

Etofenproks'un Genotoksik Etkisinin *Drosophila melanogaster*'de Değerlendirilmesi

Selda Öz¹ , Serap Kocaoğlu Cencki^{2*} 

¹Kırıkkale Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Biyoloji Bölümü, 71450, Kırıkkale, Türkiye

²Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 07058, Antalya, Türkiye

Öne Çıkanlar

- Etofenproks tarım, halk sağlığı ve hayvan sağlığı alanlarında kullanılan piretroid grubu insektisitlerdir.
- D. melanogaster* genotoksisite çalışmalarında sıklıkla kullanılan model organizmadır.
- Etofenproks *D. melanogaster*'de genotoksik etki göstermiştir.

Makale Bilgileri

Geliş: 18/03/2024

Kabul: 24/04/2024

Anahtar Kelimeler

Etofenproks,
genotoksisite,
insektisit,
SMART.

Öz

Tarım ve halk sağlığında yaygın kullanılan piretroid insektisitlerden etofenproks ülkemizde en sık maruz kalınan insektisitlerdendir. İnsektisitlere maruziyet insanlarda ve diğer hedef dışı organizmalarda ciddi boyutlara varabilen olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bu çalışmada etofenproks'un model organizma *Drosophila melanogaster* üzerinde genotoksik etki potansiyelinin araştırılması amaçlanmıştır. Genotoksik etkinin değerlendirilmesinde somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) kullanılmıştır. SMART analizinde etofenproks'un dört dozuna (0,625; 1; 1,25 ve 2,5 ppm) maruz bırakılan transheterozigot larvalardan gelişen ergin bireylerin kanatlarında meydana gelen fenotipik değişiklikler incelenmiştir. Elde edilen veriler, etofenproks'un test edilen tüm dozlarda toplam klon sayısında istatistiksel olarak pozitif artışa neden olarak genotoksisiteyi indüklediğini göstermiştir.

Evaluation of Genotoxic Effect of Etofenprox in *Drosophila melanogaster*

Highlights

- Etofenprox is an insecticide belonging to the pyrethroid group, used in agriculture, public health, and animal health.
- D. melanogaster* is a model organism frequently used in genotoxicity studies.
- Etofenprox has exhibited genotoxic effects in *D. melanogaster*.

Article Info

Received: 18/03/2024

Accepted: 24/04/2024

Keywords

Etofenprox,
genotoxicity,
insecticide,
SMART.

Abstract

Etofenprox, one of the pyrethroid insecticides widely used in agriculture and public health, is one of the most frequently exposed insecticides in our country. Exposure to insecticides can cause serious adverse effects on humans and other non-target organisms. This study aimed to investigate the genotoxic effect potential of etofenprox on the model organism *Drosophila melanogaster*. Somatic mutation and recombination testing (SMART) was used to evaluate the genotoxic effect. In the SMART analysis, phenotypic changes in the wings of adult individuals developing from transheterozygous larvae exposed to four doses of etofenprox (0.625, 1, 1.25, and 2.5 ppm) were examined. The data obtained showed that etofenprox induced genotoxicity by causing a statistically positive increase in the total number of clones at all doses tested.



1. GİRİŞ

Pestisitler; mantar, böcek, bitki, kemirgen gibi zararlıların etkisini önleyen, hafifleten ya da ortadan kaldıran aktif bileşenlerdir [1]. İkinci Dünya Savaşı sırasında üretim ve kullanımları artan pestisitlerin tarım ürünlerinde kayıpları azaltıp, daha ucuz, kaliteli ve verimli üretim sağlayarak tarımsal kalkınmada önemli rol oynadıkları kabul edilmektedir [2,3]. Günümüzde artan dünya nüfusuna karşın tarım alanlarının giderek azalması nedeniyle beslenme küresel ölçekte büyüyen bir problem hâline gelmiştir. Bu sorunun çözümü için tarım alanlarından maksimum miktarda verim sağlanması gerekliliği gün geçtikçe artan oranda pestisit kullanımına neden olmaktadır [4]. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre 1990 yılından bu yana tarımda kullanılan pestisit miktarı yıllık %4 artış göstererek 2021 yılında 3,5 milyon tona ulaşmıştır [5]. Tarımda kullanılan pestisitlerden yalnız %1'i etkili olurken, %99'unun toprak, su ve atmosfere salınması sonucunda hedef olmayan organizmalara ulaştığı bilinmektedir [6]. Bu durum ekosistemde yaşayan canlıların yoğun bir şekilde pestisitlere maruz kaldığı anlamına gelmektedir. Canlılar pestisitlere direkt maruz kalabildikleri gibi, pestisitlerin toprak ve suya karışarak çevreye yayılmaları, besin zinciri yoluyla biyolojik birikimleri sonucu dolaylı olarak da maruz kalabilirler [7].

Pestisitler ile yürütülen araştırmalar bu kimyasalların büyük kısmının hedef dışı organizmalarda ve çevre üzerinde oldukça ciddi boyutlara varabilen etkilere neden olduklarını göstermektedir [6,8-10]. İnsanlar mesleki maruziyet, evsel kullanım ya da çevre yoluyla direkt olarak pestisitlere maruz kalabilmektedir. Temas veya solunum yoluyla pestisitlere maruz kalan çocuk ve erişkin bireylerde nörolojik bozukluklar, endokrin bozukluklar yoluyla kanser gelişimi, lösemi, diyabet, solunum sistemi hastalıkları gibi ciddi sağlık problemleri meydana geldiği bildirilmiştir [8,10-13]. Ayrıca pestisit maruziyetinin fetal gelişim ve gebelik süresini etkilediğini, prenatal ve erken postnatal dönemde pestisit maruziyetinin nörogelişimsel bozukluklar, solunum sistemi rahatsızlıkları ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır [14-18].

İnsektisitler zararlı böcekler ile mücadelede kullanılan, toksik etki dereceleri en yüksek pestisit grubudur. Toksikiteyi daha yüksek olan organoklorlu, organofosforlu ve karbamatlı insektisitlere alternatif olarak geliştirilen piretroidler 1980'li yıllardan beri kullanılmaktadırlar. Böcekler üzerinde kısa sürede yüksek etki sağlamalarının yanı sıra memelilere karşı düşük toksisiteyi nedeniyle kullanımları yaygındır [19-20]. Temel olarak sinir sisteminde sodyum kanalı fonksiyonlarını bozarak etki gösterirler. Ayrıca kalp dokusunda sodyum kanallarının etkinliğini bozarak aritmiye neden oldukları bildirilmiştir [21]. Böceklerin, sodyum kanalı hassasiyetlerinin daha yüksek, vücut sıcaklıklarının düşük, vücut boyutlarının daha küçük olması sebebiyle piretroidlerin böceklerdeki toksik etkileri memelilere göre daha yüksektir [22]. Bununla birlikte sodyum kanallarının çalışma mekanizması böcekler ve memeliler arasında evrimsel olarak korunduğu için piretroidler memelilerde toksisite oluşturma potansiyeline sahiptir [23]. Böcek ve memelilerde aynı etki mekanizmasını uyaran piretroidler yaygın kullanımlarından dolayı insanların sık maruz kaldığı insektisitlerdir. Bu nedenle toksik etki potansiyellerinin araştırılması önem arz etmektedir.

Etofenproks (2-(4-etoksifenil)-2- metilpropil 3-fenoksibenzil eter) tarım, halk sağlığı ve hayvan sağlığı alanlarında kullanılan temas ve yutma ile etki gösteren piretroid grubundan bir insektisittir [24]. Diğer piretroid grubu insektisitler gibi sinir sistemindeki sodyum kanallarının fonksiyonlarını bozarak etki gösterir fakat bu gruptaki insektisitlerden farklı olarak yapısındaki asit ve alkol arasında ester bağı bulunmaz [25]. Bu çalışmada etofenproks'un potansiyel genotoksik etkisi hakkında veri sağlanması amacı ile *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) uygulaması yapılmıştır. *D. melanogaster* insektisitlerin de dâhil olduğu çevresel kirleticilerin insanlardaki toksik etki potansiyellerinin değerlendirilmesi açısından güçlü bir model olarak kabul edilmektedir [26-28]. *D. melanogaster* insanlarda hastalığa neden olan genlerin yaklaşık %75'i için homoloji gösteren genoma sahiptir [29]. Taşıdığı genetik özelliklerin yanı sıra kolay yürütülen deneysel uygulamalar ile kısa zamanda güvenilir ve ekonomik olarak veri toplanmasını sağlaması nedeniyle genetik toksikoloji araştırmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır [30-31].

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Genotoksik Etkinin Değerlendirilmesi

Deneylerde kullanılan *D. melanogaster* hatları Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. Uygulamalardan önce çoğaltılan stok kültürler ve uygulama grupları 25 °C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir. Etofenproks'un genotoksik etki potansiyeli *mwh* ve *flr³* mutant soyları kullanılarak SMART ile değerlendirilmiştir. SMART, transheterozigot larvalarda mutasyon ve rekombinasyona dayalı genetik değişiklikler sonucunda kaybolan heterozigotluğun ergin bireylerin kanatlarında meydana gelen fenotipik değişiklikler yoluyla saptanması esasına dayanır [32]. Genotoksisite araştırmalarında yaygın kullanılan SMART, mutasyonun etkisinin doğrudan fenotipte gözlenebilmesine imkân veren, kısa zamanda ekonomik ve güvenilir sonuç sağlayan *in vivo* test sistemidir [33].

Etofenproks genotoksisitesini araştırmak için kullanılacak dozların belirlenmesi amacıyla geniş aralıklı doz (30; 15; 12,5; 10; 7,5; 5; 2,5; 1,25; 1; 0,625 ppm) taraması yapılmıştır. Her doz için 72±4 saatlik 50 adet larva besi yerlerine konularak pupadan çıkmaları beklenmiştir. Letal etki göstermeyen 4 doz genotoksisite çalışmasına dahil edilmiştir. *flr³/TM3,Bd^S* x *mwh/mwh* çaprazından elde edilen 72±4 saatlik transheterozigot larvalar etofenproks'un subletal 4 dozuna (0,625; 1; 1,25 ve 2,5 ppm) maruz bırakılmıştır. Uygulamalar, 9 mL test solüsyonu ile ıslatılmış yaklaşık 4,5 g hazır *Drosophila* besiyeri bulunan uygulama tüplerinde gerçekleştirilmiştir. Test maddelerinin her bir konsantrasyonu için uygulama tüpüne 50 larva aktarılmış, deneyler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Etofenproks'un stok solüsyonu asetonda (%2) çözülerek hazırlanmıştır. Pozitif kontrol olarak 1mM etil metan sülfonat (EMS) kullanılmıştır. Distile su ve aseton (%2) ile negatif ve çözücü kontrol grubu uygulamaları gerçekleştirilmiştir. Larvalardan gelişen ergin bireyler kanat preparatları hazırlanana kadar %70 etil alkol içerisine alınarak +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Normal ve serrat tipteki bireylerin kanat preparatları stereo mikroskop altında hazırlandıktan sonra preparatlar ışık mikroskopunda 40X büyütmede incelenerek tespit edilen mutant klonlar sınıflandırılmıştır [32].

2.2. İstatistiksel Analiz

SMART verileri bu test için kullanılan Microsta istatistik paket programı ile değerlendirilerek sonuçlar negatif, pozitif veya önemsiz fark olarak belirlenmiştir [34].

3. BULGULAR

Etofenproks'un genotoksik etkilerinin SMART ile değerlendirildiği bu çalışmadan elde edilen sonuçlar Çizelge 1'de verilmiştir. Uygulamalarda etofenproks'un dört farklı dozu (0,625; 1; 1,25 ve 2,5 ppm) kullanılmış, normal ve serrat kanatlı bireylerin kanat preparatları incelenerek elde edilen veriler değerlendirilmiştir.

Normal kanatlı (*mwh/flr³*) bireylere ait kanat preparatlarının incelendiğinde çözücü kontrol grubu olarak kullanılan %2 aseton ile negatif kontrol grubu olan distile su uygulamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan EMS uygulamasından elde edilen veriler tüm klon tiplerinde distile su uygulamasına göre pozitif artış olduğunu göstermiştir. Etofenproks uygulamaları incelendiğinde tüm dozlarda küçük tek tip ve toplam *mwh* klon sayılarında istatistiksel olarak anlamlı artış meydana geldiği gözlenmiştir. Toplam klon sayısı bakımından değerlendirme yapıldığında etofenproks'un tüm dozlarda pozitif artışa neden olduğu görülmüştür.

Serrat kanatlı (*mwh/TM3*) bireylerin kanat preparatları incelenmesi ile sağlanan veriler tüm klon tipleri bakımından çözücü kontrol grubu ile negatif kontrol grubu uygulamaları arasında fark olmadığını göstermiştir. Pozitif kontrol uygulamasından elde edilen veriler, EMS'nin küçük tek tip klon, toplam *mwh* klon ve toplam klon sayısı bakımından istatistiksel olarak pozitif artışa neden olduğunu göstermiştir. Etopenproks ile yapılan uygulamalar değerlendirildiğinde tüm dozlarda küçük tek tip ve toplam *mwh* klon sayılarında pozitif, büyük tek tip klon sayısında ise önemsiz artış meydana geldiği gözlenmiştir. Etopenproks uygulanan tüm dozlarda toplam klon sayısında istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olduğu da tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Normal ve serrat kanatlı bireylerde SMART uygulamasından elde edilen veriler

Uygulama	Kanat sayısı	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (<i>m=2</i>)			Büyük tek tip klonlar (> 2 hücre) (<i>m=5</i>)			İkiz klonlar (<i>m=5</i>)			Toplam <i>mwh</i> klonlar (<i>m=2</i>)			Toplam klonlar (<i>m=2</i>)			KİF
		No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	No	Fr	D	
Normal Kanat (<i>mwh/flr³</i>)																	
Distile su	80	11	0,14		1	0,01		3	0,04		15	0,19		15	0,19		0,77
1 mM EMS	27	40	1,48	+	12	0,44	+	10	0,37	+	57	2,11	+	57	2,11	+	8,65
%2 Aseton	80	16	0,20	i	0	0,00	i	0	0,00	-	16	0,20	i	16	0,20	i	0,82
Etopenproks (ppm)																	
0,625	80	29	0,36	+	1	0,01	i	1	0,01	i	30	0,38	+	31	0,39	+	1,54
1	80	37	0,46	+	1	0,01	i	1	0,01	i	39	0,49	+	39	0,49	+	2,00
1,25	80	47	0,59	+	2	0,03	i	2	0,03	i	51	0,64	+	51	0,64	+	2,61
2,5	80	37	0,46	+	2	0,03	i	0	0,00	i	38	0,48	+	39	0,48	+	1,95
Serrat kanat (<i>mwh/TM3</i>)																	
Distile su	80	10	0,13		0	0,00					10	0,13		10	0,13		0,51
1 mM EMS	80	35	0,44	+	5	0,06	i				40	0,50	+	40	0,50	+	2,05
%2 Aseton	80	10	0,13	i	0	0,00	i				10	0,13	i	10	0,13	i	0,51
Etopenproks (ppm)																	
0,625	80	20	0,25	+	0	0,00	i				20	0,25	+	20	0,25	+	1,02
1	80	27	0,34	+	1	0,01	i				28	0,35	+	28	0,35	+	1,43
1,25	80	24	0,30	+	0	0,00	i				24	0,30	+	24	0,30	+	1,23
2,5	80	31	0,39	+	0	0,00	i				31	0,39	+	31	0,39	+	1,59

No: klon sayısı, Fr: frekans, D: istatistiksel değerlendirme sonucu; +: pozitif fark, -: negatif fark, i: önemsiz fark, KİF: klon indüksiyon frekansı (10^5 hücre), *m*: çarpım faktörü; olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$

4. TARTIŞMA

Tarım, halk ve hayvan sağlığında zararlılar ile mücadelede kullanılan pestisitler kullandıkları alanlarda iyileştirme sağlamakla birlikte hedef olmayan organizmalar üzerinde toksik etkilere de neden olmaktadır. İnsanlar evsel ya da mesleki ortamda solunum ve temas yolları ile veya pestisit kalıntısı bulunan tarım ürünlerini tüketerek sindirim yolu ile pestisitlere maruz kalabilmektedir [35]. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde eğitim ve farkındalığın gelişmemiş olması nedeniyle yüksek dozda ve gereksiz pestisit uygulamaları, pestisit uygulamaları sırasında gerekli koruyucu önlemlerin alınmaması, yasal düzenlemelerin, yaptırımların ve tarımsal desteğin yeterli olmaması nedeniyle ucuz fakat toksik etkileri daha fazla olan yasaklı ve ruhsatsız pestisitlerin kullanımı, uygun olmayan nakliye ve depolama şartları pestisit kaynaklı toksisiteyi arttıran faktörlerdir [36-37].

Piretroidler, düşük konsantrasyonlarda güçlü insektisidal etki sağlarken hedef olmayan organizmalar üzerinde düşük toksisiteyi nedeniyle yaygın kullanılan insektisitlerdir [38]. Tarım, bahçecilik, iç mekânların ilaçlanmasında, evcil hayvan bakım ve tedavi ürünlerinde, böcek kovucu giysi ve kumaş üretiminde kullanılmaktadırlar [39]. Kapalı alan ilaçlamasında en çok kullanılan insektisit grubudur [40]. Dünya genelinde kullanılan pestisitlerin %30'unu oluştururlar [25]. Piretroidlerin temel etki mekanizması sinir sisteminde bulunan sodyum kanallarında fonksiyonel bozukluklara yol açarak nörotoksik etkiye neden olmalarıdır [41]. Böcekler ile karşılaştırıldığında, memelilerde dermal emilimin zayıf olması, vücuda alınan toksik kimyasalların daha hızlı metabolize edilerek detoksifiye edilmesi, sinir sisteminde bulunan sodyum kanallarının daha düşük hassasiyette olması nedenleriyle toksisiteyi daha düşüktür [25]. Bununla birlikte, piretroidler organik maddelere güçlü biçimde bağlandıklarından uygulandıkları alandan taşınmaları zordur [42]. Tarım ürünleri, toprak, su, sediment ve iç mekânlarda kalıntı oluştururlar. Temas ve solunum yolu ile maruziyete ek olarak besin zinciri yolu ile biyolojik birikime uğrayan piretroidler insan ve diğer canlılar için risk oluşturmaktadır [43].

Ülkemizde tarım ve halk sağlığında yaygın kullanılan piretroid grubu insektisitlerden etofenproks Ulusal Zehir Danışma Merkezi verilerine göre 2012-2017 yılları arasında en fazla maruziyet tespit edilen insektisitler arasında yer almaktadır [44]. Literatür incelendiğinde etofenproks'un genotoksik etkilerinin değerlendirildiği çalışma sayısının sınırlı olduğu ve bu çalışmalarda kullanılan test yöntemine bağlı olarak farklı bulguların elde edildiği görülmektedir. Bu çalışmada etofenproks'un genotoksik etki potansiyeli *D. melanogaster*'de *in vivo* SMART yöntemi ile araştırılmıştır. Mevcut literatür bilgisine göre SMART yöntemi etofenproks'un genotoksik etkisinin değerlendirilmesinde daha önce kullanılmamıştır.

Etofenproks, Dünya Sağlık Örgütü aktif pestisit sınıflandırmasına göre U sınıfında (normal kullanımda akut tehlike oluşturma olasılığı düşük) yer almaktadır [45]. FAO tarafından hazırlanan tarımda kullanılan pestisitlerin değerlendirme raporunda yer alan araştırmalarda etofenproks akut toksisite değerlerinin düşük olduğu görülmektedir [24]. Ratlarda oral ve dermal uygulamalarda LD₅₀ değeri >2000 mg/kg bw, solunum yolu ile uygulamada LC₅₀ değeri >5,9 mg/L, köpeklerde oral yolla uygulandığında LD₅₀ değeri >5 g/kg bw olarak saptanmıştır [46-49].

Sucul organizmalarda yapılan araştırmalarda ise etofenproks'un yüksek toksisiteye neden olduğu saptanmıştır. 96 saatlik etofenproks uygulaması sonunda saptanan LD₅₀ değerleri *Brachydanio rerio* (Hamilton- Buchanan) için 0,0791 mg/L, *Palaemonetes pugio* embriyo, larva ve yetişkinleri için sırasıyla 0,1 µg/L, 0,89 µg/L ve 1,26 µg/L'dir [50-51]. *Astacus leptodactylus* Eschscholt'da 24, 48, 72 ve 96 saatlik etofenproks uygulamaları sonunda LC₅₀ değerleri sırasıyla 0,68; 0,61; 0,45 ve 0,41 µg/L olarak bulunmuştur. Bu çalışmada 96 saat boyunca etofenproks'un subletal dozlarına maruz bırakılan bireylerde solungaçlar ve hepatopankreasta belirgin histopatolojik değişiklikler meydana geldiği, hemosit ve hemolenf stres parametrelerinin etkilendiği tespit edilmiştir [52]. Barbee ve Stout (2009) etofenproks'un *Procambarus clarkii*'de yüksek akut toksisiteye neden olduğunu bildirmişlerdir. 96 saatlik LD₅₀ değeri 0,29 µg AI L⁻¹ olarak bulunmuştur. Etofenproks'un yanı sıra piretroid grubu insektisitlerden lambda-cyhalothrin ile neonikotinoid grubu insektisitlerin (klotianidin, dinotefuran ve thiamethoxam) akut toksisiteilerinin değerlendirildiği bu çalışmada piretroid grubu insektisitlerin toksik etki potansiyellerinin neonikotinoid grubu insektisitlerden yaklaşık 2-3 kat daha fazla olduğu bildirilmiştir. Ayrıca etofenproks'un test edilen dozlarda agresif davranış, kanibalizm ve spastik yürüyüş şeklinde davranış anomalilerine neden olduğu gözlenmiştir [53]. Piretroidlerin suda çözünürlükleri düşüktür. Su sistemine girdiklerinde hızlı bir şekilde dağılırlar ve sedimentteki organik maddelere bağlanırlar. Hem sedimentte hem de su sütununda yaşayan organizmalar için toksik etki oluşturma potansiyelleri bulunur [54]. Bu nedenle sucul model organizmalarda yüksek toksisitesi gösterilmiş etofenproks'un su ekosistemlerine karışması sucul organizmalar için tehdit kaynağıdır.

Etofenproks tarım ve halk sağlığının yanı sıra hayvan sağlığında kullanılan piretroidlerdendir. Bu nedenle insanların etofenproks'a maruz kalma yollarından bir diğeri evcil hayvanlarla temastır. Bland vd. (2013) köpeklerde ektoparazit öldürücü olarak kullanılan, etofenproks, s-metopren ve piperonil bütoksit aktif bileşenlerini içeren ürünün güvenlik ve toksisitesini değerlendirdikleri çalışmada aktif bileşenlerin uygulamadan sonraki 24 saat boyunca köpeklerin kürkünde en yüksek seviyede kaldıklarını ve temas yolu ile insanlara aktarılabildiklerini göstermiştir [55].

Piretroidler genellikle sinerjistik etki yaratmak amacıyla birlikte kullanılan pestisitlerdir [56]. Etofenproks'un piretroid grubu insektisitler ile etkileşiminin araştırıldığı çalışmada, etofenproks'ın permetrin ve sipermetrin ile uygulandığında toksik etki potansiyelinde artış gözlenmiştir. İkili uygulamalarda ise gözlenen sonuçlar farklı olmuştur. Etofenproks ve sipermetrin birlikte uygulandığında sinerjistik etki gözlenirken, etofenproks ve permetrin uygulamasının antogonist etki meydana getirdiği gözlenmiştir. Elde edilen sonuçlar etofenproks'un toksik etki potansiyelinin sadece etofenproks kullanımına bağlı olmadığını, ortamda diğer pestisitlerin mevcudiyeti ve bu pestisitlerin çeşidine bağlı olarak değişebildiğini göstermektedir [57].

Etofenproks'un genotoksik aktivitesine dair sunulan değerlendirme raporlarında *Salmonella typhimurium* suşlarında (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538a) Ames testi, insan periferik lenfositlerinde klastojenik aktivite analizi, HeLa S3 hücrelerinde programlanmamış DNA sentezi analizi, Çin hamsterlarında V79/HGPRT gen mutasyon testi ve CD-1 farelerinde mikronukleus testi bulguları etofenproks'un genotoksik ya da mutajenik etkisinin bulunmadığını göstermektedir [58-62]. Etofenproks'un Çin hamsteri ovaryum (CHO) hücre hattında *in vitro* sitotoksik ve genotoksik etkilerini araştırıldığı çalışmada 24 saatlik klonojenik test sonuçlarına göre IC₅₀ değeri 302 mg/mL olarak bulunmuştur. 1-800 µg/mL doz aralığında yapılan genotoksisite değerlendirilmesinde etofenproks'un mikronukleus testinde 50-800 µg/mL, Komet testinde 200-800 µg/mL dozlarında genotoksik aktiviteyi uyardığı gözlenmiştir [63]. Szabó vd. (2019) etofenproks'un *Folsomia candida*'da üreme, hayatta kalma ve gen ifadesine olan etkilerini araştırmışlardır. Sadece ana neslin veya her üç neslin etofenproks'a maruz bırakıldığı deney gruplarında ısı şoku proteini 70 (Hsp70) ekspresyonunun aktive edildiği, sitokrom oksidaz 6N4v1 (Cyp6N4v1) ekspresyonunun ise doza bağlı olarak azaldığı gözlenmiştir. Isı şoku proteinleri ksenobiyotiklere karşı hücrel yanıtta rol oynayan moleküllerdir. Etofenproks uygulamasına yanıt olarak Hsp70 ekspresyondaki artış hücrel stres koşullarının oluştuğunu göstermektedir. Cyp6N4v1 geni ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile bağlantılıdır. Cyp6N4v1 ekspresyonunda birinci nesilde değişiklik gözlenmezken, ikinci nesilde azalma meydana geldiği gözlenmiştir. Bu azalmanın epigenetik modifikasyon nedeniyle olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca üç nesil boyunca etofenproks uygulamasının üreme ile ilişkili genlerin (vitello genin protein, vitellogenin benzeri protein ve vitellogenin reseptör) ekspresyonunda doza bağlı azalmaya neden olduğu gözlenmiştir [64]. Çalışmamızda genotoksik aktivitenin değerlendirilmesi için kullanılan SMART analizinden elde edilen bulgular ise etofenproks'un test edilen tüm dozlarda *D. melanogaster*'de mutant klon oluşumunu indüklediğini ve genotoksik etkiye neden olduğunu göstermektedir. Normal ve serrat kanatlı bireylerde gözlenen mutant klonlar farklı genetik mekanizmaların sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. *mwh* ve *flr³* genotipindeki normal kanatlı bireylerde *mwh* ve *flr³* genleri arasında meydana gelen rekombinasyon ve mutasyon sonucu klon oluşumu gerçekleşir. *mwh/TM3* genotipindeki serrat kanatlı bireylerden ise *TM3* kromozomunun baskılayıcı etkisinden dolayı rekombinasyon gerçekleşmez, sadece mutasyon nedeni ile klon oluşumu meydana gelir [65]. Bu bilgiye göre etofenproks, test edilen dozlarda, *D. melanogaster*'de hem mutasyonu hem de rekombinasyonu indükleyerek mutant klon oluşturma potansiyeline sahiptir.

Oksidadif stres kanser, kalp-damar hastalıkları, nörodejeneratif hastalıklar gibi insanlarda ciddi sağlık problemlerine neden olan hastalıkların gelişiminde önemli rol oynaması nedeniyle toksikoloji araştırmalarının odak noktalarından biridir. Bu nedenle pestisitlerin toksisitelerinin araştırılmasında hücre makromoleküllerinde meydana gelen oksidadif hasar tespiti son yıllarda yaygın kullanılan yöntemlerdendir [66-68]. *Danio rerio*'da etofenproks toksisitesinin araştırıldığı çalışmada 48 ve 96 saat etofenproks'un subletal dozlarına maruz bırakılan bireylerde oksidadif DNA hasarına bağlı olarak yüksek derecede genotoksik etki gözlenmiştir [9].

Etofenproks'un ratlarda karaciğer tümör oluşumu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmanın bulguları mikrozomal reaktif oksijen türleri (ROS) üretimini artırarak oksidatif strese neden olması sonucu hücre proliferasyonunu hızlandırdığını ve karaciğerde tümör gelişimini indüklediğini göstermiştir [69]. *D. melanogaster*'de mutajen uygulaması sonucu üretilen ROS'un yarattığı oksidatif stresin meydana getirdiği genotoksik etki SMART yöntemi ile saptanabilmektedir [70]. Bu bağlamda etofenproks'un SMART ile tespit edilen genotoksik etkisinin kaynağı, önceki çalışmalarda tespit edilmiş olan etofenproks maruziyeti sonucu üretilen ROS'un neden olduğu oksidatif hasar olabilir.

Pestisit zehirlenmesi insanlarda kanser riskini arttıran faktörlerdir. Kanser vakalarının yaklaşık %10'unun pestisit zehirlenmesine bağlı olarak meydana geldiği tahmin edilmektedir [6]. Mitotik rekombinasyon kanser gelişiminde etkili olan mekanizmalardandır. Mitotik rekombinasyon sonucu meydana gelen heterozigotluk kaybının kanser gelişiminde önemli bir mekanizma olduğu ve tümör oluşumunda sık görüldüğü bilinmektedir [71]. Çalışmamızdan elde edilen bulgular etofenproks'un test edilen dozlarda mitotik rekombinasyonu indükleyebileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda etofenproks'un kanserojen etki potansiyelinin bulunduğu düşünülebilir.

Pestisitlerin hedef olmayan organizmalarda toksik etki potansiyeline sahip olmaları bu kimyasalları insanlar için risk faktörü hâline getirmektedir. Bu nedenle pestisitlerin genotoksik potansiyellerinin model organizmalarda araştırılmasına dair çalışmalar son yıllarda gittikçe artmıştır. Yürütülen bu araştırmalarda pestisitlerin toksik potansiyellerinin pestisit dozlarına, kullanılan model organizmaya ve organizmanın pestisite maruz kalma şekline göre değiştiği görülmektedir. Literatürde etofenproks ile yapılmış çalışmalarda da toksik etki potansiyelinin değişebildiği görülmektedir. Bu çalışmada *in vivo* koşullarda yürütülen SMART analizi bulguları etofenproks'un uygulanan tüm dozlarda mutajenik ve rekombinojenik aktiviteye neden olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuç etofenproks'un genotoksik etkiye sahip olduğunu gösteren çalışmaları desteklemektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde gerçekleştirilmesine imkân sağlayan Prof. Dr. Bülent KAYA'ya teşekkür ederiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması bulunmamaktadır.

YAZAR KATKI ORANLARI

Selda ÖZ: Metodoloji, Materyal temini, Araştırma, İçerik Analizi, Makalenin yazımı-Orijinal taslak,
Serap KOCAOĞLU CENKÇİ: Metodoloji, Materyal temini, Araştırma, İçerik Analizi, Makalenin yazımı- İnceleme ve Düzenleme,

KAYNAKLAR

- [1] EPA. (2023). What is pesticide? URL: <http://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients> (Erişim tarihi: 01.09.2023).
- [2] Bernardes, M. F. F., Pazin, M., Pereira, L. C., Dorta, D. J. (2015). Impact of pesticides on environmental and human health. *Toxicology Studies-Cells, Drugs and Environment*, 195-233.
- [3] Warra, A.A., Prasad, M.N.V. (2020). African Perspective of Chemical Usage in Agriculture and Horticulture— Their Impact on Human Health and Environment. *Agrochemicals Detection, Treatment and Remediation; Pesticides and Chemical Fertilizers, Chapter 16, 401-416*, doi:10.1016/B978-0-08-103017-2.00016-7.
- [4] Carvalho, F.P. (2006). Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*, 9, 685–692. doi:10.1016/j.envsci.2006.08.002.
- [5] FAO (2022). Pesticides Use and Trade 1990–2021 *FAOSTAT Analytical Brief Series No. 70*. Rome. <https://doi.org/10.4060/cc6958en>.
- [6] Zhang, W., Jiang, F., Ou, J. (2011). Global pesticide consumption and pollution: With China as a focus. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 1(2), 125.

- [7] Özkara, A., Akyıl, D. (2018). Environmental Pollution and Pollutants on the Ecosystem: A Review. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 11 (2): 11-17, 2018.
- [8] Gangemi, S., Miozzi, E., Teodoro, M., Briguglio, G., De Luca, A., Alibrando, C., Polito, I., Libra, M. (2016). Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans (Review). *Molecular Medicine Reports*, 14, 4475–4488. doi:10.3892/mmr.2016.5817.
- [9] Ağırbaşı, N., Günal, A. Ç., Koçak, G., Dinçel, A. S. (2020). The Sublethal Genotoxic Effects of Environmental Pollutants of Etofenprox on Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Health Services and Education*, 4(1), 14-18.
- [10] de Graaf, L., Boulanger, M., Bureau, M., Bouvier, G., Meryet-Figuire, M., Tual, S., Lebailly, P., Baldi, I. (2022). Occupational pesticide exposure, cancer and chronic neurological disorders: A systematic review of epidemiological studies in greenspace workers. *Environmental Research*, 203, 111822.
- [11] Fagundes, T. R., Kawassaki, A. C. B., Concato, V. M., Assolini, J. P., Silva, T. F., Gonçalves, M. D., SA Silva Siqueria E., Sahd, C.S., Inoue, F.S.R., da Silva T.P., de Lima, D.M., Ferreira, M.O., Conchon-Costa, I., Pavenelli, W.R., Panis, C. (2023). Impact of Pesticides on Immune-Endocrine Disorders and Its Relationship to Cancer Development. In *Handbook of Cancer and Immunology* (pp. 1-30). Cham: Springer International Publishing.
- [12] Hernández, A.F., Menéndez, P. (2016). Linking pesticide exposure with pediatric leukemia: Potential underlying mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 17: 461 (doi: 10.3390/ijms17040461).
- [13] Leso, V., Capitanelli, I., Lops, E.A., Ricciardi, W., Iavicoli, I. (2016). Occupational chemical exposure and diabetes mellitus risk. *Toxicology and Industrial Health*, 33(3), 222–249.
- [14] Benka-Coker, W., Loftus, C., Karr, C., Magzamen, S. (2019). Characterizing the joint effects of pesticide exposure and criteria ambient air pollutants on pediatric asthma morbidity in an agricultural community. *Environmental Epidemiology (Philadelphia, Pa.)*, 3(3), e046.
- [15] Parvez, S., Geron, R.R., Proctor, C., Friesen, M., Ashby, J.L., Reiter, J.L., Lui, Z., Winchester, P.D., (2018). Glyphosate exposure in pregnancy and shortened gestational length: A prospective Indiana birth cohort study. *Environmental Health*, 17(1), 1-12.
- [16] Gascon, M., Sunyer, J., Martínez, D., Guerra, S., Lavi, I., Torrent, M., Vrijheid, M. (2014). Persistent organic pollutants and children's respiratory health: The role of cytokines and inflammatory biomarkers. *Environment International*, 69, 133-140.
- [17] Liew, Z., von Ehrenstein O.S., Ling, C., Yuan, Y., Meng, Q., Cui, X., Park, A.S., Uldall, P., Olsen, J., Cockburn, M., Ritz, B. (2020). Ambient exposure to agricultural pesticides during pregnancy and risk of cerebral palsy: a population-based study in California. *Toxics*. 8(3),52. doi: 10.3390/toxics8030052. PMID: 32751992; PMCID: PMC7560316.
- [18] Ravula, A.R., Yenugu, S. (2021). Pyrethroid based pesticides—chemical and biological aspects. *Critical Reviews in Toxicology*, 51, 117–140. doi:10.1080/10408444.2021.1879007.
- [19] Rinkevich, F. D., Du, Y., & Dong, K. (2013). Diversity and convergence of sodium channel mutations involved in resistance to pyrethroids. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 106(3), 93-100.
- [20] Burns, C. J. and Pastoor, T. P. (2018). Pyrethroid epidemiology: A quality-based review. *Critical Reviews in Toxicology*, 48(4), 297-311.
- [21] Soderlund, D.M. (2012). Molecular mechanisms of pyrethroid insecticide neurotoxicity: *Recent advances*. *Archives of Toxicology*, 86, 165–181. doi:10.1007/s00204-011-0726-x.
- [22] Cham, E. Y. K., Tse, J. C. L., Chong, Y. K., Chen, M. L., Wong, O. F., Fung, H. T. (2016). A case of pyrethroid poisoning with clinical presentation mimicking organophosphate poisoning. *Hong Kong Journal of Emergency Medicine*, 23(2), 47-51.
- [23] Demeneix, B., Leemans, M., Couderq, S. (2020). Pyrethroid exposure: Not so harmless after all. *Lancet Diabetes and Endocrinology*, 8, 266–268. doi:10.1016/S2213-8587(20)30039-5.
- [24] FAO. (2023). FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides. Etofenprox. <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/guidelines-standards/faowho-joint-meeting-on-pesticide-specifications-jmps/pesticide-specifications/pesticide-specifications-list/en/> (Erişim tarihi: 30.09.23)
- [25] Chamberlain, K., Matsuo, N., Kaneko, H., Khambay, BPS. (1998). Pyrethroids. In: Kurihara, N, Miyamoto, J (eds.), Chirality in Agrochemicals. *John Wiley, Chinchester*, pp 9-84.
- [26] Scott, J.G., Buchon, N. (2019). *Drosophila melanogaster* as a powerful tool for studying insect toxicology. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 161, 95–103. doi:10.1016/j.pestbp.2019.09.006.
- [27] Mandi, M., Khatun, S., Rajak, P., Mazumdar, A., Roy, S. (2020). Potential risk of organophosphate exposure in male reproductive system of a non-target insect model *Drosophila melanogaster*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 74, 103308. doi:10.1016/j.etap.2019.103308.
- [28] Strilbytska, O.M., Semaniuk, U. V., Strutynska, T.R., Burdyliuk, N.I., Tsiumpala, S., Bubalo, V., Lushchak, O. (2022). Herbicide Roundup shows toxic effects in nontarget organism *Drosophila*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 110. doi:10.1002/arch.21893.
- [29] Pandey, U. B., & Nichols, C. D. (2011). Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological Reviews*, 63(2), 411-436.

- [30] Reyes-Rodríguez, M. de los Á., Santos-Cruz, L.F., García-Castro, C., Durán-Díaz, Á., Castañeda-Partida, L., Dueñas-García, I.E., Heres-Pulido, M.E., Rodríguez-Mercado, J.J. (2021). Genotoxicity and cytotoxicity evaluation of two thallium compounds using the *Drosophila* wing somatic mutation and recombination test. *Heliyon* 7,5. doi:10.1016/j.heliyon.2021.e07087.
- [31] Anet, A., Olakkaran, S., Kizhakke Purayil, A., Hunasanahally Puttaswamygowda, G. (2019). Bisphenol A induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Hazardous Materials*. 370, 42–53. doi:10.1016/j.jhazmat.2018.07.050.
- [32] Graf, U., Würigler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juan, H., Hall, J.V. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental Mutagenesis*, 6 (2), 153-188.
- [33] Graf, U., Abraham, S. K., Guzmán-Rincón, J., Würigler, F. E. (1998). Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 402(1-2), 203-209.
- [34] Frei, H., Würigler, F.E. (1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result, *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 203 (4), 297-30.
- [35] Boobis, A.R., Ossendorp, B.C., Banasiak, U., Hamey, P.Y., Sebestyen, I., Moretto, A. (2008). Cumulative risk assessment of pesticide residues in food. *Toxicology Letters*, 180, 137–150. doi:10.1016/j.toxlet.2008.06.004.
- [36] Anaduaka, E.G., Uchendu, N.O., Asomadu, R.O., Ezugwu, A.L., Okeke, E.S., Chidike Ezeorba, T.P., (2023). Widespread use of toxic agrochemicals and pesticides for agricultural products storage in Africa and developing countries: Possible panacea for ecotoxicology and health implications. *Heliyon*, 9, e15173. doi:10.1016/j.heliyon.2023.e15173.
- [37] Özpolat Çakar, N., Kutsal, D., Kiran, S. (2020). Tarım çalışanlarında pestisit maruz kalımı ve kronik böbrek hastalığı. *Ankara Medical Journal*, 20(3), 761-772.
- [38] DeMicco, A., Cooper, K. R., Richardson, J. R., White, L. A. (2010). Developmental neurotoxicity of pyrethroid insecticides in zebrafish embryos. *Toxicological Sciences*, 113(1), 177-186.
- [39] Saillenfait, A.M., Ndiaye, D., Sabaté, J.P. (2015). Pyrethroids: Exposure and health effects - An update. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 218, 281–292. doi:10.1016/j.ijheh.2015.01.002.
- [40] Pryce, J., Medley, N., Choi, L. (2022). Indoor residual spraying for preventing malaria in communities using insecticide-treated nets. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2022. doi:10.1002/14651858.CD012688.pub3.
- [41] Chrustek, A., Holyńska-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 (Kaunas, Lithuania)*, 54(4), 61. doi:10.3390/medicina54040061.
- [42] Bragança, I., Lemos, P. C., Barros, P., Delerue-Matos, C., & Domingues, V. F. (2018). Phytotoxicity of pyrethroid pesticides and its metabolite towards *Cucumis sativus*. *Science of the Total Environment*, 619, 685-691.
- [43] Tang, W., Wang, D., Wang, J., Wu, Z., Li, L., Huang, M., Xu, S., Yan, D. (2018). Pyrethroid pesticide residues in the global environment: An overview. *Chemosphere*, 191, 990–1007. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.10.115.
- [44] Sağlık Bakanlığı, Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü, Birim Faaliyet Raporu. (2019). Ankara.
- [45] WHO, (2020). The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification, 2019 Edition. *Geneva: World Health Organization*.
- [46] Oda, S. (2003a). Acute Oral Toxicity Study of Etofenprox in Rats. *Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc.*, Tokyo, Japan; report No. B-5039, 5 February 2003. Submitted to WHO by Mitsui Chemicals Agro, Inc.
- [47] Oda, S. (2003b). Acute Dermal Toxicity Study of Etofenprox in Rats. *Gotemba Laboratory, Bozo Research Center Inc.*, Tokyo, Japan; report No. B-5040, 5 February 2003. Submitted to WHO by Mitsui Chemicals Agro, Inc.
- [48] Jackson, G.C., Hardy, C.J., Clark, G.C., Gregson, R.L., Lewis, D.J. & Gopinath, C. (1983). MTI-500 Acute Inhalation Toxicity in Rats 4 Hour Exposure. *Huntingdon Research Centre Ltd.*, England; report no.MTC 60/821079, 19 April 1983 Submitted to WHO by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo, Japan.
- [49] Harling, R.J., Burford, P. & Heywood, R. (1985) Ethofenprox (MTI-500) Acute limit test of toxicity to dogs following a single oral administration. *Huntingdon Research Centre Ltd.*, England; report no.MTC 101/851185, 24 October 1985. Submitted to WHO by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo, Japan.
- [50] Zhang, Z. Y., Yu, X. Y., Wang, D. L., Yan, H. J., & Liu, X. J. (2010). Acute toxicity to zebrafish of two organophosphates and four pyrethroids and their binary mixtures. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 66(1), 84-89.
- [51] DeLorenzo, M. E., & De Leon, R. G. (2010). Toxicity of the insecticide etofenprox to three life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 58, 985-990.
- [52] Benli, A. C. K. (2015). The influence of etofenprox on narrow clawed crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz, 1823): Acute toxicity and sublethal effects on histology, hemolymph parameters, and total hemocyte counts. *Environmental Toxicology*, 30(8), 887-894.
- [53] Barbee, G. C., Stout, M. J. (2009). Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice–crayfish crop rotations. *Pest Management Science: Formerly Pesticide Science*, 65(11), 1250-1256.

- [54] Li, H., Cheng, F., Wei, Y., Lydy, M.J., You, J. (2017). Global occurrence of pyrethroid insecticides in sediment and the associated toxicological effects on benthic invertebrates: An overview. *Journal of Hazardous Materials.*, 324: 258-271.
- [55] Bland, S. D., Gupta, R. C., Lasher, M. A., & Canerdy, T. D. (2013). Safety assessment of etofenprox, smethoprene, and piperonyl butoxide in dogs topically exposed to Bio Spot defense. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 4(6):1000148
- [56] Çetinkaya Açar, Ö. (2015). Pestisit Analizleri Eğitim Notu, T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Ulusal Referans Laboratuvarı Kalıntı/Pestisit Birimi, Ankara, 31ss.
- [57] Schleier, III, J. J., Peterson, R. K. (2012). The joint toxicity of type I, II, and nonester pyrethroid insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 105(1), 85-91.
- [58] Edwards, C.N., Forster, R. (1985) Reverse Mutation in *Salmonella typhimurium*, Test Substance MTI-500. *Life Science Research Ltd, Roma Toxicology Centre, Pomezia, Italy*; unpublished report No. 162001-M-06185 (22 August 1985). Submitted to WHO by Mitsui Chemicals Agro, Inc.
- [59] Bootman, J., Hodson-Walker, G. & Dance, C.A. (1985a). *In vitro* Assessment of the Clastogenic Activity of MTI-500, Etofenprox, in Cultured Human Peripheral Lymphocytes. *Life Science Research Limited, England*; report no. 85/MT0017/430, 17 July 1985. Submitted to WHO by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo, Japan.
- [60] Bootman, J., Hodson-Walker, G. & Dance, C.A. (1985b). MTI-500, Etofenprox: Assessment of Clastogenic Action on Bone Marrow Erythrocytes in the Micronucleus Test. *Life Science Research Limited, England*; report no. 85/MT0016/406, 3 July 1985. Submitted to WHO by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo, Japan.
- [61] Seeberg, A.H. Forster R. (1985a). Gene mutation in Chinese Hamster V79 cells. Test substance MTI-500. *Life Science Research Roma Toxicology Centre, Italy*; report no. 162002-M-06985, 22 August 1985. Submitted to WHO by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo, Japan.
- [62] Seeberg, A.H. Forster R. (1985b). Unscheduled DNA Synthesis in Human Cells, Cell Line: HeLa S3. Test Substance MTI-500. *Life Science Research Roma Toxicology Centre, Italy*; report no. 162003-M-05785, 30 July 1985. Submitted to WHO by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Tokyo, Japan.
- [63] Yılmaz, F. (2013). Etofenprox'un Genotoksik Etkilerinin Çin Hamsteri Ovaryum Hücrelerinde Mikronükleus ve Komet Testleri Kullanılarak Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, 73.
- [64] Szabó, B., Lang, Z., Bakonyi, G., Mariën, J., Roelofs, D., van Gestel, C. A., & Seres, A. (2019). Transgenerational and multigenerational stress gene responses to the insecticide etofenprox in *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 175, 181-191.
- [65] Andrade, H.H.R., Reguly, M.L., Lehmann, M. (2004). Wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). In: Henderson, D.S. (Ed.), *Drosophila Cytogenetics Protocols. Humana Press Inc, Totowa*, pp.389-412.
- [66] Mayne, S. T. (2003). Antioxidant nutrients and chronic disease: use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research. *The Journal of Nutrition*, 133(3), 933S-940S.
- [67] Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15(1), 91-96.
- [68] Zepeda-Arce, R., Rojas-García, A.E., Benitez-Trinidad, A., Herrera-Moreno, J.F., Medina-Díaz, I.M., Barrón-Vivanco, B.S., Villegas, G.P., Hernández-Ochoa, I., Sólis Heredia, M. de J., Bernal-Hernández, Y.Y. (2017). Oxidative stress and genetic damage among workers exposed primarily to organophosphate and pyrethroid pesticides. *Environmental Toxicology*, 32, 1754-1764. doi:10.1002/tox.22398.
- [69] Hojo, Y., Shiraki, A., Tsuchiya, T., Shimamoto, K., Ishii, Y., Suzuki, K., Mitsumori, K. (2012). Liver tumor promoting effect of etofenprox in rats and its possible mechanism of action. *Journal of Toxicological Sciences*, 37(2):297-306.
- [70] Koike, R., Uchiyama, T., Arimoto-Kobayashi, S., Okamoto, K., & Negishi, T. (2018). Increase of somatic cell mutations in oxidative damage-sensitive drosophila. *Genes and Environment*, 40(1), 1-8.
- [71] Smukowski Heil, C. (2023). Loss of heterozygosity and its importance in evolution. *Journal of Molecular Evolution*, 1-9.