



İSKENDERUN TEKNİK

ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**PHOSMET'İN TOKSİK
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Mustafa ATAŞ

**KİMYASAL, BİYOLOJİK, RADYOLOJİK,
NÜKLEER TEHDİTLER YÖNETİMİ
ANABİLİM DALI**

TEMMUZ 2022





ISKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

Versiyon 01.01



PHOSMET'İN TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mustafa ATAŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYASAL, BİYOLOJİK, RADYOLOJİK, NÜKLEER TEHDİTLERİ YÖNETİMİ
ANA BİLİM DALI**

**İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2022

PHOSMET'İN TOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Mustafa ATAŞ

İSKENDERUN TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Mart 2022

ÖZET

Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik ve Nükleer kelimelerinin baş harfleri ile kullanılan KBRN terimi söz konusu maddelerin kasten veya kazayla kullanılmasıyla meydana gelen, çevre ve insan için zararlı ve tehlikeli durumları belirtmek için kullanılmaktadır. Pestisitler, özellikle bitki zararlılarının, yabancı otların veya bitki hastalıklarının kontrolü için tasarlanmış heterojen bir kimyasal grubu oluşturmakta ve KBRN ajanı olarak kullanılabilme potansiyeli taşımaktadır. Bundan dolayı pestisitlerin olası olumsuz etkilerinin belirlenmesi ileride doğabilecek kimyasal tehlikeler karşısında alınabilecek önlemlerin ortaya konması noktasında önem arz etmektedir. Bu kapsamda yapılan araştırmanın amacı yaygın kullanıma sahip bir pestisit olan Phosmet'in olası toksik etkilerini model bir organizma olan *Daphnia magna* üzerindeki akut ve kronik toksisite deneyleri ile tespit etmektir. Araştırmada hayatta kalma deneyleri 6 kuyucuklu plakalarda 7 farklı konstrasyonda (0,01; 0,1; 1,10; 25; 50; 100 μM) 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 24 saatlik maruziyet sonunda 25 μM ve üstü phosmet konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde mortalite tespit edilmiştir. Bununla birlikte, 48 saatlik maruziyette 1 ve 10 μM phosmet konsantrasyonlarında anlamlı seviyede mortalite olduğu bulunmuş ve 50 ve 100 μM phosmet konsantrasyonlarında tüm canlılar ölmüştür. Diğer taraftan kronik toksisite deneyleri yaşam süresi ve üreme olmak üzere iki kademeli olarak gerçekleştirilmiş olup deneylerde organizmalar 0,01 ve 0,1 μM Phosmet konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Yaşam süresi deneyleri bütün canlılar ölüncüye kadar devam ettirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, Phosmet'in *Daphnia magna*'ların yaşam sürelerine olumsuz bir etkisinin olmadığı belirlenmiş, üreme deneylerinde 0,1 μM Phosmet konsantrasyonun kontrol grubuna kıyasla daha çok yavru verdiği tespit edilmiştir. Sonuç olarak, Phosmet'in *Daphnia magna* üzerinde konsantrasyona bağlı olarak olumsuz etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle, güvenlik ve toksisite seviyelerini belirlemek için Phosmet'in daha ileri analizlerinin yapılması, çevredeki kullanımının ve seviyelerinin dikkatle izlenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: KBRN, Phosmet, *Daphnia Magna*, akut toksisite, kronik toksisite

Sayfa Sayısı : 27

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ceyhun BERKETOĞLU

INVESTIGATION OF THE TOXIC EFFECTS OF PHOSMET
(M. Sc. Thesis)

Mustafa ATAŞ

ISKENDERUN TECHNICAL UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRANDUATE STUDIES

March 2022

ABSTRACT

The term CBRN, which is used with the initials of the words Chemical, Biological, Radiological and Nuclear, is used to indicate harmful and dangerous situations for the environment and human beings, which are caused by the deliberate or accidental use of the said substances. Pesticides constitute a heterogeneous group of chemicals specifically designed for the control of plant pests, weeds or plant diseases and have the potential to be used as CBRN agents. For this reason, it is important to determine the possible negative effects of pesticides in terms of revealing the measures that can be taken against chemical hazards that may arise in the future. The aim of the research carried out in this context is to determine the possible toxic effects of Phosmet, a widely used pesticide, with acute and chronic toxicity experiments on a model organism, *Daphnia magna*. In the study, survival experiments were performed in 6-well plates at 7 different concentrations (0,01; 0,1; 1,10; 25; 50; 100 μM) in 3 replicates. According to the results obtained, a statistically significant mortality was determined at 25 μM and above phosmet concentrations after 24 hours of exposure. However, significant mortality was found at 1 and 10 μM phosmet concentrations at 48 hours of exposure, and all organisms died at 50 and 100 μM phosmet concentrations. On the other hand, chronic toxicity experiments were carried out in two stages, lifespan and reproduction, and organisms were exposed to 0,01 and 0,1 μM Phosmet concentrations in the experiments. Lifespan experiments were continued until all living things died. According to the results obtained, it was determined that Phosmet did not have a negative effect on the lifespan of *Daphnia magna*, and it was determined that 0,1 μM Phosmet concentration in breeding experiments gave more offspring compared to the control group. As a result, it has been determined that Phosmet has negative effects on *Daphnia magna* depending on the concentration. Therefore, further analysis of Phosmet and careful monitoring of its use and levels in the environment are required to determine its safety and toxicity levels.

Key Words : CBRN , Phosmet, *Daphnia Magna*, acute toxicity, chronic toxicity

Page Number : 27

Supervisor : Dr. Öğr. Üyesi Ceyhun BERKETOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez alıŐmalarımın her aŐamasında, mesleki bilgi ve önerilerini paylaşarak, yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ceyhun BEREKETOĞLU' na, araŐtırmamın her aŐamasında yardımcı olan, bilgi ve becerilerini benimle paylaşan ArŐ. Gör. Nermin ÖZCAN hocama teŐekkürü bir borç bilirim. Aynı zamanda, manevi olarak her zaman yanımda olan eŐime en içten teŐekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	ix
RESİMLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik, Nükleer Tehditler.....	3
2.1.1 KBRN tanımı ve tarihsel gelişimi.....	3
2.1.2. Kimyasal savaş ajanları.....	5
2.2. Çevresel Kirleticiler ve Önemi.....	5
2.2.1. Pestisitler.....	6
2.2.2. Pestisitlerin etkileri.....	7
2.3. Phosmet.....	9
2.3.1. Phosmet ile yapılan çalışmalar.....	10
2.4. Daphnia Magna (D. Magna; Su Piresi).....	11
2.4.1. Daphnia magna ile yapılan çalışmalar.....	12
2.5. Akut ve Kronik Toksikite.....	13
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	15
3.1. Materyal ve Yönte.....	15
3.1.1. Kimya.....	15
3.1.2. Kullanılan cihaz.....	15
3.1.3. Daphnia magna kültürü, bakımı ve maruziyeti.....	15

	Sayfa
3.1.4. Akut toksisite (hayatta kalma) testi.....	15
3.1.5. Kronik toksisite (yaşam süresi ve üreme).....	16
3.1.6. İstatistiksel analiz.....	16
4. BULGULAR.....	17
4.1. Akut Toksikite Deney Bulguları.....	17
4.2. Kronik Toksikite Deney Bulguları.....	19
5. TARTIŞMA.....	21
6. SONUÇ.....	23
KAYNAKLAR.....	24

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Phosmet'in Molekül Yapısı.....	9
Şekil 4.1. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının 24 saat sonunda <i>D. magna</i> üzerindeki etkileri.....	18
Şekil 4.2. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının 48 saat sonunda <i>D. magna</i> üzerindeki etkileri.....	19
Şekil 4.3. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının üreme üzerindeki etkileri.....	20
Şekil 4.4. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının yaşam süresi üzerindeki etkileri.....	20



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Daphnia magna.....	11



SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
$\mu\text{g/L}$	Mikrogram/litre
μM	Mikrogram
mL	Mililitre
$^{\circ}\text{C}$	Derece Celcius

Kısaltmalar	Açıklamalar
AFAD	Afet ve acil durum yönetimi başkanlığı
ASTM	Uluslararası amerikan test ve materyalleri topluluğu
CBRN	Kimyasal, biyolojik, radyolojik, nükleer
DNA	Deoksirübo nükleik asit
DMSO	dimetilsülfoksit
EPA	Çevre koruma ajansı
EC50	Yarım maksimal etkili konsantrasyon
FDA	Amerikan gıda ve ilaç dairesi
ISO	Uluslararası standardizasyon kuruluşu
KBRN	Kimyasal, biyolojik, radyolojik, nükleer
KBRN-E	Kimyasal, biyolojik, radyolojik, nükleer- yüksek etkili patlayıcılar
KEGG	Kyoto genler ve genler ansiklopedisi
KİS	Kitle imha silahları
LC50	Öldürücü konsantrasyon
M.Ö.	Milattan önce
MRL	Maksimum kalıntı limiti
mRNA	Mesajcı ribonükleik asit
NATO	Kuzey Atlantik paktı teşkilatı
NBC	Kimyasal, biyolojik, nükleer

OECD	Ekonomik kalkınma ve işbirliği örgütü
OP	Organofosfat insektisit
OPP	Organofosfatlı pestisitler
PCC	Zehir montrol merkezine
Pm	Organofosfat insektisit phosmet
TNF	Tümör nekroz faktörü
USEPA	Amerika birleşik devleti çevre koruma ajansı
ZF	Zebra balığı



1. GİRİŞ

Son yıllarda pestisitlerin önemli bir miktarının çeşitli ortamlarda saptanması nedeniyle, bunların potansiyel ekotoksikolojik etkileri hakkında endişeler dile getirilmiştir. Bu sentetik kimyasallar farklı tarım alanlarında sıklıkla kullanılmakta ve sürekli olarak çevreye sızmaktadır. Dünyada yaygın olarak modern tarım adı altında kullanımı teşvik edilen pestisitlerin canlılarda davranış, gelişme, üreme ve merkezi sinir sistemi üzerinde olumsuz etkilere neden olduğu gösterilmiştir.

Kimya endüstrisi günümüz teknolojisinde tarım ve endüstri gibi birçok alanda yeni kimyasallar ile zirai mücadeleye katkı sağlamaya devam etmektedir. Bu kimyasallardan pestisitler de uzun yıllardır zirai mücadele amacıyla kullanıldığı ve canlılar üzerindeki çalışmaları gözlemlenmiştir. Pestisitler bir karışım maddesi olup özellikle zararlı organizmalar üzerinde; bu organizmaları kontrol altına almak, tahribatını engellemek gibi kullanım alanına sahiplerdir. Ayrıca pestisitler, birçok hayvan türüne, zararlı ve hastalık yayan mikrop, böcek, yaban otlarına karşı kullanılmaktadır.

Phosmet çevrede sıklıkla saptanabilen bir pestisit olarak canlılar üzerindeki olumsuz etkileri tam olarak anlaşılammıştır. Phosmet'in akut ve kronik toksisite ile gen toksisite ve gen ekspresyonu seviyesinde *Daphnia magna* üzerindeki olası toksisitesi şimdiye kadar çalışılmamıştır. Ayrıca literatürde Phosmet'in *Daphnia magna* üzerindeki akut ve kronik toksisitesinin spesifik bir gen veya farklı gen grupları açısından incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Bu tezde, Phosmet'in *Daphnia magna* üzerindeki olası akut ve kronik toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

KBRN, gelişen dünya karşısında önem arz eden kavramlar arasında olup, günümüzde sıklıkça karşımıza çıkmasıyla birlikte toplumda kaygı, kargaşa ve sağlık sorunu olarak yer almaktadır. KBRN olayları, genel olarak çeşitli kimyasalların bir araya getirilerek potansiyel bir kimyasal silah olarak kullanılabilir. (Karcıoğlu ve Topaçoğlu, 2017).Günlük hayatımızı kolaylaştırmak, tarımda ve endüstride üretimi artırmak amacıyla kullanılan birçok kimyasal bu kategori içine girebilmektedir. Bu kapsamda devamlı kullanılmalarıyla birlikte kullanım sonucunda çevrede ortaya çıkan kimyasalların toksik etkilerinin ortaya konması ile birlikte, olası bir KBRN olayında bu kimyasalların

kullanılması durumunda nasıl hareket edileceği ve ne tür tedbirlerin alınması gerektiğini önceden ortaya koyma açısından büyük önem taşımaktadır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kimyasal, Biyolojik, Radyolojik, Nükleer Tehditler

2.1.1 KBRN tanımı ve tarihsel gelişimi

Kimyasal, biyolojik, radyolojik ve nükleer kelimelerinin ilk harfleri kullanılarak oluşan KBRN, terim olarak dilimizde ilk olarak yerini almıştır. KBRN, bahsedilen maddelerin bilerek veya kazayla kullanılmasıyla ortaya çıkan, insan ve çevre için tehlikeli arz eden durumları açıklamak için kullanılmıştır (AFAD, 2014). Tanımsal olarak KBRN, önceden çoğunlukla Kimyasal, biyolojik, nükleer (NBC) ve Kitle İmha Silahları (KİS) gibi tanımların tamamını kapsamakta olup endüstriyel kazaların içerisinde bütünleşen bir kavram olarak belirtilebilir. Nasıl ki NATO tarafından da KBRN malzemeleri; nüfuslara, bölgelere ve güçlere hasar uygulayacak fiziksel bir olay olup ve kimyasal, biyolojik, radyolojik ajanlar için de kapsayıcı bir kavram olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte “KBRN”, Kitle İmha Silahları olarak ifade edilen konvansiyonel olmayan ve hasarlara neden olan silahların yapımı, gelişimi ve uygulamasında yararlanılan kuruluş ve araçları da içermektedir. (NATO, 2015). Uluslararası arenadaki çalışmalarda acil kod olarak bilinen KBRN-E ifadesi beş ayrı tehdit olarak bilinen kimyasal, biyolojik, radyolojik, nükleer ve “explosive-related” kelimesinden (yani patlayıcıyla ilgili) meydana gelmiştir. (Karcıoğlu ve Topaçoğlu, 2017).

Savaş teknolojilerinin gelişmesiyle birlikte, endüstri ve sanayi alanında ilerleyişlerde düşünüldüğünde KBRN’in riski bu gelişmelerle eş zamanlı ilerlemektedir. KBRN ile ilgili insanlar, teorik bilgi ve bunun yanı sıra uygulamadaki yetersizlikten dolayı negatif etki içerisindedirler. (Ütük, 2018).

Tarihsel süreçte KBRN coğrafik olarak insan yaşamını ve yaşayışını yön belirleyici olmuştur. İnsanlığın başlangıcıyla birlikte kişisel ve grupsal çatışmalarda KBRN ajanları etkin olarak kullanılarak karşılıklı olarak güçlerini zayıflatmak ve terör kaos isyan gibi olaylarda önemli rol oynamaktadır. (Sezigen, 2009).

İnsanlar, zehirli bitki ve hayvanlardan ele geçirdikleri dışkı, kan, toksin ve ceset parçalarını savaşlarda kullandıkları okların uç kısımlarına bulaştırmasıyla veya yaşam alanlarına yayılmasıyla meydana gelen birçok KBRN olayı gerçekleştirmişlerdir. (Ayvazoğlu 2015). MÖ. 590 yıllarında Atinalılar tarafından Hirrha şehrinin ablukası sırasında Pleistos nehrine “Helleborus (Ranunculaceae)” çiçeğinin zehrini karıştırıldığı, Manu kanunlarına göre MÖ. 400 yıllarda zehirli ve ateşli okların kullanımının yasak olmasına karşın su kaynaklarına zehir karıştırılması, M.Ö. 190 yılında savaş sırasında Kartacalı General Hannibal’ın Bergamalı gemilere karşı yılan zehrini kullandığı bilinmektedir (Karaca, 2016).

KBRN ajanlarının uygulandığı alanlardan biri ise MÖ. 5. Yüzyılda Sparta Devletinin Peloponez Savaşında kömür, ziftin ve sülfürün oksitlenmesiyle oluşan zehirli gazın Atina devletindeki sığınaklarda bulunan insanlara maruz bırakılmasında rastlanmaktadır. (Erkekoğlu ve Koçer, 2018). 1970 ve 2011 yılları arasında meydana gelen ortalama 245 KBRN olayı Maryland Üniversitesi Küresel Terörizm Veritabanı’nda kaydedilmiştir. Nükleer terör olaylarının kaydedilmediği bu süreçte 200 kimyasal, 32 biyolojik ve 12 tane radyoaktif silahlar ile oluşan meydana gelen terör olayları varlığını göstermiştir. 1000’den çok kişinin hayatının kaybetmesine sebep olan bu olaylardan en önemlisi Aum Shinrikyo (Kıyamet Günü) adlı Japon kökenli dini istismar eden bir terör topluluğunun, 27 Haziran 1994 yılında Motsumoto şehrinde ve 20 Mart 1995 yılında Tokyo Metrosu’nda beş tane farklı bölgede sarin gazı kullanmasıyla oluşan kimyasal silahlı olaydır. Bu terör olayında, 19 insan hayatını kaybedip, 1000’den çok kişi kimyasal gazın etkisine maruz kalmış, ortalama 4500 insan psikolojik olarak etkilenmişlerdir. (Kiremitçi, 2014)

2.1.2. Kimyasal savaş ajanları

Toksik etkileriyle; yaralama, öldürme veya yaşam fonksiyonlarını güçsüz hale gelmesini sağlayan kimyasal maddelere, kimyasal savaş ajanı olarak tanımlanmaktadır. Kimyasal silahlar 1993 yılında imzalanan anlaşmaya göre; kimyasal silah olarak çeşitleri ve miktarları uygun olan ve bunları elde etmek için kullanılan kimyasal savaş ajanları, bu kimyasalları kullanmak için gerekli cihaz ve mühimmatlar ve bunların kullanımına yönelik özel olarak üretilmiş her türlü teçhizatı kimyasal silah olarak tanımlamıştır. Bu kimyasal silahlar; besin zinciri açısından önem arz eden hayvansal ve bitkisel stoklarını bulaş yoluyla etkisiz hale getirme, insanları öldürme, ekonomik açıdan değerli hedeflere zarar verme, sivil ve askeri personellerin araç kullanımı ve koruyucu giysi kullanmasını sağlayarak hareket kabiliyetlerini yok etmek ve stratejilerini ortadan kaldırmak için kullanılır. (Karayılıanoğlu,1996:55).

Doğada kimyasal maddeler katı, sıvı ve gaz halinde bulunmaktadır. Kimyasal silah üretiminde gaz halinde bulunan kimyasal ajanlar tercih edilir. Çünkü gaz hali diğer hallere göre daha fazla bölgeye ilerleyebilmektedir. Kimyasal silahların suda ve organik çözücülerde çözünürlükleri farklılık gösterebilir. Kimyasal silahlar her canlıda aynı etkiyi göstermez. Çünkü her organizmanın yapısı birbirinden farklıdır. Mesela insanda paraoksonaz enzimi kimyasal silahların etkinliğini azaltmaktadır. Bu enzim her insanda aynı oranda bulunmaz. Kimyasal silahların verdiği etki; canlı türü, canlının yaşadığı coğrafi konum, cinsiyet gibi faktörlerle değişebilir. (Hıncal ve diğerleri 1991:48).

2.2. Çevresel Kirleticiler ve Önemi

Artan nüfus artışı, kentleşme ve endüstri faaliyetlerin artması sebebiyle meydana gelen çevresel kirlilik ekolojik sisteme etkisini hissettirmektedir. Çevreyi meydana getiren toprak, su ve hava gibi fiziksel alanların yanında, ekosistemdeki canlıları olumsuz etkileyen kimyasal ve biyolojik maddeler çevresel kirleticiler olarak adlandırılmaktadır. (Güven ve diğerleri, 2015) Toprak su ve hava kirliliği hastalıklara yol açabileceği ile birlikte, birtakım hastalıkların yayılmasını ve seyrini etkileyecektir. (İbadullayeva ve diğerleri, 2019)

Bu kirleticiler kendine özgü özelliklere sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı fiziksel kirlenme, kimyasal kirlenme ve biyolojik kirlenme olarak tanımlanabilmektedir. Fiziksel kirlenme; Çevreyi oluşturan toprak, su ve havanın özelliklerinin bir kısmını ya da hepsinin bitki hayvan ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilemesidir. Kimyasal kirlenme; Çevreyi oluşturan toprak, su ve havanın özelliklerinin canlıların aktivitelerini olumsuz yönde etkilemesidir. Biyolojik Kirlenme; Çevreyi oluşturan toprak, su ve havanın zararlı organizmalarla kirlenerek bozulmasıyla ortaya çıkmaktadır. (İbadullayeva ve diğerleri, 2019)

Günümüzde toprak, su ve hava kirliliği çevre sorunlarının başında geldiği bilinmekte olup, toprak kirliliğinin en büyük sebeplerinden bir tanesi de kimyasal atık olan pestisitlerdir (Altıkat ve diğerleri, 2019).

2.2.1. Pestisitler

Pestisitler, özellikle bitki zararlılarının, yabancı otların veya bitki hastalıklarının kontrolü için tasarlanmış heterojen bir kimyasal gurubu oluşturur. Bunların uygulanması, bitkilerin zararlılardan korunması için hala en etkili ve kabul edilen yöntemdir ve artan tarımsal üretkenliğe ve mahsul verimine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır (Bolognesi, 2003). Pestisitler, kimyasal bir madde, bakteri ve virüs gibi biyolojik bir ajan ya da dezenfektan gibi bir araç olabilmektedirler (Kızılet ve Uysal, 2018).

Tarımsal üretimin verimliliğini arttırmak için modern tarım yöntemlerinin kullanılması icap etmektedir. Bitki koruma ürünleri arasında bulunan pestisitlerin kullanımı da bu yöntemlerden biri ve modern tarımın bütünleyici elementlerindedir. Pestisit kullanımı, tarımsal ürünü zararlı böcek ve yabancı otlardan koruyarak, verimliliği teminat altına almak için kullanılan bir tarımsal yöntem olup, 1940'lı yıllardan bu yana üretime yardımcı olmasıyla önem arz eden bileşendir. Kısa zamanda etkili olması ve kullanımının rahat olması sebebiyle pestisit kullanımı kullanılan yöntemlerin başında gelmektedir (Tiryaki ve diğerleri, 2010).

Tarımda pestisit kullanımı, yüksek kaliteli gıdalara olan talebin artması sonucu önemli ölçüde artmıştır. 2007'de ABD'de yaklaşık 400 milyon kg'dan fazla pestisit uygulanmıştır. Ancak ürüne uygulanan pestisitler hasattan önce çevrede tam olarak bozunmayabilir.

Böylece, pestisitler ürün üzerinde kalabilmekte ve tüketildiğinde insan vücudunda ciddi olumsuz etkilere neden olabilmektedir. Bazı çiftçiler, zararlıları kontrol etmek için ürünlerde çok kısa bir süre içinde büyük miktarda pestisit uygulayabilmekte ve bundan dolayı ürünlerin üzerinde önemli pestisit kalıntıları kalmakta ve durum daha da kötü olabilecek bir potansiyel taşımaktadır (Hang Q 2015).

Kanser, Alzheimer hastalığı, testis fonksiyon bozuklukları ve kadın kürtağı ve tip II diyabet dahil olmak üzere bir çok kronik hastalığın pestisit maruziyeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. ABD'de, Çevre Koruma Ajansı (EPA), pestisit kaydından ve gıda ürünlerindeki pestisit kalıntılarını kontrol etmek için maksimum kalıntı limiti (MRL) belirlemekten sorumludur. FDA'nın bir raporunda, %2,8 yerli ve % 6 ithal test edilmiş ürünün MRL'den daha yüksek pestisit kalıntısı içerdiği bulunmuştur. ABD Zehir Kontrol Merkezine (PCC) göre, 2006'dan 2010'a kadar pestisit zehirlenmeleriyle ilgili yılda 130 136 çağrı alınmış, her yıl bildirilen 23 ölüm vakası bulunmakta ve zehirlenmelerin %95,8'i kasıtsız olduğu bildirilmiştir. Pestisit kalıntısı yutulmasının en olası kaynaklarından biri olan yiyecekler etkin bir şekilde temizlenmelidir (Hang Q 2015).

Türkiye'de pestisitlerin 2002 yılında kullanımı, 1979 yılına göre % 45,29'luk bir artış göstermiştir. Pestisit kullanımındaki bu artış gelişmiş ülkelere göre kullanımı az gözükse de birim alanında kullanımı çok yüksektir. Pestisit tüketimi Türkiye'de modern tarımın uygulandığı Ege ve Akdeniz bölgelerinde Türkiye ortalamasının üstündedir. Bu bölgelerde kullanılan pestisitler özellikle sağlık ve çevre açısından önemli risk taşımaktadırlar. Yapılan istatistiklere göre insektisitler, herbisitlerden sonra en fazla kullanılan pestisitlerdir (Delen ve diğerleri, 2005).

2.2.2. Pestisitlerin etkileri

Pestisitler, hedef organizmaları karşı seçici olarak hareket eder ve mutlak seçiciliği elde etmek her zaman kolay değildir. Ayrıca çoğu pestisit insanlar için de toksik bir risk oluşturmaktadır (Bolognesi, 2003). Ekosistemde suçul ve karasal çevrede pestisitlerin değişen konsantrasyonu hedef olan organizmalar ile hedef olmayan organizmaların da içine işlemektedir. Canlıların etkilendiği bu konsantrasyonlara ve canlı türlerine de pestisit ayrı ayrı etkisini gösterebilme potansiyeli taşımaktadır. Pestisitlerin canlıya doğrudan

etkisi akut etki göstermemekle birlikte zamana bağılı şekilde belli bir tecrübe sonucu olarak genotoksik, toksik yada kanserojen olabilmektedir (Kocataş, 1991).

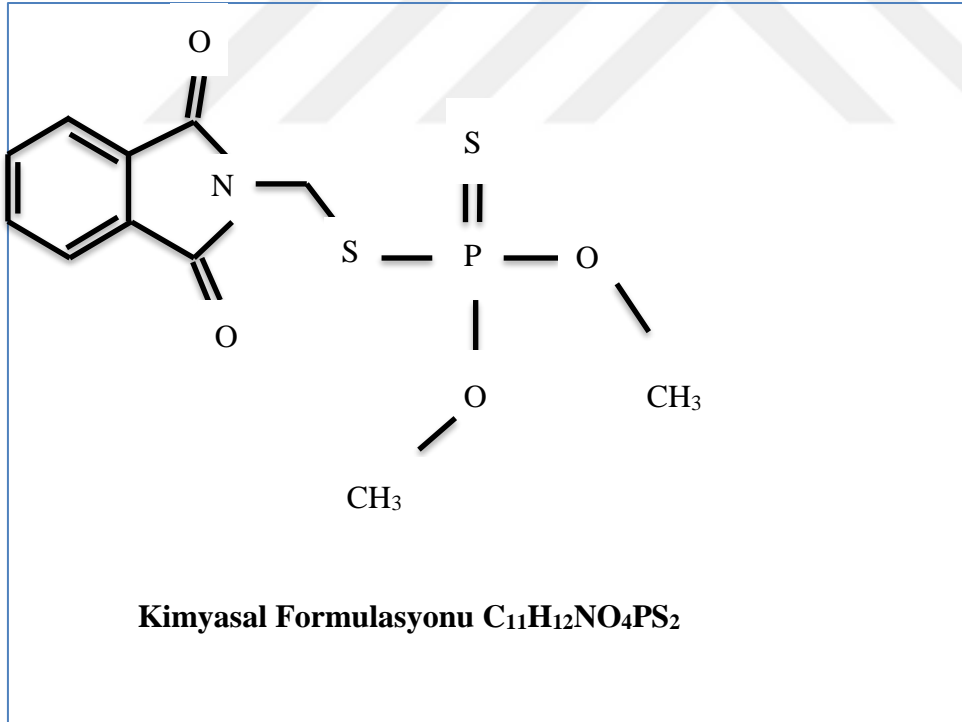
Amerika Birleşik Devletlerinde pestisit olarak kayıtlı 20 700 adet kimyasal bulunmaktadır. Bu bileşiklerin birçoğu, çevresel kalıcılıkları sebebiyle, gelecek yıllar boyunca çevremizde bulunmaya devam edecektir. Tüm insanlar, çevresel kontaminasyon veya mesleki kullanım yoluyla kaçınılmaz olarak pestisitlere maruz kalmaktadır. Hava, su, genel nüfus ile gıdadaki biyolojik ve fiziksel dekompozisyon ürünleri de olmak üzere pestisit kalıntılarına maruz kalmaktadır. Pestisitler, gelişen dünyada kendi kendini zehirlemede en önemli yöntemdir. Dünyada her yıl 3 milyon pestisit zehirlenmesi meydana gelmekte ve yaklaşık olarak 220 000 ölümcül vaka meydana gelmektedir (Bolognesi, 2003).

Pestisitlere maruz kalma, konjenital malformasyonların indüklenmesindeki olası rolü nedeniyle de büyük endişe konusu olmuştur. Konjenital malformasyonların insidansı ve ebeveynin pestisitlere maruz kalması, sonuçları çelişkili ve bazen de sonuçsuz olan bir dizi çalışma tarafından ele alınmıştır. Son bulgular, çiçek seralarında çalışan kadın işçilerin doğurganlığının azaldığını ve pestisitlere maruz kalmanın nedensel zincirin bir parçası olabileceğini göstermektedir (Bolognesi, 2003).

Genotoksisite, kanserojen ve üreme toksikolojisi gibi uzun vadeli etkiler için birincil risk faktörüdür. Pestisitlerin çoğu, gen mutasyonu, kromozomal değişiklik ve DNA hasarını kapsayan çok çeşitli mutajenite analizlerinde test edilmiştir. Pestisitler potansiyel kimyasal mutajenler olarak kabul edilmiştir: deneysel veriler, çeşitli tarımsal kimyasal bileşenlerin mutajenik özelliklere sahip olduğunu ortaya çıkarmıştır. Tarımsal kimyasal maddeler için genotoksik potansiyel, birkaç genotoksisite testinde pozitif sonuçlar verdikleri için genellikle düşüktür. Tek testte en düşük etkili doz genellikle çok yüksektir. Pestisitlere mesleki ve çevresel maruziyetlerin çoğu karışımlara olduğu için, tek bileşikler üzerinde değerlendirilen genotoksik potansiyel insanlar üzerinde tahmin edilemez. İnsanlarda genotoksikolojik biyolojik izleme, karmaşık kimyasal karışımlarına entegre maruziyetten kaynaklanan genetik riski tahmin etmek için yararlı bir araçtır (Bolognesi, 2003).

2.3. Phosmet

Phosmet [N-merkaptometil) htalimid-S-O,O-dimetilfosforoditioat)] organofosfatlar grubu içerisinde yer alan sentetik bir insektisittir. İlk olarak 1966'da Amerika Birleşik Devletlerinde meyvelerin haşere kontrolünü sağlamak amacıyla tescil edilmiştir. Phosmet, ağaçlara saldıran, ağaçların üretimini ve kalitesini düşüren zararlılardan biri olan meyve sineğinin kontrolünde kullanılır. Phosmet moleküler ağırlığı 317,3 g/moldur. Phosmet, alkali koşullar altında hızla hidrolize edilebilir ve asidik koşullar altında nispeten kararlıdır. Böcekleri öldürme mekanizması kolinesteraz inhibisyonu yoluyla. Phosmet, doğrudan temas yoluyla orta ila düşük düzeyde akut oral, dermal ve göz/cilt tahrişine neden olabilir. Phosmet, geçici bir kategori C kanserojen olarak sınıflandırılır ve karaciğer tümörlerinin insidansının artmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. Phosmet, toksisite endişeleri çeken ve çevrede stabil olmayan tek Phosmet metabolitidir. (Hang Q 2015). Şekil 2.3.'de Phosmet'in molekül şekli gösterilmiştir.



Şekil 2. 1. Phosmet'in Molekül Yapısı

2.3.1. Phosmet ile yapılan çalışmalar

Asetilkolinesteraz sinirsel iletimde önemli rolü olan bir enzim olup, Phosmet'in nörotoksik etkisi, asetilkolinesteraz enzimini asetilkoline dönüştürmesi ile gerçekleşmektedir (Rahman ve diğerleri, 2021).

Bir başka çalışmada, Guiñazú ve arkadaşlarının (2012) JEG-3 hücrelerde Phosmet uygulamasının hücre canlılık oranlarını değiştirdiği, inflamasyon sitokinleri profilinin düşmesine yol açtığını rapor etmişlerdir. Phosmet'in düşük seviyeli kronik pestisit maruziyetinin olası nörodavranışsal etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada, pestisit maruziyeti ile nörodavranışsal performanstaki eksiklikler arasındaki ilişkinin giderek arttığı rapor edilmiştir.

Gökkuşluğu alabalıklarının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüyen yavrularında yapılan bir çalışmada, beyin ve karaciğer dokularında 24, 48, 72, ve 96'ncı saatlerde 5, 25 ve 50 µg/L derişiminde Phosmet uygulanması sonucunda serum glukoz, protein ve kolesterol düzeylerinin önemli ölçüde azaldığı, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz ve alkalın fosfataz aktivitelerinin yükseldiği bildirilmiştir. Phosmetin asetilkolinesteraz aktivitesi üzerindeki modülatör etkisini ve oksidatif stres durumunu provoke etme potansiyelini açıkça gösterdiği, bununla birlikte elde edilen hipoglisemi ve hipoproteinemi, hayatta kalmak için stresle başa çıkmak için adaptif tepkiler olarak değerlendirildiği bildirilmiştir (Muhammed ve Doğan 2021).

Phosmet'in suda yaşayan omurgalılar üzerindeki olumsuz etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, zebra balığı (ZF) (*Danio rerio*) embriyoları sırasıyla 2,96; 4,44; 6,66; 10 ve 15 mg/L phosmet'e maruz bırakıldığında 96 saatte Phosmetin medyan öldürücü konsantrasyonunun (LC50) $7,95 \pm 0,30$ mg/L olduğu bildirilmiş olup bu sonuçların Phosmet'in bir teratojen olduğunu ve erken gelişim aşamalarında ZF'nin büyümesini ciddi şekilde etkilediğini göstermektedir (Vasamsetti ve diğerleri 2020).

Zebra balığı embriyolarında 96 saat boyunca Phosmet'e maruz bırakılmanın bradikardi, omura eğriliği, büyüme geriliği, duyuusal ve görsel algıda gerileme olduğu bildirilmiştir (Vasamsetti ve diğerleri 2021).

Pasifik somonu olan Jüvenil koho somonu (*Oncorhynchus kisutch*)'nun tarım, ticari, konut ve kamu arazilerinde yaygın olarak kullanılan Phosmet'e maruz bırakılarak yapılan çalışmada; Phosmet'in jüvenil koho somonu üzerinde nöronal asetilkolinesteraz enzim aktivitesinin konsantrasyona bağlı bir inhibasyon ürettiği ve toksik olduğu ortaya konulmuş olup, Pasifik somonu türleri için ekolojik dengesi tehlike altında olabileceği değerlendirilmektedir. (Laetz ve diğerleri, 2020)

2.4. *Daphnia Magna* (D. Magna; Su Piresi)

Daphnia magna (Su Piresi) tatlı su zooplanktonik kabuklularıdır ve halk arasında su piresi olarak bilinir. Protein ve esansiyel yağ asitleri açısından zengin olan su pireleri, balıkların en önemli besin kaynağını oluşturmakta ve balık yetiştiricileri tarafından canlı besin kaynağı olarak kullanılmaktadır. Küçük yapısı, kısa ömrü, yüksek yumurtlama kapasitesi ve kirliliğe karşı hassas yapısı nedeniyle kültürünün kolay ve ekonomik üretimi, su pirelerinin sucul toksisite testlerinde sıklıkla kullanılmasını sağlamıştır. (Fidan ve Ayar, 2020) (Resim 2.4.)



Resim 2.1. *Daphnia magna*

Daphnia magna 3 mm'den küçük olup ve Dünya'nın her bölgesinde akarsuların durgun bölgelerinde ve göllerde bulunabilmektedir (Tatarazako ve Oda, 2007). 20°C'de 56, 25°C'de 40 güne kadar hayatlarını devam ettirebilmektedir. Nüfusu, sıcaklık 6-12°C'nin

üzerinde olduğunda çoğalmakta ve litrede yaklaşık olarak 200 ile 500 arasında organizmaya kadar artış göstermektedir. Çevre koşullarına göre yazları nüfusları azalmakta iken sonbahar aylarında artmaktadır (Jonczyk ve Gilron, 2005).

Daphnia magna'nın dikkat çeken en belirgin özellikleri, tek iri bileşik göz ile çift dallı olan antenleridir. Antenleri kullanarak hareket ederler. Karın ve göğüs kısmı saydam kabuk ile kaplıdır. Kabuktan, kıl gibi bacaklar belirir. Hareket eden bacaklar suda akım üreterek, organik döküntüleri, bakteri ve algılarına ağızlarına götürürler. (Tatarazako ve Oda, 2007).

*Daphnia magna*lar eşeysiz üreme ile ürerler. Eşeysiz üreme sistemi, *Daphnia magna* nüfusunun hızlı bir şekilde artmasını sağladığı için, kaynaklar bol olduğunda bir *Daphnia magna* nüfusu neredeyse tamamen dişilerden oluşur. *Daphnia magna* çevresel değişimlere tepki olarak üreme şeklini eşeysiz üremeden cinsel üremeye döndüğü bilinmektedir. Günlerin kısa veya uzunluğu, beslenmesi ve aşırı nüfus yoğunluğu gibi çevresel etkenlerin, cinsel üremenin olması için önem arz ettiği bilinmektedir. Erkekler olduktan sonra eşeyli üreme meydana gelir ve sıcaklığa, donmaya veya kuraklık gibi çevresel şartlara uyum sağlayabilen dinlenme yumurtaları meydana gelir. Omurgasız hayvanların ve balıkların beslenmesi açısından önemli arz ettiğinden sucul besin zincirinde önemli bir role sahiptir. Ayrıca suda bulunan yosunlarla beslendiğinden suyun niteliğinin kontrolünde büyük önemli bir role sahiptir. (Tatarazako ve Oda, 2007).

2.4.1. *Daphnia magna* ile yapılan çalışmalar

Tarımda haşerelere karşı kullanılan organofosfat bir ilaç olan Klorprifos; tarım ilaçları, tarım amaçlı kullanılan sular ile su kaynaklarına ulaşarak sucul ekosisteme için tehlike arz etmektedir. Klorprifos ilgili yapılan çalışmalarda; su numunelerinin toksisitesi için *Daphnia magna* kullanılmış ve klorprifosin çevresel risk analizi ile toksisitesi ve akut toksisite testi (ISO 6341) ortaya çıkarılmıştır. *Daphnia magna* ile yapılan toksisite sonuçlarına göre, klorprifosun yoğunlaşma arttıkça toksisitede % 45'e varan artış meydana gelmektedir ($r^2=0,9808$). (Ekmekyapar ve diğerleri, 2014)

Daphnia magna üzerinde hem terapötik olarak hem de yoğun tarımda büyüme destekleyicileri olarak kullanılan Metronidazol (M), olaquinox (OL), oksolinik asit (OA), oksitetrasiklin (OTC), streptomisin (ST), sülfadiazin (SU), tetrasiklin (TC), tiamulin (TI)

ve tilosin antibiyotiklerinin akut ve kronik toksisitesi üzerine yapılan çalışmalarda; Üreme üzerindeki toksik etkinin, genellikle akut toksik seviyelerin bir derece altında olan konsantrasyonlarda meydana geldiği görülmüştür. *Daphnia magna* üreme testindeki kronik toksisite; OA'nın *Daphnia magna*'ya karşı görülen toksisitesi, bu maddenin hayvan çiftliklerinde yaygın olarak yem katkı maddesi olarak kullanılmakta olup, sucul ortamda olumsuz etkilere neden olma potansiyeline sahiptir. (Wollenberger ve diğerleri, 2000)

Böcek öldürücü olan Neonikotinoid ve karışımlarının suda yaşayan omurgasızlar üzerindeki etkisiyle ilgili çok az şey bilinmektedir. Bu çalışma, kontrollü koşullar altında, çevresel olarak ilgili bir imidakloprid (0,256 µg/L), klotianidin (3,11 µg/L), tiyametoksam (1,49 µg/L) karışımının *Daphnia magna* popülasyonları üzerindeki potansiyel toksikolojik etkileri ile ilgili yapılan çalışmada; Laboratuvarında kronik toksisite testleri yapıldı. Neonikotinoidler *Daphnia magna* kurucularının hayatta kalmasını etkilemedi. Ancak her üç ayrı insektisit ve karışım, *Daphnia magna*'nın üremesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur. (Duchet ve diğerleri, 2021)

2.5. Akut ve Kronik Toksisite

Toksik etkilerin değerini ölçmek için belirlenen uç noktalar, metodolojik değişikliklere rağmen, *Daphnia magna* ile akut ve kronik testler USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) ve ISO (International Organization for Standardization) uluslararası kuruluşlar belirlenmiştir. OECD ve ISO gibi kuruluşlar hareketsizliği hafif ajitasyondan sonra test organizmalarının 15 saniye içinde yüzmeye devam edememesi kriterini benimsemiştir. Oysa USEPA, Environment Canada, ASTM (American Society for Testing and Materials) gibi kuruluşlar, diğer bir uç nokta olarak ölümü kullanmışlardır. Avustralya ve Asya Ülkeleri *Daphnia magna* da toksik etkiyi ortaya çıkarmak için ölüm oranını kullanmaktadır. (Persoone ve diğerleri 2009). Ölüm oranı çalışmaları, belirli bir alanın kısa süreli kimyasal maddeye maruz bırakılmasında neler olabileceğini ortaya çıkmasını öğrenmek amacıyla çok önemlidir. (Pieters ve Liess, 2006)

Kimyasal bileşiklerin toksisite taraması ve endüstriyel atıkların izlenmesi için uluslararası olarak kullanılan popüler olan biyo-tahlil, tatlı su Daphnidlerinden özellikle *Daphnia magna* ile akut toksisite testidir. Bu test türünün kullanım gerekçesi, çok çeşitli

habitatlarda geniş dağılımları, nispeten kısa yaşam döngüleri ve laboratuvarda kültürlerinin ve bakımının nispeten kolay olmasıdır. (Persoone ve diğerleri, 2009).

Daphnia magna'nın 48 saatlik toksisite çalışmalarındaki amaç kimyasal ve atık maddelerin kurallara uygun yapıp yapılmadığı ve ticari amaçlı üretilen kimyasalların ekosistem açısından risk değerlendirmesini ortaya çıkarmaktır. Akut toksisite testlerinde uç noktalar, 48-saat EC50 hareketsizlik, 48-saat LC50 ölüm olarak ölçülmelidir. Akut toksisite testinin çalışmalarda daha çok kullanılmasının sebebi maruziyet süresinin kısa olması, testin sade basit ve hassas olması ile testin geliştirilmiş olmasıdır. (Jonczyk ve Gilron,2005).

Daphnia magna'nın Kronik toksisite çalışmaları, organizmanın yaşamının uzun zaman aralığını kapsayarak ve daha çok maruziyet ortamının oluşmasını sağlamaktır. Kronik toksisite testlerinde uç noktalar organizmanın yaşam döngüsüne has özelliklerine bağlı olarak, organizmanın hareketliliğini, yavru sayısını, kalp atımının hızı, enzim aktivitesi ve büyümesidir. (EPA, 2002).

Daphnia magna'nın 21 günlük kronik toksisite çalışmalarındaki amaç, ticari amaçlı üretilen kimyasalların ekosistem açısından risk değerlendirmesini ve üreme açısından toksisite etkisini ortaya çıkarmaktır. Genellikle kullanılabilen biyolojik uç noktalar, hareketsizlik 21 günlük EC50 değeri, ölüm 21 günlük LC50 değeri, doğurganlık oranı ve zamanı ve büyüme oranı olabilmektedir. (Jonczyk ve Gilron, 2005)

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal ve Yöntem

3.1.1. Kimyasal

Bu çalışmada kullanılan Phosmet % 99 aşan saflıkta Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Deneysel maruziyet konsantrasyonunu elde etmek için dimetilsülfoksit (DMSO; Sigma) içinde çözülmüş olup, DMSO'nun nihai analiz konsantrasyonu % 0,1 olarak ayarlanmıştır.

3.1.2. Kullanılan cihaz

Deneysel sırasında Zeiss Axio Imager 2 marka olan optik mikroskop ve otomatik pipetler kullanılmıştır.

3.1.3. *Daphnia magna* kültürü, bakımı ve maruziyeti

Phosmet'in etkisini araştırmak için Daphtoxkit'ten (MicroBioTests Inc., Belçika) *Daphnia magna* kullanılmıştır. *Daphnia magna* yumurtaları, musluk suyundan geçirilerek aktive edilmiş ve sonrasında standart tatlı suda (67,75 mg/L NaHCO₃; 294 mg/L CaCl₂; 123,25 mg/L MgSO₄ ve 5,75 mg/L KCl) 72-90 saat süreyle, 6000 lx sürekli aydınlatma altında 20–22 °C. de yumurtadan yeni çıkmış yavrular (<24 saat), maruziyete bırakılmadan 2 saat önce Spirulina mikroalg süspansiyonu ile önceden beslenmiştir. Uzun süreli maruziyetler için, *Daphnia magna* günde bir kez Spirulina mikroalgleri ve maya karışımıyla beslenmiş ve iki günde bir %50 suyu değiştirilmiştir.

3.1.4. Akut toksisite (hayatta kalma) testi

Hayatta kalma testi için *Daphnia magna* yavruları (< 24 saat) 6 oyuklu plakalarda (BD Falcon) her oyukta 10 hayvan olmak kaydı ile Phosmet'e maruz bırakıldı. Her maruziyet için üç kopya kullanılmış olup, *Daphnia magna* %0,1 DMSO (kontrol) veya Phosmet (0,01; 0,1; 1,10; 25; 50; 100 µM) içeren 10 mL standart tatlı suya maruz bırakılmıştır. Mortalite oranları 6, 24 ve 48 saatlerde kaydedilmiştir. Neonatallar mikroskop altında

incelendiğinde hareketsiz ve organlarında hareket görülmemişse ölü olarak kabul edilmiştir.

3.1.5. Kronik toksisite (yaşam süresi ve üreme)

Daphnia magna, kuluçkadan 24 saat sonra Phosmet'e (0,01; 0,1; 1,10; 25; 50; 100 µM) maruz bırakılmıştır. Maruziyet için, 100 mL standart su içeren 250 mL kristalizasyon kaplarında kullanılmıştır. Her maruziyet için, kristalizasyon kabı başına 10 *Daphnia magna* kullanılmıştır. Deneyler üç tekrarlı şekilde gerçekleştirilmiştir. Yavrular her gün sayılarak ölü organizma sayısı kaydedilmiş ve ortamdan uzaklaştırılmıştır.

3.1.6. İstatistiksel analiz

Tüm istatistiksel analizler GraphPad Prism 7 yazılımı (GraphPad Software, ABD) kullanılarak belirlendi. İstatistiksel önemi Tek yönlü ANOVA ve ardından Dunnett son testi kullanılarak değerlendirildi. P-değerler B 0,05 önemli ölçüde farklı kabul edildi (*P . 0,05; * *P . 0,01; ***P B 0,001). Ömür testi Mantel-cox testi kullanılarak analiz edildi

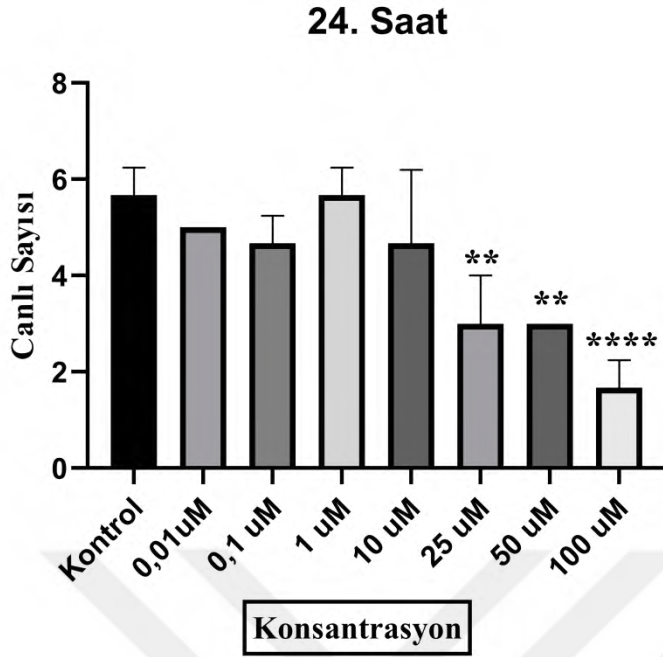
4. BULGULAR

Bu çalışmada bir organofosfat olan ve bitki ve hayvanlara karşı yaygın olarak kullanılan Phosmetin olası olumsuz etkileri toksisite çalışmalarında önemli bir model organizma olan *D. magna* kullanılarak akut ve kronik düzeyde inceleme altına alınmıştır.

4.1. Akut Toksisite Deney Bulguları

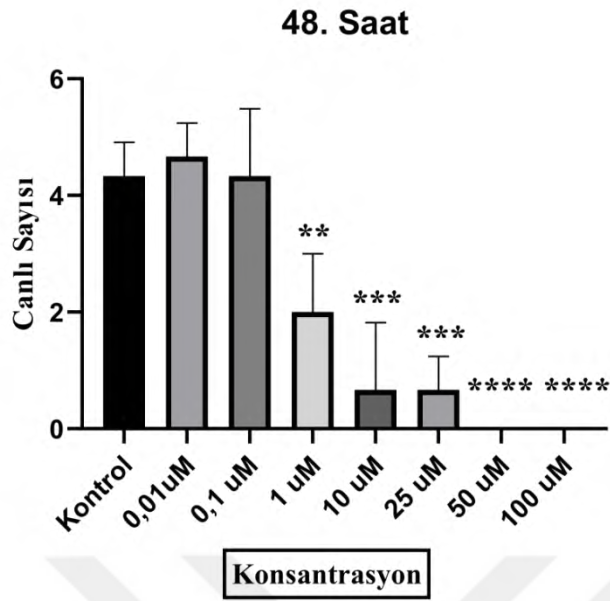
Akut toksisite analizlerinde farklı konsantrasyonlar (0,01 – 100 uM) değerlendirme altına alınmıştır. Deneyler 6 kuyucuklu plakalarda gerçekleştirilmiş olup her kuyucukta en az 5 organizma ve her konsantrasyon için 3 tekrar olacak şekilde deney seti hazırlanmıştır. 24 ve 48. saatlerde organizmalar kontrol edilmiş ve canlı ve ölü organizma sayısı kayıt altına alınmıştır. Buna göre herhangi bir hareket ve/veya organ hareketi olmayan organizmalar ölü olarak kabul edilmiştir. Ölü organizmalar kuyucuklardan alınarak uzaklaştırılmıştır.

24 saat sonunda 0,01 ve 0,1 uM phosmete maruz kalan organizmalarda herhangi bir etki gözlenmemiştir. Bununla birlikte, 1 uM phosmete maruz kalan canlıların hareketliliklerinde bir azalma tespit edilmiştir. 10 uM phosmete maruz kalan canlılarda ise yüzme iyice azalmış, anten ve iç organlarda hareketlilik devam etmiştir. 0,01 – 10 uM arasındaki konsantrasyonlarda anlamlı seviyede toksisite gözlemlenmemiştir. Diğer taraftan 25 uM ve üstü phosmet konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde toksisite (ölüm) tespit edilmiştir. 25 uM phosmet konantrasyonunda hayatta kalan organizmalarda hareket iyice azalmış ancak anten ve iç organlardaki aktivite devam etmiştir. 50 ve 100 uM phosmet maruziyetinde ise hayatta kalan canlılarda hareket tamamen durmuş sadece iç organlarda bir aktivite olmuştur (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının 24 saat sonunda *D. magna* üzerindeki etkileri

48 saat sonunda 0,01 ve 0,1 uM phosmet konsantrasyonlarında canlılar hayatta kalmaya devam etmiş, phosmetin istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olmamıştır. Diğer taraftan, ilk 24 saatte istatistiksel olarak toksik etki göstermeyen 1 ve 10 uM phosmet konsantrasyonlarında anlamlı seviyede toksik etki (ölüm) gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 50 ve 100 uM phosmet konsantrasyonlarında 48 saat sonunda tüm canlılar ölmüştür (Şekil 4.2). Akut toksisiteden elde edilen veriler doğrultusunda kronik toksisite deneylerinde (üreme ve yaşam süresi deneyleri) 0,01 ve 0,1 uM phosmet konsantrasyonlarının kullanılması uygun bulunmuştur.

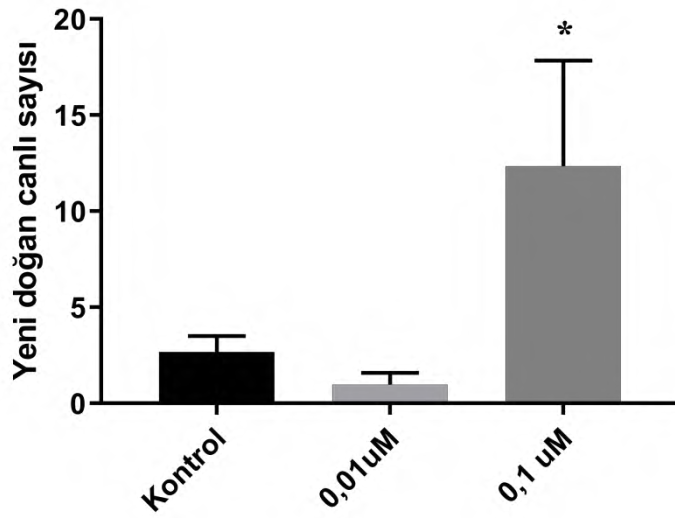


Şekil 4.2. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının 48 saat sonunda *D. magna* üzerindeki etkileri

4.2. Kronik Toksikite Deney Bulguları

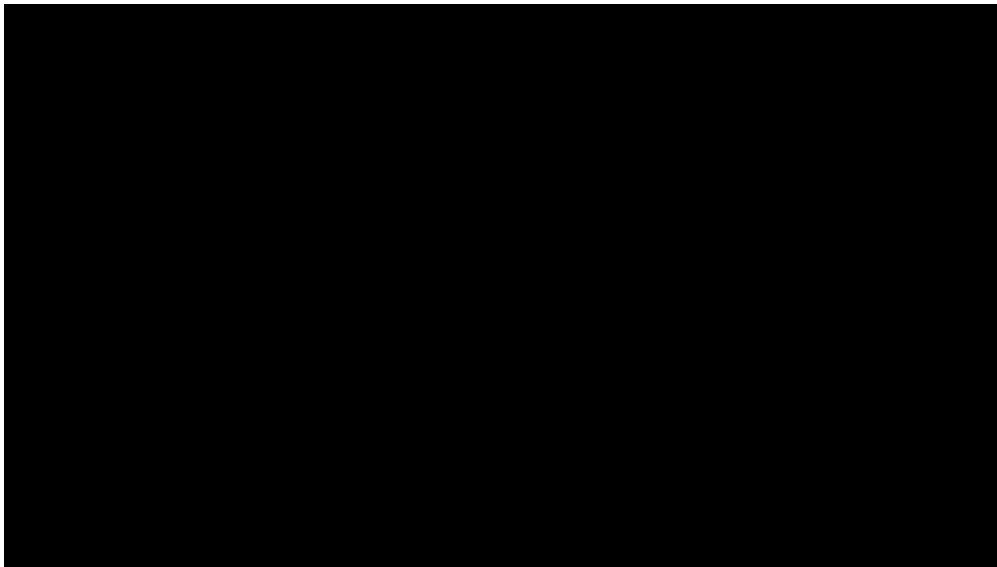
Kronik toksisite deneyleri üreme ve yaşam süresi olmak üzere iki aşamalı gerçekleştirilmiştir. Her iki deney seti de 3 tekrarlı olacak şekilde kristallize tabaklarda yapılmıştır. Her tekrarda 10 organizma bulundurulmuştur. Üreme deneyleri 21 gün boyunca devam ettirilmiş ve yeni doğan organizmalar sayılarak kayıt altına alındıktan sonra ortamdan uzaklaştırılmıştır. Yaşam süresi deneyleri bütün canlılar ölene kadar sürdürülmüştür. Organizmaların buldukları suyun yarısı her alternatif günde değiştirilmiş ve hedeflenen phosmet konsantrasyonlarını sabit tutmak için eklenen su gerekli miktarda phosmet içermiştir.

Üreme verilerine bakıldığında kontrol grubu ile 0,01 uM phosmet içeren grup arasında herhangi bir fark gözlemlenmemiştir. Bununla birlikte, 0,1 uM phosmet içeren grubun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ilginç bir şekilde yüksek miktarda yavru verdiği gözlemlenmiştir. Ortaya çıkan bu farkın yapılan istatistiksel analizler sonucunda anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının üreme üzerindeki etkileri

Yaşam süresi deneylerine bakıldığında kontrol ve phosmet gruplarının total yaşam sürelerinin sonlanma noktalarının benzer olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, deney sürecine bakıldığında ise kontrol grubundaki organizmaların maruziyet gruplarındaki organizmalara oranla daha hızlı hayatlarını kaybettiği, phosmet maruziyetinin yaşam süresi üzerine olumsuz bir etkisi olmadığı tespit edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Farklı Phosmet konsantrasyonlarının yaşam süresi üzerindeki etkileri

5. TARTIŞMA

KBRN kaynaklı olaylar günümüzde önemli bir kavram olarak karşımıza çıkmakta olup toplumda önemli bir endişe, kargaşa ve sağlık problemi olarak yer edinmektedir. KBRN olayları adından da anlaşılabilceği gibi çok çeşitli kimyasalların potansiyel bir silah olarak kullanılabilceğini ifade etmektedir. (Karcıoğlu ve Topaçoğlu, 2017). Günlük hayatta yaşamı kolaylaştırmak, üretimi artırmak için kullanılan birçok kimyasal bu kategori içine alınabilmektedir. Bu kapsamda sıkça kullanılmakta olan ve kullanımları sonucu çevrede yüksek miktarlarda bulunan kimyasalların toksik etkilerinin ortaya konması olası bir KBRN olayında bu kimyasalların kullanımları durumunda nasıl hareket edilmesi ve ne tür önlemlerin alınması gerektiğini önceden belirlemek açısından büyük önem taşımaktadır.

Pestisitler çok geniş bir kimyasal grubunu oluşturmakta olup yukarıda bahsedildiği gibi potansiyel birer KBRN silahı olarak kullanılabilirler. Diğer taraftan, pestisitler tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun sonucu olarak da çevreye salınmakta ve çevrede birikim göstermektedir. Bunun sonucunda insanlar ve hayvanlar bu tür kimyasallardan doğrudan veya dolaylı olarak etkilenebilmekte ve olumsuz sağlık problemleri ile karşılaşabilmektedir. Yaygın olarak kullanılan bu pestisitlerin hem doğaya salınımı sonucu ortaya çıkarabilecekleri olumsuz etkiler hem de birer potansiyel KBRN maddesi olarak kullanılabilcekleri göz önüne alındığında toksik etkilerinin ortaya konması gerekmektedir.

Phosmet organofosfatlar grubu içerisinde pestisit olarak yer alan sentetik bir insektisittir. İlk olarak 1966'da Amerika Birleşik Devletlerinde meyvelerin haşere kontrolünü sağlamak amacıyla tescil edilmiştir. Phosmet, ağaçlara saldıran, ağaçların üretimini ve kalitesini düşüren zararlılardan biri olan meyve sineğinin kontrolünde kullanılır. (Hang Q 2015). Phosmet bir KBRN silahı potansiyeli taşımakta olup bu kapsamda mevcut çalışma phosmetin olası toksik etkilerinin hem akut hem de kronik düzeyde araştırılmasını amaçlamıştır.

Literatüre bakıldığında phosmet ile ilgili çeşitli çalışmalar yer almaktadır. Bunlardan bir tanesi zebra balığı ile yapılan çalışma olup bu çalışma 2,96; 4,44; 6,66; 10 ve 15 mg/L Phosmet'e maruz bırakıldığında 96 saatte medyan öldürücü konsantrasyonun olduğu ve buna bağlı olarak zebra balığının büyümesini ciddi şekilde etkilediği sonuçları elde

edilmiştir. (Vasamsetti ve diğeri 2020). Bizim çalışmamızda ise 24. saatte 25 uM dan itibaren ölüm gözlemlenmiştir.

Ayrıca bu çalışmada *D. Magna* üzerinde farklı kimyasallar kullanılarak elde edilen sonuçlarla da tartışılmıştır. *D. magna* üzerinde yapılan letal konstrasyon çalışmalarında; alpha-cypermethrin insektisitinin 24 saatte *Daphnia magna*'ların %50'sini öldüren konsantrasyon 0,224 Jg/L (Çelikel, 2011), Roundup herbisitinin 24 saatte 0,019 mg/L, 48 saatte ise 0,012 mg/L olduğu açıklanmıştır (Sarıgül ve Bekcan, 2007). Yaptığımız çalışmada ise 24. saatte 25 uM, 48 saatte ise 50 uM olarak gözlemlendi.

Bununla birlikte, literatüre bakıldığında *D. magna* ile daha önce phosmetin etkilerinin araştırıldığı bir çalışma yer almamaktadır. Çalışmamız bu kapsamda özgün olup Phosmetin sucul organizmalardaki etkilerinin ortaya konması açısından literatüre önemli bir katkı yapacaktır. Ayrıca çalışmamızda literatürdeki çalışmalarla karşılaştırıldığında Phosmetin kronik toksisitesinin analiz edildiği ilk çalışma olarak literatürde yerini almıştır.

6. SONUÇ

Bu çalışmada *Daphnia magna* üzerine yaygın olarak kullanılan bir pestisit olan Phosmet'in akut ve kronik toksisitesi inceleme altına alınmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda aşağıdaki sonuçlara varılmıştır:

- Bu çalışma Phosmetin *D. magna* üzerindeki toksik etkilerinin inceleme altına alındığı ilk çalışma olarak literatürdeki yerini almıştır.
- Akut toksisite analizlerinde 24 saatlik maruziyet sonucunda 25 μM ve üstü Phosmet konsantrasyonlarının anlamlı seviyede mortalite gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).
- Akut toksisite analizlerinde 48 saatlik maruziyet sonucunda 1 μM ve üstü Phosmet konsantrasyonlarının anlamlı seviyede mortalite gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).
- Akut toksisite analizlerine bakıldığında toksisite süresi arttıkça mortalite gösteren Phosmet konsantrasyonunun azaldığı görülmektedir.
- Üreme deneylerinde 0,01 μM phosmet içeren grubun kontrol grubu ile yavru sayısı bakımından bir fark oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 0,1 μM Phosmet içeren grubun kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede yüksek miktarda yavru verdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).
- Yaşam süresi deneylerinde bakıldığında kontrol ve phosmet gruplarının total yaşam sürelerinin sonlanma noktalarının benzer olduğu gözlemlenmiştir.
- Bu çalışma Phosmet gibi yaygın kullanımlara sahip diğer kimyasalların analiz edilmesi açısından hem kullanılan yöntem hem de kullanılan model organizma bakımından yol gösterici olma potansiyeli taşımaktadır.
- Elde edilen verilere bakıldığında Phosmetin *D. magna* üzerinde yüksek seviyede toksik olduğu (mortalite) belirlenmiştir. Bununla birlikte, bu etkilerin hangi moleküler yollarında (transkripsiyon ve protein seviyesinde) etkili olduğunun ortaya konması açısından ileri analizlerin yapılması gerekmektedir.
- Phosmetin çevresel kaderinin (su, toprak, hava gibi farklı ortamlar) ve birikim düzeyinin belirlenmesi bakımında çalışmaların yürütülmesi önem taşımaktadır.
- Phosmetin kullanımının düzenleyici kuruluşlar tarafından takip edilmesi ve düzenlenmesi olası etkilerin azaltılmasını sağlayabilir.

KAYNAKLAR

- AFAD (2014) Açıklamalı Afet Yönetimi Terimleri Sözlüğü, Ankara: T.C. Başbakanlık Afet ve Acil Durum Yönetimi Başkanlığı.
- Altıkat, A., Turan, T., Ekmekyapar, T. F., Bingül, Z., (2009). “Türkiye’de Tarım ilacı Kullanımı ve Çevreye Olan Etkileri”, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40 (2), 87- 92, 2009.
- Ayvazoğlu G. (2015). KBRN için hazırlık ve gönüllülük düzeyi belirleme çalışması: Gümüşhane ili örneği Yüksek Lisans Tezi, Gümüşhane Üniversitesi, 2015.
- Bolognesi, C., (2003) “Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies”, *Mutation Research*, 543:251–272, (2003).
- Duchet, C., Mitchell, C. J., McIntyre, J. K., & Stark, J. D. (2021). Chronic toxicity of three neonicotinoid insecticides and their mixture on two daphniid species: *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia*. bioRxiv.
- Çelikel, Yeşim. (2011) Alpha-Cypermethrin’in *Daphnia magna* (Straus 1820) (Cladocera, Crustacea) üzerine Akut Toksik Etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi.
- Delen, N., Güngör, N., Durmuşoğlu, E., Turgut, Ç., Güncan, A. ve Burçak, A., 2005. Türkiye’de Pestisit Kullanımı Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Müh. 6. Teknik Kongre, Ankara, 629-648.
- Güven, E., Bolat, D., Gedik, K. ve Kurt-Karakuş, P. B. (2016) “Kiral kirleticiler ve çevresel önemi”, *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 22(6), 486-496.
- Edition, F. Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms, 5th ed.; US Environmental Protection Agency US EPA: Washington, DC, USA, 2002; Volume 232, p. 266.
- Erkekoğlu, P. ve Koçer- Gümüşel, B. (2018). Kimyasal Savaş Ajanları: Tarihçeleri, Toksikitepleri, Saptanmaları ve Hazırlıklı Olma. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38(1), 24-38.
- Ekmekyapar, F., Tosun, C., & Ataçoğlu, İ. (2014). Klorprifosun *Daphnia Magna* Kullanarak Toksikitesinin Araştırılması ve Çevresel Risk Değerlendirmesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 3(1), 1-8.
- Kızılet, H., & Uysal, H. (2018). Neonikotinoidler ile İnsan Lenfositlerinde Genotoksitenin Uyarılması. *Cumhuriyet Science Journal*, 39(1), 201-210.
- Hıncal, F., Çeliker, A., Özgüven, Ş., Kaya, E. (1991). Kimyasal ve biyolojik savaş ajanlarının sağlık üzerine etkileri. Ankara: Hacettepe İlaç ve Zehir Bilgi Merkezi.
- İbadullayeva, J., Jumaniyazova, K., Azimzadeh, S., Canıgür, S., & Esen, F. (2019). Çevrenin sağlığı üzerindeki etkileri. *Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi*, 1(3), 52-58.
- Jonczyk, E., & Gilron, G. U. Y. (2005). Acute and chronic toxicity testing with *Daphnia* sp. In Small-scale freshwater toxicity investigations (pp. 337-393). Springer, Dordrecht.

- Karayılanoğlu, T. (1996). Kimyasal, biyolojik ve nükleer silahların tıbbi etkileri. Ankara: GATA Basımevi.
- Karaca, M.A. (2016). Kimyasal, Biyolojik, Radyoaktif, Nükleer (KBRN) Ajanlar, C. Kavakçı ve S. Özkan (Ed.), Pratik acil tıp cep kitabı (ss.590-605), Ankara: Derman Tıbbi Yayıncılık.
- Karcıoğlu, Ö. ve Topaçoğlu, H. (2017). Savaş ve Terör Afetlerinde Acil Servis Triajı. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 33(1), 1-8.
- Kiremitçi, İ. (2014). Küresel boyutta biyolojik terör tehdidi. *Savunma Bilimleri Dergisi*, 13(2), 27-58
- Kocataş, A. (1991). "Ekoloji ve Çevre Biyolojisi", Ege Üniversitesi, *Su Ürünleri Fakültesi Yayınları*, Bornova-İzmir, 442-443.
- Laetz, C. A., Baldwin, D. H., & Scholz, N. L. (2020). Sublethal neurotoxicity of organophosphate insecticides to juvenile coho salmon. *Aquatic Toxicology*, 221, 105424.
- Fidan, M., & Arif, AYAR *Drosophila melanogaster*, *Artemia salina* ve *Daphnia magna* üzerinde in vivo bir çalışma: Gıda katkı maddesi olarak kullanılan aktif karbon güvenilir midir? *Uluslararası Bilim Mektupları Dergisi*, 2 (2), 79-91.
- Guiñazú, N., Rena, V., Genti-Raimondi, S., Rivero, V., & Magnarelli, G. (2012). Organofosfatlı insektisitler phosmet ve chlorpyrifos'un trofoblast JEG-3 hücre ölümü, proliferasyonu ve inflamatuvar molekül üretimi üzerindeki etkileri. *In vitro toksikoloji*, 26 (3), 406-413.
- NATO. (2015). North Atlantic Treaty Organization (NATO). Combined Joint Chemical, Biological, Radiological and Nuclear Defence Task Force: https://www.nato.int/cps/en/natohq/topics_49156.htm.
- Persoone, G., Baudo, R., Cotman, M., Blaise, C., Thompson, K.Cl., Moreira-Santos, M., Vollat, B., Törökne, A. and Han, T., 2009, Review on the acute *Daphnia magna* toxicity test – Evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs, *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems*, 393, 01.
- Pieters, BJ ve Liess, M. (2006). Annenin beslenme durumu, *Daphnia magna* yavrularının kısa süreli Fenvalerate maruziyetine duyarlılığını belirler. *Sucul Toksikoloji*, 76 (3-4), 268-277.
- Rahman, AJ, Sharma, D, Kumar, D, Pathak, M, Singh, A, Kumar, V, Chawla, R, Ojha, H. (2021). Spectroscopic and molecular modelling study of binding mechanism of bovine serum albumin with phosmet. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*; 244: 118803.
- Qi, H. (2015). Taze ürünlerde pestisit kalıntılarının parçalanmasında ve uzaklaştırılmasında elektrolize suyun etkinliği (Doktora tezi, Georgia Üniversitesi).
- Sarıgül, Z., Bekcan, S., (2009). Herbisit Glifosatın *Daphnia Magna* Üzerine Akut Toksisitesi, *Tarım Bilimleri Dergisi*, 15(2), 204-208.
- Sezigen S. Sağlık Kurumlarında Kitlesel NBC (KBRN) Yaralanmalarına Yönelik Davranış Modelinin Oluşturulması [Doktora]. Ankara Genelkurmay Başkanlığı Gülhane

Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Sağlık Bilimleri Enstitüsü KBRN Bilim Dalı Başkanlığı; 2009.

- Tatarazako, N. ve Oda, S. (2007). Kabuklular üzerinde endokrin bozucu etkileri olan kimyasalların taranması ve değerlendirilmesi için bir test türü olarak su piresi *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *Ekotoksikoloji* , 16 (1), 197-203.
- Tiryaki, O., Canhilal, R. ve Horuz, S. (2010). “Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri”, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2): 154-169.
- Muhammed, F., & Doğan, D. (2021). Gökkuşuğu alabalığında (*Oncorhynchus mykiss*) fosmet tarafından indüklenen toksisite ve biyokimyasal tepkiler. *Toksikoloji Araştırması*, 10 (5), 983-991.
- Ütük, U. (2018). KBRN Tehdit ve Tehlikelerden Kaynaklı Zararlar Nedeniyle İdarenin Risk İlkesine Dayalı Sorumluluğu. *Dirençlilik Dergisi*, 2(1), 39-56.
- Vasamsetti, B. M. K., Kim, N. S., Chon K., & Park, H. H. (2020). Developmental Toxic Effects of Phosmet on Zebrafish (*Danio rerio*) Embryos. *Korean J. Pestic. Sci.* Vol. 24, No. 4, pp. 343-351.
- Vasamsetti, B. M. K., Chon, K., Kim, J., Oh, J. A., Yoon, C. Y., & Park, H. H. (2021). Transcriptome-Based Identification of Genes Responding to the Organophosphate Pesticide Phosmet in *Danio rerio*. *Genes*, 12(11), 1738.
- Wollenberger, L., Halling-Sørensen, B., & Kusk, K. O. (2000). Acute and chronic toxicity of veterinary antibiotics to *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 40(7), 723-730.

DİZİN

A

Akut Toksikite; 17

Ç

Çevresel Kirleticiler; 5

D

Daphnia Magna; 11

K

KBRN; 3
Kimyasal Savaş Ajanı; 5
Kronik Toksikite; 19

P

Pestisit; 6
Phosmet; 9



TEKNOVERSİTE



teknoversite **AYRICALIĞINDASINIZ**

İSTE

