfosit hücrelerinde herhangi bir genotoksik etkisi gözlenmemiştir. Tetradifonun genotoksik etkilerine ilişkin çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Sobti *et al.* (1983) tarafından insan lenfosit hücrelerinde yapılan bir çalışmada, tetradifon zayıf pozitif etkili bulunmuştur. 12 haftalık dişi sıçanlara 2430 mg/kg’lık tek doz tetradifon uygulamasının doğrudan genotoksik etki göstermediği, kemik iliği hücrelerinde kromozomal aberasyon ve kardeş kromatit değişimi frekanslarında önemli bir artışa yol açmadığı da bildirilmiştir (Badraoui *et al.* 2007b). Gollapudi *et al.* (1995) tarafından fare ve sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise tetradifon ile aynı grupta yer alan klorpirifos insektisitinin herhangi bir genotoksik aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Aynı insektisit CHO hücrelerinde de KKD frekansını artırmamıştır (Muscarella *et al.* 1984). Yine aynı grupta yer alan klordan ve heptaklor insektisitleri de sıçan karaciğer hücrelerinde genotoksik etki göstermemiştir (Telang *et al.* 1982). Dieltrin ve endrin gibi organokloroid insektisitler ise Osabac *et al.* (1999) tarafından *D. melanogaster*’de genotoksik etkili bulunmamıştır. Purdue *et al.* (2007) de organokloroid insektisitlerin kullanımı ile kanser arasında bir korelasyonun olmadığını da belirtmişlerdir.

Bu çalışmada kullanılan insektisitlerin tümünün toksik etki gösterdiği *in vivo* olarak *D. melanogaster*’in 3. evre larvalarında, *in vitro* olarak da insan lenfosit hücrelerinde gözlenmiştir. Fakat tetradifonun toksik etkisi kullanılan diğer insektisitler kadar belirgin değildir. İnsektisitler sinir hücrelerindeki sodyum, potasyum iyonlarının membran geçirgenliğini etkileyerek veya nörotransmitter maddeleri ve spesifik enzimleri inhibe ederek etkinlik göstermektedirler. Örneğin profenofos gibi organofosfat insektisitler

sinapslardaki geçişte rol oynayan asetilkolini parçalayan asetilkolinesteraz enzimini inhibe etmektedirler (Kavitha and Rao, 2009). Bu enzimin inhibe olması sinapslarda asetilkolin birikimine neden olmaktadır. Bu nörotoksik etki sonucunda parasempatik sinir sistemi aşırı çalışmakta, çizgili kaslar kasılı kalmakta ve felç gerçekleşmektedir. Sipermetrin ve fenvalerat gibi piretroid insektisitler de sinir hücrelerindeki sodyum kanallarını bloke ederek depolarizasyon evresinin uzamasına neden olmaktadır (Velisek *et al.* 2006). Sinirsel iletimin engellemesi sonucu da insektisite maruz kalan canlıların kas hareketlerinde bozulma ve felçler gözlenmektedir (Narahashi *et al.* 1992). Lufenuron gibi bazı insektisitler ise kitin sentezini inhibe ederek (Leighton *et al.* 1981) böceklerin dış iskeletinin oluşumunu engellemektedir. Bunun sonucunda da kullanılan doza bağlı olarak larvalar erginleşememektedirler (Wilson and Cain 1997).

Hem SMART hem de MN ve KKD testlerinde kullanılan beş insektisitten sadece tetradifon genotoksik etkili bulunmamıştır. Buna karşın profenofos, sipermetrin, fenvalerat ve lufenuron insektisitlerinin ise genotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Tüm insektisitlerin uygulaması sonucu, larval toksisite, *Drosophila*'nın ergin bireylerinde gözlenen somatik mutasyon frekansı ve insan lenfosit hücrelerinde MN ve KKD frekanslarının kontrol grubuna göre istatistiki olarak önemli sayılabilecek oranda artmasının serbest radikallerden kaynaklanan oksidatif stresle bağlantılı olabileceğini düşünmekteyiz. Oksidatif stres; hücre içinde veya dokularda süperoksit, hidrojen peroksit gibi serbest radikallerin artışı olarak tanımlanabilir (Halliwell 1987). Serbest radikaller ise bir veya birden fazla sayıda eşlenmemiş elektrona sahip maddelerdir. Bu özelliklerinden dolayı elektronlarını diğer bir moleküle verebilen veya başka moleküllerden elektron alabilen reaktif moleküller olarak işlev görürler (Dormandy 1980; Buechter 1988; Halliwell 1991). İnsektisitlerin uygulaması ile ortaya çıkan sinir ve endokrin sinyallerdeki olumsuzluklar hücre içindeki Ca^{+2} iyon dengesimini etkilemektedir. Bu değişim de hücre içindeki çeşitli Ca^{+2} bağlı proteaz ve nükleaz enzimlerinin aktivitesini artırmakta ve hücrelerde serbest radikallerin oluşumuna yol açmaktadır (Kaymak *et al.* 2014). Serbest radikaller de protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitlerde modifikasyona ve hasara neden olmaktadır (Ikeda and Long 1990; Hermes-Lima and Zenteno-Savin 2002). DNA'ya yakın bölgede oluşurlarsa zincir

kırıkları ve baz analogu gibi çeşitli değişikliklere yol açabilirler (Sinclair and Roberts 1990). Serbest radikallerden olan OH⁻ iyonunun DNA'da 8-hidroksiguanin, 5-hidroksimetil urasil ve timin glikol gibi en az üç modifiye bazın oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Floyd 1990). DNA'da meydana gelen zincir kırıkları ise mikronükleus (Fenech *et al.* 2003) ve KKD (Burden and Osheroff 1999; Lynch *et al.* 2003) oluşumuna yol açmaktadır. Ayrıca serbest radikaller lipid peroksidasyonuna da neden olmaktadır. Bunun sonucunda membran proteinlerinin inaktivasyonu gerçekleşmekte, sitoplazmadaki kalsiyum iyonlarının kontrolü bozulmakta, mitokondri, lizozom gibi organeller de lizis olmaktadır. Lizis sonucu organellere ait enzimlerin sitoplazmaya dağılması ile de hücrede DNA gibi birçok yapısal molekül hasar görmekte (Horton 1987), hücre metabolizması ve morfolojisinde olumsuzluklar ortaya çıkmaktadır (Ames *et al.* 1993). Serbest radikallerin etkisi ile hücre bölünmesinde görevli iğ ipliklerinin hasarı mikronükleus frekansını (Fenech *et al.* 2003), topoizomeras gibi replikasyonda görevli enzimlerin aktivitesindeki bozulmalar da KKD frekansını artırmaktadır (Pommier *et al.* 1985; Burden and Osheroff 1999; Lynch *et al.* 2003).

Çalışmamızda genotoksik etkili bulunan insektisitlerin oksidatif strese neden olduğuna yönelik birçok çalışma bulunmaktadır. Mansour *et al.* (2009) yaptıkları çalışma ile profenofosun erkek sıçanlarda oksidatif strese yol açtığını, katalaz aktivitesini artırdığını ve lipid peroksidasyonuna neden olduğunu belirlemişlerdir. Aynı araştırmacılar tarafından A, C ve E vitaminlerinin serumdaki seviyesinin de profenofos uygulaması sonucu azaldığı belirtilmiştir. Kavitha and Rao (2009) tarafından yapılan bir çalışmada da profenofosun Siyah Mozambik balıklarında (*Oreochromis mossambicus*) antioksidan enzimlerin aktivitelerini etkilediği rapor edilmiştir. Yine aynı çalışmada solungaçlarda katalaz ve glutatyon redüktaz enzimlerinin profenofosa bağlı olarak inhibe olduğu da belirlenmiştir. Profenofos gibi organofosfat insektisitlerin alkilleyici özelliğe sahip olduğu (Wooder and Wright 1981) DNA'ya bağlanarak (Wauchape *et al.* 1992) alkillenmesine yol açtığı (Ferguson and Denny 1995) bildirilmiştir. Alkilleyici moleküller hücre zarındaki lipitleri, hücrede birçok önemli işleve sahip proteinleri ve DNA'yı oksitleyebilmektedir (Ames *et al.* 1993). Raina *et al.* (2009) tarafından yapılan

bir çalışmada, sipermetrine maruz kalan wistar sıçanlarında katalaz aktivitesinin ve lipit peroksidasyonunun arttığı, süperoksit dismutaz aktivitesinin ise önemli derecede azaldığı rapor edilmiştir. Sipermetrinin sıçanların karaciğer ve beyinde serbest radikallerden kaynaklanan doku hasarını önemli derecede artırdığı Giray *et al.* (2001) tarafından gözlenmiştir. Aynı şekilde fenvaleratın farklı dozlarına maruz kalan sıçanların karaciğer dokusunda da glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinin ve lipit peroksidasyonunun arttığı ifade edilmiştir (Giray *et al.* 2001). Prasanthi *et al.* (2005) tarafından erkek fareler üzerinde yapılan bir başka çalışmada, yine fenvaleratın 250, 500 ve 1000 ppm uygulamalarının karaciğer, timüs, dalak ve eritrositlerde oksidatif stresi artırdığı görülmüştür. Kaplan karidesinde de (*Penaeus monodon*) bu insektisit kullanımıyla ilgili olarak lipit peroksidasyonunun arttığı, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimlerin aktivitesinin azaldığı, dolayısı ile oksidatif stresin meydana gelebileceği bildirilmiştir (Vijayavel and Balasubramania 2009). Ayrıca permetrin ve bifentrin gibi çeşitli piretroid insektisitlerin insan ve sıçan karaciğer mikrozomlarında oksidasyona neden olduğu gözlenmiştir (Scollon *et al.* 2009). Çalışmamızda kullanılan diğer bir insektisit olan lufenuron ise farelerin karaciğer dokularında lipit peroksidasyonunu artırmakta katalaz ve süperoksit dismutaz enzimlerini aktivitelerini de önemli derecede azaltmaktadır (Deivanayagam *et al.* 2014). Bu çalışmalardan elde edilen veriler bizim düşüncemizi doğrular niteliktedir.

Bu çalışmanın ikinci kısmında kuşburnu ekstralarının iyileştirici etkisi, genotoksik etkili bulunan insektisitlerin en yüksek konsantrasyonuna karşı araştırılmıştır. SMART'ta profenofos, sipermetrin ve lufenuron sadece normal kanatlı bireylerde genotoksik etki gösterdiği için iyileştirici etki de sadece normal kanatlı bireyler incelenerek belirlenmeye çalışılmıştır. Fenvalerat ise hem normal hem de serrat kanat fenotipinde genotoksik etki göstermiştir. Dolayısı ile bu insektisitle ilgili iyileştirici etkiler, her iki kanat fenotipine sahip bireylerde ayrı ayrı incelenmiştir. Profenofos, sipermetrin, fenvalerat ve lufenuron insektisitlerinin en yüksek uygulama gruplarına ait toplam mwh ve toplam klon frekansları, kuşburnunun su (RC_{su}) ve etanol ekstraları (RC_{eta}) ile önemli derecede azalmıştır ($P<0,05$) (Çizelge 4.6-4.9). Elde edilen bu sonuçlara göre, hem RC_{su} hem de RC_{eta} ekstraları SMART'ta insektisitlerin genotoksik etkisini gidermiştir.

SMART'ta olduğu gibi MN ve KKD testlerinde de kullanılan insektisitlerden sadece tetradifon genotoksik etkili bulunmamıştır. Diğer dört insektisit ise genotoksik etki gösterdiği için kuşburnu bitkisine ait ekstrelerin iyileştirici etkilerinin belirlenmesinde kullanılmışlardır. İyileştirici etkiyi belirlemek için kuşburnu ekstreleri ve insektisitlerin en yüksek konsantrasyonu birlikte uygulanmıştır. İnsektisit + kuşburnu bitkisinin su (RC_{su}) ve etanol (RC_{eta}) ekstrelerinin uygulama gruplarına ait MN ve KKD frekans değerleri, profenofos, sipermetrin, fenvalerat ve lufenuron insektisitlerinin en yüksek uygulama gruplarına ait değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli derece düşük çıkmıştır ($P<0,05$). Dolayısı ile kuşburnunun hem su hem de etanol ekstreleri, MN ve KKD testlerinde de iyileştirici etki göstermiştir. Bu verilerden yola çıkarak “kuşburnu insektisitlere karşı antigenotoksik etkilidir” diyebiliriz. Kuşburnu bitkisinin benzer etkilere sahip olduğu daha önce yapılan çalışmalarda da gözlenmiştir. Karakaya ve Kavas (1999) tarafından yapılan bir çalışmada Ames testi kullanılarak ısırgan otu, adaçayı, kuşburnu gibi bitkiler ile üzüm pekmezi ve tarhana gibi gıdaların hem genotoksik hem de antigenotoksik etkileri araştırılmıştır. Çalışılan besinlerden hiçbirinin genotoksik etkiye sahip olmadığı bulunmuştur. Tüm besinlerin sodyum azidin (NaN_3) mutajenik etkilerini azalttığı, en yüksek antimutajenik etkinin ısırgan otu (%46,32) ve kuşburnunda (%44,03) gözleendiği bildirilmiştir. Kızılet *et al.* (2013), *Drosophila* kanat benek testini kullanarak yaptıkları çalışmada, kuşburnu etanol ekstresinin etil metansülfonatin (EMS) mutajenik etkilerini azalttığını rapor etmişlerdir. Kılıçgün and Dehen (2009), *in vitro* test sistemleri ile kuşburnunun DNA hasarı üzerine koruyucu etkilerini araştırmışlar ve %3'lük konsantrasyonda protein oksidasyonu, lipid peroksidasyonu ve DNA hasarının belirgin şekilde inhibe olduğunu belirtmişlerdir. %3'lük konsantrasyonun aynı zamanda en yüksek antioksidan aktiviteye de sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Aynı araştırmacılar elde ettikleri bulgulara dayanarak kuşburnunun besin ve ilaç endüstrisinde kullanılabileceğini vurgulamışlardır. Bir başka çalışmada ise kuşburnu ile aynı familyada yer alan kestane gülünün (*Rosa roxburghi*), 2-asetilaminoflorin ve aflatoksin B1 gibi mutajen maddelere karşı iyileştirici olarak kullanılabileceği tespit edilmiştir (Westhuizen *et al.* 2008). Kuşburnunda bulunan fenolik bileşiklerden birisi olan protokatehuik asidin (Khadem and Marles 2010) hidrojen peroksidin etkilerine karşı antimutajenik özellik gösterdiği *Drosophila* kanat benek testi ile belirlenmiştir (Anter *et al.* 2011). Kuşburnu meyvelerinde bulunan metil

galat fenolik bileşiminin (Hvattum 2002) fare periferik kan hücrelerinde mikronükleus oluşumunu ve lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği Lee *et al.* (2005) tarafından rapor edilmiştir. Yine kuşburnunda bol miktarda bulunan bileşiklerden bir diğeri olan askorbik asidin ise etil metansülfonat (EMS), metil metansülfonat (MMS) ve N-nitrozo N-etilüre (ENU) gibi mutajen maddelerin etkilerini azalttığı *Drosophila* kanat benek testi (SMART) ile gözlenmiştir (Kaya 2003).

Bu çalışmada DNA hasarlarına ait iyileştirici etkinin kuşburnu bitkisinin antioksidan özelliklerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Antioksidanlar serbest radikallere karşı koruyucu etkiye sahip moleküllerdir. Antioksidanlara katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimatik sistemlerin yanında E vitamini (Chow 1991), C vitamini gibi enzim olamayan sistemlerde örnek verilebilir. Antioksidanlar ve serbest radikaller arasındaki denge serbest radikallere doğru kaydığında oksidatif strese söz edilebilir (Floyd 1990). Dolayısı ile hücrelerde antioksidanların fazlalığı bu dengenin serbest radikallere doğru kaymasını engellemekte, oksidatif stresi ve onun zararlı etkilerini azaltmaktadır. Çeşitli araştırmacılar tarafından kuşburnunun antioksidan özellik gösterdiği (Özcan 2000; Serteser *et al.* 2008), bunun da vitamin C ve fenolik bileşikler bakımından oldukça zengin bir bitki olmasından kaynaklandığı (Akyüz vd 1996; Ercişli 2007; Montazeri *et al.* 2011; Tumbas *et al.* 2012) bildirilmiştir. Tumbas *et al.* (2012) kuşburnu çaylarındaki C vitamini ve fenolik bileşikler ile antioksidan kapasite arasında pozitif bir korelasyon olduğunu tespit etmiştir. Yine aynı araştırmacılar tarafından kuşburnundaki fenolik bileşiklerin HeLa, MCF7 ve HT-29 hücrelerinin bölünmesi üzerine inhibitör etkiye sahip olduğu da bildirilmiştir. 25 µg/ml kurutulmuş kuşburnu özütünün *in vitro* olarak lipit peroksidasyonunu %83,7 oranında inhibe ettiği rapor edilmiştir (Gao *et al.* 2000). Montazeri *et al.* (2011) kuşburnu metanol ekstresinin güçlü bir antioksidan olduğunu ifade etmişlerdir. Daels-Rakotorison *et al.* (2002) tarafından yapılan bir çalışma ile de kuşburnu ekstraktlarının polinükleer nötrofil hücrelerinde serbest radikallerin oluşumunu azalttığı gözlenmiştir. Araştırmacılar elde ettikleri verilerin sonucunda kuşburnunun sadece besin olarak düşünölemeyeceğini, tedavi edici potansiyelinden dolayı biyoaktif moleküllerin de önemli bir kaynağı olduğunu dile getirmişlerdir. Roman *et al.* (2013) çalıştığı diğerkuşburnu türlerine göre *R.canina*'nın biyoaktif bileşikler yönü ile daha

zengin olduğunu belirlemiştir. Kuşburnunun biyoaktif bileşiklerden kaynaklanan iyileştirici etkileri, onun soğuk algınlığı, grip (Tumbas *et al.* 2012), romatizma (Willich *et al.* 2010), diyabet (Orhan *et al.* 2009), öksürük (Pieroni and Quave 2005) gibi çeşitli hastalıklarının tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir. Kuşburnu tohumu ile beslenen farelerde plazma kolesterol ve trigliserit oranının önemli derecede azaldığı dolayısı ile kuşburnunun diyet gıdalarda da kullanılabileceği Kadakal vd (1999) tarafından ifade edilmektedir.

Daha önce yapılan çeşitli araştırmalarda kuşburnu gibi birçok bitkinin de iyileştirici etkilere sahip olduğu gözlenmiştir. Kalaycıoğlu ve Öner (1994)'e göre, Dünya Sağlık Örgütü tarafından bildirilen ve tedavi amacı ile kullanılan bitki çeşidi sayısı 20 000 civarındadır. Isırgan otu, adaçayı (Karakaya ve Kavas 1999), karanfil (Nascimento *et al.* 2000), kekik (Özbek *et al.* 2008), hurma (Jang *et al.* 2010) , ökseotu (Alpsoy *et al.* 2010) ve buğday (Aydos *et al.* 2011) gibi bitkiler bunlardan birkaçıdır.

Sonuç olarak, bu çalışmada kullanılan profenofos, sipermetrin, fenvalerat ve lufenuron insektisitlerinin hem somatik mutasyon ve rekombinasyon testi hem de mikronükleus ve kardeş kromatit değişimi testleri ile somatik hücrelerde genotoksik etkili oldukları, tetradifonun ise herhangi bir mutajenik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir. Özellikle genotoksik etkileri belirlenen insektisitlerin tarımsal üretim esnasında tarladaki ürünlerin zararlılardan korunması, bu ürünlerin depolarda saklanması ve halk sağlığı amacı ile kullanımının bitkisel ve hayvansal organizmalar ile en önemlisi insanlar için olumsuz zincir reaksiyon etkilere sebep olacağı aşikârdır. Somatik mutasyon frekansını artıran insektisitler, gametleri de etkileyebilirler. Etkilenmiş gametlerin fertilize olması da gelecek nesillerde kromozom sayı ve yapı aberasyonları ile mikro mutasyon frekansını artırarak prenatal ve postnatal dönemlerde çeşitli semptomlar ile ölümleri ya da konjenital malformasyonlu birey sayısını artırarak popülasyon için genetik yük oluşturacaktır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise kuşburnu bitkisinin su ve etanol ekstraktları kullanılmış ve insektisitler ile birlikte kullanılan bu ekstraktların insektisitlerin uyardığı genotoksik etkileri azalttığı görülmüştür. Günümüzde hastalıkların tedavisi için yeni bir yaklaşım olarak alternatif tıp kullanılmaktadır. Bu

tedavi türü içinde bitkiler ve onların antioksidan kapasiteleri, yalnızca insektisit değil her türlü kimyasal ajanın sebep olabileceği DNA hasarlarını önlemede önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle kuşburnu meyvelerinin hem gıda hem de ilaç sektöründe şifalı bitki olarak kullanılabileceğini ve geleneksel kullanımının yaygınlaştırılması ile gerek sağlık alanında gerekse ülke ekonomisi açısından getirilerinin yüksek olacağını düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- Abd-Alla, S.M., Dorrah, M.A., Ali, M.M. and Bassal, T.T.M., 2003. Genotoxicity of lufenuron to *Drosophila melanogaster*. *Efflatounia*, 3, 32-38.
- Abdullah, A.R., Kumar, A., and Chapman, J.C., 1994. Inhibition of acetylcholinesterase in the australian freshwater shrimp (*Paratya australiensis*) by profenofos. *Environ. Toxicol. Chem.*, 13, 1861–1866.
- Abou Gabal, A.A., 2006. Micro and macro genetic damage induced by the insecticide Match in mice genome, *Arab J. Biotech.*, 9, 437-452.
- Adelsbach, T.L. and Tjeerdema, R.S., 2003. Chemistry and fate of fenvalerate and esfenvalerate, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 176, 137-154.
- Agrawal, R.C. and Pandey, S., 2009. Evaluation of anticarcinogenic and antimutagenic potential of *Bauhinia variegata* extract in Swiss albino mice. *Asian Pac. J. Cancer P.*, 10, 913-916.
- Ağar, S., Aydınoglu, H., Temel, O., İkizunal, K. ve Ece, H., 1991. Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği. *Türk Ekonomi Dergisi*, 15, 247-256.
- Akdoğan, A., 2011. Bazı Pestisitlerin Kromatografik Ayrılmaları ve Tayinleri. Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli.
- Akerele, O., 1992. W.H.O. Guidelines for the assessment of herbal medicine. *Fitoterapia*, 63, 99–110.
- Akyüz N., Coşkun H. ve Bakırcı, İ., 1996. Kuşburnunun besin değeri ve kullanım alanları. Kuşburnu Sempozyumu, Gümüşhane.
- Alpsoy, L., Uzonur, I., Sakcali, M.S. and Karaman, S., 2010. Antioxidant and antimutagenic activities of *Viscum album* fruit ethanolic extract in human lymphocytes. *Afr. J. Biotechnol.*, 9, 2539–2543.
- Alves de Rezende, A.A., Graf, U., Guterres, Z.R., Kerr, W. E. and Spano, M.A., 2009. Protective effects of proanthocyanidins of grape (*Vitis vinifera* L.) seeds on DNA damage induced by doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*, *Food Chem. Toxicol.*, 47, 1466–1472.
- Ames, B.N., Mc Cann, J. and Yamasaki, E., 1975. Models for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 31, 347–364.
- Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 90, 7915-7922.
- Ananthi, R., Chandra, N., Santhiya, S.T. and Ramesh, A., 2010. Genotoxic and antigenotoxic effects of *Hemidesmus indicus* R. Br. root extract in cultured lymphocytes. *J. Ethnopharmacol*, 127, 558–560.
- Anderson, D., Dewdney, R. S., Jenkinson, P.C., Lovell D.P., Butherworth, R. and Connign, D.M., 1986. Sister chromatid exchange (SCE) analysis in 106 control individuals. *Progr. Clin. Biol. Res.*, 207, 39–58.
- Anonim, 2011. Properties of dogrose. <http://www.botanicalonline.com/medicinalsrosacania/angles.htm> (29.11.2012).
- Anter, J., Romero-Jimenez, M., Fernandez-Bedmar, Z., Villatoro-Pulido, M., Analla, M., Alonso-Moraga, A. and Munoz-Serrano, A., 2011. Antigenotoxicity,

- cytotoxicity, and apoptosis induction by apigenin, bisabolol, and protocatechuic acid. *J. Med. Food*, 14, 276-283.
- Anwar, W.A., Salama, S.I., Serafy, M.M., Hemida, S.A. and Hafez, A.S., 1994. Chromosomal aberrations and micronucleus frequency in nurses occupationally exposed to cytotoxic drugs. *Mutagenesis*, 4, 315–317.
- Atamanalp, M. ve Cengiz, M., 2002. Bir sentetik piretroid insektisit (cypermethrin)'in sublethal dozlarının *Capoeta capoeta*'da hemoglobin, hemotokrit ve sediment seviyeleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. *Ege J. Fish Aqua Sci.*, 19, 169-175.
- Ayaz, A., Kadioğlu, A., Beyazoğlu, O. ve Coşkunçelebi, K., 1996. Kuşburnu ürünlerinin karbonik asitleri ve diğer bazı kimyasalları yönünden incelenmesi. Kuşburnu sempozyumu, Gümüşhane.
- Aydos, O.S., Avcı, A., Özkan, T., Karadağ, A., Gürleyik E., Altınok, B. and Sunguroğlu, A., 2011. Antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) extract on CML (K562) cell line. *Turk J. Med. Sci.*, 41, 657-663.
- Badraoui, R., Abdelmoula, N.B. and Rebai, T., 2011. Erythrocytes oxidative damage and hematological effects of 2,4,4',5-tetrachlorodiphenyl sulfone in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.*, 63, 479–482.
- a)Badraoui, R., Abdelmoula, N.B., Sahnoun, Z., Fakhfakh, Z. and Rebaia, T., 2007. Effect of subchronic exposure to tetradifon on bone remodelling and metabolism in female rat. *Comptes Rendus Biologies*, 330, 897–904.
- b)Badraoui, R., Sahnoun, Z., Abdelmoula, N.B., Hakim, A., Fki, M. and Rebaia, T., 2007. May antioxidants status depletion by tetradifon induce secondary genotoxicity in female wistar rats via oxidative stress? *Pestic. Biochem. Physiol.*, 88, 149–155.
- Bakhitova, L.M. and Pashin, V., 1988. Cypermethrin induction of micronuclei in mammalian somatic cells. *T. Sitol. Genet.*, 22, 32-35.
- Balaji, M. and Sasikala, K., 1993. Cytogenetic effect of malathion in *in vitro* culture of human peripheral blood. *Mutat. Res. Lett.*, 301, 13–17.
- Barale, R., Chelotti, L., Davini, T., Del Ry, S., Andreassi, M. G., Ballardin, M., Bulleri, M., He, J., Baldacci, S., Di Pede, F., Gemignani, F. and Landi, S., 1998. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1,650 subjects in an Italian population: II. Contribution of sex, age, and lifestyle. *Environ. Mol. Mutagen.*, 31 (3), 228-242.
- Barros, A.L., Souza, V.V., Navarro, S.D., Oesterreich, S.A., Oliveira, R.J., Kassuy, C.A.L. and Arena, A.C., 2013. Genotoxic and mutagenic effects of diflubenzuron, an insect growth regulator, on mice. *J. Toxicol. Environ. Health*, 76, 1003-1006.
- Barros, L., Ana Carvalho, A.M., Sa Morais, J. and Ferreira, I.C.F.R., 2010. Strawberrytree, blackthorn and rose fruits: Detailed characterisation in nutrients and phytochemicals with antioxidant properties. *Food Chem.*, 120, 247–254.
- Bayel, İ., 2006. Terbinafin'in insan lenfosit kültürlerindeki etkilerinin kardeş kromatid değişimi (SCE) yöntemi ile *in vitro* araştırılması. Y. Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Bayram, M. ve Aslan, Ö., 1996. Kuşburnunun farklı ürünlere işlenmesi. Kuşburnu Sempozyumu, Gümüşhane.

- Baysal, V., Şahin, F., Erel, A., Oruk, S. and Menevşe, S., 2003. The effect of PUVA treatment on sister chromatid exchange (SCE) values in psoriasis vulgaris patients. *J. Dermatol. Treat.*, 14, 22-25.
- Baytop, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Yayınevi, Eczacılık Fakültesi, İstanbul, 240-376.
- Berkowitz, G.S., Obel, J., Deych, E., Lapinski, R., Godbold, J., Liu, Z., Landrigan, P.J. and Wolff, M.S., 2003. Exposure to indoor pesticides during pregnancy in a multiethnic, urban cohort. *Environ. Health Perspect.*, 111, 79-84.
- Bhunya S.P. and Pati P.C., 1990. Effect of deltamethrin, a synthetic pyrethroid, on the induction of chromosome aberrations, micronuclei and sperm abnormalities in mice. *Mutagenesis*, 5, 229-232.
- Bhunya, S.P. and Pati P.C., 1988. Genotoxic effects of a synthetic pyrethroid insecticide, cypermethrin in mice *in vivo*. *Toxicol. Lett.*, 41, 223-230.
- Bogwitz, M.R., Chung, H., Magoc, L., Rigby, S., Wong, W., O’Keefe, M., McKenzie, J.A., Batterham, P. and Daborn, P.J., 2005. Cyp12a4 confers lufenuron resistance in a natural population of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 12807–12812.
- Bolognesi, C., 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.*, 543, 251–272.
- Budak, F.A., 2005. The Detection of genotoxic activity of the deltamethrin and permethrin by somatic mutation and recombination test with *Drosophila melanogaster*. *Gazi Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi*, 6, 87-93.
- Buechter, D.D., 1988. Free radicals and oxygen toxicity. *Pharm. Res.*, 5, 253-260.
- Bueno, A.F. and Freitas, S., 2004. Effect of the insecticides abamectin and lufenuron on eggs and larvae of *Chrysoperla externa* under laboratory conditions. *BioControl*, 49, 277–283.
- Burden, D.A. and Osheroff, N., 1999. *In vitro* evolution of preferred topoisomerase II DNA cleavage sites. *J. Biol. Chem.*, 274, 5227-5235.
- Bustamante, E. and Pedersen, P.L., 1973. Tetradifon: An oligomycin-like inhibitor of energy-linked activities of rat liver mitochondria. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 51, 292–298.
- Caballo, G.C., Herrera, A., Barrueco, C., Santa-Maria, A., Sanz, F. and De la Pena, E., 1992. Analysis of cytogenetic damage induced in CHO cells by the pyrethroid insecticide fenvalerate. *Teratog. Carcinog. Mutagen.*, 12, 243–249.
- Caffarelli, V., Conte, E., Correnti, A., Gatti, R., Musmeci, F., Morali, G., Spagnoli, G., Tranfo, G., Triolo, L., Vita, M. and Zappa, G., 2004. Pesticides re-entry dermal exposure of workers in greenhouses. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.*, 69, 733–742.
- Cakir, A., Kordali, S., Kilic, H. and Kaya, E., 2005. Antifungal properties of essential oil and crude extracts of *Hypericum linarioides* Bosse. *Biochem. Syst. Ecol.*, 33, 245-256.
- Carrano A.V. and Natarajan A.T., 1988. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat. Res.*, 204, 379-406.
- Carvalho, N.C., Correa-Angeloni, M.J.F., Leffa, D.D., Moreira, J., Nicolau, V., Amaral, P.A., Rossatto, Â.E. and Andrade, V.M., 2011. Evaluation of the genotoxic and

- antigenotoxic potential of *Melissa officinalis* in mice. Genet. Mol. Biol., 34, 290-297.
- Cavallo, D., Ursini, C.L., Perniconi, B., Francesco, A., Giglio, M., Rubino, F.M., Marinaccio, A. and Iavicoli, S., 2005. Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees. Mutat. Res, 587, 45-51.
- Cemeroğlu, B., 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metodları. Biltav Yayınları, 381 s, Ankara.
- Chauhan, L.K.S., Saxena, P.N. and Gupta, S.K. 1999. Cytogenetic effects of cypermethrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*. Environ Exp. Bot., 42, 181-189.
- Chow, C.K., 1991. Vitamin E and oxidative stress. Free Radic. Biol. Med., 11, 215-232.
- Cicchetti, R., Bari, M. and Argentin, G., 1999. Induction of micronuclei in bone marrow by two pesticides and their differentiation with crest staining: an *in vivo* study in mice. Mutat. Res., 439, 239-248.
- Cowan, M.M., 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. Rev., 12, 564-582.
- Cox, C., 1996. Insecticide factsheet cypermethrin. J. Pestic. Reform, 16, 15-20.
- Çağlayan, A., 2005. Fenvaleratın Sıçanda Ksenobiyotik Metabolize Edici Enzim Aktiviteleri Üzerindeki Etkileri Selenyum ve/veya İyot Eksikliğinin Etkisi. Y. Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çakır, S., 2008. Çukurova Yöresinden Toplanan Sütlerde Sentetik Piretroid İnsektisid Varlığının Araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Çakır, Ş. and Sarıkaya, R., 2005. Genotoxicity testing of some organophosphate insecticides in the *Drosophila* wing spot test. Food Chem. Toxicol., 43, 443-450.
- Çalışkan, M., 2010. The effects of the synthetic pyrethroid insecticide tetrametrin on the serum proteins of albino mice (*Mus musculus*). Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 67, 65-71.
- Çelik, F., 2007. Van Gölü Havzası Kuşburnu (*Rosa spp.*) Genetik Kaynaklarının Seleksiyonu ve Mevcut Biyolojik Çeşitliliğin Tespiti. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Daels-Rakotoarison, D.A., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Luyckx, M., Dine, T., Bailleul, F., Cazin, M. and Cazin, J.C., 2002. Effects of *Rosa canina* fruit extract on neutrophil respiratory burst. Phytother Res., 16, 157-161.
- Dağ, S.S., Aykaç, V.T., Gündüz, A., Kantarcı, M. ve Şişman, N., 2000. Türkiye’de tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. Türkiye Ziraat Mühendisliği V. Teknik Kongresi, Ankara.
- Darko, G. and Akoto, O., 2008. Dietary intake of organophosphorus pesticide residues through vegetables from Kumasi, Ghana. Food Chem. Toxicol., 46, 3703-3706.
- Deivanayagam, C., Asokan, S. and Rajasekar, S., 2014. The study of lipid peroxidation, liver enzymes and antioxidant status in lufenuron treated mice, *Mus musculus* species. Int. J. Chem. Tech. Res., 6, 5321-5328.
- Delen, N., 2008. Fungisitler. Nobel Yayınevi, 318 s, İzmir.

- Dolara, P., Salvadori, M., Capobianco, T. and Torricelli, F., 1992. Sister-chromatid exchanges in human lymphocytes induced by dimethoate, omethoate, deltamethrin, benomyl and their mixture. *Mutat. Res. Lett.*, 283, 113-118.
- Dormandy, T.L., 1980. Free radical reaction in biological systems. *Ann. R. Coll. Surg: Engl.*, 62, 188-194.
- Ebeling, W., 1995. *Inorganic Insecticides and Dusts*. Oxford University Press. New York, 193-230.
- Ecobichon, D.J., 2001. Toxic Effects of Pesticides, "Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons (Ed. C.D. Klaassen). McGraw Comp, North America, 784-786.
- Egea, I., Sanchez-Bel, P., Romojaro, F. and Pretel, M.T., 2010. Six edible wild fruits as potential antioxidant additives or nutritional supplements. *Plant Foods Hum. Nutr.*, 65, 121-129.
- Eisler, R., 1992. Fenvalerate Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates: A Synaptic Review. *Contaminant Hazard Reviews*. Report 24. U.S. Department of the Interior, Washington, DC.
- El Khatib, E.H., Abdel-Aziz, M., Badr, Y. and Kamal, N., 2005. *In vivo* genotoxicity of the synthetic pyrethroid pesticide "cypermethrin" in rat liver cells by comet assay. *Arab J. Biotech*, 8, 67-82.
- El Nahas, S.M., De Hondt, H.A. and Abdou, H.E., 1989. Chromosome aberrations in spermatogonia and sperm abnormalities in curacrontreated mice. *Mutat. Res.*, 222, 409-414.
- Elbetieha, A., Da'as, S. I., Khamas, W. and Darmani, H., 2001. Evaluation of the toxic potentials of cypermethrin pesticide on some reproductive and fertility parameters in the male rats. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 41, 522-528.
- El-Hoda, N. and Zidan, A., 2009. Evaluation of the reproductive toxicity of chlorpyrifos methyl, diazinon and profenofos pesticides in male rat. *Int. J. Pharmacol.*, 5, 51-57.
- Emecen, G. ve Ünlü, H., 1995. Memelilerde pestisitlerin sitogenetik etkilerinin mikronükleus testi ile araştırılması. *Turk J. Biol.*, 19, 1-9.
- Ercişli, S., 2007. Chemical composition of fruits in some rose (*Rosa* spp.) species. *Food Chem.*, 104, 1379-1384.
- Erinç, S., 1984. *Ortam Ekolojisi ve Degredasyonel Ekosistem Değişiklikleri*, İstanbul Üniversitesi Deniz Bilimleri ve Coğrafya Enstitüsü Yayınları, İstanbul.
- Fahmy, M.A. and Abdalla, E.F., 1998. Genotoxicity evaluation of buprofezin, petroleum oil and profenofos in somatic and germ cells of male mice. *J. Appl. Toxicol.*, 18, 301-305.
- Fairbairn, D.W., Olive, P.L. and O'Neill, K.L., 1995. The Comet assay: A comprehensive review. *Mutat. Res.*, 339, 37-59.
- Falck, G., Catalan, J. and Norppa, H., 1997. Influence of culture time on the frequency and contents of human lymphocyte micronuclei with and without cytochalasin-B. *Mutat. Res.*, 392, 71-79.
- Farrag, A.H. and Shalby, S.E.M., 2007. Comparative histopathological and histochemical studies on IGR, lufenuron and profenofos insecticide albino rats. *J. Appl. Sci. Res.*, 3, 377-386.

- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S., 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi, 11, 52 – 67.
- Fenech, M. and Morley, A.A., 1985. Measurement of micronuclei in lymphocytes. Mutat. Res., 147, 29–36.
- Fenech, M., 1993. The cytochinesis-block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. Environ. Health Perspect., 101, 101–107.
- Fenech, M., 2000. The *in vitro* micronucleus technique. Mutat. Res., 455, 81-95.
- Fenech, M., 2006. Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. Mutat. Res. Fund. Mol. Mech. Mutagen., 600, 58–66.
- Fenech, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S. and Zeiger, E., 2003. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. Mutat. Res.-Gen. Tox. En., 534, 65-75.
- Ferguson, L., Denny, W. A., 1995. Anticancer drugs: an underestimated risk or an underutilized resource in mutagenesis. Mutat. Res., 331, 1–26.
- Floyd, R.A., 1990. Role of oxygen free radicals in carcinogenesis and brain ischemia. Faseb J. 4, 2587-2597.
- Frei, H. and Würzler, F.E., 1988. Statistical methods to decide whether mutagenic test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive results. Mutat. Res., 203, 297-308.
- Frei, H. and Würzler, F.E., 1996. Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eukaryotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. Mutagenesis, 11 (4), 315-325.
- Ganguly, B.B., 1995. Age-related variation in sister chromatid exchanges and cell cycle kinetics in peripheral blood lymphocytes of healthy individuals. Mutat. Res, 316 (4), 147-56.
- Ganguly, S. and Bhattacharya, S., 2006. Cytogenetic effects of pesticides in mice (*Mus musculus*). Cytologia, 71, 419-423.
- Gao, X., Björk, L., Trajkovski, V. and Uggla, M., 2000. Evaluation of antioxidant activities of rosehip ethanol extracts in different test systems. J. Sci. Food Agr., 80, 2021–2027.
- Giray, B., Gürbay, A. and Hincal, F., 2001. Cypermethrin-induced oxidative stress in rat brain and liver is prevented by vitamin E or allopurinol. Toxicol. Lett., 118, 139-146.
- Giri, S., Sharma, G.D., Giri, A. and Prasad, S.B., 2002. Fenvalerate induced chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in the bone marrow cells of mice *in vivo*. Mutat. Res-Gen. Tox. En., 520, 125-132.
- Giri, S., Sharma, G.D., Giri, A. and Prasad, S.B., 2003. Induction of sister chromatid exchanges by cypermethrin and carbosulfan in bone marrow cells of mice *in vivo*. Mutagenesis, 18, 53-58.
- Gollapudi, B.B., Mendrala, A.L. and Linscombe, V.A., 1995. Evaluation of the genetic toxicity of the organophosphate insecticide chlorpyrifos. Mutat. Res. Genet. Toxicol., 342, 25–36.

- Gonzales, I., Celedon, G., Montalar, Y. and Lutz, M., 1989. Dietary rose hip and corn oils effects on biliary and plasma lipid patterns and hepatocyte membranes fluidity in rats. *Nutr. Rep. Int.*, 40, 271–280.
- Graf, U. and Würgler, F.E., 1996. The somatic white-ivory eye spot does not detect the same spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 27, 219-226.
- Graf, U., Abraham, S.K., Guzman-Rincon, J. and Würgler, F.E., 1998. Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.*, 402, 203-209.
- Graf, U., Spano, M.A., Rincon, J.G., Abraham, S.K. and Andrade, H.H., 1996. The wing somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila melanogaster*: An efficient tool for the detection of genotoxic activity of pure compounds or complex mixtures as well as for studies on antigenotoxicity. *African Newsletter*, 1, 9-13.
- Graf, U., Würgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B. and Kale, P.G., 1984. Somatic mutation test in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mol. Mutagen.*, 6, 153-188.
- Gupta, J., Siddique, Y.H., Beg, T., Ara, G. and Afzal, M., 2009. Protective role of green tea extract against genotoxic damage induced by anabolic steroids in cultured human lymphocytes. *Biol. Med.*, 1, 87–99.
- Gülçin, İ., Kireççi, E., Akkemik, E., Topal, F. and Hisar, O., 2010. Antioxidant, antibacterial, and anticandidal activities of an aquatic plant: duckweed (*Lemna minor* L. Lemnaceae). *Turk. J. Biol.*, 34, 175–188.
- Gürbüz, İ., Üstün, O., Yesilada, E., Sezik, E. and Kutsal, O., 2003. Anti-ulcerogenic activity of some plants used as folk remedy in Turkey. *J. Ethnopharmacol.*, 88, 93–97.
- Habiba, R.A., Ali, H.M. and Ismail, S.M., 1992. Biochemical effects of profenofos residues in potatoes. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1852–1855.
- Halici, M., Odabasoglu, F., Suleyman, H., Cakir, A., Aslan, A. and Bayir, Y., 2005. Effects of water extract of *Usnea longissima* on antioxidant enzyme activity and mucosal damage caused by indomethacin in rats. *Phytomedicine*, 12, 656-662.
- Halliweil, B., 1987. Oxidants and human disease: some new concepts. *Faseb J.*, 1, 358-364.
- Halliweil, B., 1991. Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry and role in human disease. *Am. J. Med.* 91, 14-22.
- Hammam, F.M., Abd el Mottaleb, E.M., 2007. Studies of the genotoxic and histopathological effects of the organophosphorous insecticide 'profenofos' on white rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 29, 685–706.
- Hayder, N., Abdelwahed, A., Kilani, S., Ammar, R.B., Mahmoud, A., Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L., 2004. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) *Myrtus communis*. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 564, 89–95.
- He, J., Fan, M. and Liu, X., 2010. Environmental behavior of profenofos under paddy field conditions. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 84, 1771–774.
- Hermes-Lima, M. and Zenteno-Savín, T., 2002. Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress. *Comp. Biochem. Phys. C.*, 133, 537-56.

- Horowitz, A.R. and Ishaaya, I., 2004. Biorational insecticides-mechanisms, selectivity and importance in pest management. *Insect Pest Management*, 1-28.
- Horowitz, A.R., Mendelson, Z., Weintraub, P.G. and Ishaaya, I., 1998. Comparative toxicity of foliar and systemic applications of acetamiprid and imidacloprid against the cotton whitefly, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Bull. Entomol. Res.*, 88, 437-442.
- Horton A.A. and Fairhurst, S., 1987. Lipid peroxidation and mechanisms of toxicity. *CRC Crit Rev. Toxicol*, 18, 27-79.
- Houk, V.S., 1992. The genotoxicity of industrial wastes and effluents. *Mutat. Res.*, 277, 91-138.
- Howard, J.J., 1987. Leafcutting ant diet selection: The Role of nutrients, water and secondary chemistry. *Ecology*, 68, 503-515.
- Hsieh, C.Y. and Allen, W.W., 1986. Effects of insecticides on emergence, survival, longevity, and fecundity of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphididae) from mummified *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.*, 79, 1599 – 1602.
- Hvattum, E., 2002. Determination of phenolic compounds in rosehip (*Rosa canina*) using liquid chromatography coupled to electrospray ionisation tandem mass spectrometry and diode-array detection. *Rapid Comm. Mass. Spectrom*, 16, 655–662.
- Ikeda, Y. and Long, D.M., 1990. The molecular basis of brain injury and brain edema: The role of oxygen free radicals. *Neurosurgery*, 27, 1-11.
- Institoris, L., Undeger, Ü., Siroki, O., Nehez, M. and Desi, İ., 1999. Comparasion of detection sensitivity of immuno and genotoxicological effects of subacute cypermethrin and permethrin exposure in rats. *Toxicology*, 137, 47-55.
- Isman, M.B., 1997. Neem and other botanical insecticides: Barriers to commercialization, *Phytoparasitica*, 25, 339-344.
- İsmail, M., Ali, R., Ali, T., Waheed, U. and Khan, Q.M., 2009. Evaluation of the acute toxicity of profenofos and its effects on the behavioral pattern of fingerling common carp (*Cyprinus carpio* L., 1758). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 82, 569-573.
- Jang, I., Jo, E., Bae, M., Lee, H.J., Jeon, G.I., Park, E., Yuk, H.G., Ahn, G.H. and Lee, S.C., 2010. Antioxidant and antigenotoxic activities of different parts of persimmon (*Diospyros kaki* cv. Fuyu) fruit. *J. Med. Plants Res.*, 4, 155-160.
- Kadalkal, Ç., Gürsoy, O. ve Nergiz, C., 1999. Gümüşhane yöresinde doğal olarak yetişen kuşburnu (*Rosa canina* L.) bitkisinin meyve ve çekirdeğinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri, *Gıda Bilimi ve Teknolojisi Dergisi*, 4, 34-41.
- Kadıoğlu, A. ve Yavru, İ., 1996. Kuşburnu (*Rosa canina* L.) meyvelerindeki C vitaminin basit işlemlerle suya geçirebilme veriminin araştırılması. *Kuşburnu Sempozyumu, Gümüşhane*.
- Kakko, I., Toimela, T. and Tahti, H., 2003. The synaptosomal membrane bound ATPase as a target for the neurotoxic effects of pyrethroids, permethrin and cypermethrin. *Chemosphere*, 51, 475–480.
- Kalaycıoğlu, A. ve Öner, C., 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Ames – Salmonella test sistemi ile araştırılması, *Tr.J. of Botany*, 18, 117 – 122.
- Kaneko, H., Takamatsu, Y., Okuno, Y., Abiko, J., Yoshitake, A. and Miyamoto, J., 1988. Translator disclaimer substrate specificity for formation of cholesterol

- ester conjugates from fenvalerate analogues and for granuloma formation. *Xenobiotica*, 18, 11–19.
- Karakaya, S. and Kavas, A., 1999. Antimutagenic activities of some foods. *J. Sci. Food Agr.*, 79, 237-242.
- Karataş, A. and Bahçeci, Z., 2008. Effects of cypermethrin on some development stages of *Drosophila melanogaster*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 82, 738-742.
- Kasimoglu, C. and Uysal, H., 2015. Mutagenic biomonitoring of pirethroid insecticides in human lymphocyte cultures: Use of micronuclei as biomarkers and recovery by *Rosa canina* extracts of mutagenic effects. *Pharmaceut. Biol.*, 53, 625–629.
- Kaur, P., Walia, A., Kumar, S. and Kaur, S., 2009. Antigenotoxic activity of polyphenolic rich extracts from *Aegle marmelos* (L.) Correa in human blood lymphocytes and *E.coli* PQ 37. *Rec. Nat. Prod.*, 3, 68-75.
- Kavitha, P. and Rao, J.V., 2009. Sub-lethal effects of profenofos on tissue-specific antioxidative responses in a Euryhyaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 72, 1727–1733.
- Kaya, B., 2003. Anti-genotoxic effect of ascorbic acid on mutagenic dose of three alkylating agents. *Turk. J. Biol.*, 27, 241-246.
- Kaya, S., 2007. Dış Parazitleri Etkileyen İlaçlar. *Veteriner Uygulamalı Farmakoloji, Medisan Yayın Serisi*, Ankara. 575-655.
- Kaya, S., Pirinçci, İ., Ünsal, İ.A., Karaer, Z., Traş, B., Bilgili, A., Akar, F. ve Doğan, A., 2002. *Veteriner Hekimliğinde Farmakoloji*. Medisan Yayınevi, Ankara.
- Kaymak, G., Akbulut, C., Esmer, H.E., Kayhan, F.E. ve Yön, N.D., 2014. Sucul organizmalarda çevresel şartlara karşı geliştirilen oksidatif stres mekanizmaları ve adaptif yanıtlar. *M.Ü. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Dergisi*, 4, 154-169.
- Khadem, S. and Marles, R.J., 2010. Monocyclic phenolic acids; hydroxy-and polyhydroxybenzoic acids: Occurrence and recent bioactivity studies. *Molecules*, 15, 7985-8005.
- Kılıçgün, H. and Dehen, A., 2009. *In vitro* antioxidant effect of *Rosa canina* in different antioksidant test systems. *Pharmacognosy Res*, 1, 417-420.
- Kızılet, H., Kasimoğlu, C. and Uysal, H., 2013. Can the *Rosa canina* plant be used against alkylating agents as a radical scavenger? *Pol. J. Environ. Stud.*, 22, 1263-1267.
- Koçak, A., Şenol, E., Kök, H.O. ve Aktaş, E.Ö., 2005. Organofosfat (Tamaron) zehirlenmesi sonrasında gelişen nöropati. *J. Foren. Med.*, 2, 109-112.
- Kong, Z., Liu, Z. and Ding, B., 1995. Study on the antimutagenic effect of pine needle extract. *Mutat. Res. Lett.*, 347, 101-104.
- Laskowski, D.A., 2002. Physical and chemical properties of pyrethroids, *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 174, 49-170.
- Latt, S.A., Allen, J., Bloom, S.E., Carrano, A., Falke, E., Kram, D., Schneider, E., Schreck, R., Tice, R., Whitfield, B. and Wolff, S., 1981. Sister-chromatid exchanges: A report of the gene-tox program. *Mutat. Res.*, 57, 17–62.
- Lee, S.C., Kwon, Y.S., Son, K.H., Kim, H.P. and Heo, M.Y., 2005. Antioxidative constituents from *Paeonia lactiflora*. *Arch. Pharm. Res.*, 28, 775–783.
- Leighton, T., Marks, E. and Leighton, F., 1981. Pesticides: insecticides and fungicides are chitin synthesis inhibitors. *Science*, 213, 905-907.

- Levan, A., 1938. The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*. *Hereditas*, 24, 471–486.
- Li, X., Li, S., Liu, S. and Zhu, G., 2010. Lethal effect and *in vivo* genotoxicity of profenofos to Chinese native amphibian (*Rana Spinosa*) tadpoles. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 59, 478–483.
- Lynch, A., Harvey, J., Aylott, M., Nicholas, E., Burman, M., Siddiqui, A., Walker, S. and Rees, R. 2003. Investigations into the concept of a threshold for topoisomerase inhibitor-induced clastogenicity. *Mutagenesis*, 18, 345–353.
- Mac Gregor, J.T., Heddle, J.A., Hite, M. and Margolin, B.H., 1987. Guide lines for the conduct of micronucleus assay in bone marrow erythrocytes. *Mutat. Res.*, 189, 103–112.
- Maffei, F., Forti, G.C., Castelli, E., Stefanini, G.F., Mattioli, S. and Hrelia, P., 2002. Biomarkers to assess the genetic damage induced by alcohol abuse in human lymphocytes. *Mutat. Res.*, 514 (1-2), 49–58.
- Mansour, H.B., Boubaker, J., Bouhlef, I., Mahmoud, A., Bernillon, S., Chibani, J.B., Ghedira, K. and Chekir-Ghedira, L., 2007. Antigenotoxic activities of crude extracts from *Acacia salicina* leaves. *Environ. Mol. Mutagen.*, 48, 58–66.
- Mansour, M.K., El-Kashoury, A.A.I., Rashed, M.A. and Koretem, K.M., 2009. Oxidative and biochemical alterations induced by profenofos insecticide in rats. *Nat. Sci.*, 7, 1–15.
- McCarthy, A.R., Thomson, B.M., Shaw, I.C. and Abell, A.D., 2006. Estrogenicity of pyrethroid insecticide metabolites. *J. Environ. Monit.*, 8, 197–202.
- Migliore, L., Nieri, M., Amodio, S. and Loprieno, N., 1989. The human lymphocyte micronucleus assay: a comparison between whole-blood and separated-lymphocyte cultures. *Mutat. Res. Lett.*, 227, 167–172.
- Miranda-Vilela, A.L., Resck, I.S. and Grisolia, C.K., 2008. Antigenotoxic activity and antioxidant properties of organic and aqueous extracts of pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp. *Genet. Mol. Biol.*, 31, 956–963.
- Misra, S. and Sharma, C.B., 1997. Metabolism and bioaccumulation of fenvalerate and its metabolites in rat organs. *Biomed. Chrom.*, 11, 50–53.
- Miyamoto, J., Kaneko, H. and Takamatsu, Y., 1986. Stereoselective formation of cholesterol ester conjugate from fenvalerate by mouse microsomal carboxyesterases. *J. Biochem. Toxicol.*, 1, 79–93.
- Montazeri, N., Baher, E., Mirzajani, F., Barami, Z. and Yousefian S., 2011. Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. *J. Med. Plants Res.*, 5, 4584–4589.
- Moriya, M., Ohta, T., Watanabe, K., Miyazawa, T., Kato, K. and Shirasu, Y., 1986. Further mutagenicity studies on pesticides in bacterial reversion assay systems. *Mutat. Res.*, 116, 185–216.
- Moustafa, G.G., Ibrahim, Z.S., Hashimoto, Y., Alkelch, A.M., Sakamoto, K.Q., Ishizuka, M. and Fujita, S., 2007. Testicular toxicity of profenofos in matured male rats. *Arch. Toxicol.*, 81, 875–881.
- Mukhopadhyay, I., Chowdhuri, D.K., Bajpayee, M. and Dhawan, A., 2004. Evaluation of *in vivo* of cypermethrin in *Drosophila melanogaster* using alkaling comet assay. *Mutagenesis*, 19, 85–90.

- Muscarella, D.E., Keown, J.F. and Bloom, S.E., 1984. Evaluation of the genotoxic and embryotoxic potential of chlorpyrifos and its metabolites *in vivo* and *in vitro*. *Environ. Mutagen.*, 6, 13–23.
- Narahashi, T., Frey, J.M., Ginsburg, K.S. and Roy, M.L., 1992. Sodium and GABA-activated channels as the targets of pyrethroids and cyclodienes. *Toxicol. Lett.*, 64–65, 429–436.
- Nascimento, G.G.F., Locatelli, J., Freitas, P.C. and Silva, G.L., 2000. Antibacterial Activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Braz. J. Microbiol.*, 31, 4.
- Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, M. L., Stefano, A.D., Sozio, P. and Cantalamessa, F., 2007. Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology*, 229, 194–205.
- Navarro-Llopis, V., Sanchis-Cabanes, J., Ayala, D., Casana-Giner, V. and Primo-Yufera, E., 2004. Efficacy of lufenuron as chemosterilant against *Ceratitis capitata* in field trials. *Pest. Manag. Sci.*, 60, 914–920.
- Nowak, R., 2005. Chemical composition of hips essential oils of some *Rosa* L. species. *Z. Naturforsch. Chem. Sci.*, 62, 32–38.
- Oğuz, H. ve Aydın, H., 2001. Piretroid insektisitlerin veteriner hekimliğinde kullanımı, halk ve çevre sağlığı açısından önemi. *Veterinarium*, 12, 39–46.
- Orhan, N., Aslan, M., Hosbas, S. and Deliorman, O.D., 2009. Antidiabetic effect and antioxidant potential of *Rosa canina* fruits. *Phcog. Mag.*, 5, 309–315.
- Osabac, L., Aguirre, A., Alonso, A. and Graf, U., 1999. Genotoxicity testing of six insecticides in two crosses of the *Drosophila* wing spot test. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 439, 49–61.
- Oszmianski, J. and Chomin, W., 1993. Experimental commercial manufacture of high-vitamin C cloudy juice from *Rosa rugosa* fruits. *Przemysl Fermentacyjny Owocowo Warzywny*, 37, 16–17.
- Öğüt, S., 2012. Isparta Yöresinde Kullanılan Bazı Pestisitlerin Elma - Kirazlardaki Pestisit Kalıntıları ve Bu Ürünlerin Tarımında Çalışan Tarım İşçilerinin Kan Parametrelerine Etkilerin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Özbek, T., Güllüce, M., Şahin, F., Özkan, H., Sevsay, S. and Bariş, Ö., 2008. Investigation of the antimutagenic potentials of the methanol extract of *Origanum vulgare* l. Subsp. *vulgare* in the Eastern Anatolia Region of Turkey. *Turk. J. Biol.*, 32, 271–276.
- Özcan, M., 2000. Antioxidant activity of sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) essential oil and rose (*Rosa canina*) extract on natural olive oil. *Acta Aliment Hung.*, 29, 377–384.
- Öztürk, S., 1997. Tarım İlaçları. Ak Basımevi, 553 s, İstanbul.
- Pascual, J.A. and Peris, S.J., 1992. Effects of forest spraying with two application rates of cypermethrin on food supply and on breeding success of the blue tit (*Parus caeruleus*). *Environ. Toxicol. Chem.*, 11, 1271–1280.
- Patel, S., Pandey, A.K., Bajpayee, M., Parmar, D. and Dhawan, A., 2006. Mutation cypermethrin-induced DNA damage in organs and tissues of the mouse: evidence from the comet assay. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 607, 176–183.

- Patenkovic, A., Stamenkovic-Radak, M., Banjanac, T. and Andjelkovic, M., 2009. Antimutagenic effect of sage tea in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. Food Chem. Toxicol., 47, 180–183.
- Pati, P.C. and Bhunya, S., 1989. Cytogenetic effects of fenvalerate in mammalian *in vivo* test system. Mutat. Res. Genet. Tox., 222, 149–154.
- Peace, B.E. and Succop, P., 1999. Spontaneous micronucleus frequency and age: What are normal values? Mutat. Res. 425 (2), 225–230.
- Pedigo, L.P., 1996. Entomology and Pest Management. Iowa State Univeristy, Iowa, 679p, USA.
- Pelevina, I.I., Aleshchenko, A.V., Gotlib, V.I., Kudriashova, O.V., Semenova, L.P. and Serebrianyi, A.M., 2005. Effect of low dose irradiation on the reaction of blood lymphocytes of individuals with the somatic diseases. Radiatsionnaia Biologiya, Radioecologiya, 45 (4), 412–415.
- Pereira, D.G., Antunes, L.M.G., Graf, U. and Spano, M.A., 2008. Protection by *Panax ginseng* C.A. Meyer against the genotoxicity of doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. Genet. Mol. Biol., 31, 947–955.
- Perry, P.E. and Thomson, E.J., 1984. The Methodology of Sister Chromatid Exchanges. Handbook of Mutagenicity Test Procedures, 2nd ed., Eds: Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C., Elsevier, Amsterdam, 495–529.
- Perry, P.E. and Wolff, S., 1974. New giemsa method for the differential staining of sister chromatids. Nature, 251, 156–158.
- Pham, T., Lum, K. and Lemieux, C., 1996. Seasonal variation of DDT and its metabolites in the St. Lawrence River (Canada) and four of its tributaries. Sci. Total. Environ., 179, 17–26.
- Pieroni, A. and Quave, C.L., 2005. Traditional pharmacopoeias and medicines among Albanians and Italians in southern Italy: A comparison. J. Ethnopharmacol., 101, 258–270.
- Pinsky, A., Grossman S. and Trop, M., 1971. Lipoxygenase content and antioxidant activity of some fruits and vegetables. J. Food Sci. 36, 571–572.
- Pinto, B., Caciagli, F., Riccio, E., Reali, D., Saric, A., Balog, T., Likic, S. and Scarpato, R., 2010. Antiestrogenic and antigenotoxic activity of bee pollen from *Cystus incanus* and *Salix alba* as evaluated by the yeast estrogen screen and the micronucleus assay in human lymphocytes. Eur. J. Med. Chem., 45, 4122–4128.
- Pommier, Y., Zwelling, L.A., Kao-Shan, C., Whang-Peng, J. and Bradley, M.O., 1985. Correlations between intercalator-induced DNA strand breaks and sister chromatid exchanges, mutations, and cytotoxicity in Chinese hamster cells. Canc. Res., 45, 3143–3149.
- Prabhavathy Das, G., Pash, A., Jamil, S. and Jamil, K., 2006. Cytotoxicity and genotoxicity induced by the pesticide profenofos on cultured human peripheral blood lymphocytes. Drug Chem. Toxicol., 29, 313–322.
- Prabhavathy Das, G., Pash, A., Jamil, S. and Jamil, K., 2006. Estimation of apoptosis and necrosis caused by pesticides *in vitro* on human lymphocytes using DNA diffusion assay. Drug Chem. Toxicol., 29, 147–156.
- Prasanthi, K., Muralidhar, A. and Rajini, P.S., 2005. Fenvalerate-induced oxidative damage in rat tissues and its attenuation by dietary sesame oil. Food Chem. Toxicol., 43, 299–306.

- Principe, P., 1991. Monetizing the Pharmacological Benefits of Plants, US Environmental Protection Agency, Washington DC.
- Puig, M., Carbonel, E., Xamena, N., Creus, A. and Marcos, R., 1989. Analysis of cytogenetic damage induced in cultured human lymphocytes by the pyrethroid insecticides cypermethrin and fenvalerate. *Mutagenesis*, 4, 72–74.
- Purdue, M.P., Hoppin, J.A., Blair, A., Dosemeci, M. and Alavanja, M.C.R., 2007. Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the agricultural health study. *Int. J. Canc.*, 120, 642–649.
- Raina, R., Verma, P.K., Pankaj, N.K. and Prawez, S., 2009. Induction of oxidative stress and lipid peroxidation in rats chronically exposed to cypermethrin through dermal application. *J. Vet. Sci.*, 10, 257–259.
- Rao, J.V., Shilpanjali, D., Kavitha, P. and Madhavendra, S.S., 2003. Toxic effects of profenofos on tissue acetylcholinesterase and gill morphology in a euryhaline fish, *Oreochromis mossambicus*. *Arch. Toxicol.*, 77, 227–232.
- Ray, P.G. and Majumdar, S.K., 1976. Antimicrobial activity of some Indian plants. *Econ. Bot.*, 30, 317–320.
- Razik, A., Farrag, H. and Shalby, E.M., 2007. Comparative histopathological and histochemical studies on IGR, lufenuron and profenofos insecticide albino rats. *J. Appl. Sci. Res.*, 3, 377–386.
- Reddy, N.C. and Rao, J.V., 2008. Biological response of earthworm, *Eisenia foetida* (Savigny) to an organophosphorous pesticide, profenofos. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 71, 574–582.
- Reigart, J. and Roberts, J.R., 1999. Recognition and Management of Pesticide Poisonings. United States EPA. Washington, D.C.
- Rodriguez-Reyes, R. and Morales R.P., 2003. Sister chromatid exchange induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of SCE induction by ENU and the role of BrdU. *Mutagenesis*, 18, 65–72.
- Roman, I., Stanila, A. and Stanila, S., 2013. Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chem. Cent. J.*, 7, 73.
- Rortais, A., Arnold, G., Halm, M.P. and Touffet-Briens, F., 2005. Modes of honeybees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie*, 36, 71–83.
- Sankar, P., Telang, A.G. and Manimaran, A., 2010. Curcumin protects against cypermethrin induced genotoxicity in rats. *Environ. Toxicol. Phar.*, 30, 289–291.
- Sardaş, S. and Karakaya, A.E., 1990. Clastogenicity test; sister chromatid exchange. *Journal of Faculty of Pharmacy of Gazi University*, 7 (2), 91–104.
- Saxena, P.N., Chauhan, L.K.S. and Gupta, S.K., 2005. Cytogenetic effects of commercial formulation of cypermethrin in root meristem cells of *Allium sativum*: Spectroscopic basis of chromosome damage. *Toxicology*, 216, 244–252.
- Schettgen, T., Heudorf, U., Drexler, H. and Angerer, J., 2002. Pyrethroid exposure of the general population is this due to diet. *Toxicol. Lett.*, 134, 141–145.
- Scollon, E.J., Starr, J.M., Godin, S.J., DeVito, M.J. and Hughes, M.F., 2009. *In vitro* metabolism of pyrethroid pesticides by rat and human hepatic microsomes and cytochrome P450 isoforms. *Drug Metabol. Dispos.*, 37, 1221–228.

- Serteser, A., Kargioglu, M., Gok, V., Bagci, Y., Ozcan, M.M. and Arslan, D., 2008. Determination of antioxidant effects of some plant species wild growing in Turkey. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, 59, 643-651.
- Shafer, T.J., Meyer, D. A. and Crofton, K.M., 2005. Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides: critical review and future research needs. *Environ. Health Perspect*, 113, 123-136.
- Shakoori, A.R., Mughal, A.L. and Iqbal, M.J., 1996. Effects of sublethal doses of fenvalerate (a synthetic pyrethroid) administered continuously for four weeks on the blood, liver, and muscles of a freshwater fish, *Ctenopharyngodon idella*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 57, 487-494.
- Siddique, Y. H., Ara, G., Beg, T. and Afzal, M., 2007. Anti-genotoxic effect of *Ocimum sanctum* L. extract against cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured mammalian cells. *Acta Biologica Hungarica*, 58.
- Siddique, Y.H., Ara, G., Beg, T., Faisal, M., Ahmad, M. and Afzal, M., 2008. Antigenotoxic role of *Centella asiatica* L. extract against cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured human lymphocytes. *Toxicol. Vitro*, 22, 10-17.
- Sinclair, B.J. and Roberts, S.P., 2005. Acclimation, shock and hardening in the cold. *J. Therm. Biol.*, 30, 557-562.
- Singh, S., Lehmann-Grube, B. and Goedde, H.W., 1984. Cytogenetic effects of paraoxon and methyl-parathion on cultured human lymphocytes: SCE, clastogenic activity and cell cycle delay. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 54, 195-200.
- Sobti, R.C., Krishan, A. and Davies, J., 1983. Cytokinetic and cytogenetic effect of agricultural chemicals on human lymphoid cells *in vitro*. *Arch. Toxicol.*, 52, 221-231.
- Stralsjö, L., Alkint, C., Olsson, M.E. and Sjöholm, I., 2003. Total folate content and retention in rosehips (*Rosa* ssp.) after drying. *J Agric Food Chem*, 51, 4291-4295.
- Swerdlow, J.L., 2000. *Nature's Medicine, Plants that Heal* National Geographic Society, Washington, DC., 44-51.
- T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı İş Teftiş Kurulu Başkanlığı, 2005. Zirai mücadele ilaçları ve üretimi yapılan iş yerlerinde iş sağlığı ve güvenliği proje denetimi değerlendirme raporu. 4, 1-83.
- Tanaka, K., Endo, S. and Kazano, H., 2000. Toxicity of insecticides to predators of rice planthoppers: Spiders, the mirid bug and the dryinid wasp. *Appl. Entomol. Zool.*, 35, 177-187.
- Tang, D., Warburton, D., Tannenbaum, S.R., Skipper, P.I, Santella, R.M., Cerejido, G.S., Crawford, F.G. and Perera, F.B., 1999. Molecular and genetic damage from environmental tobacco smoke in young children. *Canc. Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 8 (5), 427-31.
- Tanrıverdi, N., 1991. Kardeş Kromatid Değişimi (SCE). Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Telang, S., Tong, C. and Williams, G.M., 1982. Epigenetic membrane effects of a possible tumor promoting type on cultured liver cells by the non-genotoxic organochlorine pesticides chlordane and heptachlor. *Carcinogenesis*, 3, 1175-1178.

- Thierens, H., Vral, A. and Ridder, L., 1996. A cytogenetic study of radiological workers: effect of age, smoking and radiation burden on the micronucleus frequency. *Mutat. Res.*, 360, 75-82.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S., 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26, 154-169.
- Topaktas M. and Speit G., 1989: Cytogenetic effects of the insecticide profenofos on human lymphocytes. *Turk. J. Biol.*, 13, 105-111.
- Tos-Luty, S., Agnieszka-Maj, A., Latuszynska, J., Obuchowska-Przebirowska, D. and Tokarska-Rodak, M., 2001. Oral toxicity of deltamethrin and fenvalerate in swiss mice. *Ann. Agric. Environ. Med.*, 8, 245-254.
- Tucker, J. and Preston, R.J., 1996. Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutat. Res.*, 365, 147-159.
- Tumbas, V.T., Canadanovic-Brunet, J.M., Cetojevic-Simin, D.D., Cetkovic, G.S., Dilas, S.M. and Gille, L., 2012. Effect of rosehip (*Rosa canina* L.) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells. *J. Sci. Food Agr.*, 92, 1273-1281.
- Türkez, H., 2007. Bazı Bor Bileşiklerinin *in vitro* Şartlarda Periferik İnsan Kanı Üzerine Genetik ve Biyokimyasal Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Uysal, H., Kizilet, H., Ayar, A. and Taheri, A., 2015. The use of endemic Iranian plant, *Echium amoenum* against the ethyl methanesulfonate and the recovery of mutagenic effects. *Toxicol. Ind. Health*, 31, 44-51.
- Uysal, H., Şişman, T. ve Aşkın, H., 2006. *Drosophila* Biyolojisi ve Çaprazlama Yöntemleri, Atatürk Üniversitesi Yayın No.941, Erzurum.
- Velisek, J., Wlasow, T., Gomulka, P., Svobodova, Z., Dobsikova, R., Novotny, L. and Dudzik, M., 2006. Effects of cypermethrin on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Med.*, 51, 469-476.
- Velmurugan, B., Selvanayagam, M., Cengiz, E.I. and Unlu, E., 2007. The effects of fenvalerate on different tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *J. Environ. Sci. Health*, 42, 157-163
- Vijayavel, K. and Balasubramanian, M.P., 2009. Effect of fenvalerate on oxidative stress biomarkers in the brackish water prawn *Penaeus monodon*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 95, 113-116.
- Villarroel, M.J., Ferrando, M.D., Sancho, E. and Andreu, E., 2000. Effects of tetradifon on *Daphnia magna* during chronic exposure and alterations in the toxicity to generations pre-exposed to the pesticide. *Aquat. Toxicol.*, 49, 39-47.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:73, 659 s, Ankara.
- Walker, C.H., 2003. Neurotoxic pesticides and behavioural effects upon birds. *Ecotoxicology*, 12, 307-316.
- Warholm, O., Skaar, S., Hedman, E., Molmen, H.M. and Eik, L., 2003. The effects of a standardized herbal remedy made from a subtype of *Rosa canina* in patients with osteoarthritis: a double-blind, randomized, placebo-controlled clinical trial. *Curr. Ther. Res.*, 64, 21-31.
- Wassermann, M., Ron, M., Bercovici, B., Wassermann, D., Cucos, S. and Pines, A., 1982. Premature delivery and organochlorine compounds. Polychlorinated biphenyls and some organochlorine insecticides. *Environ. Res.*, 28, 106-112.

- Wauchope, R.D., Buttler, T.M., Hornsby, A.G., Augustijn-Beckers, P.W. and Burt, J.P., 1992. The SCS/ ARS/ CES pesticide properties database for environmental decisionmaking. *Rev. Environ. Contam. T.*, 123, 1–155.
- Westhuizen, F.H., Rensburg, C.S., Rautenbach, G.S., Marnewick, J.L., Loots, T., Huysamen, C., Louw, R., Pretorius, P.J. and Erasmus, E., 2008. *In vitro* antioksidant, antimutagenic and genoprotective activity of *Rosa roxburghii* fruit extract. *Phytother. Res.*, 22, 376–383.
- WHO, 1996. Guidelines for Drinking Water Quality, Second Edition, Health Criteria and Other Supporting Information, Geneva, 2, 973.
- Willich, S.N., Rossmagel, K., Roll, S., Wagner, A., Mune, O., Erlendson, J., Kharazmi, A., Sørensen, H. and Winther, K., 2010. Rosehip herbal remedy in patients with rheumatoid arthritis – a randomised controlled trial. *Phytomedicine*, 17, 87–93.
- Wilson, T.G. and Cryan, J.R., 1997. Lufenuron, a chitin-synthesis inhibitor, interrupts development of *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Zool.*, 278, 37–44.
- Wilson, T.G., 1997. Cyromazine toxicity to *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) and lack of cross-resistance in natural population strains. *J. Econ. Entomol.* 90, 1163–1169.
- Wilson, T.G., Cain, J.W., 1997. Resistance to the insecticides lufenuron and propoxur in natural populations of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *J. Econ. Entomol.*, 90, 1131 – 1136.
- Wooder M.F., Wright A.S., 1981. Alkylation of DNA by organophosphorus pesticides. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 49, 51–55.
- Würgler, F.E. and Vogel, E.W., 1986. *In vivo* Mutagenicity Testing Using Somatic Cells of *Drosophila melanogaster*. *Chemical Mutagens: Principle and Methods for their Detection*, Ed: Serres, F.J. Plenum Press, New York, 1-72.
- Xia, Y., Bian, Q., Xu, L., Cheng, S., Song, Z., Liu, J., Wu, W., Wang, S., Wang, X., 2004. Genotoxic effect on human spermatozoa among pesticide factory workers exposed to fenvalerate. *Toxicology*, 203, 49–60.
- Yavru, I., Kadioglu, A., 1997. The effects of infusion temperatures and times on vitamin C content infused from fruits of dog rose (*Rosa canina* L.). *Turk. J. Bot.*, 21, 323–327.
- Yıldız, H., Nergiz, C., 1996. Bir gıda maddesi olarak kuşburnu. *Kuşburnu Sempozyumu*, Gümüşhane.
- Zeiger, E., 2004. History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environ. Mol. Mutagen.*, 44, 363–371.

ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Aşkale’de doğdu. Kapıkale köyü ilkokulu, Erzurum Şair Nefi Ortaokulu ve Erzurum Atatürk Lisesinde öğrenim gördü. 1999 yılında İnönü Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdi. 2005 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı’nda yüksek lisansını tamamladı. 2007 yılından beri Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı’nda doktora eğitimine devam etmektedir. 1999 yılında Milli Eğitim Bakanlığı’na bağlı okullarda öğretmenliğe başlamış ve halen Erzurum İbrahim Hakkı Fen Lisesinde Biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktadır. Evli ve iki çocuk babasıdır.