



**DİFLUBENZURON’UN TATLI SU MİDYELERİNDEKİ
TOKSİK ETKİLERİ**

Ayşenur OKATAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2023

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Ayşenur OKATAN

21/07/2023

DİFLUBENZURON'UN TATLI SU MİDYELERİ ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİ (Yüksek Lisans Tezi)

Ayşenur OKATAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2023

ÖZET

Diflubenzuron, pek çok ülkede insektisit olarak kullanılmasından dolayı tüm canlıların sağlığını olumsuz etkileyen ekolojik bir öneme sahiptir. Bu çalışmada da ekotoksikolojik çalışmalarda model organizma olarak kullanılan tatlı su midyelerinde (*Unio delicatus*) diflubenzuronun olası toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Probit analiz yöntemi kullanılarak 96 saat sürelik ortalama öldürücü konsantrasyonu (LC50) (%95 güven aralığı) hesaplanmış ve 96 saatlik LC50 değeri 123,84 mg/L (87,97-166,15 mg/L) olarak saptanmıştır. 96 saatlik LC50 değerinin 1/10 ve 1/100'lük konsantrasyonları, subletal konsantrasyonlar olarak kullanılmış ve tatlı su midyeleri 48 saat ile 7 gün süreyle 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L diflubenzurona maruz bırakılmıştır. Deney sonucunda tatlı su midyelerinin toplam hemosit sayısı, toplam antioksidan durumu (TAS), toplam oksidan durumu (TOS), dokularındaki süperoksit dismutaz (SOD), katalaz aktivitesi tayini (CAT) ve glutatyon peroksidaz tayini (GPx) düzeylerine etkisi belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre toplam hemosit miktar değerleri (THS/ml) DFB'ye maruz kalma sonucunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli oranda bir artış göstermiştir ($p<0,05$). Toplam oksidan durumu (TOS) değerleri DFB'ye maruz kalma sonucunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak bir artış göstermiştir ($p<0,05$). 48 saat son bulduğunda kontrol grubuna kıyasla sindirim bezi ve solungaç dokularındaki SOD düzeyleri istatistiksel olarak artış göstermişken ($p<0,05$), 7 gün süre son bulduğunda kontrol grubuna kıyasla sindirim bezi ve solungaç dokularındaki SOD düzeyleri istatistiksel olarak azalış göstermiştir ($p<0,05$). Sindirim bezi ve solungaç dokularındaki CAT seviyesinin 48 saat ve 7 gün süre sonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı saptanmıştır ($p<0,05$). Sindirim bezi dokularındaki GPx seviyesinin 48 saat ve 7 gün süre sonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı saptanmıştır ($p<0,05$). Solungaç bezi dokularındaki GPx seviyesinin 48 saat süre sonunda azaldığı saptanmışken ($p<0,05$), 7 gün süre sonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak arttığı saptanmıştır ($p<0,05$). Sonuç olarak, Diflubenzuron'un subletal konsantrasyonlarda bile tatlı su midyelerinin immunolojik ve biyokimyasal parametrelerini etkilediği saptanmıştır.

Bilim Kodu : 90319
Anahtar Kelimeler : Diflubenzuron, tatlı su midyesi, toksik, pestisit, biyokimyasal parametreler, *Unio delicatus*
Sayfa Adedi : 67
Danışmanı : Prof. Dr. Aysel Çağlan GÜNAL

TOXIC EFFECTS OF DIFLUBENZURON ON FRESHWATER MUSSELS

(Master's Thesis)

Ayşenur OKATAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July, 2023

ABSTRACT

Diflubenzurone (DFB), an insecticide commonly used in many different countries, is an ecologically important substance that potentially has negative effects on the organism. This study investigates the toxic effects of diflubenzuron in freshwater mussels (*Unio delicatus*). Using probit estimation, LC50 (for 96 hours) is 123.84 mg/L, on average (87.97-166.15 mg/L, 95% confidence interval) is found. 1/10 and 1/100 concentrations of LC50 (for 96 hours) are found to be sublethal. During the experiments, freshwater mussels were exposed to 1.24 mg/L and 12.4 mg/L concentrations of DFB for 48 hours and 7 days. Total hemocyte count (THCs/ml) and total oxidant stress in the treated group significantly increase compared to the levels in the control group as a result of exposure to DFB ($p<0.05$). After the first 48 hours, a significant increase was observed in the SOD levels in the digestive gland and gill tissues of treated mussels compared to the ones of control group ($p<0.05$), but after 7-days exposure, the SOD levels fall below the ones in the control group ($p<0.05$). Both CAT and GPx levels in digestive gland significantly rise in the first 48 hours and continue to increase until 7 days ($p<0.05$). In the gill gland, the increase in CAT level of treated mussels persists until 7 days ($p<0.05$), but GPx level first becomes significantly lower than in the control group after 48 hours ($p<0.05$), and after 7-days exposure, grows to a level that is significantly higher than the one in the control group ($p<0.05$). In conclusion, even at sublethal concentrations, DFB significantly deteriorates the immunologic and biochemical parameters of freshwater mussels.

Science Code : 90319
Keywords : Diflubenzuron, freshwater mussel, toxicity, pesticide, biochemical parameters, *Unio delicatus*
Number of Pages : 67
Advisor : Prof. Dr. Aysel Çağlan GÜNAL

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca her türlü desteği ile yanımda olan, değerli danışman hocam Prof. Dr. A. Çağlan GÜNAL'a ve lab araştırmalarımnda bilgi ve deneyimleriyle bana yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Pınar ARSLAN'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Çalışmalarım boyunca zorlandığım yerlerde motivasyonunu benden eksik etmeyen amirim Kübra BAL ÇETİNKAYA'ya ve bana bu fırsatı veren TÜBİTAK ailesine, çalışma arkadaşlarıma ve yüksek lisans arkadaşlarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve tüm güçleriyle beni her zaman destekleyen aileme şükranlarımı ve sevgilerimi sunarım.

Bu çalışma, Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2022-7938 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	x
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	3
2.1. İnsektisitler	3
2.2. Böcek Gelişim Düzenleyiciler (IGRs)	4
2.3. Diflubenzuron.....	5
2.3.1. Diflubenzuron'un toksik mekanizması	8
2.3.2. Diflubenzuron'un çevresel durumu	11
2.3.3. Diflubenzuron'un canlılar üzerindeki etkileri.....	12
2.3.4. Diflubenzuron'un sucul canlılar üzerindeki etkileri.....	14
2.4. <i>Unio delicatus</i> 'un Taksonomisi ve Biyolojik Özellikleri	18
2.5. Tatlı Su Midyeleri Üzerinde Yapılan Toksikoloji Çalışmaları	22
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	27
3.1. Materyal	27
3.1.1. Deneyde kullanılan midye türünün tayini.....	27
3.1.2. Araştırma yeri.....	27
3.1.3. Deney ortamı ve türün laboratuvar koşullarına adaptasyon süreci	28

	Sayfa
3.1.4. DFB çözeltisinin hazırlanma aşamaları	29
3.2. Yöntem.....	30
3.2.1. <i>U. delicatus</i> için alut LC ₅₀ değerlerinin tespiti.....	30
3.2.2. <i>U. delicatus</i> ile subletal deney.....	30
3.2.3. <i>U. delicatus</i> 'larda toplam hemosit sayısının belirlenmesi	30
3.3. Biyokimyasal Deneyler.....	31
3.3.1. Süperoksit dismutaz aktivitesi tayini (SOD).....	31
3.3.2. Katalaz aktivitesi tayini (CAT)	32
3.3.3. Glutasyon peroksidaz tayini (GPx)	32
3.3.4. Doku protein tayini.....	32
3.3.5. Toplam antioksidan durumu (TAS).....	33
3.3.6. Toplam oksidan durumu (TOS)	33
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	35
4.1. DFB' nin <i>U.delicatus</i> Üzerindeki Etkileri	35
4.1.1. DFB' nin 96 saatlik akut toksisite bulguları	35
4.1.2. <i>U.delicatus</i> ' un SOD biyobelirteç değerleri	37
4.1.3. <i>U.delicatus</i> ' un CAT biyobelirteç değerleri	39
4.1.4. <i>U.delicatus</i> ' un GPx biyobelirteç değerleri	42
4.2. DFB' nin <i>U.delicatus</i> Hemosit Sayısının Üzerindeki Etkileri.....	44
4.3. <i>U.delicatus</i> 'un Toplam Antioksidan Durumu (TAS)	46
4.4. <i>U.delicatus</i> 'un Toplam Oksidan Durumu (TOS)	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	49
KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ.....	67

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bazı insektisit çeşitleri ve etki alanları	4
Çizelge 2.2. Diflubenzuron'un fiziksel ve kimyasal özellikleri	6
Çizelge 2.3. Tatlı sularda yaşayan bazı omurgasızlarda diflubenzuronun akut toksikoloji bulguları	15
Çizelge 2.4. Tuzlu sularda yaşayan bazı omurgasızların toksikoloji bulguları	16
Çizelge 4.1. 96 saatlik LC ₅₀ değerleri ve % 95'lik güven aralığı	35
Çizelge 4.2. SOD verilerinin sindirim bezi dokusunun üzerindeki değerleri (U/ml/mg protein)	37
Çizelge 4.3. SOD verilerinin solungaç dokunun üzerindeki değerleri (nmol/min/ml)..	39
Çizelge 4.4. CAT verilerinin sindirim bezi dokusunun üzerindeki değerleri (nmol/min/ml).....	40
Çizelge 4.5. CAT verilerinin solungaç dokunun üzerindeki değerleri (nmol/min/ml)..	41
Çizelge 4.6. GPx verilerinin sindirim bezi dokusunun üzerindeki değerleri (nmol/min/ml).....	42
Çizelge 4.7. GPx verilerinin solungaç dokunun üzerindeki değerleri (nmol/min/ml)...	44
Çizelge 4.8. Toplam hemosit değerleri (hücreX10 ³)/ml	45
Çizelge 4.9. Toplam antioksidan durumu (TAS) değerleri (nmol/L)	46
Çizelge 4.10. Toplam oksidan durumu (TOS) değerleri (nmol/L)	47

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Diflubenzuron'un kimyasal yapısı	6
Şekil 2.2. Kitinin kimyasal yapısı	9
Şekil 2.3. Unionidae ailesindeki tatlı su midye türlerinin dünyadaki dağılımı	19
Şekil 2.4. Tatlı su midyesinde ligament ve menteşe dişleri.....	19
Şekil 2.5. Tatlı su midyesinde sedef iç kısmı ve yıl halkaları	20
Şekil 2.6. Tatlı su midyesi <i>Unio pictorum</i> 'un anatomik yapısı	20
Şekil 4.1. <i>U.delicatus</i> 'un 96 saatlik DFB için hesaplanmış olan probit değerleri ve regresyon grafiği.....	36
Şekil 4.2. Maruziyet sürelerine göre sindirim bezi dokusu SOD değerleri (U/ml/mg protein)	38
Şekil 4.3. Maruziyet sürelerine göre solungaç dokusu SOD değerleri (U/ml/mg protein)	39
Şekil 4.4. Maruziyet sürelerine göre sindirim bezi dokusu CAT değerleri (nmol/min/ml).....	40
Şekil 4.5. Maruziyet sürelerine göre solungaç dokusu CAT değerleri (nmol/min/ml)..	41
Şekil 4.6. Maruziyet sürelerine göre sindirim bezi dokusu GPx değerleri (nmol/min/ml).....	43
Şekil 4.7. Maruziyet sürelerine göre solungaç dokusu GPx değerleri (nmol/min/ml) ..	44
Şekil 4.8. Maruziyet sürelerine göre toplam hemosit sayısı (hücreX10 ³)/ml.....	45
Şekil 4.9. Maruziyet sürelerine göre toplam antioksidan durumu değerleri (nmol/L) ..	46
Şekil 4.10. Maruziyet sürelerine göre toplam oksidan durumu değerleri (nmol/L)	48

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Deneyde kullanılan <i>Unio delicatus</i> tatlı su midyesi.....	27
Resim 3.2. Akvaryuma yerleştirilen <i>Unio delicatus</i> tatlı su midyeleri.....	28
Resim 3.3. <i>U. delicatus</i> tatlı su midyelerinin üyelerinin akvaryumlarda 2 hafta adaptasyon süreçleri.....	29
Resim 3.4. <i>U. delicatus</i> tatlı su midyelerinin umbo kısmından hemolemf sıvısının alınması	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

AI	Akitf madde
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
µg	Mikrogram
mPa	Milipaska
ppb	Milyarda bir
ppm	Milyonda bir
°C	Santigrat
cm	Santimetre
%	Yüzde

Kısaltmalar

Açıklamalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AChE	Asetilkolinesteraz
CaE	Karboksil esteraz
CAS	Amerika Birleşik Devletleri Kimyasal Kuramlar Servisi
DFB	Diflubenzuron
EPA	Çevre Koruma Ajansı
IGR	Böcek Gelişim Düzenleyici
ILO	Uluslararası Çalışma Örgütü
IUPAC	Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği
IUCN	Dünya Doğayı Koruma Birliği
LC50	Deney hayvanlarının yarısını öldüren konsantrasyon
LC90	Deney hayvanlarının %90'ını öldüren konsantrasyon
LD50	Deney hayvanlarının yarısını öldüren doz

Kısaltmalar**Açıklamalar****NIH**

Ulusal Kanser Enstitüsü

ROS

Reaktif Oksijen Türleri

SOD

Süperoksit dismutaz

TEB

Tebukonazol

UNEP

Birleşmiş Milletler Çevre Programı

USDA

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı

USEPA

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

WHO

Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

Böcekleri öldüren, zarar veren ya da uzaklaşmalarını sağlayan kimyasallar olarak bilinen insektisitler doğal ya da yapay olarak üretilmektedir [1-3]. Bu tez içeriğinde insektisit terimi yapay olarak üretilen böcek öldürücüler anlamında kullanılacaktır. İnsektisitlerin temel amacı zararlı olduğu düşünülen bazı böceklerin zarar verici davranışlarını engellemektir [1].

İnsektisitler, tarımda, kentsel bölgelerde, kamusal binalarda, endüstride ve evlerde sıklıkla kullanılmaktadır [1]. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından 2001 yılında yapılan bir araştırmaya göre ekinlere uygulanan pestisitlerin önemli bir oranını insektisitler oluşturmaktadır [1].

İnsektisitler, uygulanacak alana ya da organizmaya göre farklı oranlarda ve yöntemlerde uygulanabilmektedir. Bu yöntemler arasında püskürtme, serpmeye ya da etrafa yem olarak koyma yer almaktadır [3-4]. İnsektisitlerin zararlı böceklerle karşı korunmada da yararlı olduğu düşünülse de çevre kirliliğine sebep olmaları, memelilerde dahil olmak üzere hedef olmayan canlılar üzerinde toksik etkiler göstermeleri ve her yıl insektisit direncinin artması dolayısıyla olumsuz etkileri de bulunmaktadır [5]. İnsektisitler ayrıca rüzgâr ve yağmur suları aracılığıyla yüzey akışı, yer altı akışı, buharlaşma, adsorpsiyon ya da atmosferik biriktirme yöntemleri ile uygulandıkları ortamdan farklı ortamlara taşınabilmektedir [6]. İnsektisitlerin bu yöntemler ile taşındıkları ortamların en önemlilerinden biri ise sucul ortamlardır [7-10].

Diflubenzuron, tüm dünyada ve Türkiye’de yaygın olarak kullanılan ve böcek gelişim düzenleyici (Insect Growth Regulator-IGR) kategorisinde bulunan bir çeşit insektisittir [8]. Ticari olarak dimilin adı altında satılmaktadır [8]. ABD’de pamuk böceği, çizgili pamuk yaprak kurdu, kadife fasulye tırtılı gibi ekinlere zarar veren böceklerin yanı sıra ormanlarda yetişen bazı tür ağaçlara zarar veren böceklerle karşı da kullanılmaktadır [5,8]. Diflubenzuron ayrıca ABD gibi bazı ülkelerde sivrisinekler aracılığıyla yayılan hastalıkların engellenmesini önlemek amaçlı da sivrisineklerin larvaları üzerinde kullanılmaktadır [5,9,11-12]. Türkiye’de ise özellikle pamuk, elma ve armut yetiştiriciliğinde, pamuk yaprak kurdu, elma içkurdu, elma ağkurdu, armut psillası ve armut yaprak galeri güvesi gibi haşerelere karşı kullanılmaktadır [13]. Diflubenzuron aynı zamanda kültür balıkçılığında da kullanılmaktadır

[14]. Diflubenzuron gibi böcek gelişim düzenleyicisi insektisitlerin kullanımının çevrede ve odak olmayan canlılar üzerinde en az etkiye sahip olduğu düşünülmektedir [2,11]. Bu sebeple bu maddeler doğrudan göl, nehir, bataklık ve gölet gibi alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır [15-16].

Diflubenzuron da hava püskürtmesi, uçak ve hidrolik sprey araçları gibi yöntemlerle ilgili bölgeye uygulanabilmektedir [1,17]. Canlılar bu kimyasalı deriden emme veya soluma yollarıyla ağız ve burun gibi vücuttaki hava boşluklarıyla vücutlarına alabilmektedir [18]. Kimyasalın uzman kuruluşlar tarafından önerilen oranlarda kullanılması gerekmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bu oranın 0,25 mg/L'yi aşmaması gerekmektedir [10,15]. Yapılan çalışmalarda ise diflubenzuronun canlılarda toksik etkiler gösterdiği anlaşılmıştır [8,13,16,19]. Diflubenzuron, özellikle de tatlı ve tuzlu sularda yaşayan omurgasız canlılar üzerinde birikip, yüksek oranda toksik etki göstermektedir [19-22].

Tatlı su midyeleri, ahtapotlar, salyangozlar, mürekkep balıkları ve sümüklü böcekler gibi yumuşakçalar şubesinde yer alan omurgasız canlılardır. Suyu süzerek su içerisindeki süspansiyon halindeki planktonlar ya da organik bileşiklerle beslenirler [23-24]. Tatlı su midyeleri yavaş hareket etmeleri, dipte yaşamaları, dipten beslenmeleri, ortamda sabit olarak durmaları, sularda bol miktar bulunmaları, metalleri yüksek yoğunluklarda biriktirip bunları uzun süre bünyelerinde tutmaları ve suyu filtre ederek beslenme özelliklerinden dolayı sularda kirliliği yansıtan biyolojik belirteçlerin başında gelirler [22,24-26]. Bu sebeple tatlı su midyeleri, nehirlerdeki ve göllerdeki su kirliliğinin belirteçleri olup tatlı su midyelerinin ölüm oranlarının artması toksik bir kirlilik olduğunun en önemli göstergesidir [12,22].

Bu çalışmada sucul ortamlarda bol miktar bulunan, ortamdan kolay toplanabilen, laboratuvar ortamına kolay uyumlanan, güvenle çalışılabilen, ekotoksikolojik çalışmalarda indikatör tür ve model organizma olarak kullanılan tatlı su midyesinde (*Unio delicatus*) böcek gelişim düzenleyicisi insektisiti olarak kullanılan diflubenzuronun toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır [12,22]. Yapılan çalışmanın sonucunda sucul ekosistemlerde yaşayan canlılardan biri olan tatlı su midyesi (*Unio delicatus*) üzerinde diflubenzuronun oluşturduğu kısa süreli etkiler incelenmiş olup bu ve benzer pestisitlerin uzun vadedeki ekotoksikolojik etkilerinin araştırılması için ön bilgi sağlanmıştır.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. İnsektisitler

Böcek öldürücüler, bir veya birden fazla böcek türüne karşı geliştirilen kimyasal maddelerdir ve insektisit olarak da bilinirler[1,13]. İnsektisitlerin, temel amacı zarar verici olduğu düşünülen böceklerin öldürülmesini, zarar görmesini, alandan uzaklaşmasını ya da tamamen göç etmesini sağlamaktır [13].

Sıklıkla restaurant, hastane, ev, tarla, ticari yerler ya da ambarlarda kullanılan insektisitler günümüzde özellikle tarlalarda ekinlere zarar veren böceklerle da karşı koruma amaçlı kullanılmaktadır [13]. Öyle ki Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı tarafından 2001 yılında yapılan bir araştırmaya göre ekinlere uygulanan pestisitlerin %12'sini insektisitler oluşturmakta ve bu insektisitler [1]. en çok mısır ve pamuk bitkileri için kullanılmaktadır [1]. Rice ve Ostlie (1997)'e göre ise insektisitlerden geçmiş yıllardan bu yana çiftçiler tarafından ekinlerin gövde kısımlarını ve çekirdeklerini zararlı böceklerle karşı korumak amaçlı yararlanılmaktadır [27].

Bazı insektisitler ise böcekler aracılığıyla taşınan sıtma, şark çıbanı (Kala-Azar), Chagas hastalığı (Amerikan Trypanosoma Enfestasyonu) ve dang humması (dang ateşi) gibi hastalıkların önlenmesi için de kullanılmaktadır [13,28-29].

İnsektisitler temel olarak moleküler yapılarına ve etkilerine göre sınıflandırılmaktadır [1]. Birçoğu böceklerin sinir sistemine etki edecek şekilde formüle edilse de böceklerin gelişimlerini engellemek ya da davranışlarını değiştirmek üzere formüle edilen çeşitleri de bulunmaktadır [1].

Kullanılan bazı insektisit çeşitleri ve etki alanları ise Çizelge 2.1’de verilmiştir [1].

Çizelge 2.1. Bazı insektisit çeşitleri ve etki alanları [1]

Organofosfat	Asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek felç oluşturur.
Organosülfür bileşikleri	Yumurta ölümüne sebep olur.
Karbamat	Asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek felç oluşturur.
Pirazol	Mitokondride elektron alışverişini engelleyerek ATP üretimini durdurur.
Kinazolin	Böceklerde kitin oluşumunu engeller.
Benzil üre bileşikleri	Kitin sentezini engelleyerek larva gelişimini durdurur.

Gittikçe artan kullanımı ile inektisitler yapay kimyasallar olmaları sebebiyle çevreyi kirletmeleri, memeli canlılarda dahil olmak üzere hedef olmayan canlılar üzerinde toksik etki göstermeleri ve insektisit direncinin artması sebebiyle çevreye daha az toksik olduğu düşünülen ve yüksek verim gösteren yeni türleri geliştirilmiştir [5,30]. Bu türlerden en önemlilerinden bir grubu böcek gelişim düzenleyici (Insect Growth Regulators-IGRs) insektisitlerdir [13].

2.2. Böcek Gelişim Düzenleyiciler (IGRs)

Böcek gelişim düzenleyicileri, diğer insektisitlerden farklı olarak böceklerin nasıl büyüdüklerine, geliştiklerine ve davrandıklarına bakılarak geliştirilmiştir [30].

Hoffmann ve Lorenz (1998)’e göre böcek gelişim düzenleyiciler, üçüncü nesil insektisit olarak bilinmektedir ve sıklıkla kullanılan diğer insektisitlerin aksine böceklerin normal hormonal süreçlerini olumsuz etkileyerek gelişim süreçlerine, gelişim süreçlerindeki değişimlerine (metamorfozlarına) ve üremelerine etki etmektedir [31].

Tunaz ve Uygun (2003)’e göre de böcek gelişim düzenleyiciler, böceklerin normal gelişim ve yavrulama süreçlerindeki bazı fizyolojik düzenleyici süreçlerine etki ederek işlevlerini

göstermektedir [32]. Bu insektisitler etki mekanizmalarından dolayı organofosfat veya karbamat gibi sinirsel süreçler üzerine etki eden diğer insektisitlerden ayrılmaktadır [32].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından, böcek gelişim düzenleyici insektisitleri çevreye ve hedef olmayan canlılara en az etki gösteren insektisitler olarak tanımlanmaktadır [11].

Degheele, Yi ve Bai (1993)'e göre de böcek gelişim düzenleyici insektisitlerin çoğunun yapı taşı olan benzoilfenil ürelerden oluşan bu insektisitlerin insanlar ve hedef olmayan böcekler üzerindeki toksik etkileri organik fosforlu ya da sentetik piretroitli bileşiklere göre daha azdır [33].

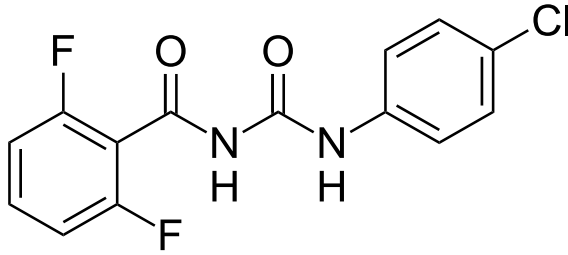
Böcek gelişim düzenleyici insektisitleri işlevlerine göre iki gruba ayrılmaktadır. Bunlar kitin sentezi engelleyiciler ve hormonlara etki eden juvenil hormon analogları insektisitlerdir [34]. Bilinen en yaygın kitin sentezi engelleyici insektisitlerin ilki ise Diflubenzuron'dur.

2.3. Diflubenzuron

Diflubenzuron ($C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$), kokusuz, beyaz renkte ve kristal yapıda benzoilfenil üre grubunda yer alan katı bir kimyasal bileşiktir [9,35-38]. 2,6-difluorobenzamide ($C_7H_5F_2NO$) ile 4-chlorophenylisocyanate (C_7H_4ClNO)'in reaksiyonu sonucu oluşmaktadır [9,39-40]. Diflubenzuron, dünyada yaygın olarak böcek gelişim düzenleyicisi insektisitleri kategorisi altında yer alan ve kitin sentezi engelleyicisi olan bir çeşit insektisit olarak kullanılmaktadır [9-10,17,34,41]. Philips-Duphar laboratuvarlarında 1970'li yılların başında geliştirilmiştir ve kitin sentezi engelleyicisi olarak kullanılan insektisitlerin ilk bileşiğidir [5,32,34,36-37].

Ticarete dimilin, difluron, TH-6040 ve larva öldürücü olarak da bilinmektedir [17,35,37-38]. Sıklıkla kullanılan kısaltması "DFB"dir ve yapay olarak üretilmektedir [9]. Moleküler formülü $C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$ olup, ABD Kimyasal Kuramlar Servisi (CAS) Kayıt Numarası: 35367-38-5 olan bir insektisittir [9,18]. Moleküler formülünden de anlaşılacağı üzere diflubenzuron, karbon (C), hidrojen (H), klor (Cl), flor (F), azot (N) ve oksijen (O) elementlerinden oluşan bir bileşiktir.

Diflubenzuron'un kimyasal yapısı ise Şekil 2.1'de gösterildiği şekildedir [35].



Şekil 2.1. Diflubenzuron'un kimyasal yapısı [35]

Diflubenzuron, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (IUPAC) tarafından 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)-urea, N-[[[4-chlorophenyl]amino]carbonyl]-2,6-difluorobenzamide ya da 1-(2,6-difluorobenzoyl)-3-(4-chlorophenyl)urea olarak adlandırılmaktadır [38]. Moleküler ağırlığı 310,7 g/mol'dür [18]. Suda eser miktarda çözünmektedir (20°C'de 0,0002 g/L ya da 25°C'de 0,001 g/L) [18,38]. Polar organik çözücülerde ise orta seviyede çözünmekte olup asetonda 20°C'de 6,5 g/L, asetonitrilde 20°C'de 2 g/L, dimetil sülfoksit ve dimetilformamitte 20°C'de 120 g/L ve N-Metil-2-pirolidonda 20°C'de 200 g/L, apolar organik çözücülerde çok az çözünmektedir [9].

Diflubenzuron'un yoğunluğu ise 1,56 g/cm³ olup, erime noktası %95 saflıkta ile 210-230 °C, %99 saflıkta ile 230-232 °C, buhar basıncı ise 25 °C'de 0,00012 mPa'dır (Çizelge 2.2) [9,18,35,38].

Çizelge 2.2. Diflubenzuron'un fiziksel ve kimyasal özellikleri [9,19,35,38]

IUPAC Adlandırılması:	1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl)-urea
Moleküler Formülü	C ₁₄ H ₉ ClF ₂ N ₂ O ₂
CAS Numarası:	35367-38-5
Moleküler Ağırlığı:	310,7 g/mol
Fiziksel Durum:	Kokusuz, Beyaz, Kristal bir yapı
Yoğunluk:	1,56 g/cm ³
Erime Noktası:	≥ % 95 saflık 210-230 °C ≥ % 99 saflık 230-232 °C

Çizelge 2.2. (devam) Diflubenzuron'un fiziksel ve kimyasal özellikleri [9,19,35,38]

Buhar Basıncı:	25 °C'de 0,00012 mPa
Çözünürlük:	Suda çok az (20°C'de 0,0002 g/L ya da 25°C'de 0,001 g/L), Orta seviyede aseton gibi polar organik çözücülerde; Aseton 20°C'de 6,5 g/L, Asetonitril 20°C'de 2 g/L, Dimetil sülfoksit ve Dimetilformamid 20°C'de 120 g/L, N-Metil-2-pirolidonda 20°C'de 200 g/L ve çok az apolar çözücülerde

Diflubenzuron tüm dünyada yaygın olarak tarım, orman, meyve yetiştiriciliği ve süs bitkilerinde yaprak yiyen farklı birçok tür larvaya karşı kullanılmaktadır [9,19,34]. Yani etki ettiği böcek türü miktarı oldukça geniş kapsamlıdır [14,38]. Kullanıldığı böcekler arasında çekirge, sivrisinek, sinek, tatarcık, pas akarı, yonca biti, kahverengi kokarca böceği (*Halyomorpha Halys*), çizgili yaprak kurdu (*Spodoptera exigua*), *Chrysodeixis Includens*, *Meloidogyne arenaria*, enginar tüyü güvesi (*Platyptilia carduidactyla*), Mormon cırcır böceği, çingene güvesi (*Lymantra dispar*), pamuk böceği (*Anthonomus grandis*), çoğu haşere böcekler olarak bilinen *Spodoptera* türleri, mantarlara zarar verdiği bilinen *Megaselia halterata* türü, velvetbean caterpillar tırtılı ve güvesi (*Anticarsia gemmatilis*), Nantucket çam uçlu güvesi (*Rhyacionia frustrana*), Douglas-fir tussock güvesi (*Orgyia pseudotsugata*), orman çadırı tırtıl güvesi (*Malacosoma spp.*) türleri bulunmaktadır [17-18,38,42-43].

Göktay ve Kısmalı (1990)'a göre de diflubenzuron, kelebek ve güveler gibi pul kanatlıların (Lepidoptera) yanı sıra uğur böceği gibi kın kanatlılara (Coleoptera) ve sineklere (Diptera) karşıda etkili bir kimyasal bileşiktir [37].

Etki ettiği bitkiler arasında ise besin olarak tüketilenlerden kuş üzümü, brüksel lahanası, lahana, domates, soya fasulyesi, erik, dağ çileği, elma, pamuk, armut, mantar ve narenciye

yer almaktadır [9,13,36]. Orman ağaçları olarak ise kara kavak, ceviz, çam ve pırnal meşe gibi bitkileri üzerinde diflubenzuron kullanılmaktadır [44].

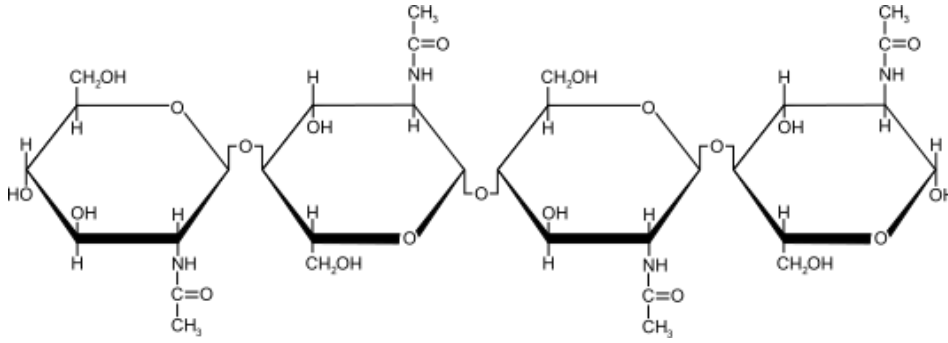
Türkiye’de ise diflubenzuron pamuk, elma ve armut yetiştiriciliğinde, pamuk yaprak kurdu, elma içkurdu, elma ağkurdu, armut psillası ve armut yaprak galerigüvesi gibi haşerelere karşı kullanılmaktadır [13,17].

Maduenho ve Martinez (2008)’in Mabilia ve Souza (2006)’dan aktardığına göre diflubenzuron bitkilerin yanı sıra Brezilya’da kültür balıkçılığında, balığın vücudunun dışında yaşayan parazitlere karşı da kullanılmaktadır [14].

Diflubenzuron aynı zamanda bazı ülkelerde dang humması (dang ateşi) ve sıtma gibi hastalıkların önlenmesi için hastalığın taşıyıcıları olan sivrisineklerin larvalarına karşı da kullanılmaktadır [10,13,19]. Bu sebeple diflubenzuron göl, nehir, havuz, süs şelalesi, kümes ve diğer çiftlik hayvanları tesisleri, ormanlık alanlar, köpek kulübeleri, hayvanat bahçeleri, kanalizasyon, bataklıklar, barakalar, pirinç tarlaları ve yapay göl gibi alanlara sıklıkla uygulanmaktadır [9,13,16,38].

2.3.1. Diflubenzuron’un toksik mekanizması

Kitin ($C_8H_{13}O_6N$)_x, böceklerin kütikül olarak da bilinen dış iskeletlerinin yapı taşlarından biri olan bir çeşit polisakkarittir [38]. Glikozun amid bir türevi olan N-asetilglukozamin moleküllerinin bir araya gelerek oluşturduğu uzun zincirli bir yapıdan oluşmaktadır (Şekil 2.2) [45]. Kitin, böceğin epidermisi tarafından salgılanan proteinlerle bağ kurarak dış sert katmanı yani dış iskeleti olan kütikülü oluşturur. Kütikül, böceklerin çevreleri ile etkileşim halinde bulunmasını, dış etmenlere karşı korunaklı olmasını, bağırsak, solunum sistemi, üreme ve salgı bezlerinin bir arada tutulup aynı zamanda birbirinden ayrılmasını sağlayan bir tabakadır [28,32]. Bir böcek büyürken yeni dış iskelet böceğin eski dış iskeletinin içinde büyür. Büyüdükçe yeni dış iskelet genişler ve sertleşir. Eski dış iskelet ise atılır. Bu sürece deri değiştirme süreci denir [30]. Bu süreçte böcekler larva sürecinden erişkinliğe geçerken yani büyürken birkaç kez deri değiştirerek yeni kütikül oluştururlar [30,38,45].



Şekil 2.2. Kitinin kimyasal yapısı [45]

Tunaz ve Uygun (2004)'ün Hepburn (1995)'den aktardığına göre kitin sentezi, hücre zarına bağlı kitin sentaz enziminin aktivasyonuna bağlıdır. Kitin sentaz enzimi, epidermis tabakasında bulunan endoplazmik retikulumlarda ilk olarak zimogen yani inaktif hâlde üretilir ve proteaz enzimleri tarafından aktive edilir [32].

Diflubenzuron da ekinlere, orman ve süs bitkilerinin özellikle yapraklarına karşı zararlı olduğu düşünülen böcek larvaları ve çeşitli hastalıklara neden olan sivrisinekler üzerindeki toksik etkisini kitin sentezini engelleyerek göstermektedir [10,31,41].

Diflubenzuron bu toksik etkiyi özellikle sivrisinek ve karasinek larvaları başta olmak üzere larvaların en dış tabakalarında bulunan, kitin (N- acetylglucosamine) sentezinin gerçekleşmesini sağlayan kitin sentaz enziminin aktivasyonunu engelleyerek gerçekleştirmektedir [42].

Grosscurt (1980)'e göre de diflubenzuron aktivitesini kitin sentaz enzimi, fenoloksidaz aktivasyonu ya da deri değiştirme metabolizmasında rol oynayan enzimler üzerinde etki ederek göstermektedir [46].

Benzer şekilde Eisler (1992)'ye göre diflubenzuron, deri değiştirme sürecinde glikozdan kitin eldesinde görev yapan kitin sentaz enziminin aktivasyonunu inhibe ederek kitin sentezini engellemektedir ve dolayısıyla böceklerin gelişim aşamalarına olumsuz etki etmektedir [38].

Miyatoma, Hirano ve Hatakoshi (1993)'e göre diflubenzuron'un etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat etki mekanizmasının kitin sentaz enziminin aktive olmasını

sağlayan kimotripsin ve tripsin gibi enzimlerinin fonksiyonlarının ve bir çeşit koenzim olan üridin difosfat N-asetilglukosaminin zardan geçişinin engellenmesi sonucu kitin sentezinin oluşumunu bloke etmesi olduğu tahmin edilmektedir [34].

Fisher ve Hall (1992)'ye göre de diflubenzuron kitin sentaz enziminin aktivasyonunu sağlayan serin proteaz enzimini inhibe etmektedir. Bu durum inhibe edilen serin proteaz enziminin, zimogen hâldeki kitin sentaz enziminin aktifleşmesini engellenmesiyle gerçekleşmektedir [17].

Zamansal olarak Göktay ve Kısmalı (1990)'a göre diflubenzuron asıl etkisini kitin sentezini engelleyerek böceğin değişim gösterdiği yumurtadan çıkma, deri değiştirme ya da pupadan çıkma dönemlerinde göstermektedir [37].

Hoffmann ve Lorenz (1998)'e göre de diflubenzuron toksik etkisini, etki ettiği böcek larvasının deri değiştirme sürecinde iken yeni üretilmekte olan dış katmanın yani kütiküllerin yanlış bağlanmasına ve oluşan yeni kütikülün eksik katmanlı olmasına neden olarak göstermektedir [31].

Göktay ve Kısmalı (1990)'a göre diflubenzuron uygulanması ile kitin sentezi yapamayan larva ve pupa aşamasındaki böcek, protein bağlarının da bozulması ve çökmesi sonucunda, zayıf olan yeni deri, kaslara yeterince kuvvet sağlayamadığından eski deri atılamamakta, yumurtadan çıkılamamakta veya deri iç basınca dayanamayıp çatlamaktadır [37]. Sonuçta böcek bir üst larva evresine geçemediğinden veya yumurtadan çıkamadığından sonuç olarak ölmektedir ya da kısırlaşmaktadır [37,47].

Ascher ve Nemny (1976)'ya göre de diflubenzuronun uygulanması sonucu larvalar eski derilerinden kendini kurtaramamakta ve ölüm eski deriyi atamadan gerçekleşmektedir [48].

Eisler (1992)'ye göre de diflubenzuron yetişkin böceklere uygulandığında böceklerin yumurtaları normal görünümlü olarak büyüye de larvalar yumurtadan çıkamamaktadır [38].

Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA) tarafından yayınlanan diflubenzuron risk değerlendirme kılavuzu (2019)'a göre de diflubenzurona maruz kalan böcek larvaları

pupa içinde tamamen gelişse de ya pupadan çıkamamakta ya da pupadan çıktıktan hemen sonra ölmektedir [18].

Mulder ve Gijswijt (1973)'e göre ise ölüm, eski deriyi atmaya çalışırken sıvı kaybından meydana gelmektedir [49]. Yeni böcek oluşumları ise bu şekilde durdurulmaktadır.

Diflubenzuron aynı zamanda özellikle böcek larvaları için mide zehri olarak da bilinmektedir [48-49].

2.3.2. Diflubenzuron'un çevresel durumu

Diflubenzuron, doğrudan bitkilere veya suya uygulanan bir insektisittir [15,19]. Hızlı bir şekilde toprağa tutunmaktadır [19]. Toprağa tutunma oranı topraktaki organik madde türüne bağlı olarak değişmektedir [6,18]. Örneğin bağlanma oranları siltli balçıkta 20 L/kg, kumlu balçıkta 25 L/kg, kumlu killi balçıkta 40 L/kg, siltli killi balçıkta 40 L/kg, kilde 130 L/kg, killi hidrosol toprakda 150 L/kg ve turflu hidrosol toprakta 3,500 L/kg'dır [18].

Diflubenzuron aynı zamanda farklı tür topraklarda çözünabilmektedir [19]. Çözünme hızı ise diflubenzuronun parçacık büyüklüğüne göre değişmektedir [19]. Toprakta hidroliz olarak %90 ve üzeri oranında çözünmektedir [15,19]. Hidrolizi sonucunda ana ürün olarak yarı ömrü 4 hafta olacak şekilde 2,6-diflorbenzoik asiti ve yarı ömrü 6 hafta olacak şekilde 4-klorfenilüreyi oluşturmaktadır [15,19].

Diflubenzuronun bozunması sonucu ortaya çıkan başlangıç yan ürünü 4-klorfenilüre 30 günden fazla bir süre çökeltide kalabilmektedir [15,19].

Diflubenzuron'un sudaki kararlılığı ise pH seviyesine göre değişim göstermektedir [18,50]. Diflubenzuron nötr ve alkali sularda hızlı bir şekilde hidroliz olmaktadır [3,9,19,50]. Asidik sularda ise yarı ömrü 16 günden daha fazla olacak şekilde daha yavaş çözünmektedir [50]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yayınlanan Diflubenzuron Sağlık ve Güvenlik Kullanım Kılavuzu (1995)'e göre üç haftalık süreçte diflubenzuron karanlık koşullarda 0.0001 g/Lsuda, pH seviyesi 5'iken %4 oranında, pH seviyesi 7'iken %8 oranında ve pH seviyesi 9'iken %26 oranında bozunmaya uğramaktadır [9].

Fisher ve Hall (1992)'ye göre de diflubenzuronun pH seviyesi 10 ve sıcaklık 36 °C iken tatlı sulardaki yarı ömrü yaklaşık 3 gün, aynı sıcaklıkta ve pH seviyesi 6 iken yaklaşık 9 gündür [17].

Bu durum yine diflubenzuronun alkali sularda daha hızlı bozunduğunu göstermektedir.

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) tarafından yayınlanan Diflubenzuron Kılavuzu (1997)'ye göre ise diflubenzuron normal koşullarda hidroliz ve fotolize karşı kararlıdır [19].

2.3.3. Diflubenzuron'un canlılar üzerindeki etkileri

Diflubenzuron her ne kadar zararlı olduğu düşünülen hedef organizmalar üzerinde yüksek oranda öldürücü etki gösterse de kitin sentezi yapan zararsız canlılar başta olmak üzere hedef olmayan diğer canlılar üzerinde de toksik etki göstermektedir [9-10,13,38]. Bu canlılar arasında kitin sentezi yapan örümcek, yengeç, istakoz, karides, su piresi, mayıs sineği, taş sineği, sülükayaklılar ve kopepod gibi canlılar yer almaktadır [38]. Yine Hoffmann ve Lorenz (1998)'e göre diflubenzuron farklı birçok tür böceğe etki etmesinden dolayı zararlı olduğu düşünülen böceklerin yanı sıra bu böceklerin doğal düşmanı olan yararlı böceklerle de zarar verici olabilmektedir [31]. Öyle ki bu toksik etkiler fitoplanktonlar gibi mikroskobik canlılardan insan gibi makro canlılara kadar uzanmaktadır [10,13].

Diflubenzuron, uçak ile havaya püskürtme ve hidrolik sprey araçları ile ilgili alanlara kolayca uygulanabilmektedir [1,17]. Canlılar ise bu kimyasalı deriden ve sindirim sisteminden emme veya soluma yollarıyla, ağız ve burun gibi vücuttaki hava boşluklarıyla vücutlarına alabilmektedir [9,18,41].

İnsanlar diflubenzurona yedikleri besinler aracılığıyla da dolaylı olarak maruz kalabilmektedir [19]. Fakat Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (1997) tarafından yapılan bir araştırmaya göre tüm besinlerden maruz kalınan diflubenzuron miktarı tolerans gösterilebilecek miktarların %1'inden daha az olmaktadır. En fazla maruz kalan (%1'lik grup) grubun ise 1-6 yaş aralığındaki çocuklar olduğu anlaşılmıştır [19].

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yapılan testlere göre diflubenzuron mutajenik, genotoksik, fetotoksik ya da teratogenik bir madde değildir [9,15].

Diflubenzuronun doğrudan kanserojen bir madde olduğuna dair de bir kanıt bulunmamaktadır [19]. Fakat diflubenzuron hidroliz, toprak bozunumu veya bitki ve hayvan metabolizması sonucunda başlangıçta 2,6-diflorbenzoik asit ($F_2C_6H_3CO_2H$) ve 4-klorfenilüre ($C_7H_7ClN_2O$) yan ürünlerini, sonrasında ise 2,6-diflorbenzamid ($C_7H_5F_2NO$) ve 4-kloranilin (C_6H_6ClN veya $ClC_6H_4NH_2$) yan ürünlerini ortaya çıkarmaktadır [18,38]. Diflubenzuronun yan ürünlerinden olan 4-kloranilin ve 4-klorfenilüre moleküllerinin akut toksik etkiye sahip olup insanlar için kanserojenik veya mutajenik etki gösterebilecek maddeler oldukları düşünülmektedir [9,14,19,38,51-53].

Yapılan başka farklı çalışmalarda ise diflubenzuronun insanlarda dahil olmak üzere memelilerde ve balık gibi bazı omurgalı canlılarda vücutta oksijen taşınmasını sağlayan kırmızı kan hücreleri olarak bilinen hemoglobinlerini hem doğrudan hem de yan ürünü 4-kloranilin ile olumsuz etkilediği kanıtlanmıştır [9,14,19].

Eisler (1992)'nin Schaefer ve arkadaşları (1980)'den aktardığına göre diflubenzuronun yan ürünü olan 4-kloranilin, Ulusal Kanser Enstitüsü (NIH) ve ABD Çevre Koruma Ajansı (USEPA) Kanser Değerlendirme grubu tarafından mutajenik olarak sınıflandırılmıştır [38].

Bir çeşit hemoglobin türevi olan ve oksijene bağlanamayan methemoglobin, ferrik (Fe^{+3}) formda demir içeren bir çeşit hemoglobin molekülüdür ve hemoglobin molekülündeki demirin ferröz (Fe^{+2}) formdan ferrik forma (Fe^{+3}) oksidasyonu ile oluşmaktadır. Diflubenzuron vücutta hemoglobinlerin methemoglobin ya da sülfhemoglobine (Hidrojen sülfürle hemoglobin karışımı oluşan bir madde) dönüşmesine ve bu maddelerin vücutta artmasına neden olmaktadır [18,50]. Vücutta bu maddelerin artarak hemoglobin oranının azalması ve bu maddelere oksijenin bağlanamaması sebebiyle kanda oksijen taşınımı azalmaktadır [9,18-19,54-55]. Sağlıklı bir insanda methemoglobin düzeyi hemoglobin düzeyinin %1-2'si kadar olmaktadır. Kandaki methemoglobin düzeyinin %70'in üstündeki yükselmeleri ise ölüme neden olmaktadır [55-56].

Yine fare ve sıçanlar üzerinde yapılan bir araştırmaya göre yüksek dozlarda diflubenzurona maruz kalan fare ve sıçanların kanında aşırı miktarda methemoglobin bulunması olarak bilinen methemoglobinemi oluşmaktadır [15].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) ve Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO) (1995) tarafından yapılan bir araştırmaya göre diflubenzuronun yan ürünlerinden 4-kloraniline maruz kalan işçilerde ve bu yan ürüne kaza ile maruz kalan yeni doğanlarda da methemoglobinemi oluşumu gözlenmiştir [9].

Eisler (1992)'nin Stoner ve Wilson (1982)'den aktardığına göre diflubenzuron'un yoğun olarak uygulandığı yerlerdeki bir çeşit bal arısı olan *Apis mellifera*'nın 10 mg/kg diflubenzuron alımında yaşam oranının azaldığı, 1-10 kg/mg arasındaki diflubenzuron alımlarında ise üremesinin azaldığı tespit edilmiştir [38].

Bir çeşit nörotransmitter olan asetilkolin kasların kasılmasında, kan damarlarının genişlemesinde ve kalp atışının yavaşlamasında rol oynamaktadır. Asetilkolinesteraz enzimi ise asetilkolinin parçalanarak sinir uçlarında deaktif olmasını sağlamaktadır. Bu şekilde vücutta kasların işlevleri normal olarak devam etmektedir [56]. Gül, Yiğit, Özçelik ve Eskizengin (2022) tarafından yapılan bir araştırmaya göre ise subakut dozlarda diflubenzurona maruz bırakılan sıçanlarda zamanla asetilkolinesteraz enziminin fonksiyonu yaklaşık %43 oranında azalmaktadır [13].

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) (1995)'e göre de diflubenzuron subakut dozlarla beslenen kuşlarda toksik etki göstermektedir [19]. Ayrıca Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (2019) raporunda Eisler (2000)'den aktardığına göre diflubenzuronun orman haşerelerini azaltmak için geniş çaplı ormanlarda kullanılması böcek türlerini azaltacağından ormanlarda yaşayan ve bu böceklerle beslenen kuşların da popülasyonlarının azalmasına sebep olabilecektir [18].

2.3.4. Diflubenzuron'un sucul canlılar üzerindeki etkileri

Diflubenzuron, özellikle haşere kontrol amaçlı doğrudan suya uygulanması sebebiyle ya da diğer pestisitler gibi uygulandığı alanlardan yağmur suyu yüzey akışı gibi sebepler dolayısı ile akıntılara, nehirlere ve denizlere taşınmaktadır [12,15-17]. Bu şekilde suda yaşayan

canlılarda diflubenzurona maruz kalabilmektedir. Yapılan araştırmalara göre diflubenzuron sucul canlılardan özellikle sucul omurgasızlarda yüksek oranda toksik etki göstermektedir [17,50].

Eisler (1992)'ye göre de diflubenzuron hedef olmayan sucul organizmalardan en çok deniz kabuklularını etkilemektedir [38]. Öyle ki deniz kabuklularının büyüme, hayatta kalma, üreme ve davranışlarındaki olumsuz etkiler 0,062 µg/L ve 2 µg/L arasında gözlenmektedir [18,38].

Eisler (1992)'ye göre ikincil olarak ise en çok sucul böcekler diflubenzurondan etkilenmektedir [38]. Bu böcekler arasında mayıs sineği, tatarcık, caddis sineği 0,1 µg/L ve 1,9 µg/L arasında düşük hayatta kalma oranları göstermektedir [38].

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) (1995)'e göre de diflubenzuron tatlı sularda yaşayan omurgasız canlılarda oldukça yüksek oranda toksik etki göstermekte olup, deniz ve nehirlerde yaşayan omurgasızlarda (yumuşakçalarda) yüksek oranda toksik etki göstermektedir (Çizelge 2.3) [19].

Çizelge 2.3. Tatlı sularda yaşayan bazı omurgasızlarda diflubenzuronun akut toksikoloji bulguları [19]

Tatlı Su Omurgasızlarında Toksik Bulgular			
Bilimsel Adı	Aktif Madde (% A.I.)	LC/EC ₅₀ (ppb)	Toksitite Derecesi
<i>Daphnia magna</i>	Teknik dereceli	48 saat LC ₅₀ = 3,7	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Gammarus pseudolimnaeus</i>	%95	96 saat LC ₅₀ = 45	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Gammarus pseudolimnaeus</i> (yetişkin)	%95	96 saat LC ₅₀ = 30	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Daphnia magna</i>	%97,6	48 saat EC ₅₀ = 7,1	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Daphnia magna</i>	%25	48 saat EC ₅₀ = 15	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Daphnia magna</i>	%25	48 saat EC ₅₀ = 16	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Gammarus pseudolimnaeus</i>	%25	96 saat LC ₅₀ = 3025	Çok Yüksek Oranda Toksik

Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA) (1995)'de yapılan benzer bir araştırmaya göre diflubenzuron tuzlu sularda yaşayan kabuklularda ve omurgasızlarda da yüksek ve çok yüksek oranlarda toksik etki göstermektedir (Çizelge 2.4) [19].

Çizelge 2.4. Tuzlu sularda yaşayan bazı omurgasızların toksikoloji bulguları [19]

Tuzlu Su Omurgasızları Toksik Bulguları			
Bilimsel Adı	Aktif Madde (% A.I.)	LC ₅₀ /EC ₅₀ [ppb (µg çözünen/kg) ,ppm (mg çözünen/kg)]	Toksitite Derecesi
<i>Mysidopsis bahia</i>	%99	2,0 ppb	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Mysidopsis bahia</i>	%95	2,1 ppb	Çok Yüksek Oranda Toksik
<i>Mercenaria</i> (Quahogs)	%97,6	> 0.32 ppm	Yüksek Oranda Toksik
<i>Palaemonetes pugio</i> (Grass shrimp)	%100	0.64 ppm	Yüksek Oranda Toksik

Yapılan farklı bir araştırmanın sonuçlarına göre de diflubenzuron, tatlı sularda yaşayan omurgasızların üreme, büyüme ve hayatta kalmalarını, denizlerde yaşayan omurgasızların ise üremelerini etkilemektedir [19].

Miura ve Takahashi (1994)'e göre de kabuklu canlılar ve karidesler LC₅₀ 0,1-1,0 ppm oranıyla diflubenzurondan oldukça fazla etkilenen canlılardır [56].

Asetilkolin balıkların da duyu ve kaslarını kontrol eden sinir sisteminde rol oynayan bir nörotransmitterdir [14]. Maduenho ve Martinez (2008) tarafından tatlı su balıklarından olan *Prochilodus lineatus* üzerinde yapılan bir araştırmaya göre diflubenzuron, *Prochilodus lineatus* balığında AChE (Asetilkolinesteraz) enzimini inhibe ederek kaslardaki fonksiyonunu azaltmıştır [14]. Sivrisinek balığı (*Gambusia affinis*) üzerinde yaptıkları araştırmaya göre ise diflubenzuron AChE emziminin aktivitesini LC₅₀ dozunda %44, LC₉₀

dozunda %55 oranında azaltmıştır [14]. Asetilkolinesteraz enziminin sürekli inhibe hâlde olması sonucu sinir ve kas ağları sürekli ve aşırı miktarda uyarılır. Bu durumda canlıda reaktif oksijen türlerinin artmasına, tetani, felç ve ölüme neden olabilmektedir [14,59]. Bu duruma ek olarak balıkta 96 saatin sonunda kırmızı kan hücresi (alyuvar) ve hemoglobin seviyelerinin düştüğü gözlenmiştir [14].

Julin ve Sanders (1978)'e göre ise diflubenzuronun ana yan ürünü olan 4-kloraniline, 96 saat sonunda 2,3 mg/L dozda maruz bırakılan çipura olarak da bilinen *Lepomis macrochirus*'un LC₅₀ değerine göre *Lepomis macrochirus* bu maddeye en fazla hassasiyet gösteren canlıdır [43].

Fisher ve Hall (1992)'ye göre de 4-kloranilin, balıklar için yüksek oranda toksik bir maddedir [17]. Bu maddenin sitokrom P450 enzimleri tarafından bozunmaya uğraması sonucu H₂O₂, OH⁻, O₂⁻ gibi reaktif oksijen türleri (ROS) ortaya çıkmaktadır [14]. Maduenho ve Martinez (2008)'in Budinsk (2000)'den aktardığına göre ROS'lar hemolitik anemi olarak bilinen kırmızı kan hücrelerinin yapımından daha hızlı bir şekilde yok edilmesine sebep olan bir tür hastalığa neden olmaktadır [14].

Eisler (1992)'ye göre ayrıca uzun süre yüksek dozda diflubenzurona maruz bırakılan bazı tatlı su midye türlerinin dış kabuğunun oluşumunu sağlayan kitin zincirlerinin sertleşmesi daha kırılğan kabuk oluşumuna neden olmaktadır [38].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), Birleşmiş Milletler Çevre Programı (UNEP) ve Uluslararası Çalışma Örgütü (ILO) (1995) tarafından yapılan farklı bir araştırmaya göre ise diflubenzuron, belirli bir miktarda (1 µg/L) sucul ortamlarda alg çoğalmasına da neden olmaktadır [9].

Uslu, Oya ve Ak (2017) tarafından *Scenedesmus quadricauda* ve *Phaeodactylum tricornutum* fitoplankton türleri üzerinde yapılan bir araştırmaya göre diflubenzuron bu plankton türlerinin büyümesini azalmaktadır [10].

Moe ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan bir çalışmaya göre Atlantik somon yetiştiriciliğinde zararlı bir parazit olan somon bitine karşı sıklıkla kullanılan diflubenzuron,

hedef canlı olmayan ve ekonomik ve ekolojik bir öneme sahip pembe karideslerin larva ve yetişkin dönemlerindeki hayatta kalma oranını azaltmaktadır [53].

Olsvik ve arkadaşları (2013) tarafından yapılan benzer bir çalışmaya göre de Atlantik somon yetiştiriciliğinde somon bitine karşı gittikçe artan diflubenzuron kullanımı balık çiftliklerinin yakında yaşayan hedef olmayan canlıları da olumsuz etkilemektedir. Bu çalışmaya göre de Atlantik somon çiftliklerinin yakınlarında yaşayan Atlantik morinalar, Atlantik somonların diflubenzuron ile beslenmesi sonucu artık diflubenzuronlu besinlere maruz kalmaktadır ve diflubenzuron bu canlılarında karaciğer ve kas dokularında birikim göstermektedir. Bu durum ise balıkta düşük oranda da olsa toksik etkiye neden olmaktadır [60].

Tunaz ve Uygun (2003)'ün Ables ve arkadaşları (1977)'den aktardığına göre diflubenzuron, sucul besin ağındaki bazı canlıları yok etmesi nedeniyle sucul ortamda yaşayan diğer türlerin de beslenme alışkanlıklarının değişmesine sebep olmaktadır. Örneğin *Lepomis macrochirus* balığının beslenme alışkanlığı su pireleri ve kopepodlardan bir tür tatarcığa ve karasal böceklere değişmiştir [32].

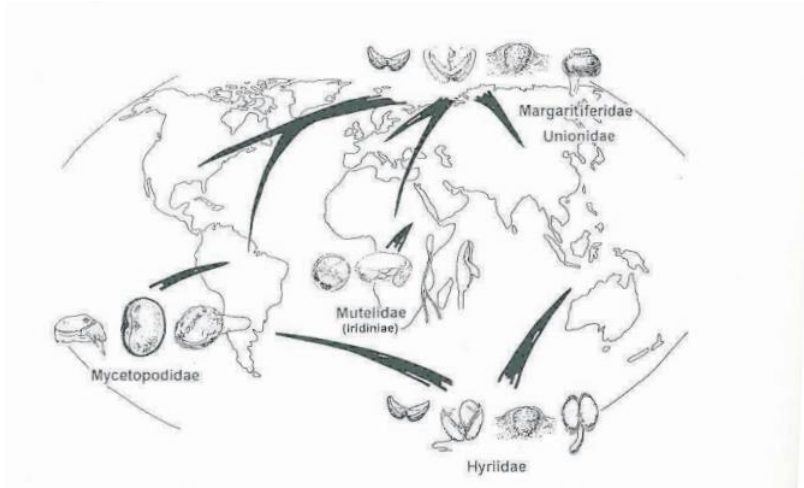
Aslında diflubenzuronun hedef olmayan sucul omurgasız canlılara da zarar vermesinden dolayı doğrudan suya ve bataklıklara uygulanması yasaklanmıştır [17]. Fakat bu düzenleme diflubenzuronun sivrisinek larvası kontrolü amaçlı kullanıldığı Kaliforniya'da uygulanmamaktadır [17].

Diflubenzuronun en çok etkilediği hedef olmayan canlılar sucul omurgasızlar olmasına rağmen diflubenzuronun bu canlılardan biri olan tatlı su midyesi (*Unio delicatus*) üzerindeki etkilerine dair yapılan araştırmalara literatürde rastlanılmamıştır. Bu sebeple bu tezde diflubenzuronun tatlı su midyelerinden (*Unio delicatus*) üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

2.4. *Unio delicatus*'un Taksonomisi ve Biyolojik Özellikleri

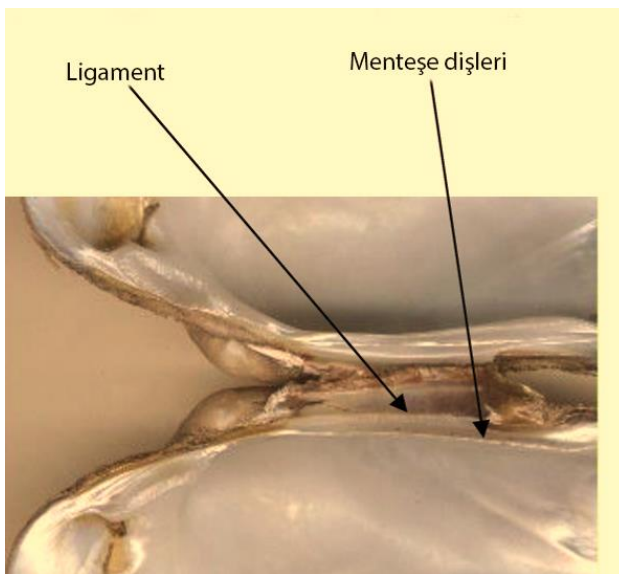
Tatlı su midyeleri olarak da bilinen *Unionidae*, Mollusca (Yumuşakçalar) şubesinde, *Bivalvia* (Midyeler) sınıfında ve *Unionoida* takımında yer alan kabuklu, omurgasız sucul canlıları içinde barındıran bir ailedir [24,61]. Tatlı su midyeleri göl ve akarsu yataklarında dünyada birçok bölge de ve Antarktika hariç tüm kıtalarda yayılış göstermektedirler [24,61-62]. Öyle ki *Unionidae* ailesinde dünya çapında yaklaşık 1000 türünün olduğu

düşünülmektedir [14,62]. Yaklaşık 300'e yakın tür ise Kuzey Amerika'nın tatlı sularında yaşamaktadır [14,62-64]. *Unionidae* ailesindeki türler Kuzey Amerika'nın dışında Kuzeydoğu İspanya'dan Akdeniz bölgesi, Kuzeydoğu Afrika ve Orta Doğu'ya kadar geniş bir dağılım göstermektedir (Şekil 2.3) [14].



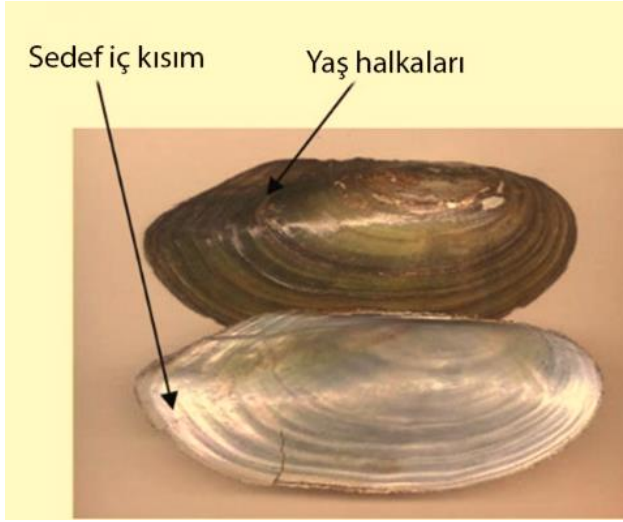
Şekil 2.3. Unionidae ailesindeki tatlı su midye türlerinin dünyadaki dağılımı [14]

Bu canlıların baş kısımları tamamen körelmiştir. Kabukları, kalsiyum karbonat (CaCO_3) ve proteinden oluşur ve kuvvetli kaslarla desteklenen esnek bir menteşe ile (ligament) birbirine bağlıdır (Şekil 2.4) [65].



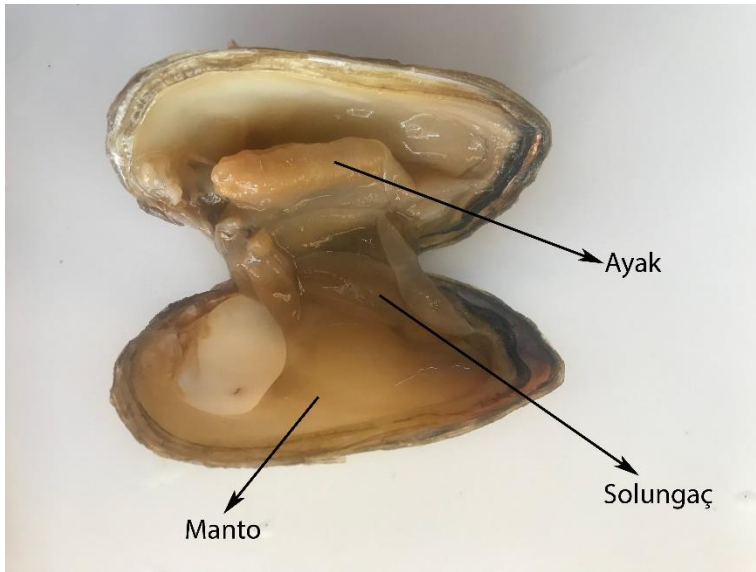
Şekil 2.4. Tatlı su midyesinde ligament ve menteşe dişleri [65]

İç yüzeyleri ise sedef ile kaplıdır (Şekil 2.5) [65].



Şekil 2.5. Tatlı su midyesinde sedef iç kısım ve yıl halkaları [65]

Kabuklar, tatlı su midyesinin yumuşak kısmı için koruyucu bir dış iskelet görevi görür ve her iki kabuğa bağlı olan yumuşak kısımda iç organlar bulunur (Şekil 2.6) [62]. Kabuklarını birbirine vurarak yüzerler. Manto boşlukları hem beslenmede hem de gaz değiştirmede kullanılan solungaçlar içerir. Kaslı ve esnek ayaklarını ise hareket etmek, oyuk açmak, zemine veya kaya çatlaklarına tutunmak için kullanırlar [62].



Şekil 2.6. Tatlı su midyesi *Unio delicatus*'un anatomik yapısı [62]

Dolaşım sistemleri açıktır. Bu sistem bir median karıncık ve iki lateral kulakçık'dan oluşan bir kalp ile atar ve toplar damardan oluşur. Kılcal damarları yoktur. Kan kısmen damarlarda kısmen de geniş bir hemosöl (Açık dolaşıma sahip canlılarda kan sıvısının dolaştığı vücut boşluğu) içinde dolaşır. Kanın solunum pigmenti bakır ihtiva eden mavi renkli kan pigmenti hemosiyanindir. Ağızlarında, radula adı verilen diş benzeri çıkıntılar bulunur.

Tatlısu midyeleri dipte yaşarlar ve kötü ortam şartlarından kaçma yeteneği kısıtlı ya da hiç olmayan canlılardır [22,24]. Bu yüzden sucul ortam kirleticilerine en çok maruz kalan canlılar arasında yer alırlar [22]. Bu özelliklerinden dolayı kirliliğe karşı oldukça hassastırlar [22-24]. Kirlilik stresine maruz kaldıklarında hızlı bir şekilde yaşadıkları ekosistemden kaybolabilirler. Özellikle de Orta Avrupa ve Kuzey Amerika'da insan aktiviteleri sebebiyle popülasyonları önemli ölçüde azalmaktadır [66-67]. Bu hassasiyetleri sebebiyle Dünya Doğayı Koruma Birliği (IUCN) tarafından açıklanan Kırmızı Liste'nin "Tehdide Yakın-Near Threatened)" kategorisinde yer alırlar [68].

Tatlı su midyeleri sucul ortamlardaki besin ağında da oldukça önemli canlılardır [24]. Suyu filtre ederek suda askı halinde bulunan fitoplankton, bakteri ve diğer besin partikülleri ile beslenirler [22-24,62,66]. Bu şekilde kirleticilerin sudan süzülerek ayrılmasını sağlarlar. Aynı zamanda sucul ekosistemde birikime neden olan besin tuzlarının, demir, kurşun, arsenik, bakır, çinko ve nikel gibi bazı inorganik ve ağır metallerin yanı sıra fitoplankton, bakteri ve hidrofobik organik kirleticilerin, polisiklik aromatik hidrokarbonların, metallothionein, organoklorürlerin ve diğer organik maddelerin miktarını da düşürmüş olurlar [25,64,66,69]. Ayrıca fosforu sudan uzaklaştırırlar [23,66]. Bu şekilde bulundukları ortamdaki su kalitesinin artmasına katkı sağlarlar [23,64]. Bu özelliklerinin yanı sıra tatlı su midyeleri kabuklarında ve dokularında biriken toksik madde sayesinde sucul ortamların kirliliğini yansıtan biyolojik belirteçlerin başında gelirler [22,24-26,62]. Tatlı su midyeleri aynı zamanda nehirlerdeki ve göllerdeki su kirliliğinin belirteçleri oldukları için ölüm oranlarının artması toksik bir kirlilik olduğunun en önemli göstergesi olmaktadır [12].

Bu çalışmada da kirliliğe oldukça hassas bir tür olan *Unio delicatus* tatlı su midyesi kullanılmıştır. *Unio delicatus* çevresel kirliliğe maruz kaldığında çok hızlı bir şekilde ortamdaki kaybolmaktadır. Bu şekilde hassas bir tür olmasından dolayı *Unio delicatus* biyoindikatör bir tür olarak kullanılmaktadır. *Unio delicatus* aynı zamanda uzun ömre sahip olması, sucul ortamlarda yaygın olarak bulunması ve vücutlarından doku örnekleri

alınabilecek büyüklükte olmalarından dolayı ekotoksik çalışmalarda model organizma olarak da kullanılmaktadır [70].

Çalışmada kullanılan *Unio delicatus* türünün sınıflandırılması [71];

Alem: Animalia

Şube: Mollusca

Sınıf: Bivalvia

Altsınıf: Autobranchia

Takım: Unionida

Aile: Unionidae

Alt aile: Unioninae

Cins: *Unio* (Philipsson, 1788)

Tür: *Unio delicatus* (Lea I, 1863)

2.5. Tatlı Su Midyeleri Üzerinde Yapılan Toksikoloji Çalışmaları

Sodyum dodesil sülfat (SDS), deterjanlarda, şampuanlarda, kozmetik bazı ürünlerde ve en temizlik ürünlerinde köpürme ve temizleme gibi amaçlarla kullanılan sentetik organik bir kimyasaldır. Sodyum dodesil sülfat, atık sular, tortullar ya da toprak aracılığıyla taşınarak sucul canlıların yaşam ortamına taşınırlar [72]. Sodyum dodesil sülfat doğada çözünebilir olması ve düşük oranda birikim göstermesi sebebiyle geçmişte çevre dostu bir ürün olduğu düşünüldü [73]. Fakat artık akut oranlarının öldürücü olduğu biliniyor [74]. Render tarafından 1990 yılında yapılan bir araştırmaya göre ise sodyum dodesil sülfatın yumuşakça embriyolarında gelişimsel anormalliklere sebep olduğu anlaşıldı [75]. Banks (2015) tarafından tatlısu midyeleri *Hamiota perovalis* ve *Villosa nebulosa*'nın, sodyum dodesil sülfata karşı hassasiyetini test etmek amaçlı yapılan araştırmaya göre 96 saatin sonunda *Hamiota perovalis* için LC₅₀ değeri 6,102 µg/L, *Villosa nebulosa* için LC₅₀ değeri 14,469 µg/L bulunmuştur [74]. Sodyum dodesil sülfat içeren tüm konsantrasyonlarda çok az ayak hareketi gözlenmiştir. Fakat yüksek konsantrasyon sodyum dodesil sülfat içeren 96 saatlik akut toksisite testlerinde kabukların içinde herhangi bir yumuşak doku oluşumuna rastlanmamıştır.

Graney ve Gisey (1988) tarafından sodyum dodesil sülfatın *Corbicula fluminea* üzerindeki etkisini belirlemek üzere yapılan benzer bir çalışmada 96 saatin sonunda LC₅₀ değeri 31,400 µg/L olarak bulunmuştur [76].

Klor, birçok atık maddenin içerisinde bulunur, maden operasyonları sonucu ortaya çıkan, buzlu yollarda kullanılan ve birçok farklı pestisitte kullanılan bir elementtir ve atıksular aracılığıyla sucul ortamlara taşınmaktadır [77-79]. Potasyum ise özellikle tarımsal gübrelere kullanılan bir elementtir ve klor gibi atıksular aracılığıyla sucul ortamlara taşınıp yumuşakçalar gibi sucul canlılara toksik etki göstermektedir [80].

Banks (2015) tarafından tatlısu midyeleri *Hamiota perovalis* ve *Villosa nebulosa*'nın, klor ve potasyuma karşı hassasiyetini test etmek amaçlı yapılan araştırmaya göre 96 saatin sonunda *Hamiota perovalis*'in klor için LC₅₀ değeri 452,491 µg/L, potasyum için LC₅₀ değeri 11,938 µg/L, *Villosa nebulosa*'nın klor için LC₅₀ değeri 1,538,452 µg/L, potasyum için LC₅₀ değeri 15,966 µg/L bulunmuştur [74]. Yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre elde edilen LC₅₀ değerleri, 1988 yılında Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı Su Kalite Kriteri raporundaki sucul canlılar üzerinde toksik etki sağlayan klor verilerine göre daha düşüktür. Bu durum bu türlerin klora daha hassas olduğunu göstermektedir. Potasyum için ise Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı Su Kalite Kriteri bulunmamaktadır [81].

Banks (2015)'in Fisher ve arkadaşları (1991) tarafından potasyumun tatlı su midyelerine toksik etkileri üzerine yapılan başka bir araştırmadan aktardığına göre ise yüksek potasyum oranı zebra midyesi üzerinde solungaç epitelyumuna zarar vererek boğulmasına neden olmaktadır [74].

Yine Banks'ın (2005) Imlay (1973)'den aktardığına göre yüksek potasyum konsantrasyonları tatlı su midye popülasyonlarının azalmasında rol oynayabilmektedir [74].

Uçkun'un (2021) Allen ve arkadaşları (2015)'den aktardığına göre azol bileşikler çeşitli ilaçların yanı sıra çamaşır tozu, şampuan, krem, diş macunu gibi kişisel bakım ürünlerinde antifungal olarak kullanılmaktadır. Azol antifungal etkisini etki ettiği canlının hücre zarlarının bütünlüğü için gerekli olan lanosterolün ergosterole dönüşümünü sağlayan lanosterol 14- α -demetilaz (CYP51A1) enzimini inhibe ederek göstermektedir. Bu inhibe

sonucu hücre zarının bütünlüğü bozulmaktadır. Tebukonazol (TEB)'de triazol grubunda yer alan bir çeşit fungusittir. Tebukonazol, çeşitli endüstriyel uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır [82].

Uçkun (2021) tarafından tebukonazolün tatlı su midyeleri (*Unio mancus*) üzerindeki toksik etkileri üzerine yaptığı araştırmaya göre karbamat, amid ve karboksilik esterlerin hidrolizini sağlayan ve lipit metabolizması, ön ilaç aktivasyonu gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynayan karboksil esteraz (CaE)'nin aktivitesinin kontrol grubuna göre inhibe olduğu anlaşılmıştır [82-83]. Ayrıca bu çalışma ile süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini temizleyen antioksidan savunma mekanizmasının bir bileşeni olan süperoksit dismutaz (SOD)'un aktivitesinin arttığı gözlenmiştir [82]. Araştırma sonucu elde edilen bu sonuçların nedeninin tebukonazolün organizmada sebep olduğu strese karşı farklı savunma ve adaptasyon mekanizmaları olduğu anlaşılmaktadır [82, 84-85].

Uçkun ve Uçkun (2021) tarafından tatlı su midyesi türü *Unio mancus* üzerinde yapılan farklı bir çalışmada ise imidaklopritin solungaç ATPaz aktiviteleri üzerine etkileri incelenmiştir. İmidakloprit, böceklerin merkezi sinir sistemi üzerinde etkisini gösteren ve neonicotinoidler adı verilen bir kimyasallar sınıfına ait bir insektisittir. Araştırmada tatlı su midyelerinin toksik kirleticilere ilk maruz kaldığı organları olan solungaçlarındaki hücrenin iyonik dengesinin korunmasını sağlayan Na^+/K^+ -ATPaz, ATP sentezinde rol oynayan Mg^{+2} -ATPaz, hücrede kalsiyum seviyelerinin korunmasında rol oynayan Ca^{+2} ATPaz ve toplam ATPaz enzimlerinin aktiviteleri incelenmiştir [12,87]. Solungaç, canlıda solunum, iyon dengesi, azotlu atıkların boşaltımı ve asit-baz dengesi işlevlerini görev çok fonksiyonlu bir organdır [12]. Solungaçlardan emilen toksik maddeler canlının vücuduna girerek yayılmaktadır. Yapılan araştırma sonucunda imidaklopritine maruz kalan tatlı su midyesi *Unio mancus*'un ATPaz'larının aktivitesinin engellendiği ve dolayısıyla hücrelerde iyon dengesinin ve enerji sentezinin bozulduğu anlaşılmıştır [12].

Yoloğlu (2019) tarafından tatlı su midyesi (*Unio mancus*) üzerinde imidaklopritin toksik etkilerine yönelik benzer bir çalışma yapılmıştır. Bu çalışmada imidaklopritine maruz bırakılan solungaç ve sindirim sistemi dokularındaki biyokimyasal belirteçler olan, sinirler arasında ve sinirlerden kaslara sinirsel iletimi sağlayan asetilkolinesteraz (AChE) aktivitesi, birçok kimyasalın hidrolizinde ve detoksifikasyonunda rol oynayan karboksilesteraz (CaE) aktivitesi, oksidatif stresin değerlendirilmesinde rol oynayan glutatyon redüktaz (GR) ve

glutasyon s-transferaz (GST) aktivitesi, oksidatif strese karşı canlıyı koruyan redükte glutasyon (GSH) aktivitesi ve yağların bozulması sonucu oluşan ve oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit (MDA) seviyesi değerlendirilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda her sindirim hem de solungaç dokusunda AChE enzim aktivitesinin kontrol grubuna göre %25 oranında azaldığı, sindirim bezinde CaE aktivitesinin kontrol grubuna göre %20 oranında azaldığı, sindirim bezinde 100 µg AI/L imidalopritin maruziyetinde GR aktivitesinin kontrol grubuna göre %30 oranında azaldığı, solungaç dokusunda 1000 µg AI/L imidalopritin maruziyetinde GST aktivitesinin kontrol grubuna göre %30 oranında arttığı, hem sindirim hem de solungaç dokularında en yüksek oranda imidalopritin maruziyetinde GSH seviyelerinin arttığı, yine her iki dokuda da MDA seviyelerinin en yüksek oranda imidalopritin maruziyetinde kontrol gruplarına göre sırasıyla yaklaşık %45 ve %48 oranında arttığı tespit edilmiştir. Çalışmadan elde edilen verilere göre imidalopritin tatlı su midyelerinde sinir hücreleri üzerine toksik etki gösteren (nörotoksik), detoksikasyon ve antioksidan savunma mekanizmalarında değişimlere sebep olmaktadır [87].

Yılmaz (2019) tarafından bir tür antimikrobiyal ve antifungusit etkiye sahip olan sodyum piritiyon olarak da bilinen sodyum omadinin, *Dreissena polymorpha* ve *Unio mancus* üzerindeki toksik etkileri incelenmiştir. Sodyum omadin, yüzey kaplayıcı organizmaların tekne veya suda kullanılan yapılar gibi yerlerin yüzeyinde birikimini önlemek için kullanılmaktadır. Sodyum omadin aynı zamanda kozmetik, madencilik ve yakıt sektörlerinde de kullanılmaktadır [89-90]. Araştırma sonucunda sodyum omadinin, indikatör bir tür olan zebra midyesi (*Dreissena polymorpha*) için çok toksik olduğu, *Unio mancus*'un da solungaç ve hemolemf dokularına hasar verdiği anlaşılmıştır [88].

Yoloğlu (2019) tarafından yapılan farklı bir araştırmada ise tebukonazol gibi triazol grubunda yer alan bir fungusit olan penkonazolün tatlı su midyesi *Unio mancus*'un Na^+/K^+ -ATPaz, Mg^{+2} -ATPaz, Ca^{+2} -ATPaz ve toplam ATPaz enzimlerinin aktivitelerine olan etkisi incelenmiştir [87]. Penkonazol, tarımsal üretimi artırmak ve fungusları kontrol etmek amaçlı dünyada yaygın olarak kullanılan bir pestisittir. Yoloğlu (2019)'un Zang ve arkadaşları (2019)'dan aktardığına göre penkonazol, mantarların hücre zarında bulunan bir sterol olan ergosterolün biyosentezini inhibe ederek etkisini göstermektedir [87]. Fakat pentazolde diğer birçok pestisit gibi yüzey akışları ve yağmur suları gibi etkenlerle sucul ortamlara taşınmaktadır. Yapılan araştırma sonucunda yüksek oranda penkanazolün ATPaz enzimlerinin aktivitelerini inhibe ettiği anlaşılmıştır.

Metoksiklor, geçmişte tarımda, bahçelerde, tahıl depolama alanlarında kullanılan sentetik bir organoklorür insektisittir. Metoksiklor kullanımı zararlarından dolayı Türkiye’de dahil birçok ülkede yasaklanmış olsa da günümüzde halen daha bazı ülkelerde kullanıldığı düşünülmektedir [91-92]. Molnar ve Fong (2012) tarafından metoksiklorün tatlı su midyesi *Elliptio complanata* üzerindeki toksik etkileri stres indikatörü olan sindirim bezi hücrelerindeki lizozomlardaki abnormal değişiklikler incelenerek belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda metoksiklorün canlıda strese neden olduğu tespit edilmiştir [92].

Arslan (2022) tarafından yapılan başka bir araştırmada evlerde, tarımda ve yiyecek endüstrisinde de kullanılan bir çeşit insektisit siflutrinin tatlı su midyesi *Unio delicatus*’un hemosit parametleri üzerine etkisi incelenmiştir. Siflutrin, ticari ve ev insektisitleri olarak kullanılan piretroid türü bir insektisittir. Bu gruptaki insektisitler böceklerin çevresel sinir sisteminin bozulmasına rol açarak böceğin felç olmasına neden olur. Yapılan araştırma sonucunda siflutrinin *Unio delicatus*’un hemosit sayılarında doz ve zamana bağlı olarak artış ve azalmalara neden olduğu anlaşılmıştır [93].

Arslan ve Günal (2023) tarafından yapılan benzer başka bir çalışmada ise genellikle hayvanlardaki pire, bit ve keneleri yok etmek için kullanılan fipronil insektisitinin, tatlı su midyesi *Unio delicatus*’un hemosit sayıları ve oksidatif strese karşı canlıyı koruyan redükte glutatyon (GSH) üzerindeki etkileri incelenmiştir. Yapılan inceleme sonucunda fipronile 48 saat boyunca maruz kalan *Unio delicatus*’un hemosit sayılarının azaldığı gözlenmiştir. Sindirim bezi ve solungaçlarındaki glutatyon (GSH) oranının ise 7 günlük maruzda arttığı gözlenmiştir [94].

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Deneyde kullanılan midye türünün temini

Bu çalışmada toksisite çalışmalarında yaygın olarak kullanılan bir tür olan *Unio delicatus* (Lea, 1863) tatlı su midyesi kullanılmıştır (Resim 3.1). Çalışmada kullanılan tatlı su midyeleri Hatay'dan toplanmış olup, balıkçılardan temin edilmiştir. Balıkçılardan elde edilen tatlı su midyeleri Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Laboratuvarına havalandırılmış su ile getirilmiştir.



Resim 3.1. Deneyde kullanılan *Unio delicatus* tatlı su midyesi

3.1.2. Araştırma yeri

Biyodeneyleler, Ağustos 2022 tarihinde Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

3.1.3. Deney ortamı ve türün laboratuvar koşullarına adaptasyon süreci

Balıkçılardan temin edilerek laboratuvara getirilen midyeler laboratuvar ortamında önceden hazırlanan içinde havalandırılarak dinlendirilmiş ve kloru uçurulmuş şebeke suyu bulunan ve oksijenle havalandırılan 15 L'lik 16 adet eşit hacimli cam akvaryuma yerleştirilmiştir. Her bir cam akvaryum 10 L su ile doldurulmuş olup, her bir akvaryuma rastgele seçilen 20 adet midye yerleştirilmiştir (Resim 3.2).



Resim 3.2. Akvaryuma yerleştirilen *Unio delicatus* tatlı su midyeleri

Deneylere başlanmadan önce tatlı su midyelerinin laboratuvar koşullarına 2 hafta adapte olmaları sağlanmıştır. Akvaryumlar deney süresince sürekli olarak hava pompaları yardımıyla havalandırılmış olup midyeler oda sıcaklığında tutulmuştur. Adaptasyon süresinde midyeler, sucul omurgasızlar için özel üretilmiş ticari yeşil alglerle ile beslenmiştir (Resim 3.3). Deneyde ortalama $32,91 \pm 1,29$ g ağırlık, $4,942 \pm 0,11$ mm uzunluk, $1,38 \pm 0,08$ mm yükseklik ve $2,0 \pm 0,09$ mm genişlik ölçümlerine sahip *Unio delicatus* türü tatlı su midyeleri kullanılmıştır.



Resim 3.3. *U. delicatus* tatlı su midyelerinin üyelerinin akvaryumlarda 2 hafta adaptasyon süreçleri

3.1.4. DFB çözeltisinin hazırlanma aşamaları

Deney için stok çözeltinin hazırlanmasında %97 saflıkta ve toz hâlde diflubenzuron maddesi kullanılmıştır. DFB çözeltisini hazırlamak için ise polar bir çözücü olan dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmıştır. Stok çözeltisi hazırlanırken, öncelikle toz halde bulunan DFB tartılmıştır. Ardından volumetrik cam balon jojede belirlenen hacimce DMSO ile tamamlanarak elde edilmiştir. Diğer uygulanacak dozlar ise stok çözeltiden alınan belirli hacimlerin cam kaplarda DMSO ile sulandırılarak elde edilir. Hazırlanan bu çözeltiler kullanılana kadar +4°C’ de saklanmıştır. Dozlama öncesinde oda sıcaklığına getirilen çözeltiler deney akvaryumlarına uygulanmıştır (dozlama aşaması). Akvaryumlara DFB maddesinden elde edilen çözeltiler dozlanırken otomatik pipetten yararlanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. *U. delicatus* için akut LC₅₀ değerlerinin tespiti

Tatlı su midyeleri, 96 saat süreyle diflubenzurona maruz bırakılıp LC₅₀ değeri bulunmuştur. Deney yapım aşamasında çözücü olarak kullanılan DMSO' nun bulunduğu ve kimyasal madde içermeyen iki farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Bu amaçla geniş konsantrasyon aralıkları kullanılarak ön deney ve daha sonra statik yöntem kullanılarak 96 saat süreli ana deney gerçekleştirilmiştir. Deney sürecinde tatlı su midyelerinde ölüm gözlenip gözlenmediği, kapak açılımı olayları gibi davranış değişiklikleri kontrol edilmiştir.

3.2.2. *U. delicatus* ile subletal deney

Akut toksisite deney sonrasında 96 saatlik LC₅₀ değerinin 1/10 ve 1/100 değerleri subletal konsantrasyonlar olarak kullanılmıştır. Tatlı su midyeleri 48 saat ve 7 gün süre ile 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz bırakılmışlardır. 48 saat sonunda 10 adet midye ve 7 günün sonunda 10 adet midye olmak üzere numune alımı yapılmıştır. Deneyde ayrıca iki kontrol grubu kullanılmıştır. Bunlar kontrol (su ve tatlı su midyesi) ve çözücü kontroldür (diflubenzuron, su ve tatlı su midyesi).

3.2.3. *U. delicatus*'larda toplam hemosit sayısının belirlenmesi

Unio delicatus tatlı su midyelerinin ilk aşamada umbo kısmına yakın bir kısmından 2,5 mL enjektör kullanılarak hemolemf sıvısı alınmış ve 1:1 oranında %4'lük formaldehitte fikse edilerek sulandırılmış (%4'lük formaldehit; 96 ml distile suya 4 ml formaldehit konularak) ve THC/mL toplam hemosit sayımı yapılmıştır. Hemolemfde THC/mL hemosit sayımı hemositometrede tüm hücreler sayıldıktan sonra Yavuzcan ve Benli (2014) metoduna göre hesaplanmıştır.



Resim 3.4. *U. delicatus* tatlı su midyelerinin umbo kısmından hemolemf sıvısının alınması

3.3. Biyokimyasal deneyler

3.3.1. Süperoksit dismutaz aktivite tayini (SOD)

Bu yöntemde esas olarak ortamda oluşturulan süperoksitin süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile ortadan kaldırılması ve kalan miktarın boyanarak renklenmesine dayanan Yi-Sun'un 1988'de tanımladığı ksantin ksantin oksidaz (XO) ile O_2^- oluşturması ve bunun da NBT ile renkli bir bileşik oluşturarak bu renk şiddetinin spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Doku $\frac{1}{2}$ oranında distile su ile homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenize edilen doku 5000xg'de +4 °C'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Daha sonrasında ise süpernatant kloroform-etanol karışımıyla (1/1) oranında karıştırılmıştır. Elde edilen doku daha sonra +4 °C'de 5000 xg'de 2 saat santrifüj edilmiştir. Daha sonra total SOD için her tüpe 2,9 mL reaktif karışımı + 50 µl numune + 50 µL XO konulmuştur. 25°C'de 20 dakika inkübe edildikten sonra her birine 0,8 mM $CuCl_2$ 'den 1 mL eklenmiş olup, 560 nm'de distile su körüne karşı okunmuştur.

Hesaplama: % inhibisyon = $[(Kör\ abs - numune\ abs) / kör\ abs] \times 100$

Hesap %50 inhibisyonu 1Ü aktivitesinin sağladığı düşünülerek yapılmaktadır. Doku enzim miktarı, Cayman SOD kiti kullanılarak tayin edildi ve daha sonra Bradford metodu ile protein düzeyi mg olarak hesaplanmış olup SOD aktivitesi sonuçları U/mg protein olarak verildi.

3.3.2. Katalaz aktivitesi tayini (CAT)

Bu yöntem, hidrojen peroksitin (H_2O_2) yıkımı esasına dayanmaktadır. Doku homojenizasyonunda dokunun gramı başına 5-10 ml soğuk tampon kullanılmıştır. Tampon 50 mM potasyum fosfat, pH 7,0 ve 1 mM EDTA içermektedir. 10,000xg'de 15 dakika + 40°C'de santrifüj sonrası süpernatant alınmıştır ve deneye kadar -80 °C'de saklanmıştır. Enzimin metanol (CH_3OH) ile reaksiyonunda optimal konsantrasyonunda H_2O_2 oluşumu temeldir. Üretilen formaldehit kromojen olarak 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1,2,4-triazole (Purpald) ile spektrotometrik olarak ölçülmüştür.

3.3.3. Glutasyon peroksidaz tayini (GPx)

Bu çift enzim yöntemi, GPx ile hidrojen peroksitin (H_2O_2) redüksiyonunu ve glutasyon redüktaz ile NADPH'nin NADP'ye oksidasyonunu içermektedir. Enzim aktivitesi 37°C'de NADPH'nin NADP'ye oksidasyonu sonucunda reaksiyon içeriğinin optik dansitesinde azalma olması ile belirlenmektedir. Ticari kitlerde, glutasyon redüktaz içeriğinin ile çift reaksiyona giren GPX aktivitesinin indirekt olarak ölçmektedir. GPx tarafından hidroperoksit azaltılması ile üretilen okside glutasyon, azaltılmış halde GR ve NADPH olarak geri kazanılmaktadır.

3.3.4. Doku protein tayini

Bradford metoduyla, sığır serum albümini standart kabul edilerek çalışma yapılmıştır. Standart, Bovin Serum Albumin 1mg/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. 10 µl süpernatant + 90 µl s distile su + 2ml reaktif karışımı ilave edilmiştir ve 20 dk oda ısısında bekletilmiştir. 200 µl folin eklendikten sonra vortekslenen karışım 40 dk oda ısısında bekletildikten sonra 750 nm'de köre karşı spektrofotometrede okutulmuştur.

Hesap: $DU/DS \times \text{Std kons.} = \text{mg/ml olarak verilir.}$

DU= numune optik dansitesi

DS= standart optik dansitesi

Std. Kons. = standart konsantrasyonu

Elde edilen deney sonuçlarının değerlendirilmesi amacıyla; SOD, CAT ve GPx ve total protein tayini sonuçları deney grupları arasındaki farkların tespiti için normal dağılım ve varyasyonların homojenliği testlerinden geçirilmiştir. Bu şartları sağlayanlar T-testi ve tek yönlü ANOVA ile sağlamayanlar ise; bunların non-parametrik Mann-Whitney U ve

Kruskall Wallis H testleri ile analiz edilerek anlamlılık düzeyleri GraphPad istatistik veri analiz programıyla belirlenmiştir.

3.3.5. Toplam Antioksidan Durumu (TAS)

Örneklerin toplam antioksidan durumu (TAS), Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanmaktadır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılmıştır. Dokulardaki TAS sonuçları mmol/ Trolox Equivalent/L olarak ifade edilmiştir.

3.3.6. Toplam Oksidan Durumu (TOS)

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerinin ferroz iyonunu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılmıştır. Dokulardaki TOS sonuçları $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/ L olarak ifade edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. DFB'nin *U. delicatus* Üzerindeki Etkileri

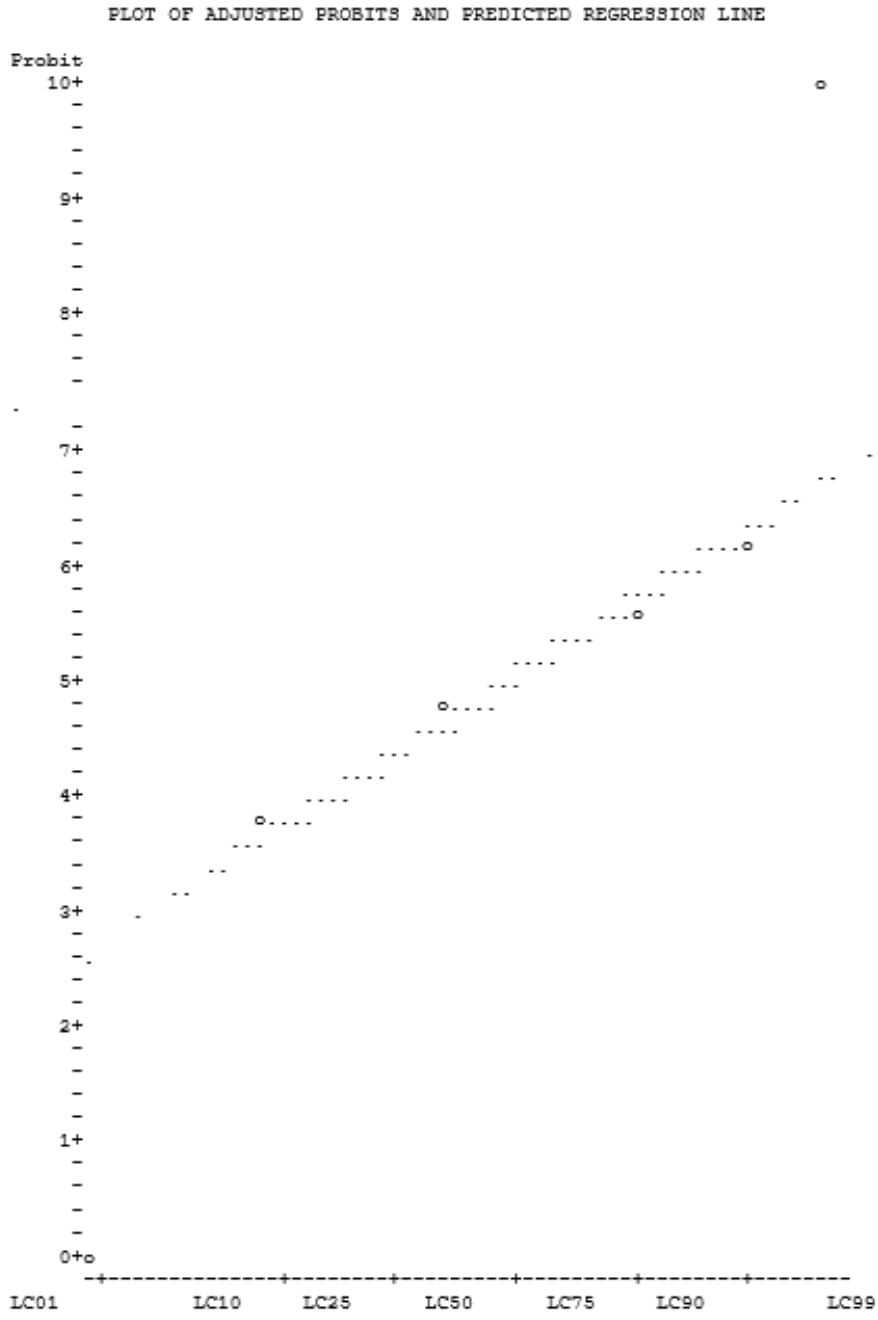
Bu çalışmada Diflubenzuron'un *U. delicatus* üzerindeki akut ve subletal konsantrasyonlardaki etkileri belirlenmiştir. 96 saatlik ortalama öldürücü konsantrasyonları saptanmıştır. Subletal etki, toksik özelliği olan kimyasal maddenin öldürücü olmayan dozlarına maruz kalıp hayatta kalan türlerde gözlenen davranışsal ve fizyolojik etkilerdir [95]. *U.delicatus* türü sucul ekosistemde biyoindikatör olarak yaygın kullanılan bir türdür [70]. Bu canlı türü kullanılarak yapılan araştırmada Diflubenzuron'un subletal etkilerinin neler olabileceği rapor edilmiştir. Toplam hemosit sayısı, toplam antioksidan durumu, toplam oksidan durumu, SOD, CAT ve GPx'in biyobelirteç olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

4.1.1. DFB'nin 96 saatlik akut toksisite bulguları

Gerçekleştirilen deneyler sonucunda Diflubenzuron'un 96 saatlik akut LC₅₀ değeri (%95 güven aralığı), *U.delicatus* türünde 123,84 mg/L (87,97-166,15 mg/L) olmak üzere belirlenmiştir. Çizelge 4.1.'de 96 saatlik tahmini LC₅₀ değerleri ve % 95'lik güven aralığı ve Şekil 4.1.'de *U.delicatus*'un 96 saatlik Diflubenzuron için hesaplanmış olan probit değerleri ve regresyon grafiği gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. 96 saatlik LC₅₀ değerleri ve % 95'lik güven aralığı

Nokta değerleri	Konsantrasyon (mg/L)	% 95 Güven aralığı
LC 1.00	27,3534	8,5408-46,4381
LC 5.00	42,5718	17,5736-64,9173
LC10.00	53,8952	25,6660-78,0739
LC15.00	63,1947	33,0105-88,7825
LC50.00	123,8450	87,9749-166,1581
LC85.00	242,7040	179,3365-406,5493
LC90.00	284,5822	205,6355-518,5596
LC95.00	360,2756	249,2923-751,3299
LC99.00	560,7202	351,1987-1534,0328



Şekil 4.1. *U.delicatus*'un 96 saatlik Diflubenzuron için hesaplanmış olan probit değerleri ve regresyon grafiği

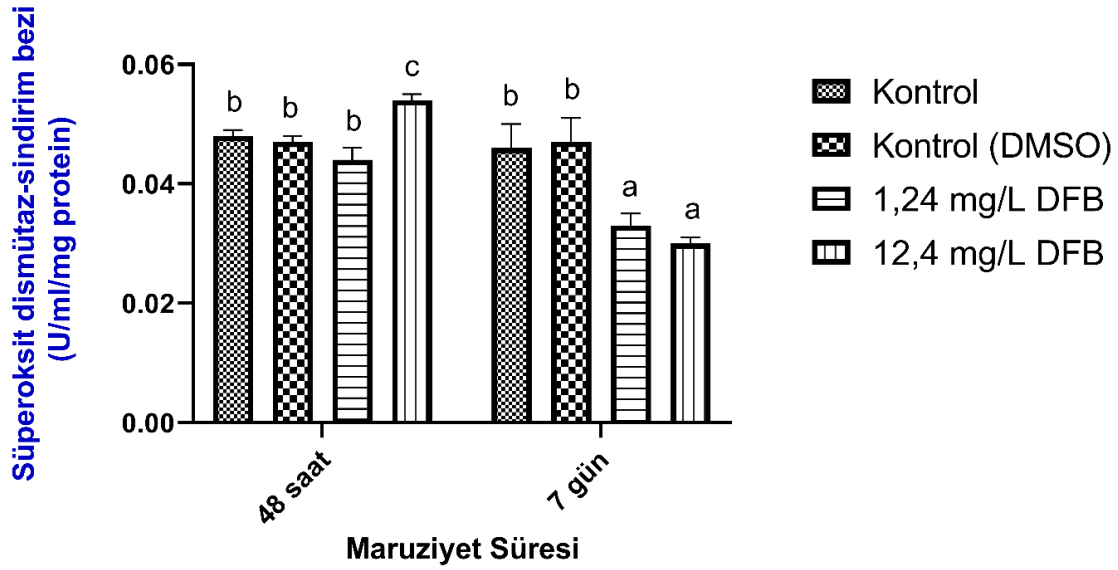
4.1.2. *U.delicatus*' un SOD biyobelirteç değerleri

U.delicatus' un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu biyobelirteç olarak uygulanan Süperoksit Dismutaz (SOD) verilerinin sindirim bezi dokunun üzerindeki istatistiksel değerleri Çizelge 4.2'de gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda Süperoksit Dismutaz (SOD) biyobelirteç değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.2). Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2' de görüldüğü üzere, Süperoksit Dismutaz (SOD) değerlerinin 48 saat süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir azalış saptanmışken ($p<0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli bir azalış saptanmıştır ($p<0,05$). 48 saat süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında istatistiksel olarak önemli bir azalış saptanmıştır ($p<0,05$). 48 saat süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) verilerinin sindirim bezi dokusunun üzerindeki değerleri (U/ml/mg protein)

Süperoksit Dismutaz (SOD) Sindirim Bezi Dokusu (U/ml/mg protein)	Süre (saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	0,048±0,001b	0,046±0,004b
Kontrol DMSO	0,047±0,001b	0,047±0,004b
1,24 mg/L DFB	0,044±0,002b	0,033±0,002a
12,4 mg/L DFB	0,054±0,001c	0,030±0,001a

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$).

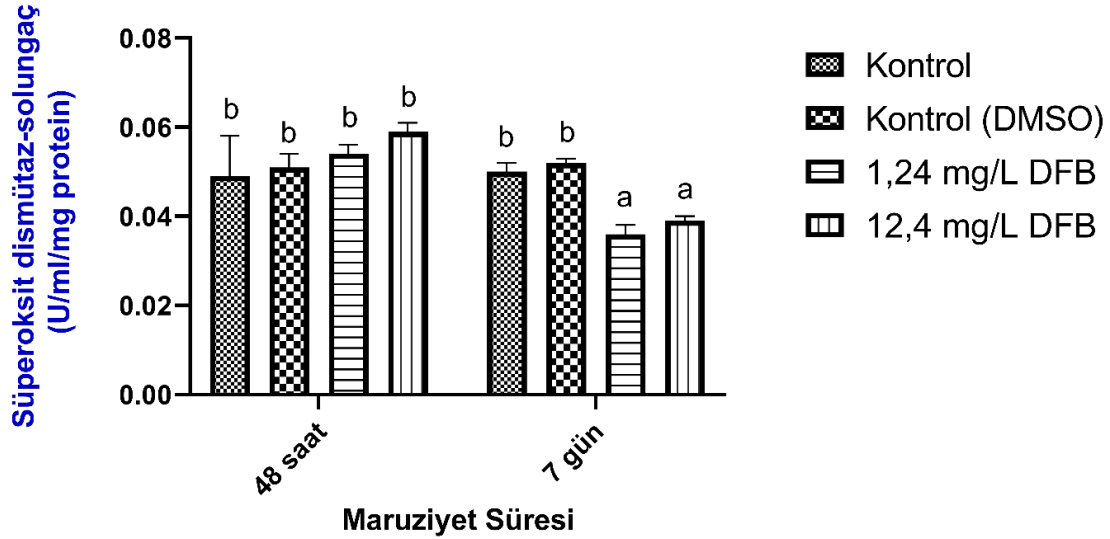
Şekil 4.2. Maruziyet sürelerine göre sindirim bezi dokusu SOD değerleri (U/ml/mg protein)

U. delicatus' un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu biyobelirteç olarak uygulanan Süperoksit Dismutaz (SOD) verilerinin solungaç dokunun üzerindeki istatistiksel değerleri Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda Süperoksit Dismutaz (SOD) biyobelirteç değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.3). Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3'te görüldüğü üzere, solungaç dokusundaki Süperoksit Dismutaz (SOD) değerlerinin 48 saat süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamışken ($p > 0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış saptanmıştır ($p < 0,05$). 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bir azalış saptanmıştır ($p < 0,05$). 48 saat süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile ve 7 gün süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bir azalış gözlenmiştir ($p < 0,05$). 48 saat süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile ve 7 gün süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ise istatistiksel olarak önemli bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) verilerinin solungaç dokusu üzerindeki değerleri (U/ml/mg protein)

Süperoksit Dismutaz (SOD) Solungaç Dokusu (U/ml/mg protein)	Süre (saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	0,049±0,009b	0,050±0,002b
Kontrol DMSO	0,051±0,003b	0,052±0,001b
1,24 mg/L DFB	0,054±0,002b	0,036±0,002a
12,4 mg/L DFB	0,059±0,002b	0,039±0,001a

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05).

Şekil 4.3. Maruziyet sürelerine göre solungaç dokusu SOD değerleri (U/ml/mg protein)

4.1.3. *U.delicatus*' un CAT biyobelirteç değerleri

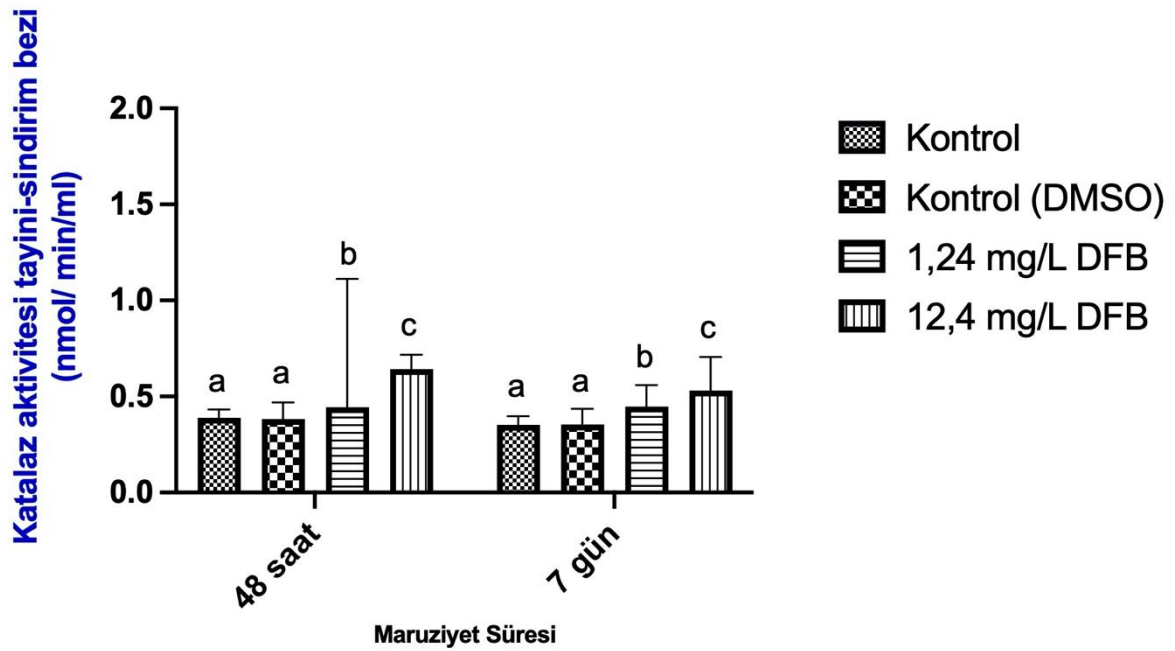
U.delicatus' un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu biyobelirteç olarak uygulanan Katalaz Aktivitesi Tayini (CAT) verilerinin sindirim bezi dokunun üzerindeki istatistiksel değerleri Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda CAT biyobelirteç değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.4). Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te görüldüğü üzere, sindirim bezi dokusundaki CAT değerlerinin 48 saat süre ile kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır (p>0,05). 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir

fark saptanmamışken ($p>0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). 48 saat ve 7 gün süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ve 48 saat ve 7 gün süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.4. CAT verilerinin sindirim bezi dokusunun üzerindeki değerleri (nmol/min/ml)

CAT Sindirim Bezi Dokusu (nmol/min/ml)	Süre (saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	0,389±0,043a	0,353±0,045a
Kontrol DMSO	0,383±0,086a	0,354±0,082a
1,24 mg/L DFB	0,444±0,669b	0,448±0,111b
12,4 mg/L DFB	0,642±0,076c	0,531±0,175c

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).

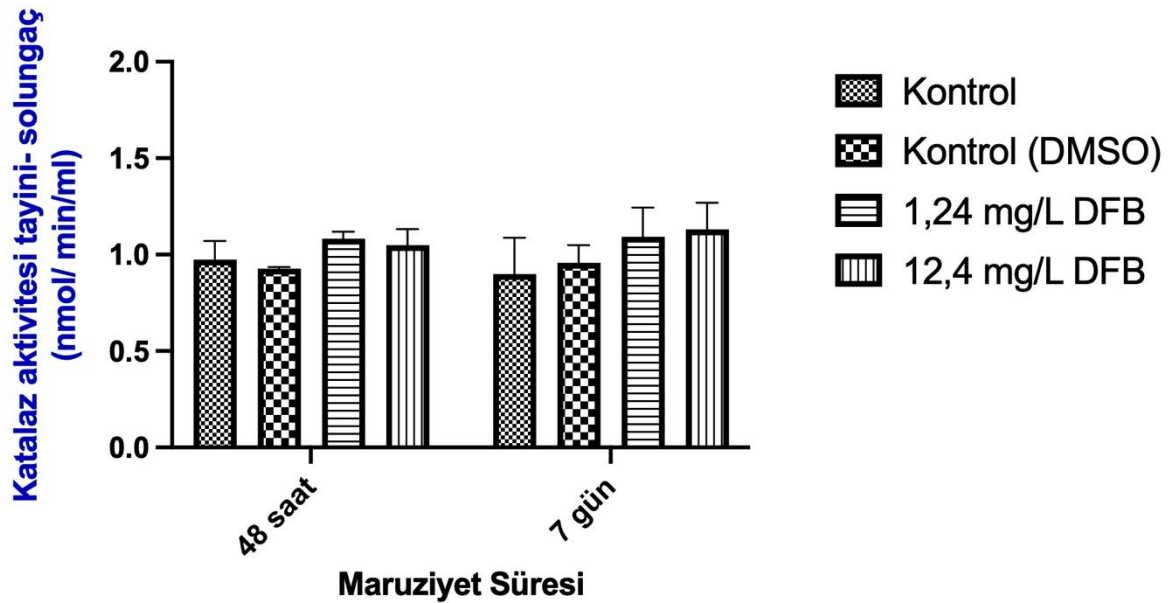
Şekil 4.4. Maruziyet sürelerine göre sindirim bezi dokusu CAT değerleri (nmol/min/ml)

U.delicatus' un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu biyobelirteç olarak uygulanan CAT verilerinin solungaç dokunun üzerindeki istatistiksel değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda CAT biyobelirteç değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.5). Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'te görüldüğü üzere, solungaç dokusundaki CAT değerlerinin 48 saat süre ile göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz

kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmışken ($p<0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). 7 gün süre ile kontrol grubuna göre 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). 48 saat ve 7 gün süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ve 48 saat ve 7 gün süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.5. CAT verilerinin solungaç dokunun üzerindeki değerleri (nmol/min/mL)

CAT Solungaç Dokusu (nmol/min/mL)	Süre(saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	0,974±0,097	0,899±0,188
Kontrol DMSO	0,927±0,008	0,958±0,091
1,24 mg/L DFB	1,082±0,037	1,093±0,152
12,4 mg/L DFB	1,049±0,084	1,131±0,138



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).

Şekil 4.5. Maruziyet sürelerine göre solungaç dokusu CAT değerleri (nmol/min/ml)

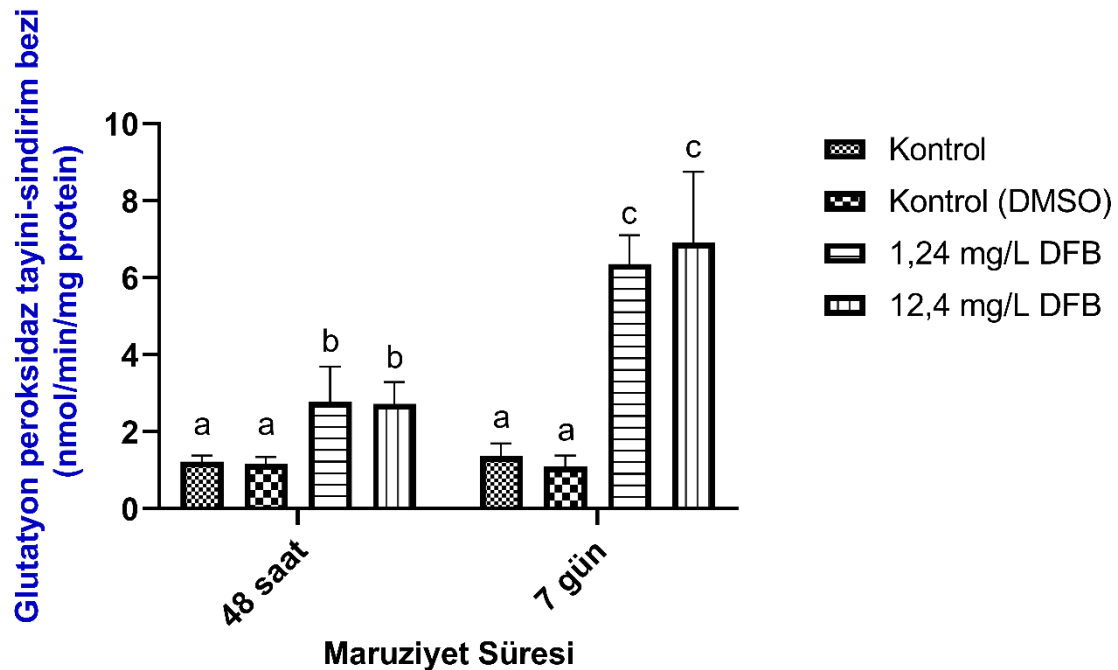
4.1.4. *U.delicatus*' un GPx biyobelirteç değerleri

U.delicatus' un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu biyobelirteç olarak uygulanan Glutasyon Peroksidaz Tayini (GPx) verilerinin sindirim bezi dokunun üzerindeki istatistiksel değerleri Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda GPx biyobelirteç değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.6). Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6' da görüldüğü üzere, sindirim bezi dokusundaki GPx değerlerinin hem 48 saat süre ile hem de 7 gün süre ile DFB'ye maruz kalan midyelerde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). 48 saat süre ile 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında da istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.6. GPx verilerinin sindirim bezi dokusunun üzerindeki değerleri (nmol/min/mg protein)

GPx Sindirim Bezi Dokusu (nmol/min/mg protein)	Süre(saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	1,224±0,158a	1,359±0,334a
Kontrol DMSO	1,165±0,172a	1,088±0,293a
1,24 mg/L DFB	2,774±0,911b	6,354±0,746c
12,4 mg/L DFB	2,722±0,569b	6,914±1,828c

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).

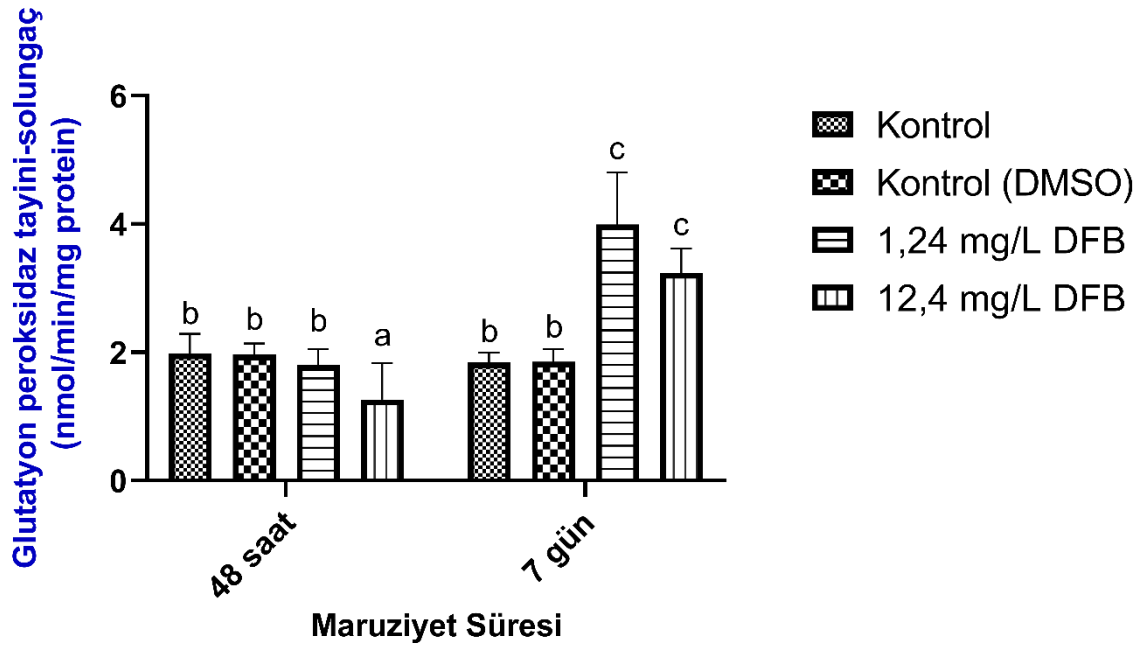
Şekil 4.6. Maruziyet sürelerine göre sindirim bezi dokusu GPx değerleri (nmol/min/mg protein)

U.delicatus' un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu biyobelirteç olarak uygulanan GPx verilerinin solungaç dokunun üzerindeki istatistiksel değerleri Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda GPx biyobelirteç değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.7). Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7'de görüldüğü üzere, solungaç dokusundaki GPx değerlerinin 48 saat süre ile göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmazken ($p>0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli bir azalış saptanmıştır ($p<0,05$). 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). 48 saat süre ile 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında da istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.7. GPx verilerinin solungaç dokunun üzerindeki değerleri (nmol/min/mg protein)

GPx Solungaç Dokusu (nmol/min/mg protein)	Süre(saat/gün)	
	48 saat	7 gün
Deney Grubu		
Kontrol	1,981±0,306b	1,842±0,152b
Kontrol DMSO	1,964±0,175b	1,851±0,201b
1,24 mg/L DFB	1,801±0,253b	3,990±0,813c
12,4 mg/L DFB	1,265±0,569a	3,236±0,379c

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Şekil 4.7. Maruziyet sürelerine göre solungaç dokusu GPx değerleri (nmol/min/mg protein)

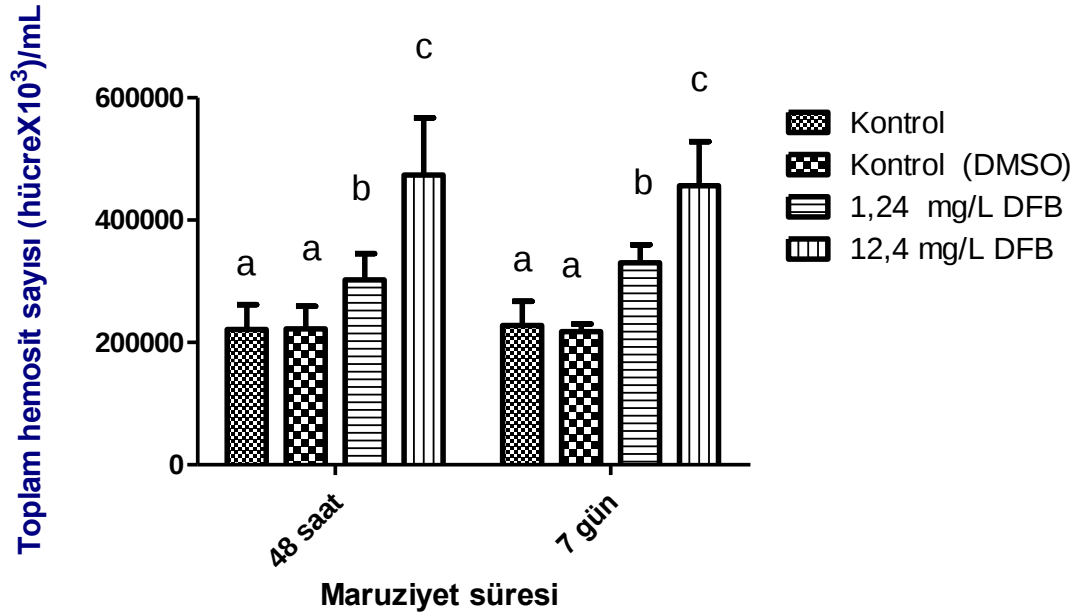
4.2. DFB'nin *U.delicatus* Hemosit Sayısının Üzerindeki Etkileri

Midyelerin umbo kısmından alınan hemolemflerin hücre sayısı hemositometre adı verilen özel mikroskop lamı sayesinde ışık mikroskopunda incelenerek elde edilen veriler rapor edilmiştir. 48 saat ve 7 gün süre boyunca 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L Diflubenzuron dozlarına maruz kalan *U.delicatus*'ların hemosit değerlerinin ortalamaları sırasıyla $302222,22 \pm 42981$ ve $330476,19 \pm 29233$ THS/mL ve $473777,77 \pm 93466$ ve $456190,47 \pm 72303$ THS/mL olarak saptanmıştır. Kontrol grubunda ise bu değer $22111,11 \pm 40823$ ve $22777,77 \pm 39550$ THS/mL'dir. Toplam hemosit miktar değerleri (THS/mL) Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. Elde edilen istatistikler sonucu maruziyet sürelerine (48 saat ve 7 gün) göre toplam hemosit sayıları grafiklendirilmiştir (Şekil 4.8). Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8'de görüldüğü üzere hemosit değerleri 48 saat ve 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır ($p < 0,05$). 48 saat boyunca 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L maruz kalanlar arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış görülmüştür ($p < 0,05$).

Çizelge 4.8. Toplam hemosit değerleri (hücre $\times 10^3$)/mL

Hemosit değerleri (hücre $\times 10^3$)/mL	Süre(saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	22111,11 $\pm$ 40823 a	22777,77 $\pm$ 39550 a
Kontrol DMSO	22222,22 $\pm$ 37257 a	21777,77 $\pm$ 12695 a
1,24 mg/L DFB	302222,22 $\pm$ 42981b	330476,19 $\pm$ 29233b
12,4 mg/L DFB	473777,77 $\pm$ 93466c	456190,47 $\pm$ 72303c

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0.05$)



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$).

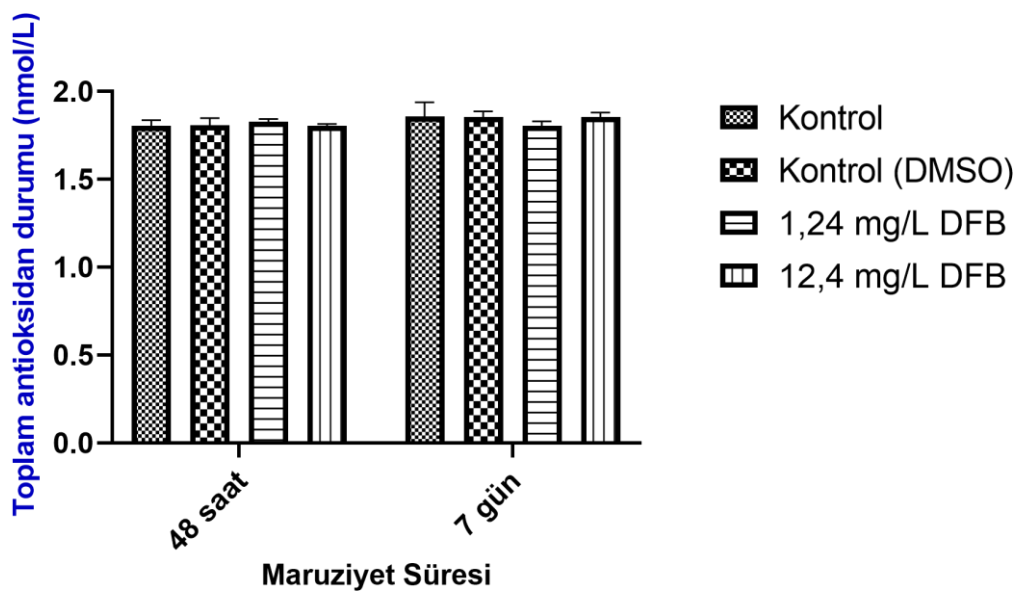
Şekil 4.8. Maruziyet sürelerine göre toplam hemosit sayısı (hücre $\times 10^3$)/ml

4.3. *U.delicatus*' un Toplam Antioksidan Durumu (TAS)

U.delicatus'un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu *U.delicatus*'un Toplam Antioksidan Durumunun (TAS) istatistiksel değerleri Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda *U.delicatus*'un Toplam Antioksidan Durumunu değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.9). Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9'da görüldüğü üzere, antioksidan durumu değerlerinin 48 saat ve 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$). 48 saat süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ve 48 saat süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında da istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.9. Toplam antioksidan durumu (TAS) (nmol/L)

Toplam antioksidan durumu (TAS) (nmol/L)	Süre (saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	1,804±0,031	1,858±0,08
Kontrol DMSO	1,805±0,042	1,853±0,033
1,24 mg/L DFB	1,825±0,018	1,803±0,026
12,4 mg/L DFB	1,802±0,012	1,854±0,025



Şekil 4.9. Maruziyet sürelerine göre TAS değerleri (nmol/L)

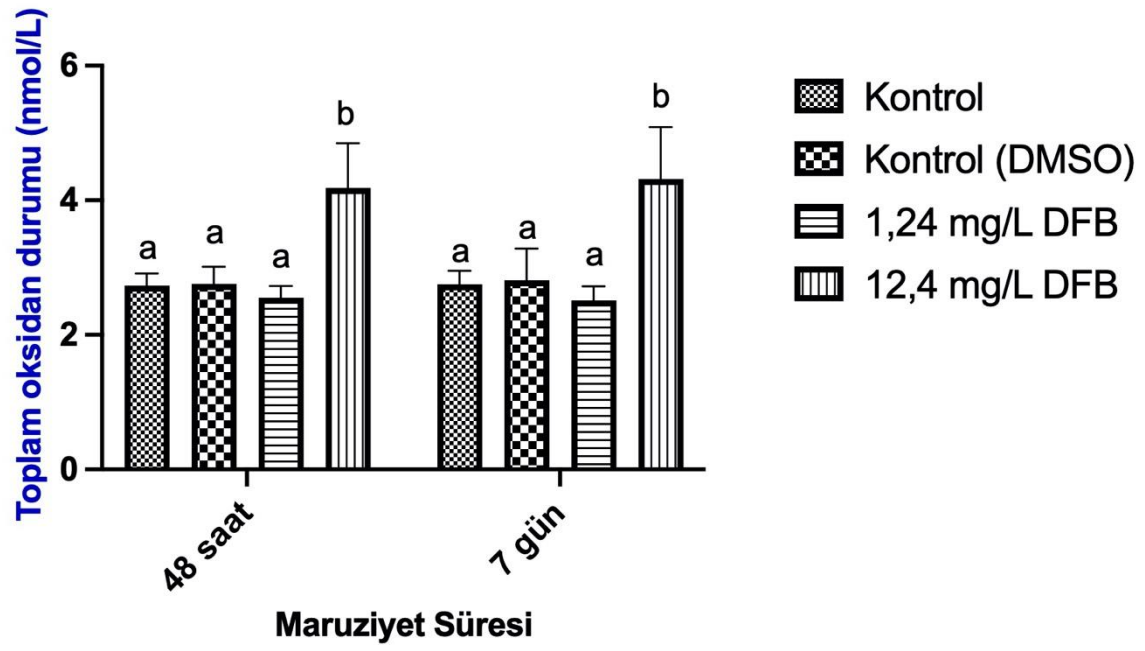
4.4. *U.delicatus*'un Toplam Oksidan Durumu (TOS)

U.delicatus'un, Diflubenzuron'a 48 saat ve 7 gün maruziyet süreleri sonucu *U.delicatus*'un Toplam Oksidan Durumu (TOS) istatistiksel değerleri Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Elde edilen bu istatistikler sonucunda *U.delicatus*'un Toplam Oksidan durumu değerleri grafiklendirilmiştir (Şekil 4.10). Çizelge 4.10 ve Şekil 4.10'da görüldüğü üzere, toplam oksidan durumu değerlerinin 48 saat süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamışken ($p>0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). Yine 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamışken ($p>0,05$), 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış saptanmıştır ($p<0,05$). 48 saat süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında ve 48 saat süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler ile 7 gün süre ile 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyeler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Çizelge 4.10. Toplam oksidan durumu (TOS) (nmol/L)

Toplam oksidan durumu TOS (nmol/L)	Süre (saat/gün)	
Deney Grubu	48 saat	7 gün
Kontrol	2,733±0,177a	2,753±0,200a
Kontrol DMSO	2,757±0,254a	2,812±0,469a
1,24 mg/L DFB	2,553±0,172a	2,513±0,208a
12,4 mg/L DFB	4,182±0,664b	4,318±0,769b

*Aynı satır ve sütunda farklı harfler (a,b,c) arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).



*Harfler arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$).

Şekil 4.10. Maruziyet sürelerine göre TOS değerleri (nmol/L)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde insektisitler tarımda, kentsel bölgelerde, kamusal binalarda, endüstride ve evlerde sıklıkla kullanılmaktadır [1]. Bu insektisitlerden biri de ticari olarak Dimilin olarak bilinen Diflubenzuron'dur.

Diflubenzuron, tüm dünyada ve Türkiye'de yaygın olarak kullanılan ve böcek gelişim düzenleyici (Insect Growth Regulator-IGR) kategorisinde bulunan bir çeşit insektisittir [8].

Diflubenzuron gibi böcek gelişim düzenleyicisi insektisitlerinin kullanımının çevrede ve odak olmayan canlılar üzerinde en az etkiye sahip olduğu düşünülse de yapılan çalışmalarda ise diflubenzuronun canlılarda toksik etkiler gösterdiği anlaşılmıştır [2,8-13,16-19].

Diflubenzuron, özellikle de tatlı ve tuzlu sularda yaşayan omurgasız canlılar üzerinde birikip, yüksek oranda toksik etki göstermektedir [19-22].

Diflubenzuronun en çok etkilediği hedef olmayan canlılar sucul omurgasızlar olmasına rağmen diflubenzuronun bu canlılardan biri olan tatlı su midyesi (*Unio delicatus*) üzerindeki etkilerine dair yapılan araştırmalara literatürde rastlanmamıştır.

Laboratuvar çalışmamızda kullanılan DFB'nin sucul canlı türü olan midyeler üzerindeki etkileri açığa çıkarılmak istenmiştir. Bu çalışmada DFB'nin tatlı su midyelerindeki (*U.delicatus*) 96 saatlik LC50 değerleri ve deney boyunca etken maddenin canlı üzerindeki davranışları gözlenmiştir. Deneylerde, DFB' nin 96 saatlik akut LC50 değeri (% 95 güven aralığı), 123,84 mg/L olarak hesaplanmıştır.

Arslan ve Günal (2023) tarafından *U.delicatus* üzerinde yapılan farklı bir çalışmada fipronilin 96 saatlik akut LC50 değeri (% 95 güven aralığı), 2,64 mg/L olarak hesaplanmıştır [94]. Sukhovskaya ve arkadaşlarının yaptığı farklı bir çalışmada ise kadmiyumun bir tür istiridye olan kum şırlanı (*Donax trunculus*) için 96 saatlik akut LC50 değeri (% 95 güven aralığı) 2,6 mg/L olarak hesaplanmıştır [96].

Çalışma bulgularımıza benzer olarak sucul canlılardan çipura, gökkuşağı alabalığı ve sarı levrek üzerinde Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı tarafından yapılan

araştırmalara göre 96 saatlik LC50 değerleri sırasıyla en düşük 129 mg/L, 136 mg/L ve 25 mg/L olarak ölçülmüştür [97]. 1997 yılında Atlantik midyesi (*Crassostrea virginica*) üzerinde yapılan araştırmaya göre ise 96 saatlik LC50 değeri 130 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu değerler yine çalışmadaki bulgularla benzerlik göstermektedir [18].

Jonsson ve arkadaşları tarafından DFB'nin bir balık türü olan Nil tilapyası için 96 saatlik akut LC50 değeri (% 95 güven aralığı) >100 mg/L olarak hesaplanmıştır [98]. Han ve arkadaşları tarafından DFB'nin zebra balığı için 96 saatlik akut LC50 değeri (% 95 güven aralığı) ise 3,5 mg/L olarak hesaplanmıştır [99]. Fischer ve Hall tarafından DFB'nin etkileri üzerine yapılan başka bir çalışmada ise DFB'nin bir balık türü olan Atlantik killi balığı için 96 saatlik akut LC50 değeri (% 95 güven aralığı) 32,99 mg/L olarak hesaplanmıştır [100].

Ay ve arkadaşlarının (2014) yapmış oldukları başka bir çalışmada ise ortalama $5,5 \pm 0,7$ cm boy ve $19,88 \pm 4,85$ g ağırlığa sahip tatlı su midyesi *Unio terminalis* kullanılarak bakırın *U.terminalis* için 96 saatlik LC50 değeri 4,65 mg/L (% 95' lik güven aralığı) olarak saptanmıştır. 96 saat süre sonunda *U.terminalis*'deki bakır birikimi, kontrol grubundaki midyelere göre artış göstermiştir ($p < 0,05$) [101].

Bu çalışmada DFB'nin 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L dozları uygulanmıştır. Deneyde kullanılan biyobelirteçlerin (SOD, CAT ve GPx), hemosit, antioksidan ve oksidan değerlerinin dozlama grubu ve kontrol grubuna göre kıyaslaması yapılmıştır.

Hemosit sayımı gibi kan parametreleri türlerin kendilerinin ve çevrelerinin sağlık durumları hakkında bilgi veren ve stres indikatörü olarak kullanılan önemli parametrelerdir [93-94,102]. Çünkü hemositlerin insanlardaki lenfositlerle aynı işlev gördüğü kabul edilmektedir [103-105]. *U.delicatus* ile yapılan subletal çalışma sonucunda, DFB'ye 48 saat ve 7 gün süresince maruz bırakılan midyelerin, maruziyet sürelerine göre toplam hemosit sayısı (hücre $\times 10^3$)/ml istatistiksel olarak önemli bir artış göstermiştir ($p < 0,05$). 48 saat ve 7 günlük 1,24 mg/L ve 12,4 mg/L'lik değerler kıyaslandığında ise istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir ($p < 0,05$). Mevcut çalışmadaki toplam hemosit sayısının artması, sistemin fiziksel ve kimyasal strese karşı bir koruma sağladığını göstermektedir [106]. Yani midyeler DFB maruzuna karşı hemosit sayılarını artırarak cevap vermiştir.

Akdağ ve arkadaşlarının (2021) yaptığı farklı bir çalışmada ortalama $5,05 \pm 0,52$ cm boy ve $33,68 \pm 7,34$ gr ağırlığa sahip tatlı su midyesi *Unio delicatus* kullanılarak, 1 mg/L ve 0,01 mg/L dozlarda uygulanan piperonil bütoksitin (PBO) kontrol gruplarına göre 24 saat sonunda toplam hemosit sayısını artırdığı ($p<0,05$), 48 saat sonunda ise azalttığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir [107].

Třešňáková ve arkadaşlarının (2020) yaptığı farklı bir çalışmada ise ortalama $5,5 \pm 0,9$ cm boy ve $30,8 \pm 6,3$ gr ağırlığa sahip tatlı su midyesi *Unio crassus* kullanılarak 10 µg/L dozda uygulanan biyosit bakır pritiyonun (CuPT) kontrol gruplarına göre 48 saat sonunda toplam hemosit sayısını artırdığı ($p<0,05$), 10 µg/L dozda uygulanan çinko pritiyonun (ZnPT) kontrol gruplarına göre 7 gün sonunda toplam hemosit sayısını artırdığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir [103]. Yapılan çalışmadaki bu sonuçlarda çalışmada kullanılan midye türü ve kullanılan kimyasal madde farklılık gösterse de midyelerin tepkileri açısından mevcut çalışmanın sonuçları ile benzerlik göstermektedir. 7 gün sonunda ise 10 µg/L dozda uygulanan biyosit bakır pritiyonun (CuPT) kontrol gruplarına göre toplam hemosit sayısını azalttığı gözlenmiştir ($p<0,05$).

Arslan (2022) tarafından yapılan bir araştırmaya göre ortalama $4,87 \pm 0,43$ cm boy ve $31,59 \pm 4,8$ gr ağırlığa sahip tatlı su midyesi *Unio delicatus* kullanılarak 1,05, 0,105, ve 0,0105 mg/L dozlarda uygulanan insektisit siflutrinin (CF), 24 saat sonunda 1,05 mg/L dozda toplam hemosit sayısını kontrol grubuna göre artırdığı ($p<0,05$), 0,105, ve 0,0105 mg/L dozlarda azalttığı ($p<0,05$), 48 saat sonunda ise tüm dozlarda toplam hemosit sayısını kontrol grubuna göre azalttığı ($p<0,05$) tespit edilmiştir [93]. Yapılan çalışmada kullanılan midye türü aynı olsa da kullanılan kimyasal madde farklılık göstermektedir.

Hemositler, midyelerin bağışıklık savunmasında kilit bir rol oynar. Metalik veya organik ksenobiyotikler, hemositler tarafından alınır ve iyi gelişmiş endolizozomal sistemler sayesinde konsantre edilir. Bu durum ksenobiyotiklerin detoksifikasyon olmalarına ya da reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumuna neden olur [109-110]. Hücre homeostazının, hücre sinyal mekanizmasının ve gen ekspresyonunun salgılanması, büyümesi ve farklılaşması gibi çeşitli hücresel fonksiyonların düzenlenmesi için ise düşük reaktif oksijen türleri seviyeleri gereklidir [111-112]. Fakat hücrede ROS miktarının aşırı artması ya da birikmesi, hücrede oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres, proteinlerin, nükleik asitlerin ve yağların peroksidasyona uğrayıp bozulmalarına, enzimlerin deaktive olmasına ve redoks

reaksiyonlarının deregölasyon olmasına neden olur. Oksidatif strese karşı hücre bazı antioksidan enzimler tarafından korunur. Bu enzimler arasında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) yer alır [113]. Oksijenli solunum yapan tüm canlılarda bu enzimler bulunur [113]. Bu enzimler ROS seviyelerinin normal konsantrasyonlarda hücrede dengede kalmasını sağlar. ROS türleri arasında ise hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH\cdot$), süperoksit ($O_2\cdot^-$), alkoksil radikali ($RO\cdot$), lipid alkoksil ($LO\cdot$), peroksil radikali ($RO_2\cdot$), ozon (O_3), lipid peroksit ($LOOH$), singlet oksijen (1O_2), hidroperoksil radikali ($HO_2\cdot$) yer alır [115].

Hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve süperoksit ($O_2\cdot^-$) gibi reaktif oksijen türleri hemolitik anemi olarak bilinen kırmızı kan hücrelerinin yapımından daha hızlı bir şekilde yok edilmesine sebep olan bir tür hastalığa sebep olmanın yanı sıra canlıda reaktif oksijen türlerinin artmasına, tetani, felç ve hatta ölüme neden olabilmektedir [14,59,113].

Süperoksit dismutaz (SOD), süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerini temizleyen antioksidan savunma mekanizmasının bir bileşenidir. SOD ayrıca oksidatif stres ile ilişkili parametrelerden en yaygın olanlardan biridir [82]. Bu çalışmada da 48 saat ve 7 gün sonunda DFB'ye maruz bırakılan *U. delicatus*'un solungaç dokusu ve sindirim bezi dokusundaki SOD oranları ölçülmüştür. Sindirim bezi dokularındaki SOD düzeyleri 48 saat süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanlarda istatistiksel olarak azalış saptanmışken, solungaç dokularında ise aynı dozdaki SOD düzeylerinde azalma olmuş fakat istatistiksel olarak bir fark gözlenmemiştir. 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde ise hem sindirim bezi hem de solungaç dokusundaki SOD düzeylerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış saptanmıştır. Hem sindirim bezi hem de solungaç dokusunda 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre her iki dozda DFB'ye maruz kalan midyelerin SOD değerlerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir azalış saptanmıştır.

Uçkun tarafından (2021) yapılan bir araştırmaya göre bir tür tatlı su midyesi olan *Unio mancus*'un fungusit tebukonazole (TEB) maruz kalması sonucunda hem solungaç dokusunda hem de sindirim bezinde kontrol grubuna göre SOD aktivitelerinin 15 µg/L, 150 µg/L ve 1500 µg/L doz uygulamalarında 96 saat sonunda önemli oranda arttığı gözlenmiştir [82]. Bu çalışmada farklı bir midye türü ve farklı tür kimyasal kullanılsa da 48 saat sonunda 12,4 mg/L DFB maruziyetinde hem solungaç hem de sindirim bezi dokusunda SOD

değerleri önemli oranda artış göstermiştir. Artan SOD aktivitesi, ROS'u ortadan kaldırmak ve oksidatif stresi azaltmak için antioksidan savunma sisteminin aktive olduğunu gösterebilir [116].

Katalaz (CAT), canlılar tarafından üretilen bir tür protein yapı da enzimdir. SOD ve GPx gibi katalaz da antioksidan savunma mekanizmasının bir bileşenidir. Katalaz, hidrojen peroksidin (H_2O_2), O_2 ve H_2O 'ya parçalanmasını sağlar [115,117]. Bu şekilde yağların peroksidasyonunu da önler [113].

Çalışmamızda, *U.delicatus*'un DFB' ye 48 saat ve 7 gün süre boyunca maruz bırakılması sonucunda sindirim bezi ve solungaç dokularında oluşan CAT düzeyleri tespit edilmiştir. 48 saat süre sonunda 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanların sindirim bezi dokusundaki CAT düzeylerinde artış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. Solungaç dokusunda ise CAT düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış saptanmıştır. 48 saat süre sonunda 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalanların hem sindirim bezi hem de solungaç dokularındaki CAT düzeylerinde artış olmasına rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalanların CAT düzeylerinde artış görülmesine rağmen hem sindirim bezi hem de solungaç dokusundaki CAT düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalanların sindirim bezi dokusundaki CAT düzeylerinde istatistiksel olarak önemli bir artış görülmüşken, solungaç dokusundaki CAT düzeylerinde ise aynı dozda artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır.

Hücresel boyutta ağır metaller oksidatif strese neden olur reaktif oksijen türlerinin oluşmasını sağlar. Boudjema ve arkadaşları tarafından (2014) ağır metal olan kadmiyum, kurşun ve bakırın kahverengi midyenin (*Perna perna*) katalaz üzerindeki etkisine yönelik yaptıkları çalışmada, midyeye maruz bırakılan ağır metallerin midyenin katalaz aktivitesini artırdığı gözlenmiştir [118]. Bu çalışmada elde edilen sonuç farklı tür midye ve etken madde kullanılmasına rağmen yapılan çalışma ile benzer sonuç göstermektedir.

Bhangale ve Mahajan tarafından (2016) yapılan başka bir araştırmada ise bir tür tatlı su midyesi olan *Lamellidens consobrinus*'un çinko sülfata ($ZnSO_4$) maruziyeti sonucu 7 gün sonunda sindirim bezinde katalaz aktivitesinin arttığı gözlenmiştir [119].

Maduenho ve Martinez tarafından (2008) yapılan başka bir araştırmada ise tatlı su balığı olan çizgili prochilodun 25 mg/L doz DFB'ye maruziyeti sonucunda 96 saat sonunda karaciğer katalaz aktivitelerinin arttığı gözlenmiştir [14].

Glutasyon peroksidaz (GPx), hidrojen peroksit ve lipid peroksit düzeylerinin azalmasını katalize eden bir antioksidan enzimdir [120]. SOD ve CAT gibi oksidatif stres ile ilişkili parametrelerin en yaygın olanlarından biridir.

Çalışmada, *U. delicatus*'un DFB' ye 48 saat ve 7 gün süre boyunca maruz bırakılması sonucunda sindirim bezi ve solungaç dokularında oluşan GPx düzeyleri de incelenmiştir. Sindirim bezi dokusundaki GPx değerleri 1,24 mg/L dozda DFB'ye maruz kalan midyelerde 48 saat süre sonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterirken, solungaç dokusundaki GPx değerlerinin kontrol grubuna göre azalış göstermesine rağmen istatistiksel olarak önemli bir fark göstermemiştir. Sindirim bezi dokusundaki GPx değerleri 12,4 mg/L dozda DFB'ye maruz kalan midyelerde 48 saat süre sonunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir artış gösterirken, solungaç dokusunda GPx değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak önemli bir azalış saptanmıştır. Hem sindirim bezi hem de solungaç dokusunda 7 gün sonunda her iki dozda DFB'ye maruz kalan midyelerin GPx değerleri kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir düzeyde artış göstermiştir. GPx enzimidaki azalma antioksidan sistemin DFB'yi yıkıcı etkisini önlemedeki başarısızlığını gösterebilir ya da hücrelerde oluşan reaktif oksijen türlerinin bu enzimin sentezine doğrudan etkisi ile ilişkili olabilir [120]. Bu çalışma da görülen GPx artışı hücrede DFB'nin neden olduğu oksidatif zarara karşı GPx'in koruyucu rolü olduğunu gösterebilir.

Uçkun tarafından (2021) yapılan bir araştırmaya göre bir tür tatlı su midyesi olan *Unio mancus*'un fungusit tebukonazole (TEB) maruz kalması sonucunda hem solungaç dokusunda hem de sindirim bezinde kontrol grubuna göre GPx aktivitelerinin 96 saat sonunda önemli oranda arttığı gözlenmiştir [82]. Benzer şekilde bu çalışmada da GPx değerleri 48 saat sonunda sindirim bezinde önemli bir oranda artış göstermiştir.

Bir organizmadaki ROS'lara karşı savaşan tüm potansiyel oksidatif sistemin toplamına toplam antioksidan durumu (TAS) denir [121]. TAS'ın ayrıca enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların toplamı olduğu varsayılmaktadır [82,122].

Çalışmada *U. delicatus*'un DFB' ye 48 saat ve 7 gün süre boyunca maruz bırakılması sonucunda midyelerin toplam antioksidan (TAS) seviyeleri de incelenmiştir. Her iki süre sonunda da TAS değerlerinde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

Uçkun tarafından (2021) yapılan bir araştırmaya göre bir tür tatlı su midyesi olan *Unio mancus*'un fungusit tebukonazole (TEB) maruz kalması sonucunda hem solungaç dokusunda hem de sindirim bezinde kontrol grubuna göre TAS seviyelerinin 96 saat sonunda hem solungaçta hem de sindirim bezinde bütün TEB uygulama dozlarında doza bağımlı olarak ve kontrole göre önemli derecede düştüğü gözlenmiştir ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Çalışmaya göre bunun sebebi TEB'in solungaç ve sindirim bezinde yarattığı oksidatif strese tepki olarak enerji tüketimi olarak açıklanmaktadır [82].

Toplam antioksidan durumu (TAS), tüm oksidatif sistemin ROS'u en aza indirme potansiyelinin bir ölçüsü olmasından dolayı ROS üretimindeki bir artış, ROS'u temizlemek için büyük miktarlarda antioksidan enzimler üretilmesine neden olduğundan dolayı bir antioksidan açığına sebep olmaktadır [123].

Çalışmada *U. delicatus*'un DFB' ye 48 saat ve 7 gün süre boyunca maruz bırakılması sonucunda midyelerin toplam oksidan (TOS) seviyeleri de incelenmiştir. 48 saat süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerdeki TOS değerlerinde azalış gözlenirse de istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerdeki TOS değerlerinde ise istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış saptanmıştır. Yine 7 gün süre ile kontrol gruplarına göre 1,24 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde azalış gözlenmesine rağmen TOS değerlerinde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerdeki TOS değerlerinde istatistiksel olarak önemli düzeyde bir artış görülmüştür.

Uçkun tarafından (2021) yapılan araştırmaya göre bir tür tatlı su midyesi olan *Unio mancus*'un fungusit tebukonazole (TEB) maruz kalması sonucunda hem solungaç dokusunda hem de sindirim bezinde kontrol grubuna göre TOS seviyesinin ise 96 saat sonunda solungaçta bütün dozlarda, sindirim bezinde 150 µg/L ve 1500 µg/L doz uygulamalarında kontrole göre önemli oranda arttığı gözlenmiştir ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Yapılan çalışmada TOS seviyelerinin artması TEB'in oksijen radikallerine bağlanarak

oluşan bileşiklerin hücrede ROS üretimini artıran ve antioksidan enzimleri inhibe eden çeşitli reaktif metabolitlere dönüştürmesine yorulmaktadır [82]. Bu çalışmada da benzer olarak 48 saat ve 7 gün sonunda 12,4 mg/L DFB'ye maruz kalan midyelerde TOS seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Bu da DFB'nin ROS seviyelerini artırdığını göstermektedir.

Dane ve Şişman tarafından (2021) farklı ağır metallerin üç farklı balık türü üzerindeki TAS ve TOS seviyelerine etkisi üzerine yapılan bir çalışmaya göre TAS seviyeleri azaldıkça, TOS seviyeleri artış göstermiştir [124].

Çalışmada yer alan deney sonuçlarına ve yapılan literatür çalışmalarına bakıldığında DFB'nin tatlı su midyesi *Unio delicatus* üzerindeki etkilerinin ilk defa incelendiği görülmektedir. Bu durum ise yapılan bu tez çalışmasını özgün hâle getirmiştir. Farklı dozlamalar ile tatlı su midyeleri üzerinde daha fazla çalışmalar yapılmalıdır.

Gerçekleştirilen bu çalışma ile ayrıca dünyada kitin sentezi engelleyici kimyasal olarak yaygın olarak kullanılan DFB'nin, tatlı su midyelerin üzerindeki etkisini araştırarak literatüre katkı sağlanmaktadır.

DFB'nin hava püskürtmesi, uçak ve hidrolik sprey araçları gibi yöntemlerle ilgili bölgeye uygulanması ve canlıların bu kimyasalı deriden emme veya soluma yollarıyla ağız ve burun gibi vücuttaki hava boşluklarıyla vücutlarına alabilmesi nedeniyle DFB canlıların vücuduna kolaylıkla giriş yapabilmesi canlıların sağlık durumları üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. DFB'nin sucul ekosistem üzerindeki etkilerinin düşük dozlarda bile gözlenebileceği yapılan araştırmalar sonucu açığa çıkarılmıştır. Kirletici kimyasalların, suda yaşayan canlılar ve çevre üzerine olan etkilerinin daha iyi anlaşılır hâle getirilmesini sağlamak için farklı türler üzerinde de bu kimyasallarla yapılan çalışmalarını arttırılması gerekmektedir.

Gittikçe artan popülasyon ile artan gıda ihtiyacı sonucunda tarım alanlarının artmasını ve insektisitlerin tarımda kullanılmasını yaygınlaştırmıştır. Kullanılan insektisitler ise çevre kirliliğine neden olmanın yanı sıra hedef olmayan canlılar üzerinde de toksik etkiler göstermektedir. Bu etkilerin araştırılması ve sonuçlara yönelik önlemler alınması ise gelecek nesillerin yaşanabilir ve temiz bir çevreye sahip olmaları için büyük önem arz etmektedir.

KAYNAKLAR

1. İnternet: Insecticides. *Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı*.. Web: <https://www.epa.gov/caddis-vol2/insecticides#tab-6> Erişim Tarihi: 03.10.2022.
2. İnternet: Insecticides. *Ulusal Pestisit Kontrol Merkezi*.. Web: <http://npic.orst.edu/ingred/ptype/insecticide.html> Erişim Tarihi: 26.09.2022.
3. İnternet: Diflubenzuron. *IPCS Environmental Health Criteria No:184*. Web: <https://incchem.org/documents/ehc/ehc/ehc184.htm> Erişim Tarihi: 15.10.2022.
4. Tudi, M., Ruan, H.D., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C. ve Phung, D.T. (2021). Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International Journal of Environment Research and Public Health*, 18(3), 1112.
5. Li, Y., Qin, Y., Yang, N., Sun, Y., Yang, X., Sun, R., Wang, Q. and Ling, Y. (2013). Studies on Insecticidal Activities and Action Mechanism of Novel Benzoylphenylurea Candidate NK-17. *PLoS ONE*, 8(6), 1-13.
6. Tiryaki, O. ve Temur, C. (2010). The Fate of Pesticide in the Environment. *Journal of Biological and Environmental Sciences*, 4(10), 29-38.
7. İnternet: Bitki Sağlığı Mühendisliği Birimi. Pestisit Uygulama Yöntemleri. *Ulusal Bitki Sağlığı Yönetim Enstitüsü*.. Web: <https://niphm.gov.in/Recruitments/ASO-PHE-Manual-NIPHM-03102013.pdf> Erişim Tarihi: 27.09.2022.
8. Fischer, S.A. and Hall, L.W. (1992). Environmental Concentrations and Aquatic Toxicity Data on Diflubenzuron (Dimilin). *Critical Reviews in Toxicology*, 22(1), 45-79.
9. İnternet: Diflubenzuron health and safety guide. *IPCS International Programme On Chemical Safety*. Web: <https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/29649/HSG99D.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Erişim Tarihi: 29.09.2022.
10. Uslu, M., Işık, O., Uslu, L. ve Ak, B. (2017). The Effect Of Diflubenzuron To The Culture Of *Scenedesmus Quadricauda* and *Phaeodactylum Tricornutum* (Phytoplankton). *Fresenius Environmental Bulletin*, 26(8), 5032-5036.
11. İnternet: Guidelines for Drinking-Water Quality, 3rd Edition including 1st and 2nd addenda. (2008). *World Health Organization (WHO)*.. Web: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241547611> Erişim Tarihi: 06.06.2023.
12. Uçkun, M. ve Uçkun, A.A. (2021). Tatlı Su Midyelerine (*Unio mancus*) İmidakloprit Uygulanmasının Solungaç ATPaz Aktiviteleri Üzerine Etkisi. *Erciyes Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 37(1), 91-98.

13. Gül, N., Yiğit, N., Yiğit, S.F., Özçelik, E.Y. and Eskizengin, H. (2022). The Effects of Diflubenzuron on Acetylcholinesterase (EC 3.1.1.7) Activity and Liver Ultrastructure in Wistar Rats. *Gazi University Journal of Science*, 36(1), 68-78.
14. Maduenho, P. L. and Martinez, B. R. C. (2008). Acute effects of diflubenzuron on the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(3), 265-272.
15. İnternet: Diflubenzuron in drinking-water: use for vector control in drinking-water sources and containers. *World Health Organization*, Web: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wash-documents/wash-chemicals/diflubenzuron-backg-2add-feb2008.pdf?sfvrsn=702b926_4 Erişim Tarihi: 07.06.2023.
16. Muzinic, V. and Zeljezic, D. (2018). Non-target toxicity of novel insecticides. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 69(2), 86-102.
17. Fischer, A. S. and Hall, W. L. (2008). Environmental Concentrations and Aquatic Toxicity Data on Diflubenzuron (Dimilin). *Critical Reviews in Toxicology*, 22(1), 45-79.
18. İnternet:. Final Human Health and Ecological Risk Assessment for Diflubenzuron Rangeland Grasshopper and Mormon Cricket Suppression Applications. *Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı (USDA)*, Web: https://www.aphis.usda.gov/plant_health/ea/downloads/2019/diflubenzuron-hhera-final.pdf Erişim Tarihi: 22.10.2022.
19. İnternet: Pesticides- Fact Sheet for Diflubenzuron. *Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (USEPA)*, Web: https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/reregistration/fs_PC-108201_1-Aug-97.pdf Erişim Tarihi: 27.09.2022.
20. Hafez, M. A. (2022) Risk assessment of resistance to diflubenzuron in *Musca domestica*: Realized heritability and cross-resistance to fourteen insecticides from different classes. *PLoS ONE*, 17(5), 1-13.
21. Norambuena-Subiabre, L., González and M.P., Contreras-Lynch S. (2016) Uptake and depletion curve of Diflubenzuron in marine mussels (*Mytilus chilensis*) under controlled conditions. *Aquaculture*, 460, 69-74.
22. Başçınar, S. N. (2009). Bentik Canlılar ve Biyoindikatör Tür. *Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü Yunus Araştırma Bülteni*, 9(1), 5-8.
23. Güler, M., Çoban, D. ve Kırım, B. (2017). *Unio terminalis* (Bivalvia: Unionidae)'in üreme biyolojisi üzerine gözlemler. *Su Ürünleri Dergisi*, 34(3), 303-309.
24. Karuppannan, P., Premalatha, P. and Saravanan, K. (2020). Freshwater Mussels (Bivalvia: Unionoida) as a biological and water quality indicator: A review. *Ecology, Environment and Conservation*, 26(2), 809-812.

25. Abay, K. Ç. (2018). Dicle Nehri'nden Toplanan *Unio delicatus* ve *Anodonta anatina* Türlerinde Ağır Metal Birikiminin Araştırılması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(1), 53-60.
26. Uçkun, A. A., Yoloğlu, E. and Uçkun, M. (2017). Seasonal Monitoring of Metals in Water, Sediment and Mussels (*Unio delicatus*) from Atatürk Dam Lake (Euprates River). *Van Veterinary Journal*, 28(2), 75-83.
27. Rice, M. E. & Ostlie, K. R. (1997). European corn borer management in field corn: a survey of perceptions and practices in Iowa and Minnesota. *Journal of Production Agriculture*, 10(4) 628-634.
28. Van Den Berg, H., Silva Bezerra, H. S., Al-Eryani, S., Chanda, E., Nagpal, N. B., Knox B. T., Velayudhan, R. and Yadav, S. R. (2021). Recent trends in global insecticide use for disease vector control and potential implications for resistance management. *Scientific Reports*, 11, 1-12.
29. İnternet: Seyahat Sağlığı. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı, Web: <https://www.seyahatsagligi.gov.tr/> Erişim Tarihi: 03.10.2022.
30. İnternet: Tree Fruit, Insect Growth Regulators. Washington State University, Web: <http://treefruit.wsu.edu/crop-protection/opm/igrs/?print-view=true> Erişim Tarihi: 03.10.2022.
31. Hoffmann, K. H. and Lorenz M. W. (1998). Recent Advances in Hormones Insect Pest Control. *Phytoparasitica*, 26(4), 323-330.
32. Tunaz, H. and Uygun, N. (2003). Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28(6), 377-387.
33. Degheele, D., Yi, S.X. and Bai, C. (1993). Toxicity of benzoylphenylureas to the African armyworm *Spodoptera exempta*. *Crop Protection*, 12(1), 35-38.
34. Miyatoma, J., Hirano, Y. T. and Hatakoshi, M. (1993). Insect growth regulators for pest control, with emphasis on juvenile hormone analogs: Present status and future prospects. *ACS Symposium Series*, 52(11), 144-168.
35. İnternet: Diflubenzuron. (2002). PubChem, Web: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diflubenzuron> Erişim Tarihi: 27.09.2022.
36. Özmen, D. ve Kılınçer, N. (2002). Diflubenzuron ve hexaflumuron'un *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) larvalarına etkileri üzerinde araştırmalar. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 26(1), 21-32.
37. Göktay, M. ve Kısımalı, Ş. (1990). Diflubenzuron'un Böcekler Üzerindeki Etkileri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 14(1), 53-64.
38. İnternet: Eisler, Ronald. (1997). A Synoptic Review. Contaminant Hazard Reviews Report 25. *Diflubenzuron Hazards to Fish, Wildlife, and Invertebrates*, Web: <https://apps.dtic.mil/sti/pdfs/ADA322729.pdf> Erişim Tarihi: 02.10.2022.

39. İnternet: 4-Chlorophenyl isocyanate. (2002). PubChem, Web: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Chlorophenyl-isocyanate> Erişim Tarihi: 07.11.2022.
40. İnternet: 2,6-Difluorobenzamide. (2002). PubChem, Web: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_6-Difluorobenzamide Erişim Tarihi: 07.11.2022.
41. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO). (17-26 Eylül 2001). *Pesticide residues in food 2001*. Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticides Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group, Geneva,.
42. Grunert, R., Box, E., Garrett, K., Yabsley, M. and Cleveland, C. (2022). Effects of Temephos (Abate®), Spinosad (Natular®), and Diflubenzuron on the Survival of Cyclopoid Copepods. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 106(3), 818-822.
43. Julin, M. A. and Sanders, O. H. (1978). Toxicity of the IGR, Diflubenzuron, to Freshwater Invertebrates and Fishes. *Mosquito News*, 38(2), 256-259.
44. İnternet: Diflubenzuron. Agrochem, Web: <https://www.agrochem.es/en/products/type/pest-disease-control/insecticides/diflubenzuron> Erişim Tarihi: 02.10.2022.
45. Pusztahelyi, T. (2018). Chitin and chitin-related compounds in plant–fungal interactions. *Mycology*, 9(3), 189-201.
46. Grosscurt, A.C. (1980). Some physiological aspects of the insecticidal action of diflubenzuron, an inhibitor of chitin synthesis. *Laboratory of Entomology*, 7-103.
47. Kavur, H., Deveci, Ö. ve Boyacıoğlu, H. (2011). The Effects of Chitin Synthesis Inhibitor, Diflubenzuron on the Larvae of *Culex pipiens* (L.) and *Culiseta longiareolata* (Macquart) (Diptera: Culicidae). *Türkiye Parazitooloji Dergisi*, 35(3), 154-158.
48. Ascher, S. R. K. and Nemny, E. N. (1976). Contact Activity of Diflubenzuron Against *Spodoptera littoralis* Larvae. *Pesticide Science*, 7(5), 447-452.
49. Mulder, R. and Gijswijt J. M. (1973). The Laboratory Evaluation of Two Promising New Insecticides Which Interfere with Cuticle Deposition. *Pesticide Science*, 4(5), 737-745.
50. İnternet: Diflubenzuron. Beyond Pesticides, Web: <https://www.beyondpesticides.org/assets/media/documents/pesticides/factsheets/Diflubenzuron.pdf> Erişim Tarihi: 30.10.2022.
51. İnternet: 4-Chloroaniline. (2002). PubChem, Web: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Chloroaniline> Erişim Tarihi: 04.10.2022.

52. İnternet: 4-Chlorophenylurea. (2022). *PubChem*, Web: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Chlorophenylurea> Erişim Tarihi: 04.10.2022.
53. Moe, J. S., Hjermann, O. D., Ravagnan, E. and Bechmann, K., R. (2019). Effects of an aquaculture pesticide (diflubenzuron) on non-target shrimp populations: Extrapolation from laboratory experiments to the risk of population decline. *Ecological Modelling*, 413.
54. İnternet: Methemoglobinemi. *TIPlopedi*, Web: <https://tiplopedi.com/Methemoglobinemi> Erişim Tarihi: 04.10.2022.
55. Korkmaz, L., Korkut, S., Baştuğ, O., Özdemir, A. ve Öztürk A. M. (2017). Üç Günlük Yenidoğanda Methemoglobinemi; Olgu Sunumu. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 13(3), 145-148.
56. Karavelioğlu, A. ve Şen A. T. (2012). Lokal Prilokaine Bağlı Methemoglobinemi: Olgu Sunumu. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(4), 304-308.
57. Miura, T. and Takahashi, R. M. (1974). Insect Development Inhibitors; Effects of Candidate Mosquito Control Agents on Non-target Aquatic Organism. *Environmental Entomology*, 3(4), 631–636.
58. Maduenho, P. L. and Martinez, B. R. C. (2008). Acute effects of diflubenzuron on the freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(3), 265-272.
59. Kirby, M.F., Morris, S., Hurst, M., Kirby, S.J., Neall, P., Tylor, T. and Fagg, A. (2000). The Use of Cholinesterase Activity in Flounder (*Platichthys flesus*) Muscle Tissue as a Biomarker of Neurotoxic Contamination in UK Estuaries. *Marine Pollution Bulletin*, 40(9), 780-791.
60. Olsvik, A. P., Samuelsen, B. O., Erdal, A., Holmelid, B. and Lunestad, T. B. (2013). Toxicological assessment of the anti-salmon lice drug diflubenzuron on Atlantic cod *Gadus morhua*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 105(1), 27-43.
61. Njimeria, E. M. (2015). *Shell Morphology of the Unionid Mussels (Anodonta anatine, Unio pictorum and U. tumidus) in Relation to Gender and Trematode parasitism*. Jyväskylä University, Faculty of Mathematics and Science, Department of Biological and Environmental Science, Jyväskylä.
62. Yalçın, M. (2006). *Tatlı su midyesi (Unio pictorum Linnaeus, 1758)'nin büyüme, kondisyon ve biyokimyasal parametreleri üzerine çevresel faktörlerin etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
63. İnternet: Unionidae *Britannica*, Web: <https://www.britannica.com/animal/Unionidae> Erişim Tarihi: 07.10.2022.
64. Çoşkun, T., Qaranjiki, A. ve Doğankaya, L. (2019). Sinop Karasu Çayı Tatlısu Midyelerinin (*Unio crassus*, Philipsson, 1788) Bazı Biyometrik Parametrelerinin Değerlendirilmesi. *Anadolu Çevre ve Hayvancılık Bilimleri Dergisi*, 4(2), 174-181.

65. Moteka, E.N. (2015). *Shell morphology of the unionid mussels (Anodonta anatina, Unio pictorum and U. tumidus) in relation to gender and trematode parasitism*. University of Jyväskylä, Faculty of Mathematics and Science, Department of Biological and Environmental Science, Jyväskylä.
66. Vaughn, C. C., Christine, C. and Hakenkamp, C. (2001). The functional role of burrowing bivalves in freshwater ecosystems. *Freshwater Biology*, 46(11), 1431-1446.
67. Geist, J. (2010). Strategies for the conservation of endangered freshwater pearl mussels (*Margaritifera margaritifera* L.): a synthesis of Conservation Genetics and Ecology. *Hydrobiologia*, 644(1), 69–88.
68. İnternet: *Unio delicatus*. *Dünya Doğayı Koruma Birliği*, Web: <https://www.iucnredlist.org/species/22737/42466471> Erişim Tarihi: 07.10.2022.
69. Ravera, O., Cenci R., Beone, M. G., Dantas, M. and Lodigiani, P. (2003). Trace element concentrations in freshwater mussels and macrophytes as related to those in their environment. *Journal of Limnology*, 62(1), 61-70.
70. Van Hassel, J. H. and Farris, L. J. (2007). A review of the use of Unionid mussels as biological indicators of ecosystem health. *Freshwater Bivalve Ecotoxicology*, 19-50.
71. İnternet: MolluscaBase. Web: <https://www.molluscabase.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1422425> Erişim Tarihi: 11.02.2023.
72. Singer, M. M. and Tjeerdema, R. S. (1993). Fate and effects of the surfactant sodium dodecyl sulfate. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 133, 95-149.
73. Cowan-Ellsberry, C., Belanger, s., Dorn, P., Dyer, S., McAvoy, D., Sanderson, H., Versteeg, D., Ferrer, D., Stanton, K. (2014). Environmental safety of the use of major surfactant classes in North America. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(17), 1893-1993.
74. Banks, G. K. (2015). *Acute toxicity testing on freshwater mussels (bivalvia: unionidae) and freshwater snails (gastropoda: caenogastropoda)*. University of Troy, Faculty of Mathematics and Science, Department of Biological and Environmental Science, Alabama.
75. Render, J. (1990). Effect of sodium dodecyl sulfate on polar lobe formation and function in *Ilyanassa* obsolete embryos. *Journal of Experimental Zoology*, 253(1), 30-37.
76. Graney, R. L. and Giesy, J. P. Jr. (1988). Alterations in the oxygen consumption, condition index and centration of free amino acids in *Corbula fluminea* (Mollusca: Pelecypoda) exposed to sodium dodecyl sulfate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7(4), 301-315.

77. Kelly, V. R., Lovett, G. M., Weathers, C. K., Findlay, E. G. S., Strayer, D. L., Burns, J. D. and Likens, G. E. (2008). Long-Term Sodium Chloride Retention in a Rural Watershed: Legacy Effects of Road Salt on Streamwater Concentration. *Environmental Science & Technology*, 42(2), 410–415.
78. Karraker, E. N., Gibbs, P. J. and Vonesh, R. J. (2008). Impacts of road deicing salt on the demography of vernal pool-breeding amphibians. *Ecological Applications*, 18(3), 724–734.
79. Kaushal, S. S., Groffman, P. M., Likens, G. E., Belt, K. T., Stack, W. P., Kelly, V. R., Band, E. L. and Fisher, G. T. (2005). *Increased salinization of fresh water in the northeastern United States*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102(38), 13517-13520.
80. Romano, N. and Zeng, C. (2007). Acute toxicity of sodium nitrate, potassium nitrate and potassium chloride and their effects on haemolymph composition and gill structure of early juvenile blue swimmer crabs, *Portunus pelagicus* (Linnaeus, 1758) (Decapoda, Brachyrua, Portunidae). *Environmental Toxicology and Chemistry*, 26(9), 1955-1962.
81. İnternet: Ambient Water Quality Criteria for Chloride-1988. (1988). *Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı* (USEPA), Web: <https://www.epa.gov/sites/default/files/2018-08/documents/chloride-aquatic-life-criteria-1988.pdf> Erişim Tarihi: 11.02.2023.
82. Uçkun, M. (2021). Fungusit tebukonazolün tatlı su midyelerine (*Unio mancus*) toksik etkilerinin çoklu biyobelirteçlerle incelenmesi. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques*, 6(3), 284-297.
83. Hotelier, T., Renault, L., Cousin, X., Negre, V., Marchot, P. and Chatonnet, A. (2004). ESTHER, the database of the a/b-hydrolase fold superfamily of proteins. *Nucleic Acid Research*, 32, 145-147.
84. Guilhermino, L., Lacerda, M. N., Nogueira, A. J. A. and Soares, A. M. V. M. (2000). In vitro and in vivo inhibition of *Daphnia magna* acetylcholinesterase by surfactant agents: possible implications for contamination biomonitoring. *Science of The Total Environment*, 247(2), 137-141.
85. Van Rensburg, S.J., Carstens, M.E., Potocnik, F.C.V., Van Der Spuy, G., Van Der Walt, B.J. and Taljaard, J.J.F. (1995). Transferrin C2 and Alzheimer's disease: Another piece of the puzzle found? *Medical Hypotheses*, 44(4), 268-272.
86. Dang, Z., Lock, R. A. C., Flik, G. and Wendelaar Bonga, S. E. (2000). Na⁺/K⁺-ATPase Immunoreactivity in Branchial Chloride Cells of *Oreochromis Mossambicus* Exposed To Copper. *The Journal of Experimental Biology*, 203(2), 379–387.
87. Yoloğlu, E. (2019). Assessment of Na⁺/K⁺-ATPase, Mg²⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase, and TotalATPase Activities in Gills of Freshwater Mussels Exposed to Penconazole. *Commagene Journal of Biology*, 3(2), 88-92.

88. Kevser Yılmaz. (2019). *Sodyum Omadin'in Tatlısu Bivalvleri Üzerindeki Toksik Etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çevre Bilimleri Ana Bilim Dalı, Ankara.
89. Erdoğan, K. (2022). Sodyum Pirition'un (Sodyum Omadin) Sıçan Karaciğer ve Böbrek Dokularındaki Akut Etkileri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(1), 97-107.
90. İnternet: Methoxychlor Data Risk Profile. *Avrupa Kimyasallar Ajansı* (ECHA), Web: <https://echa.europa.eu/documents/10162/b65a738e-b50f-64e5-cbb0-f2711d49c25e> Erişim Tarihi: 18.02.2023.
91. Relyea, R. A. (2005). The Impact of Insecticides and Herbicides On The Biodiversity And Productivity Of Aquatic Communities. *Ecological Society of America*, 15(2), 618-627.
92. Molnar, N. and Fong, P. P. (2012). Toxic Effects of Copper, Cadmium, and Methoxychlor Shown by Neutral Red Retention Assay in Two Species of Freshwater Molluscs. *The Open Environmental Pollution & Toxicology Journal*, 3, 65-71.
93. Arslan, P. (2022). Determinations of the effects of cyfluthrin on the hemocytes parameters of freshwater mussel (*Unio delicatus*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 39(1), 39-45.
94. Arslan, P. and Günel, A. Ç. (2023). Does Fipronil Affect on Aquatic Organisms? Physiological, Biochemical and Histopathological Alterations of Non-Target Freshwater Mussel Species. *Water*, 15(2), 334.
95. De França, S.M., Breda, M.O., Barbosa, D.R.S., Araujo, A.M.N., and Guedes, C.A. (2017). The sublethal effects of insecticides in insects. *Biological Control of Pest and Vector Insects*, 23-39.
96. Sukhovskaya, I. V., Borvinskaya, E. V., Kochneva, A. A., Slukovsky, Z. I., Kurpe, S. R. and Fokina, N. N. (2019). Antioxidant System Response of Freshwater Mussel *Anodonta cygnea* to Cadmium Exposure. *KnE Life Sciences*, 2020, 450-467.
97. İnternet: Registrant Submitted Ecotoxicity Data. *Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı* (USEPA). Web: <https://www3.epa.gov/pesticides/endanger/litstatus/effects/redleg-frog/diflubenzuron/appendix-a.pdf> Erişim Tarihi: 19.06.2023.
98. Jonsson, M. C., Moura E Silva, G. S. M., Macedo, V. S. DAntzger, D. D., Vallim, J. H., Marigo, Al. L. S. And Aoyama, H. (2015). Prediction of a low-risk concentration of diflubenzuron to aquatic organisms and evaluation of clay and gravel in reducing the toxicity. *Pan-american Journal of Aquatic Sciences*, 10(4), 259-272.
99. Han, X., Xu, X., Yu, T., Li, M., Liu, Y., Lai, J., Mao, H., Hu, C. and Wang, S. (2022). Diflubenzuron Induces Cardiotoxicity in Zebrafish Embryos. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(19), 11932.

100. Fischer, A. S. and Hall, W. L. (2008). Environmental Concentrations and Aquatic Toxicity Data on Diflubenuron (Dimilin). *Critical Reviews in Toxicology*, 22(1), 45-79.
101. Ay, Ö., Korkmaz, C. ve Ak, M.H. (2014). Tatlısu Midyesi *Unio terminalis*'te Bakırın 96 Saatlik LC50 Değeri ile Birikim Düzeylerinin Belirlenmesi. *Eğirdir Su Ürünleri Fakültesi Dergisi*, 10(2), 29-34.
102. Günal, A.Ç., Erkmen, B., Katalay, S., Ayhan, M.M., Gül, G. and Erkoç, F. (2018). Determinations of the effects antifouling copper pyrithione on total hemocyte counts of mussel (*Mytilus galloprovincialis*). *Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 35(1), 15-17.
103. Třešňáková, N., Günal, A. Ç., Kankılıç, G. B., Paçal, E., Tavşanoğlu, Ü. N., Uyar, R. ve Erkoç, F. (2020). Sub-lethal toxicities of zinc pyrithione, copper pyrithione alone and in combination to the indicator mussel species *Unio crassus* Philipsson, 1788 (Bivalvia, Unionidae). *Chemistry and Ecology*, 36(4), 292-308.
104. Renwranzt, L.R., Siegmund, E. ve Woldmann, M. (2013). Variations in hemocyte counts in the mussel, *Mytilus edulis*: similar reaction patterns occur in disappearance and return of molluscan hemocytes and vertebrate leukocytes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 164(4), 629–637.
105. Nguyen, T.V., Alfaro, A.C., Merien F, ve Young, T. (2019). In vitro study of apoptosis in mussel (*Perna canaliculus*) haemocytes induced by lipopolysaccharide. *Aquaculture*, 503, 8–15.
106. Allam B. and Raftos, D. (2015). Immune responses to infectious diseases in bivalves. *Journal of Invertebrate Pathology*, 131, 121–136.
107. Akdağ, E., Yıldırac, A.F., Arslan, P. ve Günal, A. Ç. (2021, 2-4 September). *Total Hemocyte Counts of Freshwater Mussel (Unio delicatus Lea 1863) After Exposure to Piperonyl Butoxide*. 6th International Congress on Veterinary and Animal Sciences, Ankara.
108. Cajaraville, M. P. and Pal, S. G. (1995). Morphofunctional Study of the Haemocytes of the Bivalve Mollusc *Mytilus galloprovincialis* with Emphasis on the Endolysosomal Compartment. *Cell Structure and Function*, 20(5), 355-367.
109. Winston, G. W., Moore, M. N., Kirchin, M. A. and Soverchia, C. (1996). Production of reactive oxygen species by haemocytes from the marine mussel, *Mytilus edulis*: lysosomal localization and effect of xenobiotics. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 113(2), 221-229.
110. Ames, B.N., Shigenaga, M.K. and Hagen, T.M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(17), 7915–7922.
111. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. (1997). Lipid peroxidation in brain homogenates: the role of iron and hydroxyl radicals. *Journal of Neurochemistry*, 69(3), 1330-1331.

112. Xilan, Y., Gang, L., Chungen, W., Baoqing, H., Lirong, D., Pengzu, P. and Yanhai, X. (2011). A catalase from the freshwater mussel *Cristaria plicata* with cloning, identification and protein characterization. *Fish & Shellfish Immunology*, 31(389-399).
113. Nandi, A., Yan, L.J., Jana, C.K. ve Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2019.
114. Van Rensburg, S.J., Carstens, M.E., Potocnik, F.C.V., Van Der Spuy, G., Van Der Walt, B.J. and Taljaard, J.J.F. (1995). Transferrin C2 and Alzheimer's disease: another piece of the puzzle found?. *Medical Hypotheses*, 44(4), 268-72.
115. İnternet: Açık Ders. Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi*, Web: https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/4484/mod_resource/content/0/1.%20hafta.pdf Erişim Tarihi: 11.06.2023.
116. Boudjema, K., Kourdali, S., Bounakous, N., Meknachi, A. and Badis, A. (2014). Catalase Activity in Brown Mussels (*Perna perna*) under Acute Cadmium, Lead, and Copper Exposure and Depuration Tests. *Journal of Marine Biology*, 2014, 1-9.
117. Bhangale, S. B. and Mahajan, P. R. (2016). Catalase Activity In The Digestive Glands Of The Freshwater Mussels, *Lamellidens consobrinus* After Heavy Metal Stress. *International Journal of Recent Scientific Research*, 7(2), 8863-8866.
118. Yonar, S.M., Ural, M.Ş., Silici, S. and Yonar, M.E. (2014). Malathion-induced changes in the haematological profile, the immune response, and the oxidative/antioxidant status of *Cyprinus carpio carpio*: Protective role of propolis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102, 202-209.
119. Said, R. M. and Nassar, S. E. (2022). Mortality, energy reserves, and oxidative stress responses of three native freshwater mussels to temperature as an indicator of potential impacts of climate change: A laboratory experimental approach. *Journal of Thermal Biology*, 104.
120. Uçkun, A. A. And Uçkun, M. (2021). Evaluation of Some Biomarkers in Carp (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758) Depending on Water and Sediment Pollution of Atatürk Dam Lake. *Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 10(3), 744-753.
121. Taylor, A.M. and Maher, W.A. (2016). Developing a sentinel mollusk species for toxicity assessment: metal exposure, dose and response - laboratory v. field exposures and resident organisms. *Environmental Chemistry*, 13(3), 434-446.
122. Dane, H. and Şişman, T. (2021). Determination of oxidative, genotoxic, and histopathologic effects of metal pollution on the fish fauna inhabiting Karasu River, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*, 45, 505-516.



Gazili olmak ayrıcalıktır