

İmidakloprit ve Asetamiprit'in *Gammarus kischineffensis* (Amphipoda:Crustacea) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Değerlendirilmesi

Özlem DEMİRCİ¹

ÖZET: Bu çalışmada, önemli bir organik ksenobiyotik sınıfı olan neonicotinoit pestisitlerden asetamiprit ve imidakloprit'in *Gammarus kischineffensis* üzerine akut toksik etkisini araştırmak üzere, 48, 72 ve 96 saatlik LC₅₀ değerleri belirlenmeye çalışılmıştır. Kullanılan doz aralığında; asetamiprit için LC₅₀ değeri 72 ve 96 saat için sırasıyla 1.687 ve 0.517 µg L⁻¹; imidakloprit için 48, 72 ve 96 saatteki LC₅₀ değeri 9764.4, 4546.7 ve 1560.9 µg L⁻¹ olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Asetamiprit, imidakloprit, akut toksisite, *Gammarus kischineffensis*, LC₅₀.



The Evaluation of Acute Toxic Effect of Imidacloprid and Acetamiprid on *Gammarus kischineffensis* (Amphipoda: Crustacea)

ABSTRACT: In this study, 48, 72 and 96 hours LC₅₀ values were determined in order to investigate the acute toxic effect of acetamiprite and imidaclopride on *Gammarus kischineffensis* from neonicotinoid pesticides, an important class of organic xenobiotics. At the dose interval used; LC₅₀ value for acetamiprid was 1.687 and 0.517 µg L⁻¹ for 72 and 96 hours, respectively; LC₅₀ values at 48, 72 and 96 hours for imidacloprid were determined as 9764.4, 4546.7 and 1560.9 µg L⁻¹.

Keywords: Acetamiprid, imidacloprid, acute toxicity, *Gammarus kischineffensis*, LC₅₀.

¹ Özlem DEMİRCİ (0000-0001-9511-2010), Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji, Diyarbakır, Türkiye
Sorumlu yazar/Corresponding Author: Özlem DEMİRCİ, ozdem22@gmail.com

GİRİŞ

Kimyasalların neden olduğu kirlilik için çevresel risk değerlendirmesi genellikle standart test organizmaları ile yapılan toksisite testlerine dayanmaktadır (van Leeuwen and Vermeire, 2007). Akut toksisite testleri, belirli bir sürede organizmaların %50 ölümüne (LC₅₀) neden olan maruz kalma konsantrasyonunun belirlenmesini sağlar. Bunun yanında sıklıkla kullanılan etkili konsantrasyonu (EC₅₀), organizmanın hareketsizliğine veya tanımlanabilir başka bir özelliğine dayanır. Ortalama Öldürücü Konsantrasyon (LC₅₀) uygulaması, toksikologlar arasında kabul görmüş ve genellikle kimyasal kirleticilerin sudaki yaşama olumsuz etkilerini değerlendirmede çok yüksek oranda test edilmiştir (Johnson and Finley, 1980).

Nikotinik pestisitler, üç farklı jenerasyona sahiptirler. Öncelikle organofosfor bileşikleri daha sonra nitrometilen türü bileşikler ve nihayetinde neotikotinoitler piyasaya sürülmüştür. Sentetik nikotinoitler son 40 yılda piyasaya sunulan en büyük böcek öldürücü sınıfıdır. Nörotransmitter reseptörleri hem omurgalılarda hem de omurgasız hayvanlarda ilk olarak nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChR'leri) tarafından uyarılır. Böceklerde nAChR'leri, karakteristik böcek öldürücü özelliğe sahip çeşitli doğal ve sentetik bileşiklerin hedef bölgesi konumundadır (Millar and Denholm, 2007). Neonikotinoitlerin, memelilerin ve böceklerin nAChR'leri arasındaki temel ayrışmadan ötürü önemli seçicilik sağladığı düşünülmektedir (Tomizawa and Casida 2003). Fakat yapılan çalışmalar hedef olmayan organizmalar üzerinde de toksik etkisi olduğunu göstermiştir (Iwasa et al., 2004; Kocaman ve Topaktaş, 2007; Beketov and Liess, 2008; Mishchuk and Stoliar, 2008; Demirci ve ark., 2015; Raj and Joseph, 2015).

İmidakloprit en çok satılan yeninesil insektisitlerden biridir. İmidakloprit, geleneksel kimyasallara dirençli türler de dahil olmak üzere yaprak bitleri, leafhoppers ve plantopper, kirpikcanatlılar ve beyaz sinekler gibi emici böcekler için primer aktiviteye sahip, sistemik bir insektisittir (Mullins, 1993).

Asetamiprid meyve ağaçlarının, sebzelerin, çay ağacının ve benzeri zararlıların kontrolünde kullanılan geniş spektrumlu bir insektisittir. Bu nedenle asetamiprid yaygın olarak tarımda değil, aynı zamanda evsel alanlarda da çok çeşitli zararlılara karşı kullanılmaktadır (Yamamoto, 1999).

Geniş spektrumlu bir insektisit olduğu için, böcek öldürücülerin uygulanması gereken standart konsantrasyon dozlarından daha fazlası bilerek ve bilmeden çiftçiler ve diğer kullanıcılar tarafından daha etkili sonuçlar almak için kullanılır. Bu nedenle sucul alanlara girer ve tatlı su organizmalarının morfolojisi, fizyolojisi ve davranışı üzerinde etkili olabilir (Siddiqui and Wanule, 2010). Asetamiprit için herhangi bir sınırlama olmamasına rağmen bazı neonikotinoitlerin kullanımı AB komisyonu tarafından kısıtlanmıştır. İmidakloprit de bu insektisitlerden biridir (Ojeu, 2013).

Toksisite nedeni ile büyük omurgasız hayvanların sayılarındaki azalma ekolojik olarak çok iyi bilinen bir olgudur. Bununla birlikte hangi maddelerin buna hangi ölçüde neden olacağı daha az bilinmektedir (Beketov and Liess 2008). Gammaridler tatlı sularda oldukça yaygın olarak dağılım gösteren ve bentik bölgede büyük omurgasızların büyük çoğunluğunu oluşturan türler olup, hem etobur hem de otoburdur olarak beslenirler (MacNeil et al., 1997).

Gammarid türleri, hem deniz hem de tatlı sular için önemli biyogösterge canlılarıdır (Woods et al., 2002; Gerhardt et al., 2011). Dahası, çevre toksikolojisi alanında memelilerin kullanıldığı çalışmalarda kısıtlamalar nedeniyle *Gammarus* gibi bir çok amfipod omurgasız hayvanlar son zamanlarda daha fazla ilgi çekmektedir (Kandárová and Letašiová, 2011). Yapılan son çalışmalarda *Gammarus kischineffensis* test organizması olarak kullanılmıştır (Demirci ve ark., 2015; Uğurlu ve ark., 2015).

Bu çalışmanın amacı yeni nesil pestisitler olan neonikotinoitlerden imidakloprit ve asetamipritin *G. kischineffensis* üzerine akut toksik etkisinin belirlenmesidir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan pestisitler % 20 asetamiprit aktif maddesi içeren Hekplan® 20 SP ve litrede 350 mg imidakloprit aktif maddesi içeren Confidor® SC 350 yerel bir tarım ilacı bayisinden temin edilmiştir.

Kullanılan Canlıların Toplanması ve Adaptasyonu

Çalışmada kullanılan *G. kischineffensis* örnekleri, Dicle Üniversitesi kampüsündeki temiz bir su kaynağının yavaş akışlı bölgesinden yapraklar ve taşların altından uzun elekler ve daldırma ağları ile toplanmıştır. Bu çalışmada kullanılan *Gammarus kischineffensis* Schellenberg 1937 türü Prof. Dr. Murat ÖZBEK tarafından teşhis edilmiştir. Laboratuvara getirilirken hasar görmemiş ve aktif bireyler, araziden getirilen su ve laboratuvarda önceden hazırlanmış deklorize musluk suyu ile 50:50 oranında karıştırılarak hazırlanan karışımı içeren, 40x35x40 cm büyüklüğündeki cam akvaryumlara yerleştirilmiştir. Her akvaryuma hava taşlarıyla havalandırılmış çeşme suyuyla akvaryum suyunun yaklaşık % 50'si günlük olarak deklorize musluk suyu ile değiştirilmiştir. Canlıların bulunduğu kontrollü oda hem adaptasyon süresi hem de deneyler sırasında, sıcaklık 18 ± 1 °C ve yapay ışık rejimi 13 saat ışık: 12 saat karanlık olacak şekilde tutulmuştur. Akvaryumlardaki suların bazı ortalama değerleri; sıcaklık 16.8 ± 0.32 °C, pH 8.5 ± 0.04 ve çözülmüş oksijen miktarı 9.0 ± 0.09 mg L⁻¹ olarak ölçülmüştür. Hayvanların deneylere başlamadan önce (adaptasyon süreci) doğal yaşam alanlarından toplanan söğüt (*Salix sp.*) yaprakları ile en az 2 hafta süre ile beslenmiştir (Cold and Forbes, 2004).

Akut Toksikite Deneyleri

Akut toksisite testlerinde prekopülasyon yapacak olgunluğa erişmiş *G. kischineffensis* örnekleri kullanılmıştır. Akut toksisite testi, yarı-statik yenileme yapılan test koşulları altında gerçekleştirilmiştir (Federation and Association, 2005). Akut toksisite testinde kullanılacak olan çözeltiler, asetamiprit ve imidakloprit aktif maddelerini içeren ticari pestisitler kullanılarak hazırlanmıştır. Test edilen imidakloprit aktif maddesinin nominal konsantrasyonları 0 (kontrol), 400, 600, 900, 1350, 2025, 3040, 4556, 6834, 10251, 15376 µg L⁻¹, asetamiprit aktif maddesi için nominal konsantrasyonlar ise 0 (kontrol), 10, 17, 29, 49, 84, 142, 241, 410, 615, 922, 1384, 2075, 3113, 4670 µg L⁻¹ olarak düzenlenmiştir. Dozlar belirlenirken öncelikle literatürden yola çıkılmış ve aralık belirleme deneyleri yapılmıştır. Tüm deneylerde 2 L'lik cam kaplara 10 birey konulmuş ve deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Yarı-statik yenileme yapılarak testler boyunca her 24 saatte bir canlıların

bulduğu kapların içindeki test solüsyonun yarısı taze hazırlanmış aynı miktarda pestisit içeren solüsyonlar ile değiştirilmiş ve canlılar 96 saat boyunca maruz bırakılmıştır. Asetamiprit ve imidakloprite maruz kaldıktan sonra canlıların ölüm oranları, 0, 24, 48, 72 ve 96 saat boyunca kaydedilmiştir. Vücutları hareketsiz olan ve ölüm sertliği gözlenen bireyler ölü olarak kabul edilmiştir (Anderson 1982, Cold and Forbes, 2004).

İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz yapılırken LC₅₀ değerleri SPSS programında (versiyon 1.5) probit analiz ile hesaplanmış ve testlerde anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Değişen kimyasal konsantrasyonlarının risk değerlendirmesi için kullanılabilir modeller geliştirmek için *Gammarus* türleri kullanılmaktadır (Ashauer et al., 2007; Beketov and Liess 2008).

Yapılan bu çalışmada yüksek konsantrasyonlarda imidakloprit ve asetamiprit insektisitlerine maruz kalan *G. kischineffensis* türüne ait bireylerde prekopülasyon davranışında bozulma gözlenmiştir. Davranışsal yanıtlar, biyokimyasal ve fizyolojik yanıtlar kadar benzer duyarlılık ve verimlilikte görünmektedir ve bu yanıtların dayanıklılığı ve sürekli nedeni ile uzun vadeli izlenebilmesi mümkündür (Gerhardt et al., 2007). *Gammarus* türleri, ekotoksikolojik araştırmalarda değerli olan karmaşık bir yaşam döngüsüne sahiptirler. Çünkü çiftleşme davranışındaki değişiklikler (prekopülasyon) ksenobiyotik madde maruziyetinde daha kolay gözlemlenebilir (Poulton and Pascoe, 1990; Watts et al., 2001). *Gammarus* türlerinin çevresel kirleticilere maruz kalmasının ardından ilk olarak beslenme aktivitesinde bozukluklar gözlenmektedir. *Gammarus* gibi ölü organik maddeler ve bitki döküntüleriyle beslenen canlıların toksik etkiye maruz kalması bu döküntülerin tatlı sulardaki artışına neden olmaktadır (Kunz et al., 2010).

Hem asetamiprit hem de imidaklopritin LC₅₀ değerleri belirlenirken kontrol gruplarında ölüm gözlenmemiş ve imidaklopritin 6834 µg L⁻¹'lik konsantrasyonu dışındaki tüm uygulamalarda konsantrasyon artışına bağlı olarak % ölüm artmıştır (Çizelge 1 ve Çizelge 2).

Çizelge 1. Asetamipritin farklı konsantrasyonlarına maruz kalan *G. kischineffensis* için % ölüm oranları

Konsantrasyon ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ölüm Oranı %			
	24	48	72	96
0.01	0	0	5	15
0.017	10	10	10	25
0.029	10	10	20	30
0.049	5	15	30	35
0.084	25	25	35	45
0.142	15	25	30	35
0.241	20	25	25	30
0.410	10	20	25	30
0.615	0	15	25	30
0.922	15	20	35	50
1.384	10	30	50	60
2.075	10	20	55	70
3.113	10	15	60	70
4.670	45	45	70	90

Çizelge 2. İmidaklopritin farklı konsantrasyonlarına maruz kalan *G. kischineffensis* için % ölüm oranları

Konsantrasyon ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Ölüm Oranı %			
	24	48	72	96
400	0	10	10	15
600	10	10	15	20
900	5	10	25	40
1350	10	15	30	50
2025	15	30	45	60
3040	15	20	35	65
4556	20	35	60	80
6834	27	42	54	72
10251	40	50	60	95
15376	50	60	65	95

Bu çalışmada neonikotinoit pestisitler olan asetamiprit ve imidaklopritin akut toksik etkisi incelenmiş ve asetamiprit için 72 saatlik LC_{50} değeri $1.687 \mu\text{g L}^{-1}$ ve 96 saatlik LC_{50} değeri ise $0.517 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. *G. kischineffensis* için Ortalama Öldürücü Konsantrasyon (LC_{50}) değerleri

	Nominal Test aralığı	Birey sayısı	LC_{50} ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
			24 saat	48 saat	72 saat	96 saat
Asetamiprit	0.01-4.670	10	do.	d.o.	1.687 (0.830-5.279)	0.517 (0.277-1.152)
İmidakloprit	400-15376	10	d.o.	9764.4 (6154-21845)	4546.7 (3035-7725)	1560.9 (1136-2046)

d.o.= Denene konsantrasyon aralığında olmayan değer
 LC_{50} değerleri 95% güven aralığındadır ($p<0.05$)

Beketov and Liess (2008) tarafından yapılan çalışmada *Gammarus pulex* için asetamiprit analitik standardının 96 saatlik LC₅₀ değeri 50.0 µg L⁻¹ olarak bulunmuştur. Englert et al., (2017) ise asetamipritin ticari formuna maruz bırakılan *Gammarus fossarum* türünün bireylerinin 7 günlük LC₂₀ değerini 21.34 µg L⁻¹ olarak saptamışlardır (Çizelge 4). Yaptığımız çalışmada elde edilen LC₅₀ değeri diğer çalışmalar karşılaştırıldığında oldukça düşük bulunmuştur. Asetamiprit ile yapılan

daha önceki çalışmalarda hem analitik standart hem de ticari formlar kullanılmıştır. Bu önemli düzeydeki fark kullanılan pestisit ticari olmasından kaynaklanabilir. Englert et al., (2017) tarafından yapılan çalışmada da ticari bir pestisit kullanılmakla birlikte farklı bir firma tarafından üretilmiştir. Bu sonuçlar asetamiprit ile birlikte ticari pestisit içeriğinde bulunan kimyasalların farklı düzeyde toksik etkiye neden olduğunu gösterebilir.

Çizelge 4. Farklı zamanlarda asetamiprite maruz kalan *Gammarus* türlerinin LC₂₀-LC₅₀ değerleri

Tür ismi	Maruz kalma süresi	LC ₂₀ -LC ₅₀	Konsantrasyon	Kaynak
* <i>Gammarus fossarum</i>	7 gün	LC ₂₀	21.34 µg L ⁻¹	(Englert et al., 2017)
** <i>Gammarus fossarum</i>	7 gün	LC ₂₀	328.62 µg L ⁻¹	(Engle et al., 2017)
<i>Gammarus pulex</i>	96 saat	LC ₅₀	50.0 µg L ⁻¹	(Beketov and Liess 2008)

*Hem ortama hem de besine pestisit uygulanması sonucunda elde edilmiştir
**Sadece ortama pestisit eklenerek maruz bırakma sonucunda elde edilmiştir

Başka bir krustase olan *Daphnia magna* için 48 saatlik LC₅₀ değeri 10.44 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur (Song et al., 1997). Bu çalışmanın sonuçları, *G. kischineffensis*'in *G. pulex*' e göre daha az, *D. magna*'ya göre ise daha fazla hassas olduğunu ortaya koymuştur. Literatürde *Gammarus* türlerinin asetamiprite maruziyeti ile ilgili başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Asetamiprit ile yapılan çalışmaların az sayıda olması ve asetamipritin yaygın olarak kullanılan bir insektisit olması nedeniyle bu çalışmanın önemli bir katkı sunduğu düşünülmektedir.

İmidakloprit için ise 48 saatlik LC₅₀ değeri 9764.4 µg L⁻¹, 72 saatlik LC₅₀ değeri 4546.7 µg L⁻¹ ve 96 saatlik LC₅₀ değeri ise 1560.9 µg L⁻¹ olarak belirlenmiştir (Çizelge 3). Ashauer et al., (2010) imidakloprite maruz kalan *Gammarus pulex* için 24 saatlik LC₁₀ değerini 582 µg L⁻¹, LC₅₀ değerini ise 8760 µg L⁻¹ olarak belirlemişlerdir. Berketov et al., (2008)'e göre *G. pulex* için 96 saatlik LC₅₀ değeri 270 µg L⁻¹, van den Brink et al., (2016)'ya göre 386 µg L⁻¹, Roessink et al., (2013) göre ise 263 µ L⁻¹'dir (Çizelge 5). Bu çalışmaların tümünde imidaklopritin analitik standard formu kullanılmıştır. Başka bir crustacea olan *Daphnia magna* için 48 saatlik LC₅₀ değeri 10.44 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur (Song et al., 1997). Bu çalışmada imidakloprit için elde edilen LC₅₀ değerleri ile literatürde *G. pulex* ve *G. fossarum* için verilen değerler önemli farklar göstermektedir.

Aynı türler ya da farklı *Gammarus* türleri arasındaki LC₅₀ değerlerindeki oldukça geniş varyasyon dikkati çekmektedir. Bu tür farklılıklar, deneylerde kullanılan suyun fiziko-kimyasal özellikleri, birey hacmi ve diğer ortam farklılıklarından kaynaklanabilmektedir (Fisher, 1991; Dietrich et al., 2014). Daha önce yapılan çalışmalarda analitik standart kullanılmış olmasına rağmen yaptığımız çalışmada asetamiprit gibi imidakloprit uygulamasında da pestisit ticari formu kullanılmıştır.

Literatürdeki sonuçlarla yaptığımız çalışma arasındaki önemli düzeydeki farkın ticari formda bulunan diğer maddelerden kaynaklandığı düşünülebilir. Kombinasyon halindeki maddeler canlılar üzerinde sinerjistik veya antagonistik etkiye neden olabilmektedir (Folt et al., 1999). Pereira et al., (2009) yaptıkları çalışmada üç farklı pestisit (Glifosat, propanil ve metilomil) hem analitik standartlarının hem de ticari formlarının *Daphnia magna* üzerine etkisini incelemiş ve glifosat'ın standardına maruz kalan canlılarda EC₅₀ değerleri 2000 mg L⁻¹'den fazla iken 350 mg L⁻¹'dir fakat diğer pestisitler için elde edilen EC₅₀ sonuçlarında bu düzeyde fark gözlenmemiştir. Literatürde neonikotinoitlerin ticari ve standart formlarının karşılaştırıldığı çok fazla çalışma bulunmamasına rağmen Uğurlu et al., (2015) tarafından yapılan çalışmada tiametoksamin ticari formunun *G. kischineffensis* için 96 saatlik LC₅₀ değerini 3.751 mg L⁻¹

olarak, Demirci et al., (2018) tarafından yapılan ve thiametoksamin analitik standartının kullanıldığı bir diğer çalışmada ise 96 saatlik LC₅₀ değerinin 8.9 mg L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. Bir maddenin kimyasal özellikleri neden olduğu toksisite ile yakından ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda Log K_{ow} (oktanol-su ayrılma katsayısı) ve moleküler ağırlık gibi özelliklerin biyolojik birikim ve toksisite ile bağlantılı olduğu ortaya konulmuştur (Hodson et al., 1988; DeLorenzo et al., 2002). İmidakloprit ve asetamiprit için Log K_{ow} değeri sırasıyla 0.57 ve

0.8 olarak bulunmuştur. Her iki pestisitte düşük yağda çözünme oranına sahiptir fakat *G. kischineffensis* için 96 saatlik LC₅₀ değeri oldukça farklıdır (Hoffmann, 2008). Çalışmamızda kullandığımız pestisitler ticari formlar olduğu için analitik standartlar dışında farklı maddeler içermektedir. Bu nedenle ticari pestisitlerin içerdikleri maddelerin kombine etkilerinin, imidakloprit ve asetamipritin analitik standartlarının kimyasal özellikleri ile açıklanması oldukça zordur.

Çizelge 5. Farklı zamanlarda imidakloprite maruz kalan *Gammarus* türlerinin LC₁₀-LC₅₀ değerleri

Tür İsmi	Maruz Kalma Süresi	LC ₂₀ -LC ₅₀	Konsantrasyon	Kaynak
<i>Gammarus pulex</i>	24 saat	LC ₁₀	582 µg L ⁻¹	(Ashauer et al., 2010)
<i>Gammarus pulex</i>	48 saat	LC ₁₀	220 µg L ⁻¹	(Ashauer et al., 2010)
<i>Gammarus pulex</i>	96 saat	LC ₁₀	64 µg L ⁻¹	(Van den Brink et al., 2016)
<i>Gammarus pulex</i>	96 saat	LC ₁₀	99.5 µg L ⁻¹	(Roessink et al., 2013)
<i>Gammarus pulex</i>	28 gün	LC ₁₀	5.77 µg L ⁻¹	(Roessink et al., 2013)
<i>Gammarus pulex</i>	24 saat	LC ₅₀	8760 µg L ⁻¹	(Ashauer et al., 2010)
<i>Gammarus pulex</i>	48 saat	LC ₅₀	3857 µg L ⁻¹	(Ashauer et al., 2010)
<i>Gammarus fossarum</i>	48 saat	LC ₅₀	800 µg L ⁻¹	(Lukančič et al., 2010)
<i>Gammarus fossarum</i>	48 saat	LC ₅₀	70 µg L ⁻¹	(Lukančič et al., 2010)
<i>Gammarus pulex</i>	96 saat	LC ₅₀	270 µg L ⁻¹	(Beketov and Liess 2008)
<i>Gammarus pulex</i>	96 saat	LC ₅₀	386 µg L ⁻¹	(Van den Brink et al., 2016)
<i>Gammarus pulex</i>	96 saat	LC ₅₀	263 µg L ⁻¹	(Roessink et al., 2013)
<i>Gammarus pulex</i>	28 gün	LC ₅₀	33.8 µg L ⁻¹	(Roessink et al., 2013)

EPA tarafından pestisitler için yapılan toksisite sınıflandırmasına göre çalışmamızda elde ettiğimiz asetamiprit için 96 saatlik LC₅₀ değerleri <0.1 ppm olduğu için çok yüksek toksik iken imidakloprit için 96 saatlik LC₅₀ değerleri ılımlı toksiktir (>1-10 ppm) (US EPA, 2017).

Bununla birlikte imidakloprit gibi pek çok neonikotinoit AB komisyonu tarafından yasaklanmasına rağmen asetamiprit yasaklı bir pestisit değildir (Ojeu, 2013; US EPA, 2017). Özellikle neonikotinoitlerin arılar üzerindeki toksik etkileri ile ilgili pek çok çalışma mevcuttur (Blacquiere et al., 2012; Whitehorn et al., 2012 Decourtye and Devillers, 2010). AB komisyonu kararlarında daha çok neonikotinoitlerin arılar üzerindeki etkisinin dikkate alındığı bilinmektedir (EU Commission, 2018). Fakat literatürdeki diğer çalışmalar ve yaptığımız çalışma sonuçlarına göre; imidakloprit ile karşılaştırıldığında asetamipritin suçul büyük omurgasız hayvanlar üzerinde önemli düzeyde

toksik etkiye sahiptir. Bu alandaki çalışmaların artması neonikotinoitlerin farklı canlı grupları üzerindeki etkisini daha gerçekçi bir şekilde ortaya koyacaktır.

Neonikotinoitler, doğal toksin nikotinden türetilmiş yeni bir kimyasal böcek öldürücü sınıfıdır. 1990'ların başında pazara sunulan ilk bileşik olan imidakloprit, organoklorinler ve organofosfatlar gibi daha eski insektisitlerin neden olduğu çevresel sorunların çözümü olarak düşünülmüştür (Sánchez et al., 2016). Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda hedef olmayan organizmalar için zararlı olduğunu gösteren akut toksisitesi ortaya konulmuştur (Beketov and Liess 2008; Ashauer et

al., 2011; Englert et al., 2017). Ayrıca Ashauer et al., (2011) tarafından yapılan çalışmada imidakloprite maruz kalan *G. pulex*'in *Daphnia magna*'ya göre istatistiksel olarak önemli düzeyde daha hassas olduğu ortaya konulmuştur. Bu nedenle *D. magna*'nın neonikotinoitlere karşı duyarsız olabileceği, ancak *G. pulex*'in son derece duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Buradan yola çıkarak ekotoksikolojik çalışmalar için önemli bir biyogösterge tür olarak *Gammarus* türlerinin oldukça hassas türler olduğu düşünülebilir.

SONUÇ

Sonuç olarak ortalama lethal konsantrasyon hem sucul kirlilikle ilgili hızlı bir yanıt elde etmek

için oldukça verimli testlerdir. Üstelik biyokimyasal cevaplar için ön bilgi sağladığı için oldukça yararlıdır. Ayrıca *Gammarus* türleri gibi biyogösterge olan türler bu tür testler için hem omurgasız hayvanlar oldukları için (3R prensibi) hem de çevresel kirleticilere oldukça duyarlı oldukları için sucul toksikoloji çalışmalarında tercih edilebilir.

AB komisyonu tarafından yasaklanan imidakloprit ile yasaklı olmayan asetamipritin LC₅₀ değerleri karşılaştırıldığında asetamipritin daha yüksek akut toksisiteye neden tespit edilmiştir (Ojeu, 2013; US EPA, 2017). Bununla birlikte pestisitlerin ticari ve analitik standart halinde bulunmasının da akut toksisite üzerinde önemli düzeyde etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

- Anderson RL, 1982. Toxicity of fenvalerate and permethrin to several nontarget aquatic invertebrates. *Environmental Entomology* 11: 1251-1257
- Ashauer R, Boxall AB, Brown CD, 2007. New ecotoxicological model to simulate survival of aquatic invertebrates after exposure to fluctuating and sequential pulses of pesticides. *Environmental Science & Technology* 41: 1480-1486.
- Ashauer R, Hintermeister, A, Potthoff E, Escher, BI, 2011. Acute toxicity of organic chemicals to *Gammarus pulex* correlates with sensitivity of *Daphnia magna* across most modes of action. *Aquatic Toxicology* 103: 38-45.
- Ashauer R, Caravatti I, Hintermeister A, Escher BI, 2010. Bioaccumulation kinetics of organic xenobiotic pollutants in the freshwater invertebrate *Gammarus pulex* modeled with prediction intervals. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 1625-1636.
- Beketov MA, Liess M, 2008. Acute and delayed effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on seven freshwater arthropods. *Environmental Toxicology and Chemistry* 27: 461-470.
- Beketov MA, Liess M, 2008. Potential of 11 Pesticides to Initiate Downstream Drift of Stream Macroinvertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 55: 247-253.
- Blacquièrre T, Smagghe G, Van Gestel CA, Mommaerts V, 2012. Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21: 973-992.
- Cold A, Forbes, VE, 2004. Consequences of a short pulse of pesticide exposure for survival and reproduction of *Gammarus pulex*. *Aquatic Toxicology* 67: 287-299.
- Demirci O, Guven K, Asma D, Ogut S, Ugurlu P, 2015. The effects of atrazine and thiamethoxam at sublethal concentrations on some antioxidant enzymes of *Gammarus kischineffensis*. *Toxicology Letters* 2: 131.
- Demirci O, Guven K, Asma D, Ogut S, Ugurlu P, 2018. Effects of endosulfan, thiamethoxam, and indoxacarb in combination with atrazine on multi-biomarkers in *Gammarus kischineffensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 147: 749-758.
- Decourtye A., Devillers J, 2010. Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees Insect nicotinic acetylcholine receptors, Springer, 85-95 p.
- DeLorenzo M, Taylor L, Lund S, Pennington P, Strozier E, Fulton M 2002. Toxicity and bioconcentration potential of the agricultural pesticide endosulfan in phytoplankton and zooplankton. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 42: 173-181
- Dietrich JP, Van Gaest AL, Strickland SA Arkoosh MR, 2014. The impact of temperature stress and pesticide exposure on mortality and disease susceptibility of endangered Pacific salmon. *Chemosphere* 108: 353-359.
- Englert D, Zubrod, JP, Link M, Mertins S, Schulz R, Bundschuh M, 2017. Does Waterborne Exposure Explain Effects Caused by Neonicotinoid-Contaminated Plant Material in Aquatic Systems? *Environmental Science & Technology* 51: 5793-5802.
- Federation WE, Association A, 2005. Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association (APHA): Washington, DC, USA.
- Fisher S, 1991. Changes in the toxicity of three pesticides as a function of environmental pH and temperature. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 46: 197-202.
- Folt, C, Chen, C, Moore, M, Burnaford, J, 1999. Synergism and antagonism among multiple stressors. *Limnology and oceanography*, 44: 864-877.
- Gerhardt A, Kienle C, Allan IJ, Greenwood R, Guigues N, Fouillac AM, Mills GA, Gonzalez C, 2007. Biomonitoring with *Gammarus pulex* at the Meuse (NL), Aller (GER) and Rhine (F) rivers with the online Multispecies Freshwater Biomonitor®. *Journal of Environmental Monitoring* 9: 979-985.

- Hodson PV, Dixon DG, Kaiser KL, 1988. Estimating the acute toxicity of waterborne chemicals in trout from measurements of median lethal dose and the octanol-water partition coefficient. *Environmental toxicology and Chemistry*. 7: 443-454
- Hoffmann EJ, Middleton SM, Wise JC, 2008. Ovicidal activity of organophosphate, oxadiazine, neonicotinoid and insect growth regulator chemistries on northern strain plum curculio, *Conotrachelus nenuphar*. *Journal of Insect Science* 8:1-6
- Iwasa T, Motoyama N, Ambrose JT, Roe RM, 2004. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee. *Apis mellifera*. *Crop Protection* 23: 371-378.
- Johnson WW, Finley MT, 1980. Handbook of acute toxicity of chemicals to fish and aquatic invertebrates: Summaries of toxicity tests conducted at Columbia National Fisheries Research Laboratory, 1965-78, US Fish and Wildlife Service.
- Kocaman AY, Topaktaş M, 2007. In vitro evaluation of the genotoxicity of acetamiprid in human peripheral blood lymphocytes. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 48: 483-490.
- Kunz PY, Kienle C, Gerhardt A, 2010. *Gammarus spp.* in aquatic ecotoxicology and water quality assessment: toward integrated multilevel tests. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* Volume 205: 1-76.
- Lukančič S, Žibrat U, Mezek T, Jerebic A, Simčič T, Brancelj A, 2010. A new method for early assessment of effects of exposing two non-target crustacean species, *Asellus aquaticus* and *Gammarus fossarum*, to pesticides, a laboratory study. *Toxicology and industrial health* 26: 217-228.
- Maltby L., Clayton SA, Wood RM, McLoughlin N, 2002. Evaluation of the *Gammarus pulex* in situ feeding assay as a biomonitor of water quality: robustness, responsiveness, and relevance. *Environmental Toxicology and Chemistry* 21: 361-368.
- Millar NS, Denholm I, 2007. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invertebrate Neuroscience* 7: 53-66.
- Mishchuk OV, Stoliar OB, 2008. The effect of pesticide acetamiprid on biochemical markers in tissues of fresh water bivalve mussels *Anodonta cygnea* L. (Unionidae). *Ukrains'kyi Biokhimichnyi Zhurnal* 80: 117-124.
- Mullins J, 1993. Imidacloprid: a new nitroguanidine insecticide. *ACS Publications* 13: 183-198
- Ojeu 2013. Commission Implementing Regulation (EU) No 485/2013 of 24 May 2013 amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances. *Ojeu* 139: 12-14.
- Pereira JL, Antunes SC, Castro BB, Marques CR, Gonçalves, AM, Gonçalves, F, Pereira R, 2009. Toxicity evaluation of three pesticides on non-target aquatic and soil organisms: commercial formulation versus active ingredient. *Ecotoxicology* 18: 455-463.
- Poulton M, Pascoe D, 1990. Disruption of precopula in *Gammarus pulex* (L) development of a behavioural bioassay for evaluating pollutant and parasite induced stress. *Chemosphere* 20: 403-415.
- Raj SJ, Joseph B, 2015. Impact of Acetamiprid Toxicity on Lactate Dehydrogenase in Some Tissues of the Fish *Oreochromis mossambicus*. *International Journal of Zoological Research* 11: 112-115.
- Roessink I, Merga LB, Zweers HJ, Van den Brink PJ, 2013. The neonicotinoid imidacloprid shows high chronic toxicity to mayfly nymphs. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32: 1096-1100.
- Sánchez BF, Goka K, Hayasaka D, 2016. Contamination of the aquatic environment with neonicotinoids and its implication for ecosystems. *Frontiers in Environmental Science* 4: 1-14.
- Siddiqui MS, Wanule DD, 2010. Acetamiprid induced changes in total leucocytes and erythrocytes count in a freshwater fish, *Channa Punctatus* (bloch) *The Bioscan* 5: 163 - 164.
- Song MY, Stark JD, Brown JJ, 1997. Comparative toxicity of four insecticides, including imidacloprid and tebufenozide, to four aquatic arthropods. *Environmental Toxicology and Chemistry* 16: 2494-2500.
- Tomizawa M, Casida JE, 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual Review Entomology* 48: 339-364.
- Uğurlu P, Ünlü E, Satar Eİ, 2015. The toxicological effects of thiamethoxam on *Gammarus kischineffensis* (Schellenberg 1937) (Crustacea: Amphipoda). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 39: 720-726.
- US EPA 2017. <https://www3.epa.gov/pesticides/endanger/litstatus/effects/redleg-frog/naled/appendix-i.pdf>. Erişim tarihi: 30.11.2017.
- EU Commission 2018. https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/approval_active_substances/-approval_renewal/neonicotinoids_en Erişim tarihi: 22.02.2018.
- Van den Brink PJ, Van Smeden JM, Bekele RS, Dierick W, De Gelder DM, Noteboom M, Roessink I, 2016. Acute and chronic toxicity of neonicotinoids to nymphs of a mayfly species and some notes on seasonal differences. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35: 128-133.
- Van Leeuwen CJ, Vermeire TG, 2007. Risk assessment of chemicals: an introduction, Springer Science & Business Media, Netherlands
- Watts MM, Pascoe D, Carroll K, 2001. Survival and precopulatory behaviour of *Gammarus pulex* (L.) exposed to two xenoestrogens. *Water Research* 35: 2347-2352.
- Whitehorn PR, O'connor S, Wackers FL, Goulson D, 2012. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 1215025
- Yamamoto I, Casida JE, 1999. Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor A Novel Insecticide, Acetamiprid. Springer, Tokyo