

Atf İçin: İli, P. (2024). Tau-fluvalinat İçerikli Bir İnsektisitın Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin *Allium* Testi Kullanılarak İncelenmesi. *İğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 14(1), 75-86.

To Cite: İli, P. (2024). Examination of the Cytotoxic and Genotoxic Effects of A Tau-fluvalinate-containing Insecticide Using *Allium* Test. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 14(1), 75-86.

Tau-fluvalinat İçerikli Bir İnsektisitın Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerinin *Allium* Testi Kullanılarak İncelenmesi

Pınar İLİ^{1*}

Öne Çıkanlar:

- Tau-fluvalinat içerikli insektisitın *Allium cepa* kök ucu meristeminde sitotoksik ve genotoksik etkileri incelenmiştir
- Model insektisitın sitotoksikite ve genotoksikiteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır

Anahtar Kelimeler:

- Pestisit
- Tau-fluvalinat
- EC₅₀
- Sitotoksik etki
- Genotoksik etki
- Allium cepa*

ÖZET:

Günümüzde pestisitler tarımsal faaliyetlerde oldukça yaygın olarak kullanılmakta ve yoğun ve gelişigüzel kullanılmaları, pestisitlerin halk sağlığını ve ekosistemi tehdit etmesine neden olmaktadır. Birçok çevresel kirleticide olduğu gibi pestisitlerin de sitotoksik ve genotoksik etkileri yıllardır bir endişe kaynağıdır. Bu çalışmada sentetik bir piretroid olan tau-fluvalinat içerikli bir insektisitın (Mavrik® 2F) *Allium cepa* kök ucu meristemleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkileri incelenmiştir. Kök büyüme inhibisyon testi sonucunda tau-fluvalinat için etkili konsantrasyon (EC₅₀) 330 mg/L olarak bulunmuştur. Sonrasında soğan kökleri 24 saat boyunca 3 farklı tau-fluvalinat konsantrasyonuna (165, 330 ve 660 mg/L) maruz bırakılmış ve yapılan mikroskopik incelemeler ile mitotik indeks (Mİ), faz indeksi (Fİ) değerleri ve kromozom aberasyon (KA) sıklıkları hesaplanmıştır. Yapılan istatistiksel analizler neticesinde, tau-fluvalinat içerikli model insektisitın *A. cepa*'da kök uzamasını inhibe edici etki gösterdiği sonucunun yanı sıra, Mİ değerini azalttığı ve Fİ değerlerini değiştirdiği için sitotoksikiteye ve KA oluşumunu artırdığı için genotoksikiteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca model insektisitın kullanılması durumunda, *A. cepa* üzerinde 330 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonunun subletal etkilere, 660 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonunun ise letal etkilere neden olabileceği değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ışığında tau-fluvalinat içeren pestisitlerin tarımsal faaliyetlerde kullanımı esnasında çok dikkatli olunması ve toksik etkilerinin azaltılması için 165 mg/L'nin çok daha altında konsantrasyonlarının uygulanması önerilmektedir.

Examination of the Cytotoxic and Genotoxic Effects of A Tau-fluvalinate-containing Insecticide Using *Allium* Test

Highlights:

- The cytotoxic and genotoxic effects of tau-fluvalinate-containing insecticide on the root tip meristem of *Allium cepa* were investigated
- It was concluded that the model insecticide had cytotoxicity and genotoxicity

Keywords:

- Pesticide
- Tau-fluvalinate
- EC₅₀
- Cytotoxic effect
- Genotoxic effect
- Allium cepa*

ABSTRACT:

Nowadays, pesticides are widely used in agricultural activities, and their intensive and indiscriminate use causes pesticides to threaten public health and the ecosystem. As with many environmental pollutants, the cytotoxic and genotoxic effects of pesticides have been a concern for many years. In this study, the cytotoxic and genotoxic effects of a synthetic pyrethroid tau-fluvalinate-containing insecticide (Mavrik® 2F) on *Allium cepa* root tip meristems were investigated. As a result of the root growth inhibition test, the effective concentration (EC₅₀) for tau-fluvalinate was found to be 330 mg/L. Afterwards, onion roots were exposed to three different tau-fluvalinate concentrations (165, 330 and 660 mg/L) for 24 hours and mitotic index (MI), phase index (PI) values and chromosome aberration (CA) frequencies were calculated by microscopic examinations. After the statistical analyzes, as well as the conclusion that the tau-fluvalinate-containing model insecticide showed the root elongation-inhibiting effect, it was concluded that it had cytotoxicity because it decreased MI value and changed the PI values in *A. cepa* and that it had genotoxicity because it increased the formation of CA. In addition, in the case of the use of the model insecticide, it was assessed that 330 mg/L tau-fluvalinate concentration could cause sublethal effects and that 660 mg/L tau-fluvalinate concentration could cause lethal effects on *A. cepa*. In the light of the results of this study, it is recommended to be very careful during the use of pesticides containing tau-fluvalinate in agricultural activities and to apply concentrations much lower than 165 mg/L in order to reduce their toxic effects.

¹Pınar İLİ (Orcid ID: 0000-0002-3107-1798), Pamukkale Üniversitesi, Denizli Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Denizli, Türkiye

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Pınar İLİ, e-mail: pili@pau.edu.tr

GİRİŞ

Dünya nüfusu, son 100 yılı aşkın süredir katlanarak artış göstermektedir. Nitekim 1900 yılında 1.5 milyar olan ve 2000 yılında yaklaşık 6.1 milyara ulaşan dünya nüfusunun 2050 yılında hemen hemen 10 milyarı bulacağı tahmin edilmektedir (Gill ve Garg, 2014; Carvalho, 2017). Dünya nüfusunda gerçekleşen bu hızlı büyüme, gıda ihtiyacını ciddi ölçüde artırmıştır. Gıda alanında tarımsal üretimin oldukça önemli bir rolü bulunmaktadır. Nüfustaki artışa karşılık, tarım amaçlı kullanılan arazilerin sınırlı olması ve çeşitli nedenlerden dolayı zamanla azalması, gıda ihtiyacını karşılamakta ciddi bir sorun oluşturmaktadır (Gill ve Garg, 2014). Var olan arazilerden birim alan verimini artırarak maksimum ürün alma ve birçok yeni uygulamayla bu sorun ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Bu süreçte, özellikle sanayi ve teknolojiadaki gelişmeler sayesinde, tarımsal üretimdeki bitkileri ve bitkisel ürünleri, onlarda zarar oluşturan hastalıklar, zararlılar ve yabancı otlar gibi etkenlerden korumak ve böylece tarımsal üretimde verimi artırmak amacıyla pestisitler geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır (Carvalho, 2017).

Pestisitler, tarım, ormancılık, su ürünleri yetiştiriciliği ve gıda endüstrisi gibi farklı alanlarda kullanılan ve her tür zararlıyı öldürmek için tasarlanmış doğal veya sentetik maddelerdir. Pestisitlerin günümüzdeki yoğun kullanımı, bu kimyasalların halk sağlığını ve ekosistemi tehdit etmesine neden olmaktadır (Akashe ve ark., 2018). Pestisitler, çeşitli transfer süreçleriyle hedef bölgelerden diğer çevresel ortamlara geçerek son olarak sucul ekosistemlere ulaşmaktadır (Tudi ve ark., 2021). Sucul ekosistemlere girdikten sonra, tür çeşitliliği, enerji akışı ve besin zinciri gibi çeşitli ekosistem bileşenlerinde birçok değişikliğe neden olmaları sebebiyle pestisitler çevresel kaliteyi düşürebilmekte ve temel ekosistem işleyişini etkileyebilmektedir (Pérez ve ark., 2011). Ayrıca pestisitler her ne kadar hedef türlere karşı kullanılsa da çoğu zaman hedef olmayan türleri de etkileyerek (Stanley ve Preetha, 2016), çevresel açıdan endişe verici kimyasallar durumuna gelmiştir.

Kimyasal kompozisyonları ile etki şekillerine göre piretroidler, organofosfatlar, karbamatlar ve neonikotinoidler gibi sınıflara ayrılan insektisitler, böceklerle mücadele için kullanılan bir pestisit grubudur (Mao ve ark., 2012; Carvalho, 2017; Akashe ve ark., 2018). Piretroidler (örneğin, tau-fluvalinat, permetrin ve deltametrin) *Chrysanthemum cinerariaefolium* bitkisinin çiçeklerindeki doğal insektisidal bileşikler olan piretrinlerin sentetik analoglarıdır (Saillenfait ve ark., 2015; Chrutek ve ark., 2018). Çok sayıda ticari formülasyonda bulunan sentetik piretroidler zararlı böcekleri kontrol altına almak amacıyla en sık kullanılan pestisitlerdendir ve tarım, ormancılık, bahçecilik ve veterinerlik gibi çeşitli kullanım alanları mevcuttur (Saillenfait ve ark., 2015). Bu bileşikler böcek sinir sistemlerinde bulunan voltaj kapılı sodyum kanallarını hedefleyerek (Davies ve ark., 2007), membran depolarizasyonunu uzatmakta ve hedef canlıda felce, sonrasında da ölüme neden olmaktadır (Davies ve ark., 2007; Field ve ark., 2017). Oldukça etkili ve geniş spektrumlu olduğu bilinen bu sentetik piretroidler, yıllardır yoğun bir şekilde kullanılmaktaysa da birçok türde insektisit direncinin gelişmesi, memelilere, sucul organizmalara veya diğer faydalı organizmalara karşı letal veya subletal toksisiteye sahip olmaları gibi bazı sorunlar oldukça düşündürücüdür (Zhu ve ark., 2020).

Pestisitlerin de içinde yer aldığı birçok çevresel kirleticinin sitotoksik ve genotoksik etkileri yıllardır bir endişe kaynağı olmuştur. Yüksek bitkiler, özellikle de soğan (*Allium cepa*), çevresel kirleticileri tespit etmek için mükemmel genetik modeller olarak kabul edilmekte ve izleme çalışmalarında kullanılmaktadır (Leme ve Marin-Morales, 2009). *A. cepa*'nın kullanıldığı *Allium* testi, kolaylığı, düşük maliyeti, yıl boyunca uygulanabilirliği, yüksek duyarlılığı, yüksek performansı ve az sayıda büyük kromozomlara sahip olması gibi nedenlerle pestisitlerin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde sıklıkla tercih edilmektedir (Leme ve Marin-Morales, 2009). Bu çalışmada

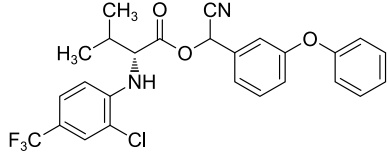
sentetik bir piretroid olan tau-fluvalinat içerikli bir insektisitın *A. cepa* kök ucu meristemleri üzerindeki potansiyel sitotoksik ve genotoksik etkileri sitogenetik yöntemler kullanılarak incelenmiştir. Mevcut çalışma, *Allium* testi kullanılarak tau-fluvalinatın mitoz bölünme üzerindeki etkisinin ve kromozom aberasyonları oluşturma potansiyelinin incelendiği ilk çalışma olması bakımından oldukça önemlidir.

MATERYAL VE METOT

Test Materyalleri

Bu çalışmada, ticari bir karışım şeklinde satın alınan ve etken maddesi piretroid tau-fluvalinat (240 g/L) (Çizelge 1) olan Mavrik® 2F model insektisit olarak kullanılmıştır. *Allium* testinde test organizması olarak kullanılan soğanlar (*A. cepa*), yerel bir pazardan temin edilmiştir.

Çizelge 1. Tau-fluvalinatın bazı özellikleri

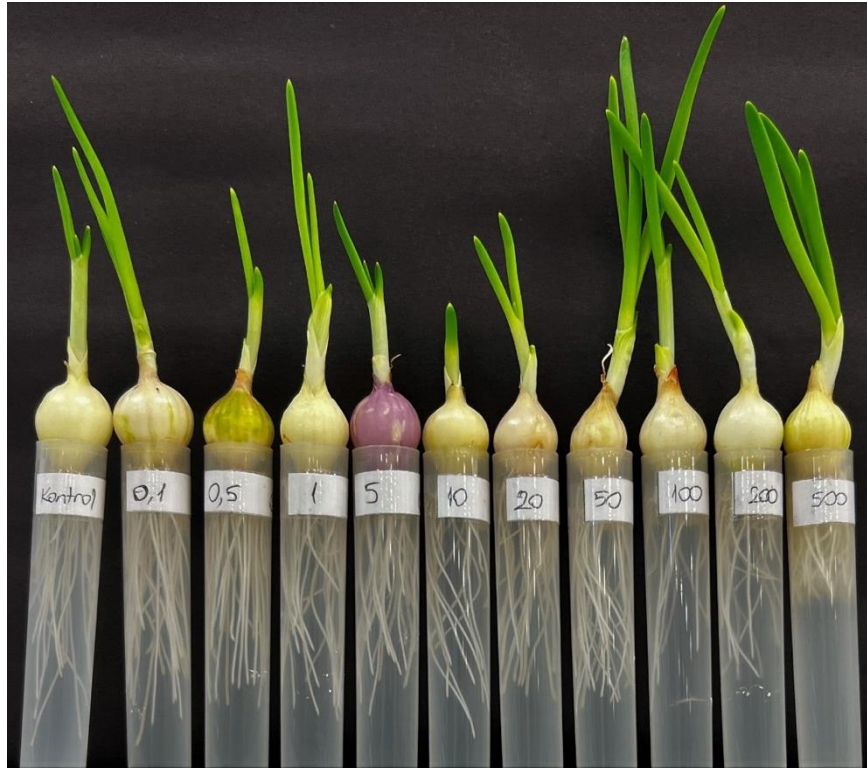
CAS no	Kimyasal adlandırma	Moleküler formül	Kimyasal yapı	Moleküler ağırlık
102851-06-9	N-[2-chloro-4-(trifluoromethyl)phenyl]-D-valine (RS)-cyano(3-phenoxyphenyl)methyl ester	C ₂₆ H ₂₂ ClF ₃ N ₂ O ₃		502.91 g/mol

Kök Büyüme İnhibisyon Testi

Birbirine yakın büyüklükteki (~2 cm çapında) soğanlar seçilerek kurumuş kabukları kök kısmına zarar vermeden soyulmuştur. Soğanlar 24 saat boyunca distile suda bekletilerek köklenmeleri sağlanmış ve sonraki maruziyetlerde kullanılacak tau-fluvalinat konsantrasyonlarının belirlenebilmesi amacıyla gerçekleştirilen büyüme inhibisyon testinde kullanılmıştır. Bu test için, temin edilen ticari insektisit karışımının distile suyla seyreltilmesi ile elde edilen stok solüsyonun (1000 mg/L) gerekli miktarlarının çeşme suyuna eklenmesi ile 10 farklı konsantrasyonda (0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200 ve 500 mg/L) tau-fluvalinat solüsyonu hazırlanmıştır. Bu konsantrasyonlara ilaveten, sadece çeşme suyu (0 mg/L tau-fluvalinat) içeren bir kontrol grubu oluşturulmuştur. Önceden köklendirilmiş olan soğanlar (her bir tau-fluvalinat konsantrasyonu ve kontrol grubu için 5 adet) hazırlanan test solüsyonları ile 96 saat boyunca oda sıcaklığında muamele edilmiştir (Şekil 1). Sürenin sonunda her bir soğana ait 10 farklı kökün uzunluğu dijital kumpas kullanılarak ölçülmüştür. Ölçümler sonucunda tau-fluvalinat için, kontrol grubuna kıyasla kök ucu uzamasını %50 azaltan etkili konsantrasyon (EC₅₀) belirlenmiştir.

Test Konsantrasyonları ve Maruziyetler

EC₅₀ değerinin belirlenmesinden sonra, 24 saat boyunca distile suda bekletilerek köklenmeleri sağlanan soğanlardan, 1/2 × EC₅₀ (165 mg/L), 1 × EC₅₀ (330 mg/L) ve 2 × EC₅₀ (660 mg/L) olmak üzere 3 farklı tau-fluvalinat konsantrasyonuna 24 saat boyunca maruz bırakılan 3 uygulama grubu oluşturulmuştur. Bu 3 uygulama grubuna ilaveten bir de kontrol grubu oluşturulmuş ve bu gruptaki soğanlar 24 saat boyunca sadece çeşme suyuna (0 mg/L tau-fluvalinat) maruz bırakılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarının her biri için 5 adet olmak üzere toplam 20 adet soğan kullanılmıştır.



Şekil 1. 96 saat boyunca farklı tau-fluvalinat konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. cepa* kök uzaması

Mikroskopik Preparasyonlar

Maruziyet süresinin sonunda her bir soğandan ~1 cm uzunluğunda 10-12 adet kök ucu steril bir bisturi ile kesilmiştir. Meristematik hücrelerde en yüksek mitotik oran sabah saat 06.00 ile 09.00 saatleri arasında tespit edilmiş olduğundan (Sharma, 1983), köklerin kesimi sabah 07.00 ile 08.00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir. Kesildikten sonra distile su ile yıkanan kök uçları Carnoy çözeltisi (3 birim etanol + 1 birim glasiyal asetik asit) içerisine alınarak 4 °C’de 24 saat boyunca fikse edilmiş ve fiksasyonu takiben kökler %70’lik alkol içerisine aktararak kullanılmaya dek 4 °C’de saklanmıştır. Mikroskopik preparatlar hazırlanırken, fikse edilen kökler 1 N hidroklorik asit (HCl) içerisine alınarak 60 °C’deki su banyosunda 7 dakika hidroliz edilmiş ve akabinde distile suya alınarak 3 defa 5 dakika (her seferinde suyu yenilemek kaydıyla toplam 15 dakika) bekletilmiştir. Daha sonra kökler %2’lik aseto-orcein ile boyanmıştır (60 °C’deki su banyosunda 5 dakika). Boyanan kökler lam üzerine alınmış ve lamel ile kapatılıp ezme-yayma preparat tekniği kullanılarak preparatlar hazırlanmıştır. Her bir soğan için 10 adet olacak şekilde hazırlanan preparatlar, tırnak cilası kullanılarak yarı daimi preparat haline getirilmiştir.

Sitotoksik ve Genotoksik Etkilerin Belirlenmesi

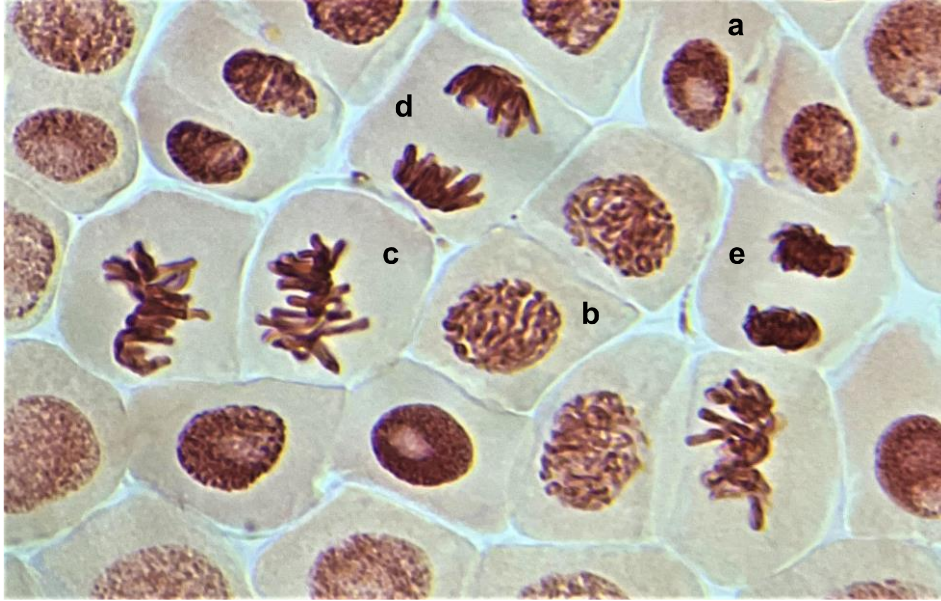
Hazırlanan kök ucu preparatlarının mikroskopik olarak incelenmesinde 4083.B5 OptikamB5 dijital kamerası bulunan B-600Ti Optika ışık mikroskobu kullanılmıştır. Her bir preparatın rastgele seçilen 5 mikroskopik alanından toplamda en az 200 olacak şekilde hücreler incelenerek mitotik indeks (Mİ) ve faz indeksi (Fİ) değerleri belirlenmiş ve bu değerler, tau-fluvalinat içerikli model insektisitinin sitotoksik etkisinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Mİ değerleri (%), Eşitlik 1 kullanılarak elde edilmiştir. Mitoz bölünmenin her bir fazı için (Şekil 2) Fİ değerleri (%), Eşitlik 2 kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca mitoz bölünme geçiren hücrelerdeki kromozom aberasyonlarının (KA) sıklığını bulmak amacıyla her bir soğan için rastgele 5 preparat seçilerek her bir preparatta en az 150 hücre incelenmiştir. Preparatların mikroskopik incelemelerinde bölünen hücrelerdeki KA değerlendirilmiş ve tespit edilenlerin sıklıkları (%), Eşitlik 3 kullanılarak saptanmıştır. Saptanan KA

sıklıkları tau-fluvalinat içerikli model insektisitın genotoksik etkisinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

$$Mİ (\%) = \left(\frac{\text{Mitoz bölünme geçiren hücre sayısı}}{\text{İncelenen toplam hücre sayısı}} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$Fİ (\%) = \left(\frac{\text{Belli bir fazdaki mitotik hücre sayısı}}{\text{Toplam bölünen hücre sayısı}} \right) \times 100 \quad (2)$$

$$KA \text{ sıklığı} (\%) = \left(\frac{\text{Belli bir aberayona sahip hücre sayısı}}{\text{Toplam bölünen hücre sayısı}} \right) \times 100 \quad (3)$$



Şekil 2. İnterfaz (a) ve mitoz bölünmenin fazları: Profaz (b), metafaz (c), anafaz (d) ve telofaz (e)

İstatistiksel Analiz

Tüm veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçların istatistiksel analizleri Minitab 16 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki anlamlı farklılıklar tek yönlü ANOVA ile test edilmiş, eğer gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edildiyse hangi grupların birbirinden farklı olduğu Tukey testi ile belirlenmiştir. Tau-fluvalinat konsantrasyonu ile kök uzunluğu ve Mİ, Fİ ve KA sıklığı değerleri arasındaki ilişkiler Pearson korelasyonu ile test edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık sınırı değeri (p) olarak 0.05 seçilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Çalışmada *A. cepa* büyüme inhibisyon testi başarıyla uygulanmıştır. 96 saatlik maruziyet sonunda soğanların köklerinde, farklı tau-fluvalinat konsantrasyonlarının kök büyümesi üzerine etkisi net bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı tau-fluvalinat konsantrasyonlarının *A. cepa* kök büyümesi üzerine etkisi. Soldan sağa doğru tau-fluvalinat konsantrasyonları: 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 20, 50, 100, 200 ve 500 mg/L

Elde edilen büyüme inhibisyon testi sonuçları Çizelge 2’de sunulmuştur. Bu sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, model insektisitın kullanılması durumunda farklı tau-fluvalinat konsantrasyonlarına maruziyetin kök uzunluklarında anlamlı farklılıklara sebep olduğu ($F_{10, 539} = 74.43$, $p < 0.001$) ve artan konsantrasyonun soğan kök büyümesi üzerinde negatif bir etkisinin olduğu ($r = -0.842$, $p = 0.001$) tespit edilmiştir. Yapılan hesaplamalar sonucu, model insektisit için tau-fluvalinatın EC_{50} değeri 330 mg/L olarak bulunmuştur.

Çizelge 2. Artan tau-fluvalinat konsantrasyonlarının *A. cepa* kök büyüme inhibisyon testi sonuçları

Konsantrasyon (mg/L)	Ortalama uzunluk \pm SS (cm)	Büyüme (%)	Büyümedeki azalma (%)
Kontrol	6.06 \pm 0.89 ^a	100.00	–
0.1	5.95 \pm 0.90 ^a	98.08	1.92
0.5	5.67 \pm 0.92 ^{ab}	93.57	6.43
1	5.53 \pm 0.83 ^{ab}	91.16	8.84
5	5.21 \pm 1.13 ^{bc}	85.86	14.14
10	4.84 \pm 1.11 ^{cd}	79.77	20.23
20	4.57 \pm 1.11 ^{de}	75.33	24.67
50	4.18 \pm 0.89 ^{ef}	68.95	31.05
100	3.57 \pm 1.08 ^{fg}	58.90	41.10
200	3.27 \pm 0.94 ^g	53.97	46.03
500	2.45 \pm 0.78 ^h	40.35	59.65

*Farklı harflere sahip ortalama kök uzunlukları birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.05$). SS: Standart sapma

Model insektisitın kullanılması durumunda, farklı tau-fluvalinat konsantrasyonlarının *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinin Mİ ve Fİ üzerindeki etkisi Çizelge 3’te özetlenmiştir. Çalışmadaki tüm grupların Mİ değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, aralarında anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır ($F_{3, 196} = 639.30$, $p < 0.001$). Uygulanan tüm tau-fluvalinat konsantrasyonları, Mİ değerinin kontrol grubuna göre daha düşük olmasına yol açmış ve tau-fluvalinat konsantrasyonu arttıkça Mİ değerindeki bu azalış daha da fazla olmuştur (Çizelge 3).

Yapılan istatistiksel değerlendirmede, artan tau-fluvalinat konsantrasyonunun Mİ üzerinde negatif bir etkisinin olduğu ($r = -0.995$, $p = 0.005$) tespit edilmiştir. Çalışmadaki tüm grupların Fİ değerleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, dört mitotik faz için de Fİ değerleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur (profaz: $F_{3, 196} = 8.76$, $p < 0.001$; metafaz: $F_{3, 196} = 2.79$, $p < 0.05$; anafaz: $F_{3, 196} = 4.94$, $p < 0.01$; telofaz: $F_{3, 196} = 37.96$, $p < 0.001$). Buna göre, 660 mg/L tau-fluvalinat maruziyeti hem kontrol grubuna hem de diğer tau-fluvalinat konsantrasyonlarına kıyasla, profaz ve metafaz Fİ değerlerinin daha yüksek, anafaz ve telofaz Fİ değerlerinin ise daha düşük olmasına yol açmıştır (Çizelge 3).

Çizelge 3. 24 saatlik tau-fluvalinat maruziyetleri sonunda *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde Mİ ve Fİ değerlerinin değişimi

	Konsantrasyon			
	Kontrol	165 mg/L	330 mg/L	660 mg/L
İncelenen hücre sayısı	11763	11802	14025	14272
Bölünen hücre sayısı	1743	1306	1042	314
Mİ ± SS (%)	14.90 ± 2.14 ^a	11.06 ± 0.65 ^b	7.39 ± 1.46 ^c	2.20 ± 1.43 ^d
Kontrolle göre %	–	74.23	49.56	14.75
Fİ ± SS (%)				
Profaz	44.21 ± 5.95 ^b	44.08 ± 8.04 ^b	39.13 ± 10.18 ^b	56.36 ± 32.00 ^a
Metafaz	23.90 ± 6.70 ^b	26.57 ± 5.90 ^{ab}	29.30 ± 7.91 ^{ab}	32.65 ± 29.35 ^a
Anafaz	14.52 ± 4.90 ^a	15.29 ± 4.49 ^a	14.57 ± 9.24 ^a	8.38 ± 17.06 ^b
Telofaz	17.37 ± 6.51 ^a	14.06 ± 8.29 ^a	17.00 ± 9.69 ^a	2.62 ± 6.91 ^b

*Farklı harflere sahip olan aynı satırdaki değerler birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.05$). Fİ: Faz indeksleri; Mİ: Mitotik indeks; SS: Standart sapma

Hücre döngüsünün mitotik fazlarındaki hücrelerin oranını temsil eden ve hücre çoğalmasının bir göstergesi olan Mİ (Ping ve ark., 2012; Ray ve ark., 2013), kimyasalların sitotoksitesini güvenle belirlemeye yönelik bir parametredir (Fiskesjö, 1985; Smaka-Kincl ve ark., 1996). Bu çalışmadaki tüm tau-fluvalinat konsantrasyonlarının Mİ değerinde ciddi bir azalmaya sebep olduğu ve konsantrasyonun artmasıyla Mİ değerinin daha da azaldığı bulgusu, tau-fluvalinat içerikli model insektisitın *A. cepa* kök ucu meristemine sitotoksik etkisinin olduğunu göstermektedir. Elde edilen Mİ sonuçlarına göre en fazla sitotoksik etkiye sahip konsantrasyonun 660 mg/L olduğu görülmektedir. Mİ değerinin azalmasına neden olduğu için kullanılan ticari insektisitın etken maddesi tau-fluvalinatın mitodepresif etkisinin olabileceğini belirtmek mümkündür. Sözü edilen bu etki, tau-fluvalinatın *A. cepa* kök ucu meristeminde hücre döngüsünü negatif yönde etkilediğine, hücrelerin profaza girmesini engellediğine ve döngüyü interfazda durdurduğuna işaret etmektedir. Nitekim Çizelge 3'e bakıldığında, incelenen toplam hücre sayısı içerisinde bölünen hücrelerin oranının artan konsantrasyonla birlikte azaldığı, interfazdaki hücrelerin oranının ise arttığı net bir şekilde görülebilmektedir. Yapılan çalışmalarda toksisite sınır değerinin %50 olduğu kabul görmekte ve bu değer baz alınarak bir toksisite değerlendirmesi yapılmaktadır. Bu değerlendirme yönteminde, uygulama grubu Mİ değerinin kontrol grubu Mİ değerinin %50'sinin altına düşmesi durumunda test edilen kimyasalın test organizması üzerinde subletal etkilere sahip olduğu, %22'sinin altına düşmesi durumunda ise letal etkilere yol açtığı yorumu yapılmaktadır (Karaismailoğlu, 2017; Mesi ve Kopliku, 2013). Bu çalışmada *A. cepa* köklerinin maruz bırakıldığı 165 mg/L, 330 mg/L ve 660 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonlarında kontrolün sırasıyla %74.23, %49.56 ve %14.75'ine tekabül eden Mİ değerleri tespit edilmiştir (Çizelge 3). Bu değerlere göre, Mavrik® 2F'nin kullanılması halinde, test organizması olan *A. cepa* üzerinde 330 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonunun subletal etkilere, 660 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonunun ise letal etkilere neden olduğu sonucuna varılabilir.

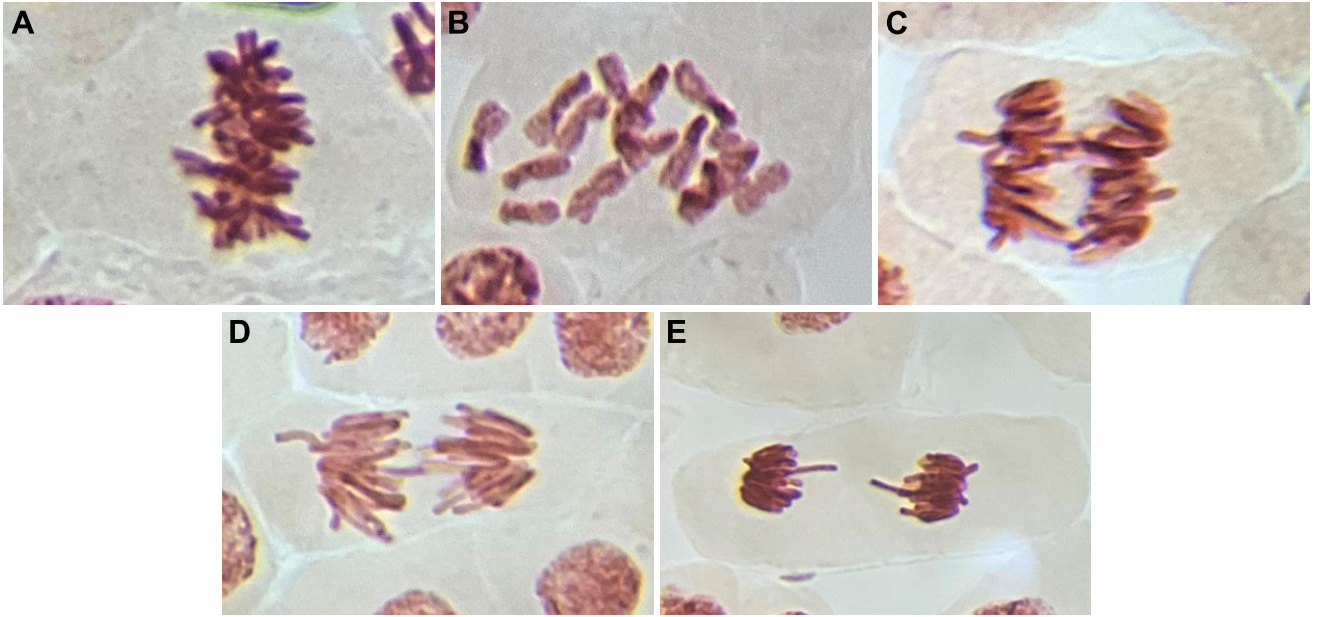
Hücre bölünmesinin farklı fazları için hesaplanan Fİ, mitoz bölünmenin inhibisyonunun incelenmesinde kullanılmaktadır (Karaismailoglu, 2017; Wijeyaratne ve Wickramasinghe, 2020). Belirli bir hücre bölünmesi fazının Fİ değerinin yüksek olması, o fazdaki hücrelerin bir sonraki faza geçmesinin, dolayısıyla da bölünmesinin normalden daha uzun sürdüğünü göstermektedir (Kwankua ve ark., 2010). Bu çalışmadaki grupların her bir mitoz bölünme fazı için Fİ değerleri analiz edilerek aralarında anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuş, detaylı incelemelerde ise tau-fluvalinat maruziyetinin mitotik Fİ değerlerinde değişikliklere neden olduğu ve bu etkinin 660 mg/L konsantrasyonda en fazla olduğu gözlenmiştir (Çizelge 3). 660 mg/L tau-fluvalinat maruziyetinde profaz ve metafaz Fİ değerleri artarken, anafaz ve telofaz Fİ değerleri azalmıştır. Fİ değerlerindeki bu değişiklikler, tau-fluvalinat içerikli model insektisitın sitotoksik etkisinden kaynaklanmış olabilir ve bu durum Mİ değerinde gözlenen düşüş ile uyumludur. Bu bağlamda, tau-fluvalinat içerikli Mavrik® 2F'nin Fİ değerleri üzerindeki etkisi, profaz ve metafazdaki engellere veya hücrelerdeki mitotik strese cevap olarak mitotik fazlardaki gecikmeye bağlanabilir (Liman ve ark., 2011).

Farklı tau-fluvalinat konsantrasyonlarının *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde KA sıklığı üzerindeki etkisi Çizelge 4'te özetlenmiştir. Yapılan mikroskopik incelemeler neticesinde hücrelerde tespit edilen KA tipleri; poliploidi, C-mitoz, kromozom köprüsü, başıboş kromozom ve kalgın kromozom aberasyonlarıdır (Şekil 4). Çalışmadaki tüm gruplar her bir KA sıklığı için istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kromozom köprüsü hariç diğer aberasyon tipleri için gruplar arasında anlamlı farklılıklar olduğu saptanmıştır (poliploidi: $F_{3,96} = 2.76$, $p < 0.05$; C-mitoz: $F_{3,96} = 35.91$, $p < 0.001$; başıboş kromozom: $F_{3,96} = 12.98$, $p < 0.001$; kalgın kromozom: $F_{3,96} = 4.00$, $p < 0.01$). Ayrıca grupların toplam KA sıklıkları arasında da anlamlı farklılıklar olduğu bulunmuştur ($F_{3,96} = 73.92$, $p < 0.001$). Buna göre, 660 mg/L tau-fluvalinat maruziyeti kontrol grubuna kıyasla, hem poliploidi ve C-mitoz sıklıklarının hem de toplam KA sıklığının istatistiksel açıdan daha yüksek olmasına yol açarken, tüm konsantrasyonlar C-mitoz ve kalgın kromozom sıklıklarını kontrole kıyasla anlamlı şekilde artırmıştır (Çizelge 4). Yapılan istatistiksel değerlendirmelerde, artan tau-fluvalinat konsantrasyonu ile poliploidi sıklığı ($r = 0.987$, $p = 0.05$), C-mitoz sıklığı ($r = 0.988$, $p = 0.05$) ve kromozom köprüsü sıklığı ($r = 0.989$, $p = 0.05$) üzerinde pozitif bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 24 saatlik tau-fluvalinat maruziyetleri sonunda *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde tespit edilen KA sıklıkları

	Konsantrasyon			
	Kontrol	165 mg/L	330 mg/L	660 mg/L
İncelenen hücre sayısı	5876	5608	4901	6797
Bölünen hücre sayısı	750	427	335	112
Ortalama KA sıklıkları \pm SS (%)				
Poliploidi	0.29 \pm 1.01 ^b	1.67 \pm 3.49 ^{ab}	3.22 \pm 3.58 ^{ab}	4.81 \pm 10.56 ^a
C-mitoz	0.33 \pm 0.94 ^d	16.25 \pm 11.85 ^c	35.59 \pm 15.07 ^b	55.27 \pm 34.77 ^a
Kromozom köprüsü	0.23 \pm 0.79	1.29 \pm 3.33	2.47 \pm 4.58	3.74 \pm 8.36
Başıboş kromozom	0.43 \pm 1.27 ^c	11.98 \pm 8.43 ^{ab}	15.64 \pm 10.06 ^a	5.66 \pm 13.27 ^{bc}
Kalgın kromozom	0.13 \pm 0.63 ^b	3.73 \pm 4.26 ^a	3.54 \pm 4.80 ^a	1.57 \pm 5.65 ^{ab}
Toplam KA sıklığı \pm SS (%)	1.41 \pm 2.12 ^c	34.92 \pm 12.79 ^b	60.46 \pm 14.98 ^a	71.04 \pm 30.12 ^a

*Farklı harflere sahip olan aynı satırdaki değerler birbirinden istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.05$). KA: Kromozom aberasyonu; SS: Standart sapma



Şekil 4. 24 saatlik tau-fluvalinat maruziyetleri sonunda *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde tespit edilen KA tipleri A) Poliploidi, B) C-mitoz, C) Kromozom köprüsü, D) Başıboş kromozom, E) Kalgın kromozom

KA, pestisitlerin genotoksik etkilerinin incelenmesinde kullanılabilen bir parametredir (Caritá ve Marin-Morales, 2008) ve bu amaçla sıklıkla kullanılmaktadır (Asita ve Matebesi, 2010; Karaismailoglu, 2017; Ünal ve ark., 2020). Bu çalışmada, tau-fluvalinat içerikli model insektisit Mavrik® 2F, *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde poliploidi, C-mitoz, kromozom köprüsü, başıboş kromozom ve kalgın kromozom aberasyonlarına sebep olmuş ve uygulanan tüm tau-fluvalinat konsantrasyonları hem farklı tipteki KA sıklıklarını hem de toplam KA sıklığını kontrol grubuna kıyasla artırmıştır. Farklı pestisitlerin genotoksik etkilerinin *Allium* testi kullanılarak incelendiği çalışmalarda, test edilen pestisitlerin KA sıklıklarını artırdıkları ve bu nedenle genotoksik potansiyele sahip oldukları bildirilmiştir (Asita ve Matebesi, 2010; Karaismailoglu, 2017; Sheikh ve ark., 2020; Ünal ve ark., 2020). Buradan hareketle, bu çalışmada test edilen tau-fluvalinat etken maddesini içeren Mavrik® 2F'nin KA'yı artırıcı etkiye sahip olduğu ve dolayısıyla da genotoksik potansiyelinin bulunduğu sonucu çıkmaktadır. Bu sonuçla uyumlu bir şekilde, test organizması olarak hayvan kullanılan bazı çalışmalarda tau-fluvalinatın genotoksik bir piretroid olduğu bildirilmiştir (Sabová ve ark., 2022; Sari, 2022). Ayrıca, genotoksik etkisinin olduğu tespit edilmiş olan sipermetrin (Kalita ve ark., 2017), permetrin (Sundaramoorthy, 2016) ve fenotrin (Nagy ve ark., 2014) gibi başka piretroidler de bulunmaktadır.

Bu çalışmada yapılan incelemelerde en sık görülen KA tipleri, C-mitoz ve başıboş kromozom aberasyonları olmuştur. C-mitoz, mikrotübüllerin bozulması nedeniyle meydana gelebileceği gibi (Fiskesjö, 1988; Odeigah ve ark., 1997), iğ ipliği oluşumundaki bozuklukların bir sonucu olarak da oluşabilmektedir (Haliem, 1990). Başıboş kromozomlar, iğ ipliklerinin düzensizliğinin bir sonucu olarak ortaya çıkmakta ve uyarılmaları yavru hücrelerin çekirdeklerinde eşit olmayan sayıda kromozomun bulunmasına yol açmaktadır (El-Ghamery ve ark., 2003). Tau-fluvalinat içeren model insektisitın hücrelerde C-mitoz ve başıboş kromozom sıklıklarını konsantrasyona bağlı bir şekilde artırması bulgusu, profaz ve metafaz Fİ değerlerini artırması ancak anafaz ve telofaz Fİ değerlerini düşürmesi bulgusuyla paralellik göstermektedir. Kalgın kromozomlar, farklı kimyasalların neden olduğu iğ ipliği oluşumundaki bozuklukların bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (Kuriyama ve Sakai, 1974; Haliem, 1990). Poliploidi, replikasyon veya kromozomların ayrılması sırasındaki değişiklikler sebebiyle meydana gelebilen bir kromozom sayısı değişikliğidir (Bonciu ve ark., 2018).

Kromozom köprüleri, homolog veya homolog olmayan kromozomlar arasındaki değişimlerden kaynaklanabilecek kromozomal yapısal değişikliklerdir ve disentrik kromozom oluşumunun veya replikasyon enzimlerinin zayıf aktivitesinin sonucunda oluşabilmektedir (Bonciu ve ark., 2018). Tüm bu gözlenen aberasyonlar, Mavrik® 2F'nin içeriğinde bulunan tau-fluvalinatın klastojenik ve anöjenik etkili olabileceğine işaret etmektedir.

SONUÇ

Bu çalışmada sentetik bir piretroid olan tau-fluvalinat içerikli Mavrik® 2F ticari inektisitinin *A. cepa* kök ucu meristem hücrelerinde gerçekleşen mitoz bölünme üzerindeki etkisi ve KA oluşturma potansiyeli ilk defa incelenmiştir. Tau-fluvalinat içerikli Mavrik® 2F'nin *A. cepa*'da kök uzamasını inhibe edici etki gösterdiği sonucunun yanı sıra, Mİ değerini azalttığı ve Fİ değerlerini değiştirdiği için sitotoksositeye, KA oluşumunu artırdığı için genotoksositeye sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca Mavrik® 2F kullanılması durumunda, *A. cepa* üzerinde 330 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonunun (EC₅₀ değeri) subletal etkilere, 660 mg/L tau-fluvalinat konsantrasyonunun ise letal etkilere neden olabileceği değerlendirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ışığında etken madde olarak tau-fluvalinat içeren pestisitlerin tarımsal faaliyetlerde kullanımı esnasında çok dikkatli olunması ve toksik etkilerinin azaltılabilmesi için 165 mg/L'nin çok daha altında konsantrasyonlarının uygulanması gerektiği önerilmektedir.

Çıkar Çatışması

Makale yazarı herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

- Akash, M. M., Pawade, U. V., Nikam, A. V. (2018). Classification of pesticides: A review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 9(4), 144-150. <https://doi.org/10.7897/2277-4343.094131>
- Asita, A. O. Matebesi, L. P. (2010). Genotoxicity of hormoban and seven other pesticides to onion root tip meristematic cells. *African Journal of Biotechnology*, 9(27), 4225-4232.
- Bonciu, E., Firbas, P., Fontanetti, C. S., Wusheng, J., Karaismailoğlu, M. C., Liu, D., Menicucci, F., Pesnya, D. S., Popescu, A., Romanovsky, A. V., Schiff, S., Ślusarczyk, J., de Souza, C. P., Srivastava, A., Sutan, A., Papini, A. (2018). An evaluation for the standardization of the *Allium cepa* test as cytotoxicity and genotoxicity assay. *Caryologia*, 71(3), 191-209. <https://doi.org/10.1080/00087114.2018.1503496>
- Caritá, R., Marin-Morales, M. A. (2008). Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of seeds to industrial effluents contaminated with azo dyes. *Chemosphere*, 72(5), 722-725. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.03.056>
- Carvalho, F. P. (2017). Pesticides, environment, and food safety. *Food and Energy Security*, 6(2), 48-60. <https://doi.org/10.1002/fes3.108>
- Chrutek, A., Hołyńska-Iwan, I., Dziembowska, I., Bogusiewicz, J., Wróblewski, M., Cwynar, A., Olszewska-Słonina, D. (2018). Current research on the safety of pyrethroids used as insecticides. *Medicina*, 54(4), 61. <https://doi.org/10.3390/medicina54040061>
- Davies, T. G. E., Field, L. M., Usherwood, P. N. R., Williamson, M. S. (2007). DDT, pyrethrins, pyrethroids and insect sodium channels. *IUBMB Life*, 59(3), 151-162. <https://doi.org/10.1080/15216540701352042>
- El-Ghamery, A. A., El-Kholy, M. A., El-Yousser, A. (2003). Evaluation of cytological effects of Zn²⁺ in relation to germination and root growth of *Nigella sativa* L. and *Triticum aestivum* L. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 537(1), 29-41. [https://doi.org/10.1016/S1383-5718\(03\)00052-4](https://doi.org/10.1016/S1383-5718(03)00052-4)
- Field, L. M., Davies, T. G. E., O'Reilly, A. O., Williamson, M. S., Wallace BA. (2017). Voltage-gated sodium channels as targets for pyrethroid insecticides. *European Biophysics Journal*, 46(7), 675-679. <https://doi.org/10.1007/s00249-016-1195-1>

- Fiskeşjö, G. (1985). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102(1), 99-112. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>
- Fiskeşjö, G. (1988). The *Allium* test-an alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 197(2), 243-260. [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(88\)90096-6](https://doi.org/10.1016/0027-5107(88)90096-6)
- Gill, H. K., Garg, H. (2014). Pesticide: Environmental impacts and management strategies. M. L. Larramendy and S. Soloneski (Ed.), *Pesticides-Toxic Aspects* (pp. 187-230). InTech. <https://doi.org/10.5772/57399>
- Haliem, A. S. (1990). Cytological effect of the herbicide senceror on mitosis of *A. cepa*. *Egyptian Journal of Botany*, 33(2), 93-104.
- Kalita, M. K., Haloi, K., Devi, D. (2017). Cypermethrin formulation (Ustad-10 EC) induces genotoxicity via apoptosis, affects nutritional physiology, and modulates immune response in silkworm *Philosamia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(3), 1010-1024. <https://doi.org/10.1093/jee/tox04447>
- Karaismailoglu, M. C. (2017). Assessments on the potential genotoxic effects of fipronil insecticide on *Allium cepa* somatic cells. *Caryologia*, 70(4), 378-384. <https://doi.org/10.1080/00087114.2017.1371992>
- Kuriyama, R., Sakai, H. (1974). Role of tubulin-SH groups in polymerization to microtubules. Functional-SH groups in tubulin for polymerization. *The Journal of Biochemistry*, 76(3), 651-654. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a130609>
- Kwankua, W., Sengsai, S., Kuleung, C., Euawong, N. (2010). Sunlight decreased genotoxicity of azadirachtin on root tip cells of *Allium cepa* and *Eucrosia bicolor*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73(5), 949-954. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2010.04.001>
- Leme, D. M., Marin-Morales, M. A. (2009). *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 682, 71-81. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2009.06.002>
- Liman, R., Ciğerci, İ. H., Akyıl, D., Eren, Y., Konuk, M. (2011). Determination of genotoxicity of Fenaminosulf by *Allium* and comet tests. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99(1), 61-64. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.10.006>
- Mao, X. J., Wan, Y. Q., Yan, A. P., Shen, M. Y., Wei, Y. L. (2012). Simultaneous determination of organophosphorus, organochlorine, pyrethroid and carbamate pesticides in *Radix astragali* by microwave-assisted extraction/dispersive-solid phase extraction coupled with GC-MS. *Talanta*, 97, 131-141. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.04.007>
- Mesi, A., Kopluku, D. (2013). Cytotoxic and genotoxic potency screening of two pesticides on *Allium cepa* L. *Procedia Technology*, 8, 19-26. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2013.11.005>
- Nagy, K., Rácz, G., Matsumoto, T., Ádány, R., Ádám, B. (2014). Evaluation of the genotoxicity of the pyrethroid insecticide phenothrin. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 770, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.05.001>
- Odeigah, P. G. C., Nurudeen, O., Amund, O. O. (1997). Genotoxicity of oil field wastewater in Nigeria. *Hereditas*, 126(2), 161-167. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1997.00161.x>
- Pérez, G. L., Vera, M. S., Miranda, L. A. (2011). Effects of herbicide glyphosate and glyphosate-based formulations on aquatic ecosystems. A. Kortekamp (Ed.), *Herbicides and Environment* (pp. 343-368). InTech. <https://doi.org/10.5772/12877>.
- Ping, K. Y., Darah, I., Yusuf, U. K., Yeng, C., Sasidharan, S. (2012). Genotoxicity of *Euphorbia hirta*: An *Allium cepa* assay. *Molecules*, 17(7), 7782-7791. <https://doi.org/10.3390/molecules17077782>
- Ray, S., Kundu, L. M., Goswami, S., Roy, G. C., Chatterjee, S., Dutta, S., Chaudhuri, A., Chakrabarti, C. S. (2013). Metaphase arrest and delay in cell cycle kinetics of root apical meristems and mouse bone marrow cells treated with leaf aqueous extracts of *Clerodendrum viscosum* Vent. *Cell Proliferation*, 46(1), 109-117. <https://doi.org/10.1111/cpr.12011>

- Sabová, L., Maruščáková, I. C., Koleničová, S., Mudroňová, D., Holečková, B., Sabo, R., Sobeková, A., Majchrák, T., Ratvaj, M. (2022). The adverse effects of synthetic acaricide tau-fluvalinate (tech.) on winter adult honey bees. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 92, 103861. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103861>
- Saillenfait, A.-M., Ndiaye, D., Sabaté, J.-P. (2015). Pyrethroids: Exposure and health effects – An update. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218(3), 281-292. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.01.002>
- Sari, F. (2022). Lethal and sublethal effects of the pyrethroid insecticide tau-fluvalinate on the non-target organism *Gammarus roeseli*: A study of acute toxicity, genotoxicity and locomotor activity. *Archives of Biological Sciences*, 74(4), 347-358. <https://doi.org/10.2298/ABS220930033S>
- Sharma, C. (1983). Plant meristems as monitors of genetic toxicity of environmental chemicals. *Current Science*, 52(21), 1000-1002.
- Sheikh, N., Patowary, H., Laskar, R. A. (2020). Screening of cytotoxic and genotoxic potency of two pesticides (malathion and cypermethrin) on *Allium cepa* L. *Molecular & Cellular Toxicology*, 16(3), 291-299. <https://doi.org/10.1007/s13273-020-00077-7>
- Smaka-Kincl, V., Stegnar, P., Lovka, M., Toman, M. J. (1996). The evaluation of waste, surface and ground water quality using the *Allium* test procedure. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 368(3-4), 171-179. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(96\)90059-2](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(96)90059-2)
- Stanley, J., Preetha, G. (2016). *Pesticide Toxicity to Non-Target Organisms: Exposure, Toxicity and Risk Assessment Methodologies*. Berlin: Springer Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7752-0>
- Sundaramoorthy, R., Velusamy, Y., Balaji, A. P. B., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N. (2016). Comparative cytotoxic and genotoxic effects of permethrin and its nanometric form on human erythrocytes and lymphocytes in vitro. *Chemico-Biological Interactions*, 257, 119-124. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.08.00148>
- Tudi, M., Ruan, H. D., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., Phung, D. T. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18, 1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph180311125>
- Ünal, F., Helvacı Tülek, N. D., Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M. (2020). Methidathion insektisit/akarisitinin sitotoksik ve genotoksik potansiyelinin *Allium* testi ile incelenmesi. *Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Dergisi*, 1(1-2), 1-12. <https://doi.org/10.5281/zenodo.4317924>
- Wijeyaratne, W. M. D. N., Wickramasinghe, P. G. M. U. (2020). Chromosomal abnormalities in *Allium cepa* induced by treated textile effluents: Spatial and temporal variations. *Journal of Toxicology*, 2020,8814196. <https://doi.org/10.1155/2020/8814196>
- Zhu, Q., Yang, Y., Zhong, Y., Lao, Z., O'Neill, P., Hong, D., Zhang, K., Zhao, S. (2020). Synthesis, insecticidal activity, resistance, photodegradation and toxicity of pyrethroids (A review). *Chemosphere*, 254, 126779. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126779>