

## Thiacloprid ve D-Tubokurarin'in Kurbağa İskelet Kası Üzerine Ultrastrüktürel Etkileri\*

Yusuf ÇAMLICA<sup>1\*\*</sup>, Esra PEKOĞLU<sup>1</sup>, Şakir Necat YILMAZ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mersin Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mersin

<sup>2</sup>Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Mersin

Geliş : 29.03.2016

Kabul : 25.05.2016

**Araştırma Makalesi / Research Article**

\*\*Sorumlu Yazar: ycamlica@mersin.edu.tr

Basılı ISSN: 1300 – 4891 E.Dergi ISSN: 1308 - 7517

### Özet

Bu çalışmada, neonicotinoid bir insektisit olan thiacloprid ve bir neonicotinoid insektisit antagonisti olan d-tubokurarin'in *Pelophylax ridibundus* iskelet kası üzerine meydana getirdiği ultrastrüktürel değişiklikler incelendi.

Kurbağalar spinal hale getirildikten sonra gastrocnemius kası izole edilmiştir. Kas doku 120 dakika boyunca  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  ve  $1 \times 10^{-6}$  M olmak üzere dört farklı konsantrasyonda thiacloprid çözeltisi ile muamele edildi. Ayrıca, kas dokuları üzerine  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin ile  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid karışımı ve  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin ile  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid karışımı 120 dakika süresince uygulandı. Kontrol grubundaki kas dokuları 120 dakika boyunca Ringer çözeltisinde bekletildi. Tüm deney gruplarında agonist ve antagonistin etkileri eşit sayıda denek üzerinde çalışıldı (n=3).

Elektron mikroskobu ile yapılan histolojik incelemeler sonucunda, kontrol grubunda herhangi bir dejenerasyon bulgusuna rastlanmadı. Thiacloprid'in  $10^{-3}$  ve  $10^{-4}$  M olarak uygulanan yüksek dozlarında, kas dokusunun sarkomer bütünlüğünün bozulduğu, miyofibrillerin ayrıldığı ve mitokondriyonların şiştiği tespit edildi. Diğer doz gruplarında ise daha hafif düzeyde dejenerasyon bulguları gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** İskelet kası, kurbağa, thiacloprid, d-tubokurarin, histoloji

### Ultrastructural Effects of Thiacloprid and D-Tubocurarine on Frog Skeletal Muscle

#### Abstract

In this study, the ultrastructural alterations of neonicotinoid insecticide thiacloprid and its antagonist d-tubocurarine on skeletal muscle of *Pelophylax ridibundus* were investigated.

Gastrocnemius muscle was isolated after frogs were decapitated. Muscle tissue was exposed to thiacloprid solution at four different concentrations ( $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  and  $1 \times 10^{-6}$  M) for 120 minutes. In addition,  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubocurarine  $1 \times 10^{-5}$  and  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid mixture as well as mixture of d-tubocurarine and  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid were applied for 120 minutes on muscle tissue. Muscle tissue in the control group was maintained in Ringer's solution for 120 minutes. The agonist and antagonist effects were studied in all experimental groups with equal number of subjects (n = 3).

The results of histological examinations performed by electron microscopy did not reveal any signs of degeneration on the control group. It was determined that the high level exposure as  $10^{-3}$  and  $10^{-4}$  M of thiacloprid was resulted in the breakdown of sarcomere integrity of muscle tissue, separation of the myofibrils and swelling of mitochondrion. Milder signs of degeneration were observed in the other dose groups.

**Key Words:** Skeletal muscle, frog, thiacloprid, d-tubocurarine, histology.

**\*Bu çalışma, Yüksek lisans tezinden özetlenmiştir**

## GİRİŞ

Pestisitler, çeşitli alanlarda ürün zararlılarını öldüren ya da uzaklaştıran kimyasal maddelerdir (Toros vd., 1999; Vural, 2005). Tarımsal alanlara, orman veya bahçelere

uygulanan pestisitler havaya, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve dönüşüme uğramaktadır (Whitacre, 2004 ve Vural, 2005; Ware). Bir pestisitinin çevredeki hareketlerini etkileyen faktörler, onun fiziksel özellikleri, kimyasal yapısı, uygulama şekli, formülasyon tipi, iklim ve tarımsal koşullardır (Toros vd., 1999; Güner, 2014). Bitki örtüsü, arazinin eğimi, toprak tipi, formülasyon ve yağış miktarına bağlı olarak taşınan pestisitler, bu sulara balık ve diğer omurgasız su organizmalarının ölmesine, bu organizmalardaki pestisit kalıntılarının insanların gıda zincirine girmesine ve kontamine olmuş suların içilmesiyle kronik toksisitenin oluşmasına neden olurlar (Stenersen, 2004; Ware ve Whitacre, 2004). Toprağa geçen pestisitler güneş ışınlarının etkisiyle fotokimyasal bozulmaya uğrarken bitki, toprak mikroorganizmaları ve diğer organizmaların etkisiyle biyolojik indirgenmeye uğramakta, kil ve organik madde gibi toprak katı maddeleri tarafından tutulmakta veya kimyasal bozulmaya uğramaktadırlar (Lu, 1996; Güner, 2014). Toprakta pestisitinin tutulmasıyla biyolojik alınımı ve hareketi engellenmekte ve çeşitli şekillerde indirgenmesi ile ya toksik özelliğini kaybetmekte ya da daha toksik metabolitlerine dönüşebilmektedir (Pimentel vd., 1998; Ware ve Whitacre, 2004; Güner, 2014). Pestisitleri ürün zararlılarına karşı kullanırken, kendisinin ya da toksik dönüşüm ürünlerinin hedef olmayan yerleri yada canlıları etkilemesi istenmediğinden, bütün bu süreçlerin bilinmesi ve incelenmesi önem taşımaktadır (Pimentel vd., 1998; Güner, 2014).

Pestisitler kontrol amacıyla kullanıldıkları zararlı tipine göre fungusitler, algisitler, herbisitler, insektisitler, nematositler ve molluskusitler olarak sınıflandırılırlar (Pimentel vd., 1998; Stenersen, 2004). İnsektisitler, böceklerin kontrolünde kullanılan biyolojik ya da kimyasal orjinli ajanlar olup, böceklere karşı kullanılan en yaygın pestisit grubudur (Ware ve Whitacre, 2004). Bunların hemen hepsi nörotoksik özelliktedir. İnsektisitler; klorlu hidrokarbonlular, organofosforlu bileşikler, metilkarbamatlar, piretroidler ve neonikotinoid insektisitler olmak üzere beş ana gruba ayrılırlar (Lu, 1996; Vural, 2005). Neonikotinoid insektisitler, bitki ve hayvanlar üzerindeki zararlı böcekleri kontrol altında tutan, son yıllarda üretilmiş en önemli yeni sentetik insektisit sınıfıdır (Tomizawa ve Casida, 2003). Thiacloprid neonikotinoid bileşenler sınıfına ait yeni bir pestisittir. İşığa dayanıklılığının iyi olması (Mullins, 1993; Kagabu ve Medej, 1995; Kagabu, 1997; Kagabu ve Akagi, 1997) ve omurgalılara göre böcekler gibi omurgasızlar üzerine yüksek seçici toksisiteye sahip olması, bu insektisitinin dünya çapında yaygın olarak kullanılmasını sağlamıştır (Zwart vd., 1992; 1994; Nauen, 1995). Neonikotinoid teriminden de anlaşılacağı gibi thiacloprid, nikotine yapısal benzerliği olan ve aynı etkiyi gösteren bir bileşiktir (Tomizawa ve Yamamoto, 1993).

Pestisitlerin, hedef olmayan organizmalar üzerindeki toksik etkisi ve ekosisteme olan etkileri dünya çapında ilgilenilen bir konudur (Pimentel vd., 1998). Kullanılan pestisitler gün geçtikçe yaygınlaşmaktadır ve pestisitlerin hedef olmayan canlılar üzerindeki potansiyel toksik risk değerlerinin araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle su ve tarım ekosistemlerindeki hedef olmayan organizmalar üzerine olan etkileri tamamen anlaşılmiş değildir. Amphibiler su ve tarım ekosistemleri içerisinde önemli organizmalardır ve birçok tarım pestisitinin etkisine maruz kalmaktadırlar (Feng vd., 2004). Amphibiler, larva yaşamlarını sucul ortamda geçirmeleri nedeniyle habitatlarındaki değişikliklere olan duyarlılıkları sayesinde su ve tarım ekosistemlerin biyoindikatörleri olarak göze çarparlar. Bu nedenle su ve tarım ekosistemleri üzerinde çeşitli kimyasalların etkilerini ölçmek için kullanılan tipik test hayvanlarıdır (Pollet ve Bendell-Young, 2000).

Pestisitlerin kanserojen, sinir sistemini etkileyici ve hatta mutasyon oluşturuvcu etkileri saptanmıştır. Pestisit kalıntılarının en önemli kaynağı gıdalardır. Bir tarım ülkesi olan Türkiye’de insektisitlerin kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. İnsektisitler başta olmak üzere, tarım ilaçları suda, toprakta, meyve ve sebzeler üzerinde uzun süre bozulmadan kalarak çevre kirliliğine neden olmakta ve besin zinciri yoluyla insana kadar ulaşabilen çeşitli zararlar oluşturmaktadır (MacMahon, 1994; Vural, 2005).

Bu çalışmanın amacı, tarım ve hayvancılıkta yaygın olarak kullanılan bir insektisit olan thiacloprid’in, kurbağa iskelet kası üzerine toksik etkilerinin elektron mikroskopik yöntemlerle belirlenmesidir. Bunun yanı sıra, thiacloprid ile bir neoinikotinoid antagonisti olan d-tubokurarin karışımının, kas dokusu üzerine etkisinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi de amaçlanmıştır. Bu çalışmanın, insektisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerine etkisinin belirlenerek, ürün zararlılarına karşı alternatif yöntemlerin geliştirilmesine katkı yapması beklenmektedir.

## MATERYAL ve YÖNTEM

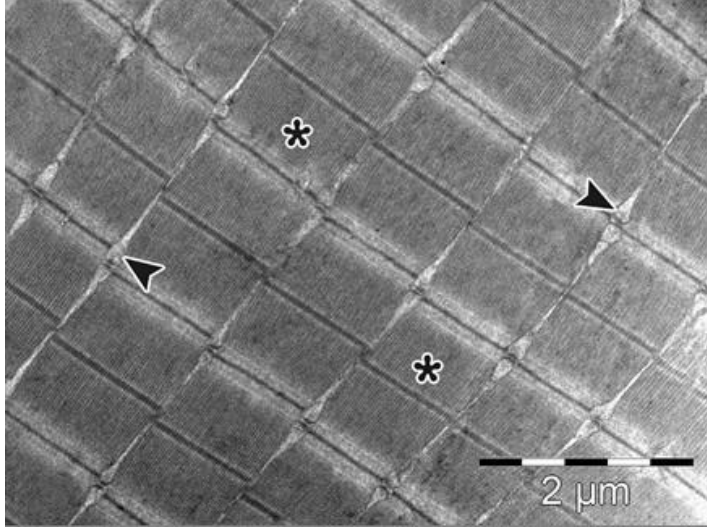
Deneylerde Mersin Müftü Deresi’nden yakalanan ve ağırlıkları 50-60 g arasında değişen 21 adet kurbağa (*Pelophylax ridibundus*) kullanıldı. Kurbağalar, dere suyu bulunan akvaryuma yerleştirildi ve adaptasyon sağlamaları amacıyla deneyler başlamadan önceki bir hafta boyunca laboratuvarında bekletildi. Akvaryum suyu, gün aşırı değiştirildi ve sıcaklığı 25-27°C’de tutuldu. Adaptasyon sürecinden sonra kurbağalar, kulak arkasından kesilerek spinal hale getirildi ve olası refleksleri önlemek amacıyla ince bir tel yardımıyla medulla spinalis tahrip edildi. Kurbağaların, sağ arka bacağındaki gastrokinemius kası izole edilerek, fizyolojik ortamın sağlanması için kullanılan Ringer çözeltisine alındı. Bu çalışmada kullanılan deney hayvanları için, Mersin Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 27.03.2014 tarih ve 2014/9 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır. Kurbağalara yapılan tüm işlemlerde, National Institutes of Health (NIH) tarafından hazırlanan laboratuvar hayvanlarının bakım ve kullanım rehberinde belirtilen kriterler uygulanmıştır.

Gastrokinemius kası 120 dakika boyunca  $1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-4}$ ,  $1 \times 10^{-5}$  ve  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid çözeltisinde,  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin karışımı ve  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin karışımında bekletildi. Kas dokusuna uygulanan kimyasal solüsyonlar, soğukkanlı canlıların dokularının devamlılığını sürdürmesi için gerekli olan Ringer çözeltisi içerisinde hazırlandı. Kontrol grubundaki kas dokuları ise, 120 dakika süresince Ringer çözeltisinde bekletildi. Tüm deney gruplarında agonist ve antagonistin etkileri eşit sayıda denek üzerinde çalışıldı (n=3).

Elektron mikroskopik inceleme için alınan iskelet kası dokuları,  $1 \text{ mm}^3$ ’lük parçalara bölündü ve 6 saat %2,5’luk glutaraldehit solüsyonunda bekletildi. Kas doku, fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra, Leica EM TP (Leica Microsystems GmbH, Viyana, Avusturya) cihazı kullanılarak elektron mikroskopik incelemeler için standart doku takip işlemi uygulandı (Hayat, 2000). Epoksi resin içine gömülen dokulardan, Leica Ultracut UCT 125 ultramikrotom (Leica Microsystems GmbH, Viyana, Avusturya) ile önce 1 µm kalınlığında yarı ince kesitler alındı ve kesitler incelenerek uygun alanlar saptandı, daha sonra 70 nm kalınlığındaki kesitler 300 gözenekli bakır gridler üzerine alındı. Dokular, uranil asetat ve kurşun sitratla kontrastlama yapıldıktan sonra (Hayat, 2000), JEOL JEM-1011 transmisyon elektron mikroskopuna (JEOL Ltd. Tokyo-Japonya) entegre megaview III dijital kamera (Olympus GmbH, Almanya) ile fotoğraflanarak değerlendirildi.

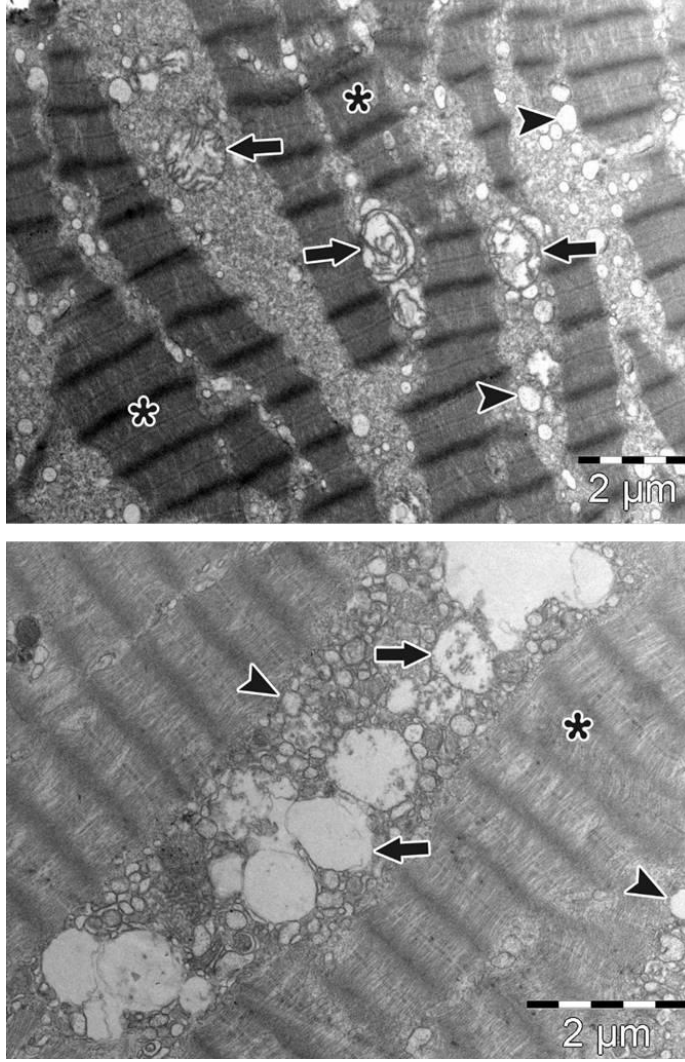
## BULGULAR

Kontrol grubunda *P. ridibundus* gastrokinemius kası hücrelerinin sarkomer yapıları, miyofibril ve miyofilaman organizasyonları normal görünümündedir. Hücrelerdeki mitokondriyon, sarkoplazmik retikulum ve T tübüllerinde herhangi bir dejenerasyon bulgusuna rastlanmadı (Şekil 1).



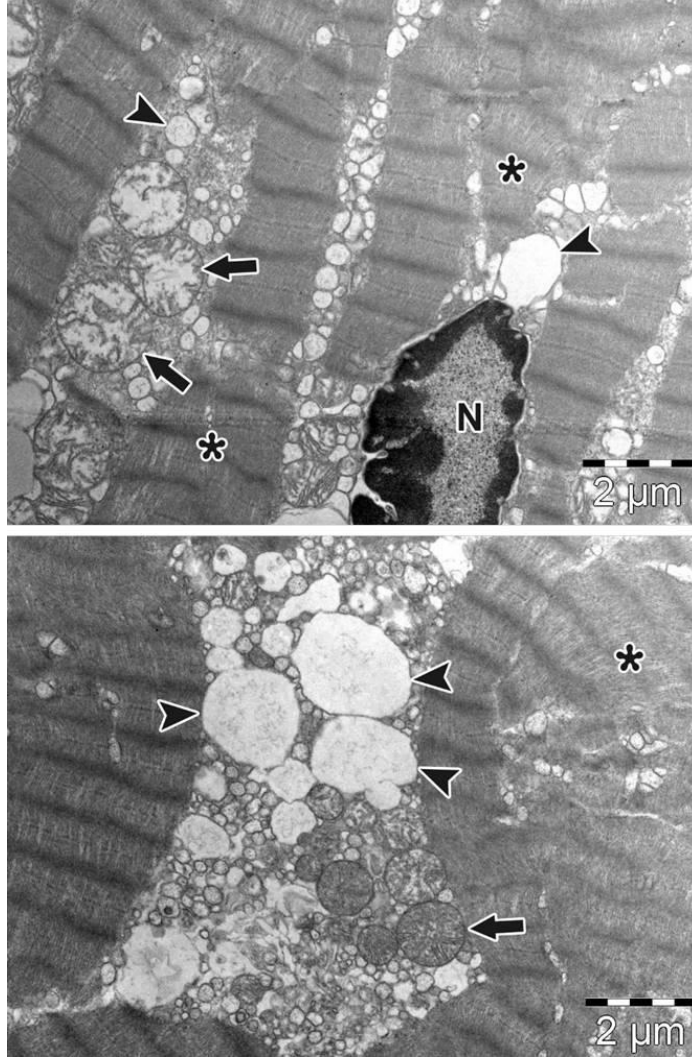
**Şekil 1.** Kontrol grubu. Bütünüyle normal görünümüne sahip SER sisternalarını (ok başı), miyofilamanları ve miyofibrilleri (yıldız) içeren kas hücreleri (X20.000).

$1 \times 10^{-3}$  M thiacloprid uygulanan gastrokinemius kasında ağır dejeneratif bulgular tespit edildi. Kas hücrelerinin sarkomer bütünlüğünün bozulduğu ve dağınık bir görünüme sahip olduğu gözlemlendi. Yüksek dozda uygulanan insektisit, miyofibrillerin ve onları oluşturan miyofilamanların ayrılmasına ve düzensiz olarak izlenmesine neden olmuştur. Hücrelerin mitokondriyonlarında şişme, krista ve matrikslerinde dağılma ve parçalanma mevcuttur. Ayrıca, hücrelerin içinde düz yüzlü endoplazmik retikulum (SER) genişlemelerine bağlı olduğu düşünülen çok sayıda vakuol yapısı da bulunmaktadır (Şekil 2).



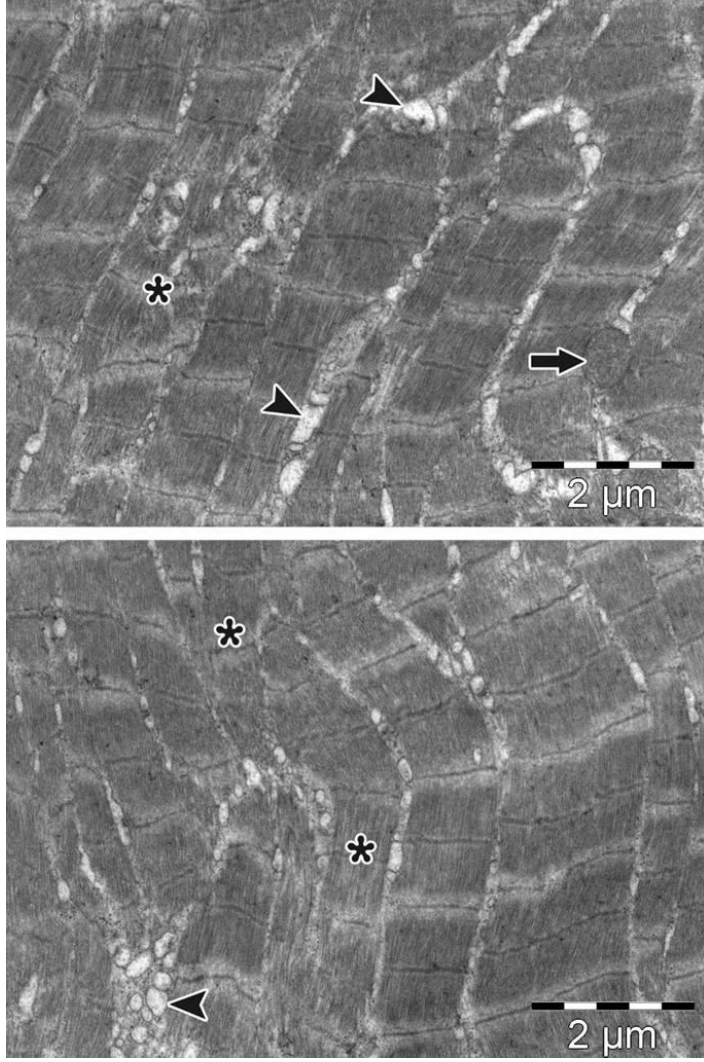
**Şekil 2.**  $1 \times 10^{-3}$  M thiacloprid. Dağınık ve parçalanmış halde miyofibriller (yıldız), şişmiş ve içyapısı bozulmuş mitokondriyonlar (ok), genişlemiş SER sisternaları (ok başı).

$1 \times 10^{-4}$  M thiacloprid uygulanan grupta da ağır dejeneratif bulgular gözlendi. Mitokondriyonlarda şişme, krista ve matris yapılarında bozulma ve kayıp görüldü. Miyofilamanlar dalgalı ve dağınık görünümde olup, miyofibrillerin düzenlenişi ise dejeneratif olarak değerlendirilmiştir. Granüler materyal içeren bir sitoplazma içinde SER genişlemelerine bağlı çok sayıda vakuol izlendi. Sarkomer yapıları kısmen korunmakla birlikte yer yer dağılmıştır. Kas dokunun miyofibril ve miyofilamanlarında ayrılmalar bulunmaktadır. Nükleer membrana çökmüş heterokromatin ile karakterize apoptotik çekirdeklere de rastlandı (Şekil 3).



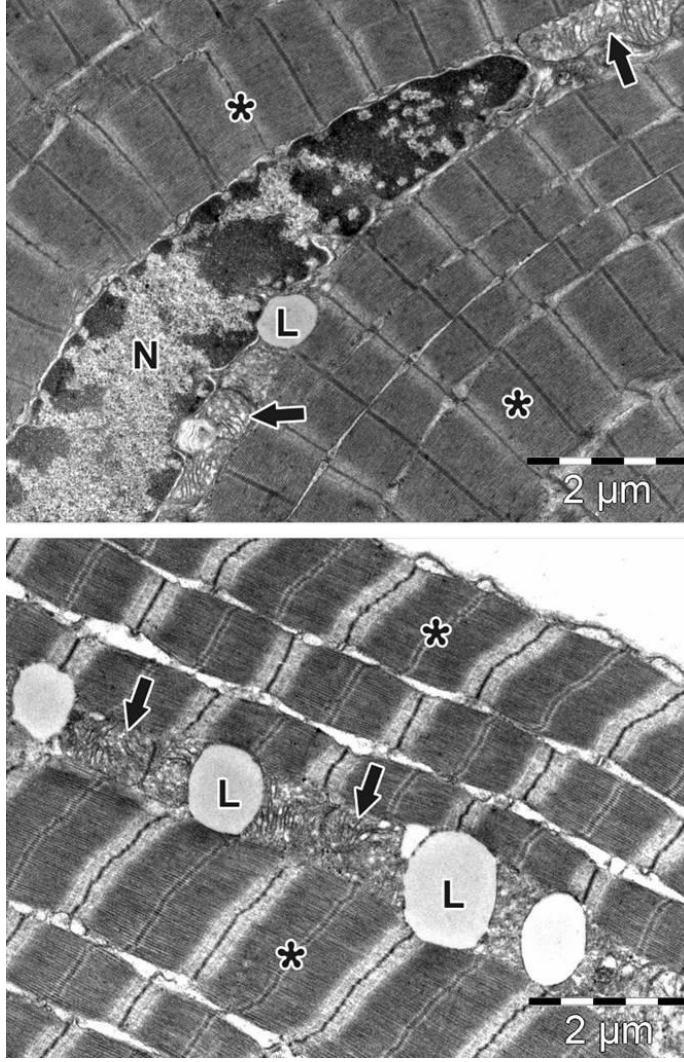
**Şekil 3.**  $1 \times 10^{-4}$  M thiacloprid. Dağınık ve parçalanmış halde miyofibriller (yıldız), şişmiş ve iç yapısı bozulmuş mitokondriyonlar (ok), genişlemiş SER sisternaları (ok başı), apoptotik görünümlü nükleus (N).

$1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid uygulanan kas hücrelerinde ise, sarkomer yapıları korunmuş görünmekle birlikte miyofilamanlar ve oluşturdukları miyofibrillerde dalgalı ve düzensiz görünümde alanlar mevcuttur. Çizgili kas dokunun bazı SER sisternalarında hafif genişleme bulguları gözlemlendi. Dokunun mitokondriyonlarında ise, belirgin bir dejenerasyon bulgusu tespit edilmedi (Şekil 4).



**Şekil 4.**  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid. Düzensiz görünümlü miyofibriller (yıldız), genişlemiş SER sisternaları (ok başı) ve normal görünümlü mitokondriyon (ok).

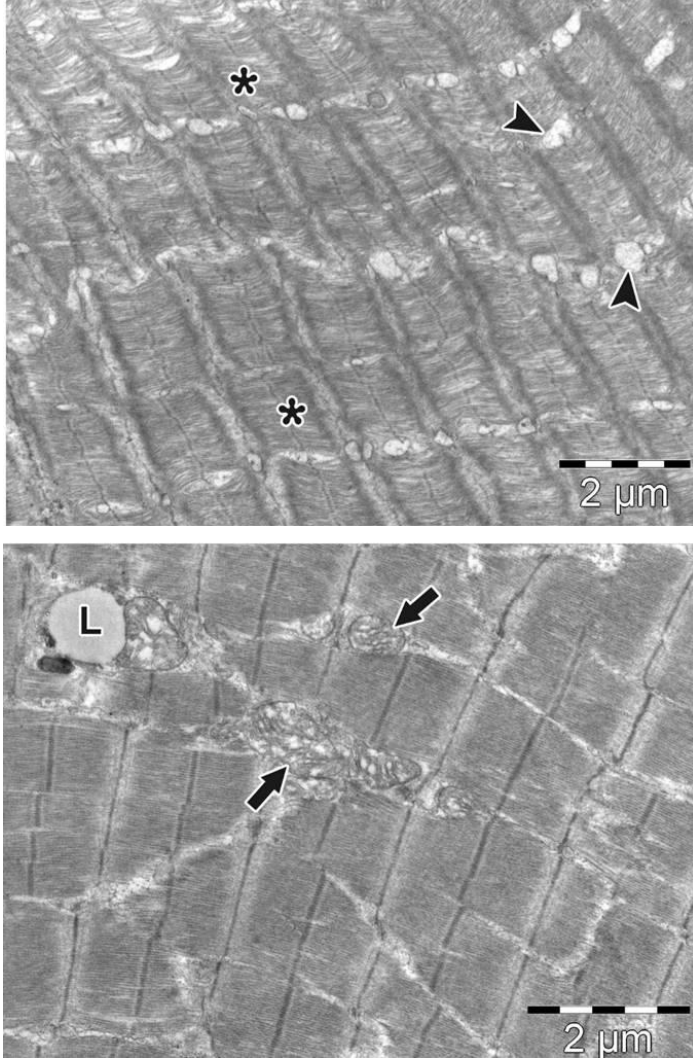
$1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid uygulanan gastrokinemius kasında dejenerasyon bulgusu saptanmamıştır. Kas dokunun sarkomer yapıları, miyofilamanlar ve miyofibriller iyi korunmuş olarak değerlendirildi. Mitokondriyonların görünümü normaldir. Bulgu olarak kabul edilebilecek ve thiacloprid'in çizgili kas dokusu üzerinde meydana getirdiği tek değişiklik, mitokondriyonların arasında az sayıda gözlenen lipid damlacıklarıdır (Şekil 5).



Şekil 5.  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid. Normal görünümlü miyofibriller (yıldız), mitokondriyonlar (ok), nükleus (N) ve lipid damlacıkları (L).

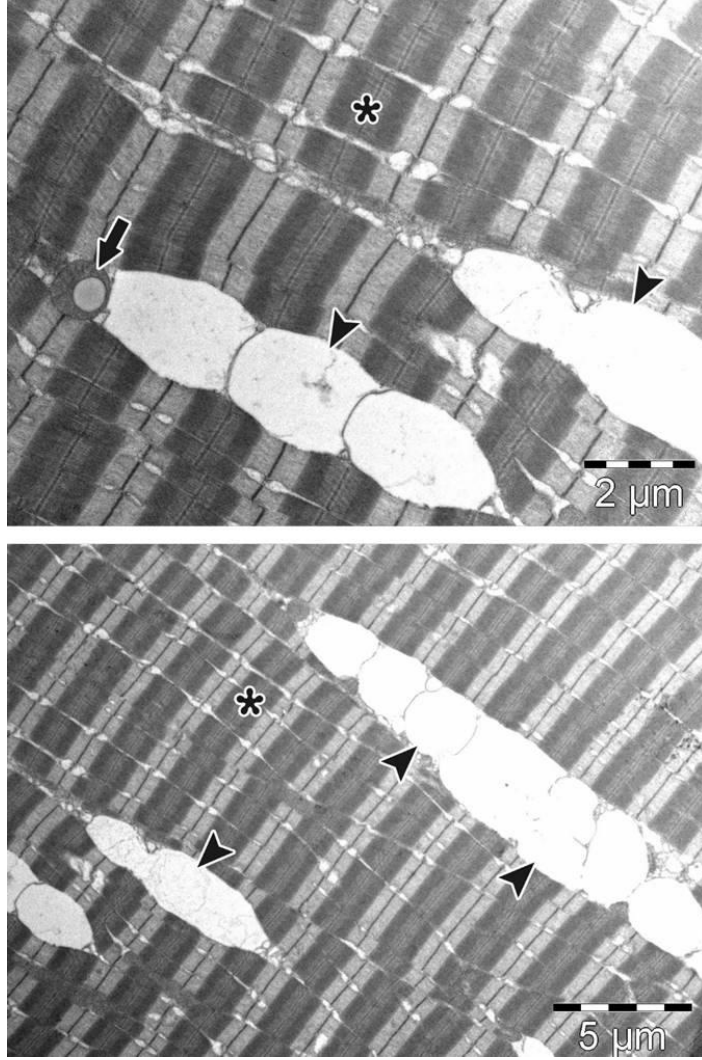
$1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin karışımı uygulanan kas hücrelerinde hafif dejenerasyon bulguları gözlemlendi. Kas dokuda, bazı mitokondriyonların yanında yerleşmiş az sayıda lipid damlacıkları görülürken, bazı alanlarda miyofilamanların birbirinden hafifçe ayrıldığı ve dalgalı bir görünüm kazandığı da belirlendi (Şekil 6).





**Şekil 6.**  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid +  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin. Ayrılmış ve dalgalı görünümde miyofilamanlara sahip miyofibriller (yıldız), SER sisternaları (ok başı), mitokondriyon (ok) ve lipid damlacığı (L).

$1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin karışımı uygulanan grupta da hafif sayılabilecek düzeyde dejenerasyon bulguları tespit edildi. Kas dokunun bazı alanlarında, SER genişlemelerine bağlı geniş vakuoller gözlenirken sarkomer yapılarının, miyofibriller ve miyofilamanların normal düzende olduğu saptandı (Şekil 7).



**Şekil 7.**  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid +  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin. Genişlemiş SER sisternaları (ok başı), normal görünümlü miyofibriller (yıldız) ve mitokondriyon (ok).

## TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamızda thiacloprid ve thiacloprid ile d-tubokurarin kombinasyonuna maruz bırakılan kurbağa gastrokinemius kaslarında meydana gelebilecek olası dejenerasyon, histopatolojik olarak ince yapı düzeyinde değerlendirilmiştir. Elektron mikroskobik incelemeler sonucunda,  $1 \times 10^{-3}$  M ve  $1 \times 10^{-4}$  M gibi yüksek dozlardaki thiacloprid'in gastrokinemius kasında ağır dejenerasyon meydana getirdiği gözlenmiştir (Şekil 2 ve 3). Bu dozlardaki insektisit, kas hücrelerinin sarkomer bütünlüğünün bozulmasına, miyofibrillerin ayrılmasına ve düzensiz bir görünüme sahip olmasına neden olmuştur (Şekil 2 ve 3). Daha düşük doz olan  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid, kas dokusunda hafif dejenerasyon meydana getirmiştir.  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid kas miyofilamanları ve oluşturdukları miyofibrillerde dalgalı ve düzensiz görünüme, dokunun bazı SER

sisternalarında hafif genişlemeye neden olmuştur (Şekil 4). Uygulanan en düşük doz olan  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid'in kas dokusunda dejenerasyon meydana getirmediği görülmüştür (Şekil 5).  $1 \times 10^{-5}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-4}$  M d-tubokurarin karışımı (Şekil 6) ve  $1 \times 10^{-6}$  M thiacloprid ile  $1 \times 10^{-5}$  M d-tubokurarin karışımı ise, kas dokusu üzerinde hafif düzeyde dejenerasyon meydana getirmiştir (Şekil 7).

Thiacloprid'in 28 gün boyunca *Gallus domesticus*'a oral yolla 10 mg/kg/gün verildikten sonra karaciğer, böbrek, kalp, akciğer, bağırsak, beyin ve ovaryum üzerine etkilerinin histopatolojik olarak incelendiği çalışmaya göre, karaciğerde hepatosit dejenerasyonu ve kanın durgunlaşması (konjesyon), böbrek tübüllerinde dejenerasyon ve epitel hücre dökülmeleri (deskuamasyon), akciğerlerde konjesyon ve hemoraji, beyinde dejenerasyon nöronların etrafında glia hücreleri (satellatosis), kalpte miyokardial hemoraji meydana geldiği, ovaryumda ise herhangi bir etki görülmediği gözlemlenmiştir (Goyal vd., 2010). Nikotin ve nikotin antagonisti olan mecamlamin'in *Rana ridibunda* gastrokinemius kası kasılma kuvveti üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmaya göre,  $1 \times 10^{-4}$  M nikotin ve yine aynı dozdaki mecamlamin, uygulamanın 120. dakikasında kasılma kuvvetini kontrol grubuna göre sırasıyla %48 ve %81 oranında azalttığı ve nikotinin iskelet kası kasılma kuvveti üzerine inhibisyon meydana getirdiği gözlenmiştir (Kumargal vd., 2008). İmidacloprid, acetamiprid, nitenpyram, clothianidin ve thiacloprid olmak üzere 5 neonikotinoid insektisit 3,05, 2,69, 4,34, 0,93, 2,68 mg/kg dozlarında *Eisenia fetida* üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaya göre sırasıyla, %84,0, %39,5, %54,3, %45,7, %39,5 oranlarında üremenin azaldığı, selulaz aktivitesinin inhibe olduğu, 14 günlük uygulamadan sonra ise, epidermal ve orta bağırsak dokunun parçalandığı gözlenmiştir (Wang vd., 2015).

Organofosforlu insektisitlerden monocrotophos'un günde 0,45, 0,9 ve 1,8 mg/kg olmak üzere, Wistar sıçanlara oral yolla verilen çalışmada, bağırsak mikrovilluslarındaki kolesterol ve fosfolipid oranının azaldığı, intestinal disakkaridaz, alkalın fosfataz, glisilglisin dipeptidaz ve Na/K-ATPaz aktivitesinin ise arttığı gözlenmiştir. Taramalı elektron mikroskopunun kullanıldığı çalışmaya göre, ince bağırsak mikrovilluslarının uzadığı, goblet hücrelerinde hiperplazi görüldüğü, inflamatuvar hücrelerde infiltrasyon ve nekrotik tip hücre varlığı gibi histopatolojik sonuçlar elde edilmiştir (Rajini, 2014). Bitkisel kökenli bir insektisit olan azadirachtin'in 5, 10 ve 15 µg/g dozlarında, erişkin *Schistocerca gregaria* ve *Locusta migratoria*'ya enjeksiyonundan sonra, orta bağırsak hücreleri üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada, orta bağırsak hücrelerinde dejenerasyon, dağılma, organellerde büyüme, epidermal tabaka altındaki bağ dokusunda büyüme, çok sayıda istilacı hücre, halkasal ve uzunlamasına kaslarda şişme ve yuvarlaklaşma gözlenmiştir (Nasiruddin ve Mordue, 1993). *Danio rerio*'nun çeşitli sıcaklıklarda 1, 5, 10, 15, 20 mg/L thiacloprid ve 100, 500, 1000, 2000, 3000 µg/L diazinon'a maruz bırakıldıktan sonra, bu balıkta yumurta kesesi anomalisi, kalpte ödem, göz defektleri, zayıf pigmentasyon, denge bozukluğu, omurga ve kuyruk deformasyonları gözlenmiştir (Osterauer ve Köhler, 2008). İmidacloprid'in, 10 ve 20 mg/kg dozlarında dişi albino sıçanlara, oral yolla 60 gün boyunca uygulandıktan sonra, bu insektisite bağlı olarak kalp ve dalakta küçülme, plazma ve beyinde asetilkolinesteraz aktivitesinde azalma, karaciğerde hepatosit dejenerasyonu, karaciğer sentral veninde genişleme ve konjesyon gibi patolojik değişiklikler gözlenmiştir (Vohra vd., 2014).

Bu sonuçlara göre, neonikotinoid bir insektisit olan thiacloprid'in yüksek dozlarının *P. ridibundus* gastrokinemius kasında yüksek düzeyde dejenerasyon meydana getirdiği,

insektisitinin düşük dozlarının ise, kas dokuda hafif dejenerasyon meydana getirdiği ya da dejenerasyon meydana getirmediği anlaşıldı. Elektron mikroskobu incelemesinde, thiacloprid ile bir neonikotinoid antagonisti olan d-tubokurarin'in karışım olarak uygulandığı kas dokuda ise hafif dejenerasyon bulguları gözlemlendi. Kas hücrelerinin yapısında meydana gelen bu dejenerasyon, iskelet kası kasılma kuvveti ve mekanik aktivite kapasitesini de etkileyebileceği kanısına varıldı.

Bu sonuçlar, tarım ve hayvancılıkta ürün zararlılarına karşı ülkemizde yaygın olarak kullanılan insektisitlerin, hedef olmayan organizmalar üzerine de etkili olabileceğine işaret etmektedir. Çevre ve insan sağlığı bakımından insektisitlerin bilinçli, amaca yönelik ve ölçülü kullanılmasının büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Feng, S., Kong, Z., Wang, X., Zhao, L., Peng, P. 2004. Acute Toxicity and Genotoxicity of Two Novel Pesticides on Amphibian Rana N. Hallowell, Chemosphere, 56,457-463.
- Goyal, S., Sandhu, H. S., Brar, R. S. 2010. Histopathological Alterations Induced after Oral Sub-Acute Thiacloprid Toxicity in *Gallus domesticus*. Veterinarski Arhiv., 80(5),673-682.
- Güner, U. 2014. Toksikoloji. Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi, 2. Versiyon, Edirne, s:186-189.
- Hayat, M.A. 2000. Principles and Techniques of Electron Microscopy Biological Applications. Cambridge University Press, 4th Edition, Cambridge, United Kingdom, pp.543.
- Kagabu, S. 1997. Chloronicotinyl Insecticides-Discovery, Application and Future Perspective. Rev. Toxicol., 1, 75-129.
- Kagabu, S., Akagi, T. 1997. Quantum Chemical Consideration of Photostability of Imidacloprid and Related Compounds. J. Pestic. Sci., 22(2), 84-89.
- Kagabu, S., Medej, S. 1995. Stability Comparison of Imidacloprid and Related Compounds Under Stimulated Sunlight, Hydrolysis Conditions and to Oxygen. Biosci. Biotechnol. Biochem., 59(6), 980-985.
- Kumargal, D., Çömelekoğlu, Ü., Aşkın, A. 2008. Nikotin ve Antagonisti Mecamylaminin Kurbağa (*Rana ridibunda*) İskelet Kası Üzerine Etkileri. Mersin Univ. Sağlık Bilim. Derg., 1(3),14-20.
- Lu, F.C. 1996. Basic Toxicology. Taylor and Francis Press, Washington, pp.358.
- MacMahon, B. 1994. Pesticide Residues and Breast Cancer. J. Natl. Cancer Inst., 86, 572-573.
- Mullins, J. W. 1993. Imidacloprid: A New Nitroguanidine Insecticide. Am. Chem. Soc. Symp. Ser., 524, 183-198.
- Nasiruddin, M., Mordue, A.J. 1993. The Effect of Azadirachtin on the Midgut Histology of the Locusts, *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. Tissue and Cell., 25(6), 875-884.
- Nauen, R. 1995. Behaviour Modifying Effects of Low Systemic Concentrations of Imidacloprid on Myzus Persicae with Special Reference to an Antifeeding Response. Pestic. Sci., 44(2), 145-153.
- Osterauer, R., Köhler, H.R. 2008. Temperature-Dependent Effects of the Pesticides Thiacloprid and Diazinon on the Embryonic Development of Zebrafish (*Danio rerio*). Aquat. Toxicol., 86, 485-494.
- Pimentel, D., Greiner, A., Bashore, T. 1998. Economic and Environmental Costs of Pesticide Use, J. Rose (ed), Environmental Toxicology: Current Developments, Gordon and Breach Science Publisher, UK, p.121-187.
- Pollet, I., Bendell-Young, L., I. 2000. Amphibians as Indicators of Wetland Quality. Environ. Toxicol. Chem., 19, 2589-2597.
- Rajini, V. P. S. 2014. Oral Exposure to the Organophosphorus Insecticide, Monocrotophos Induces Intestinal Dysfunction in Rats. Food Chem. Toxicol., 71, 236-243.

- Stenersen, J. 2004. Chemical Pesticides: Mode of Action and Toxicology. CRC Press, Florida, p. 276.
- Tomizawa, M., Casida, J. E. 2003. Selective Toxicity of Neonicotinoids Attributable to Specificity of Insect and Mammalian Nicotinic Receptors. *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 339-64.
- Tomizawa, W., Yamamoto, I. 1993. Structure-Activity Relationships of Nicotinoids and Imidacloprid Analogs. *J. Pestic. Sci.*, 18(1), 91-98.
- Toros, S., Maden, S., Sözeri, S. 1999. Tarımsal Savaş Yöntem ve İlaçları. Ankara, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, s: 27-42.
- Vohra, P., Khera, K.S., Sangha G.K. 2014. Physiological, Biochemical and Histological Alterations Induced by Administration of Imidacloprid in Female Albino Rats, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 110, 50-56.
- Vural, N. 2005. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 73, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s: 334-377.
- Wang, K., Pang, S., Mu, X., Qi, S., Li, D., Cui, F., Wang, C. 2015. Biological Response of Earthworm, *Eisenia fetida*, to Five Neonicotinoid Insecticides. *Chemosphere*, 132:120-126.
- Ware, G. W., Whitacre, D. M. 2004. An Introduction to Insecticides. *The Pesticide Book*, 6th Ed. pp: 1341.
- Zwart, R., Oortgiesen, M., Vijverberg, H. P. 1992. The Nitromethylene Heterocycle 1-(pyridin-3-yl-methyl)-2-Nitromethylene-Imidazolidine Distinguishes Mammalian from Insect Nicotinic Reseptor Subtypes. *Eur. J. Phar.*, 228(2-3), 165-169.
- Zwart, R., Oortgiesen, M., Vijverberg, H. P. 1994. Nitromethylene Heterocycles: Selective Agonists of Nicotinic Receptors in Locust Neurons Compared to Mouse N1E-115 and BC3H1 cells, *Pestic. Biochem. Physiol.*, 48, 202-213.