

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NOVALURON'UN *Daphnia magna* ÜZERİNDEKİ TOKSİK
ETKİLERİNİN GELİŞİM, MORFOLOJİ, FİZYOLOJİ VE GEN
EKSPRESYONU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İrem TOK

Biyoloji Anabilim Dalı

OCAK 2025

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**NOVALURON'UN *Daphnia magna* ÜZERİNDEKİ TOKSİK
ETKİLERİNİN GELİŞİM, MORFOLOJİ, FİZYOLOJİ VE GEN
EKSPRESYONU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İrem TOK

Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Cansu AKBULUT

OCAK 2025

İrem TOK tarafından hazırlanan “Novaluron’un *Daphnia magna* Üzerindeki Toksik Etkilerinin Gelişim, Morfoloji, Fizyoloji ve Gen Ekspresyonu Düzeyinde İncelenmesi” adlı tez çalışması 28.01.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Nazan Deniz YÖN ERTUĞ Sakarya Üniversitesi	
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Cansu AKBULUT (Danışman) Sakarya Üniversitesi	
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. Ahmet Ali BERBER Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi	



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “Novaluron’un *Daphnia magna* Üzerindeki Toksik Etkilerinin Gelişim, Morfoloji, Fizyoloji ve Gen Ekspresyonu Düzeyinde İncelenmesi” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(...../...../20.....).

İrem TOK







TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her asamasında mesleki bilgi ve tecrübesi ile maddi; güzel yüreğiyle manevi anlamda daima yanımda olan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Cansu Akbulut'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını ve katkılarını esirgemeyen Arş. Gör. Tarık DİNÇ ve Arş. Gör. Dr. Esra YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Başta Rukiye TOK ve İbrahim TOK olmak üzere, eğitim hayatım boyunca hiçbir şekilde desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

İrem TOK



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxiii
SUMMARY	xxv
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	3
2.1. Pestisit	3
2.1.1. Pestisitlerin tanımı ve kullanımı	3
2.1.2. Pestisitlerin tarihi	3
2.1.3. Pestisitlerin bozunma mekanizmaları	4
2.1.4. Pestisitlerin zararları	4
2.1.5. Pestisitlerin kalıntı sorunu ve nedenleri	6
2.1.6. Pestisitlerin sınıflandırılması.....	6
2.1.6.1. Etki ettikleri canlı türlerine göre pestisitler.....	6
2.1.6.2. Kimyasal yapılarına göre insektisitler.....	7
2.1.7. Novaluron.....	11
2.1.7.1. Novaluron'un tanımı ve tarihçesi.....	11
2.1.7.2. Novaluron'un fiziksel ve kimyasal özellikleri	11
2.1.7.3. Novaluron'un etki mekanizması	12
2.2. Cladocera.....	12
2.2.1. <i>Daphnia magna</i> 'nın tanımı	13
2.2.2. <i>Daphnia magna</i> 'nın sistematığı	14
2.2.3. <i>Daphnia magna</i> 'nın anatomisi ve morfolojisi	14
2.2.4. <i>Daphnia magna</i> 'nın fizyolojisi	15
2.2.5. <i>Daphnia magna</i> 'nın beslenmesi.....	16
2.2.6. <i>Daphnia magna</i> 'nın üremesi.....	17
2.2.7. <i>Daphnia magna</i> 'nın büyüme ve gelişmesi.....	18
2.2.8. <i>Daphnia magna</i> 'nın davranış ekolojisi	19
2.2.9. <i>Daphnia magna</i> 'nın yayılış alanları.....	19
2.2.10. <i>Daphnia magna</i> 'nın optimal kültür koşulları.....	20
2.2.11. <i>Daphnia magna</i> 'nın toksikoloji çalışmalarda kullanımı.....	20
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Araştırma yeri	21
3.1.2. Canlı materyali	21
3.1.3. Kullanılan kimyasal	21

3.2. Metod.....	22
3.2.1. <i>Daphnia magna</i> kültürü ve beslenme şartları	22
3.2.2. LC ₅₀ Değerinin belirlenmesi	23
3.2.3. Sub-letal novaluron konsantrasyon uygulamaları	23
3.2.4. Fizyolojik analizler.....	23
3.2.5. Morfolojik analizler.....	23
3.2.5.1. <i>Daphnia magna</i> uzunluk ve kalp çapı ölçümü.....	24
3.2.6. Gen Ekspresyon analizi	24
3.2.6.1. RNA izolasyonu için örnek toplanması	24
3.2.7. İstatistiksel analizler	25
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	27
4.1. LC ₅₀ Değerinin Hesaplanması	27
4.2. Morfolojik analizler.....	27
4.2.1. Kontrol grubu	27
4.2.2. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması	28
4.2.3. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması	29
4.2.4. 15 µg/L novaluron uygulaması	31
4.3. İstatistiksel Analizler	33
4.3.1. Mortalite analizleri	33
4.3.2. Fizyolojik toksisite analizleri	34
4.3.2.1. Kalp atım sayısı.....	34
4.3.2.2. Toraks aktivitesi	35
4.3.2.3. Post- abdominal kavite	35
4.3.3. Morfolojik analizler.....	36
4.3.3.1. Sekonder anten anomalişi.....	36
4.3.3.2. Perikardiyal ödem anomalişi	37
4.3.3.3. Kuyruk anomalişi	38
4.3.3.4. Abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması	39
4.3.3.5. Boy uzunluğu ve kalp çapı analizleri	40
4.3.4. Gen ekspresyon analizleri	41
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	43
KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ.....	67

KISALTMALAR

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATP	: Adenozin Trifosfat
BGD	: Böcek Gelişim Düzenleyici
BHC	: Benzen Hekza Klorür
cDNA	: Komplementer deoksiribonükleik asit
DDT	: Dikloro Difenil Trikloretan
DDVP	: Dimethyl 2, 2- Dichlorovinyl Phosphate
EPA	: Environmental Protection Agency
FAO	: Food and Agriculture Organization
GST	: Glutasyon S-transferaz
Hb	: Hemoglobin
ITIS	: Integrated Taxonomic Information System
JHA	: Jüvenil Hormon Analogları
KSİ	: Kitin Sentez İnhibitörleri
LC₅₀	: Ortalama Öldürücü Konsantrasyon
LD₅₀	: Ortalama Öldürücü Doz
NIH	: National Institutes of Health
OK	: Organik Klorlu
OP	: Organik Fosforlu
PBO	: Piperonil Bütoksit, Sülfoksit
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
qPCR	: Quantitive Polymerase Chain Reaction
ROS	: Reaktif oksijen türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türevi
RNA	: Ribonükleik asit
SP	: Sentetik Piretroid
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
WHO	: World Health Organization
qPCR	: Quantitive Polymerase Chain Reaction



SİMGELER

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece [Birim]
cm	: Santimetre [Birim]
cm³	: Santimetre küp [Birim]
g	: Gram [Birim]
kg	: Kilogram [Birim]
L	: Litre [Birim]
LC₅₀	: Ortalama öldürücü konsantrasyon
LD₅₀	: Canlıların yarısını öldüren doz
m	: metre [Birim]
mg	: miligram [Birim]
ml	: mililitre [Birim]
mm	: milimetre [Birim]
pH	: Çözeltinin asitlik ya da bazlık derecesi [Birim]
µg	: Mikrogram
µm	: Mikrometre



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Pestisitlerin sağlık üzerine etkilerine göre sınıflandırılması (Ayaz ve Yurttagül, 2012).	5
Tablo 2.2. Etki ettiği zararlı gruplara göre pestisitler (Tiryaki ve ark., 2010).	6
Tablo 2.3. <i>Daphnia magna</i> için uygun kültür koşulları (EPA, 2009).	20
Tablo 3.1. Novaluron'un kimyasal özellikleri.....	22
Tablo 3.2. mRNA ekspresyonu için hazırlanan RT-PCR karışımı.	25
Tablo 3.3. mRNA ekspresyonu için RT-PCR döngüsü.....	25
Tablo 3.4. Primer dizilimleri.	25



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Novaluron'un kimyasal yapısı (NIH, 2024).	11
Şekil 2.2. Su piresi (<i>Daphnia magna</i>) morfolojik yapısı (Ebert, 2005).....	15
Şekil 2.3. Su piresi (<i>Daphnia magna</i>) yaşam döngüsü (Ebert, 2005).	18
Şekil 3.1. <i>Daphnia magna</i>	21
Şekil 3.2. Novaluron.	21
Şekil 3.3. Akvaryum donanımı.	22
Şekil 3.4. <i>Daphnia magna</i> kültürü.	22
Şekil 3.5. Leica LAS-X Office programı ile uzunluk (A) ve kalp çapı (B) ölçümü..	24
Şekil 4.1. Kontrol grubu, <i>Daphnia magna</i> anatomisi.	27
Şekil 4.2. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, sekonder antende kırılma (ok).	28
Şekil 4.3. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kamçıda yarık (ok).	28
Şekil 4.4. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, kuyrukta kırılma (ok). ...	29
Şekil 4.5. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, perikardiyal ödem (ok)..	29
Şekil 4.6. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, sekonder antende kırılma (ok).	30
Şekil 4.7. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kamçıda yarık (ok).	30
Şekil 4.8. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, perikardiyal ödem (ok). ...	30
Şekil 4.9. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, kuyruk ucunda kopma (ok).	31
Şekil 4.10. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması (ok).	31
Şekil 4.11. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, sekonder antende kırılma (ok).	32
Şekil 4.12. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kamçıda yarık (ok).	32
Şekil 4.13. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, perikardiyal ödem (ok)...	32
Şekil 4.14. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması (ok).	33
Şekil 4.15. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, kuyrukta kırılma (ok). ..	33
Şekil 4.16. Novaluron maruziyetinin <i>D. magna</i> 'da sağkalım oranına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır (p<0,05).....	34
Şekil 4.17. Novaluron maruziyetinin <i>Daphnia magna</i> 'da kalp atım sayısına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır.	

- Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$)..... 34
- Şekil 4.18.** Novaluron maruziyetinin *Daphnia magna*'da toraks aktivitesine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$)..... 35
- Şekil 4.19.** Novaluron maruziyetinin *Daphnia magna*'da post-abdominal kavite aktivitesine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). 36
- Şekil 4.20.** Novaluron maruziyetinin 72. Saatinde sekonder anten anomalisine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$)..... 37
- Şekil 4.21.** Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da perikardiyal ödeme etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). 37
- Şekil 4.22.** Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da kuyruk anomalisine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). 38
- Şekil 4.23.** Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da abdominal kamçı anomalisine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). 39
- Şekil 4.24.** Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da abdominal kamçının dışta kalmasına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$). 39
- Şekil 4.25.** Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da boy uzunluğuna etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel ayırım bulunmaktadır ($p<0,05$)..... 40
- Şekil 4.26.** Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da kalp çapına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel ayırım bulunmaktadır ($p<0,05$)..... 41
- Şekil 4.27.** Novaluron maruziyetinin 24. saatinde *Daphnia magna*'da gen ekspresyonuna etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. *, **, *** ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak

anamlı fark bulunmaktadır. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel ayım bulunmaktadır ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$)..... 42





NOVALURON'UN *Daphnia magna* ÜZERİNDEKİ TOKSİK ETKİLERİNİN GELİŞİM, MORFOLOJİ, FİZYOLOJİ VE GEN EKSPRESYONU DÜZEYİNDE İNCELENMESİ

ÖZET

Pestisitler, zararlı organizmaları kontrol etmek için kullanılan kimyasallardır ve tarımda verimliliği artırmak amacıyla yaygın olarak kullanılır. Böcek, yabani ot, mantar ve kemirgen gibi zararlılara karşı insektisit, herbisit, fungusit ve rodentisit olarak sınıflandırılırlar. Tarım dışında evlerde, işyerlerinde ve bahçe bakımında da kullanılırlar. Novaluron, böcek gelişimini düzenleyici bir insektisit olup özellikle tarımsal zararlılara karşı kullanılır. Kimyasal olarak kitin sentez inhibitörü olarak bilinen bu madde, böceklerin dış iskeletlerinin oluşumunu engelleyerek larvaların gelişimini durdurur. Novaluron gibi pestisitler, yüzey akışı, toprak erozyonu, yeraltı sularına sızma ve atmosferik taşınım gibi pek çok yolla sucul ekosisteme karışmakta ve sucul canlılarda toksik etkilere sebep olabilmektedir. Dolayısıyla bu tez çalışması kapsamında Novaluron'un en önemli sucul model organizmalardan olan *Daphnia magna*'daki akut toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Novaluron'un *Daphnia magna*'daki toksisitesini belirlemek için 24 saatten küçük dafnidlere 100 mg/L, 10 mg/L, 1mg/L, 0,1 mg/L, 0,01 mg/L, 0,001 mg/L ve 0,0001 mg/L'lik konsantrasyonlarda uygulama yapılmıştır. Novaluron'un *Daphnia magna*'daki 48 saatlik LC₅₀ konsantrasyonu 61 µg/L olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda bir kontrol ve 3 deney grubu olmak üzere toplamda 4 grup oluşturulmuştur ve her bir grupta 24 saatten küçük 10 daphnid kullanılmıştır. Kontrol grubuna hiç bir uygulama yapılmazken deney gruplarına 72 saat boyunca subletal konsantrasyonlar olan 3,75 µg/L 7,5 µg/L ve 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılmıştır. Boy uzunluğu, gelişim deformitelerinin yanı sıra, kalp büyüklüğü, kalp atım hızı, toraks ve abdominal kavite hareketleri yönünden değerlendirilmiştir.

Ayrıca bu çalışmada; Novaluron pestisitinin subletal konsantrasyonlarına 24 saat boyunca maruz bırakılan *Daphnia magna* yavrularında detoksifikasyon sistemi (*cyp314*, *cyp360A8*, *gst* ve *p-gp*) ile ilgili genlerin ekspresyon seviyelerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışma, Novaluron pestisitinin subletal konsantrasyonları olan 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L konsantrasyonlarının *Daphnnia magna*'ya 24 saat boyunca uygulanması ile gerçekleştirilmiştir. Genlere ait ekspresyon profilleri Real Time PCR kullanılarak belirlenmiştir.

Elde edilen verilerin dağılımı SPSS program kullanılarak Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılıma sahip gruplar için istatistiksel anlamlılık parametrik test olan One-way ANOVA kullanılırken, normal dağılıma sahip olmayan gruplar için parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Daha sonra gruplar arası anlamlılık için post-hoc testleri uygulanmıştır. Analizler, %95; %99, %99,9 güven düzeyi; 0,05, 0,01 ve 0,001 anlamlılık değeri kullanılarak yapılmıştır.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, en fazla toksik etki 15 µg/L Novaluron'a maruz kalan grupta tespit edilmiştir. Deney gruplarının tamamında, kontrol grubuna

kıyasla kalp atımında artış gözlemlenirken toraks ve abdominal kavite gibi diğer fizyolojik faaliyetlerinde azalma tespit edilmiştir. Özellikle abdominal kavite aktivitesinin 72. saatte 15 µg/L konsantrasyona maruz kalan grupta durma noktasına geldiği gözlemlenmiştir. Deney grularında Novaluron maruziyeti sonrasında boy uzunluğunda artış tespit edilirken kalp çapında azalma olduğu belirlenmiştir. Novaluron uygulaması yapılmış bireyler kontrol ile kıyaslandığında kuyruk deformasyonu, karın pençesi deformasyonu, sekonder anten deformasyonu ve perkardiyal ödem olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışma süresi sonunda pestisit uygulanan *Daphnia* yavrularında; *cyp314* ve *gst* genlerindeki ekspresyon seviyeleri kontrol gurubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken ($p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0.001$), *cyp360A8* geninin ekspresyon seviyesi kontrol gurubuna kıyasla istatistiksel olarak azalmıştır ($p<0,05$, $p<0,01$ ve $p<0.001$). *p-gp* geninin ekspresyonu kontrol ile kıyaslandığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir değişime neden olmamıştır

Sonuç olarak, bu çalışma Novaluron'un *Daphnia magna* üzerindeki akut toksik etkilerini kapsamlı bir şekilde ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, düşük konsantrasyonlarda dahi tarımda sıklıkla kullanılan bu pestisit, sucul organizmalarda belirgin fizyoloji, morfoloji ve gen ekspresyonu üzerinde etkiler oluşturabileceğini göstermektedir. Bu bulgular, *Daphnia magna*'nın tatlı su ekosistemlerinde kilit bir tür ve sucul toksisitenin değerlendirilmesinde önemli bir model organizma olması nedeniyle, Novaluron'un yarattığı potansiyel ekolojik riskleri anlamak açısından önem taşımaktadır. Sonuç olarak, bu çalışma, Novaluron'un *Daphnia magna* üzerindeki akut toksik etkilerini ortaya koyarak, sucul ortamların kirlenmesini önlemek amacıyla pestisit kullanımının daha dikkatli bir şekilde yönetilmesi ve düzenlenmesi gerektiğini vurgulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Daphnia magna*, Novaluron, akut toksisite, morfolojik deformasyonlar, fizyolojik değişiklikler, gen ekspresyonu

INVESTIGATION OF TOXIC EFFECTS OF NOVALURON ON *Daphnia magna* AT THE LEVEL OF DEVELOPMENT, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND GENE EXPRESSION

SUMMARY

Pesticides are chemicals used to control harmful organisms and are widely used in agriculture to increase productivity. With the increase in human population, it has become very important to increase productivity in agricultural activities in order to meet the demand for food. In this direction, the use of pesticides has become widespread and their environmental impacts have become a subject of debate. They are classified as insecticides, herbicides, fungicides and rodenticides against pests such as insects, weeds, fungi and rodents. Apart from agriculture, they are also used in homes, workplaces and garden maintenance.

Novaluron is an insect growth regulator insecticide and is used especially against agricultural pests. Novaluron, chemically known as a chitin synthesis inhibitor, inhibits the formation of chitin in target organisms, stops the development of the exoskeleton and prevents the growth of larvae. However, the spread of these pesticides used in agricultural areas into the environment and their effects on non-target organisms pose a serious risk, especially in aquatic ecosystems. Pesticides such as Novaluron can be transported to aquatic ecosystems by various means such as surface runoff, soil erosion, groundwater infiltration and atmospheric transport, and can have toxic effects on organisms there. There is limited information on the effects of Novaluron especially in aquatic ecosystems.

Aquatic organisms such as *Daphnia magna* have an important place in ecotoxicological research with their sensitivity to environmental pollutants. These organisms are used as biomarkers to evaluate the effects of pollutants. These biomarkers can be morphological such as secondary antennae, caudal abdominal flagella, length and heart diameter; physiological such as heart rate, post abdominal cavity, thorax activity or genetic such as changes in gene expression.

Heart rate, as a parameter that responds rapidly to environmental stressors, provides critical information on the overall health status of the organism. Thoracic limb activity serves as an important biomarker for early detection of responses to environmental toxins as well as vital functions such as nutrient collection and oxygen transport. The abdominal flagellum generates the post-abdominal pincer movement. Abdominal flagella regulate the movement of water and are involved in essential functions such as nutrient collection and oxygen transport. Environmental pollutants, such as pesticides, distort the shape of this structure, directly affecting the speed and rhythm of movements, and are therefore an important marker in toxicological studies. Secondary antennae, with their functions of movement and adaptation to environmental changes, are a valuable parameter in monitoring both physical and behavioural effects. In addition, tail structure is an important biomarker for balance and mobility, and may show significant changes such as deformation when exposed to environmental stressors. Stature is a basic parameter that provides information about

the growth rate and general health status of the organism. Cardiophysiological indicators such as heart diameter are considered as an important tool to understand the metabolic and circulatory effects of environmental pollutants on the organism. Finally, pericardial oedema is characterised by the accumulation of fluid in the region of the heart, which interferes with the efficient functioning of the organism's cardiovascular system, negatively affecting cardiac function. Fluid accumulation can significantly weaken the general state of health of the organism by disrupting the regular functioning of the circulatory system. The presence of pericardial oedema can be considered an indicator of cardiovascular damage caused by exposure to environmental pollutants

In this study, to determine the toxicity of Novaluron in *Daphnia magna*, daphnids less than 24 hours old were treated at concentrations of 100 mg/L, 10 mg/L, 1 mg/L, 0,1 mg/L, 0,01 mg/L, 0.001 mg/L and 0.0001 mg/L. The 48-hour LC50 concentration of novaluron in *Daphnia magna* was determined as 61 µg/L. In our study, 4 groups were formed in total, one control and 3 experimental groups, and 10 daphnids younger than 24 hours were used in each group. While no treatment was applied to the control group, sublethal concentrations of 3.75 µg/L 7.5 µg/L and 15 µg/L Novaluron were applied to the experimental groups for 72 hours. During the experiments, survival rates, length, developmental deformities, heart size, heart rate, thoracic and abdominal cavity movements, as well as heart size, heart rate, thorax and abdominal cavity movements of the organisms were examined by inverted microscope. Thus, data on the sublethal effects of the pesticide in *Daphnia magna* were obtained.

In addition, in this study, in order to investigate the expression levels of genes related to detoxification system (*cyp314*, *cyp360A8*, *gst* and *p-gp*) in *Daphnia magna* juveniles exposed to sublethal concentrations of Novaluron pesticide for 24 hours, sublethal concentrations of Novaluron pesticide (3.75 µg/L, 7.5 µg/L and 15 µg/L) were applied to *Daphnia magna* for 24 hours. Expression profiles of genes were determined using Real Time PCR.

The distribution of the obtained data was analysed by Shapiro-Wilk test using SPSS programme. One-way ANOVA, which is a parametric test, was used for statistical significance for groups with normal distribution, while the non-parametric Kruskal-Wallis test was used for groups without normal distribution. Then, post-hoc tests were applied for significance between groups. The analyses were performed using 95% confidence level; 0.05, 0.01 and 0.001 significance value. The statistical analyses used in the experiments confirmed the significance of the observed differences and increased the reliability of the results. Data from both acute and chronic toxicity tests provide strong evidence for the ecological risks of Novaluron in aquatic ecosystems.

When the data obtained were evaluated, the highest toxic effect was found in the group exposed to 15 µg/L Novaluron. While an increase in heart rate was observed in all experimental groups compared to the control group, a decrease in other physiological activities such as thorax and abdominal cavity was detected. In particular, it was observed that abdominal cavity activity came to a halt in the group exposed to 15 µg/L concentration at 72 hours. Changes in biological parameters such as heart rate, thoracic activity and post-abdominal pincer movements were considered as valuable biomarkers for early detection of toxic effects of pesticide. Moreover, these changes clearly reveal the harmful effects of the pesticide on the organism in response to environmental stress factors. When Novaluron-treated individuals were compared with the control, significant changes such as tail breakage, pericardial oedema,

secondary antennal deformations, abdominal clefts and decreased heart diameter were observed at 72 hours of exposure. In addition, it was determined that there was an increase in the length of the experimental groups after Novaluron exposure, while there was a decrease in heart diameter.

At the end of the study period, the expression levels of *cyp314* and *gst* genes in pesticide-treated *Daphnia* fry showed a statistically significant increase compared to the control group ($p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$), while the expression level of *cyp360A8* gene decreased statistically compared to the control group ($p < 0.05$, $p < 0.01$ and $p < 0.001$). The expression of *p-gp* gene did not cause a statistically significant change compared to the control group.

In summary, the findings revealed that Novaluron causes significant toxic effects on *Daphnia magna* even at low concentrations. It was observed that at high concentrations the survival rate of organisms was significantly reduced, while at low concentrations exposure caused changes in physiology, morphology and gene expression in the organism.

In conclusion, this study comprehensively demonstrated the acute toxic effects of Novaluron on *Daphnia magna*. The findings indicate that this pesticide, which is frequently used in agriculture, can cause significant effects on physiology, morphology and gene expression in the ecosystem, especially in aquatic organisms, even at low concentrations. Since *Daphnia magna* is an important species in freshwater ecosystems and an important model organism for the assessment of aquatic toxicity, these findings are important for understanding the potential ecological risks posed by Novaluron. In conclusion, this study reveals the acute toxic effects of Novaluron on *Daphnia magna*. Therefore, it is recommended that regulations to reduce the environmental impacts of Novaluron should be implemented and the pesticide should be used in a controlled manner. Furthermore, the promotion of environmentally friendly agricultural practices is recognised as an important strategy to reduce the impacts of pesticides on aquatic ecosystems.

Future studies should examine the acute and chronic consequences of Novaluron as well as other pesticides in the aquatic ecosystem. More detailed assessment of the effects of pesticides on non-target organisms can provide a stronger basis for environmental risk management. This study provides important information on the environmental effects of pesticides and constitutes a valuable reference for the protection of aquatic ecosystems and the promotion of sustainable agricultural practices.

Keywords: *Daphnia magna*, Novaluron, acute toxicity, morphological deformations, physiological changes, gene expression



1. GİRİŞ

Tatlı su ekosistemlerinin durumu sucul model organizmalar üzerinde gerçekleştirilen toksikoloji çalışmalarıyla değerlendirilmektedir. *Daphnia magna*, sucul toksisite araştırmaları başta olmak üzere birçok ekotoksikoloji çalışmasında yaygın olarak kullanılan model organizma olarak öne çıkmaktadır. Yavru üretiminin kolaylığı, bakım maliyetinin düşük ve yöntemlerinin basit olması, hızlı üreme döngüsü ve şeffaf vücut yapısı gibi özellikleri, onu toksisite değerlendirmelerinde ideal bir biyolojik model haline getirmiştir. Dolayısıyla, *Daphnia magna*, özellikle pestisitlerin sucul ekosistemler üzerindeki olası etkilerinin belirlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır.

Pestisitler tarım harici günlük hayatta da zararlı organizmalardan korunmak amaçlı kullanılan kimyasallardır. Zararlı böcekler, yabani otlar, mantarlar ve kemirgenlerle mücadele için kullanılan bu maddeler, tarımsal verimliliği artırırken çevresel sürdürülebilirlik üzerinde olumsuz etkiler yaratabilmektedir. Pestisitler, yüzey akışı, toprak erozyonu, yeraltı suları ve atmosferik taşınım gibi yollarla çevreye yayılmakta ve özellikle sucul ekosistemlerde ciddi toksik etkiler oluşturabilmektedir.

Bu çalışma kapsamında kitin sentez inhibitörü olan ve pestisit olarak sıklıkla kullanılan Novaluron'un *Daphnia magna*'da yarattığı toksik etkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

24 saattten küçük *Daphnia magna* yavrularına çeşitli konsantrasyonlarda (100 mg/L, 10 mg/L, 1mg/L, 0,1 mg/L, 0,01 mg/L, 0,001 mg/L ve 0,0001 mg/L'lik) Novaluron uygulaması yapılmış ve 48 saatlik LC₅₀ konsantrasyonu 61 µg/L olarak tespit edilmiştir. *Daphnia* bireylerine subletal konsantrasyonlar olan 3,75 µg/L 7,5 µg/L ve 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılmış ve gelişimi 72 saat süresince invert mikroskop ile izlenmiştir. Novaluron maruziyetinin *Daphnia magna*'da ölüm oranı, kalp atım hızı, toraks ve abdominal kavite parametrelerine etkileri tespit edilmiştir. Novaluron'un bireylerde boy uzunluğu, kuyruk, sekonder anten, abdominal kamçı ve kalp çapı gibi morfolojik özelliklere olan etkileri de detaylı bir şekilde incelenmiştir.

Ayrıca Novaluron' un *Daphnia* yavrularında detoksifikasyon sistemi (*cyp314*, *cyp360A8*, *gst* ve *p-gp*) ile ilgili genlerin ekspresyon seviyelerine olan etkileri incelenmiştir. Kontrol grubu ile Novaluron'un 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L konsantrasyonuna 24 saat boyunca maruz bırakılmasının ardından genlere ait ekspresyon profilleri Real Time PCR kullanılarak bakılmıştır. Ulaşılan sonuçlarda Novaluron'un *cyp314*, *cyp360A8*, *gst* ve *p-gp* genlerine olan etkileri belirlenmiştir.

Elde edilen verilerin, pestisitlerin sucul organizmalarda oluşturduğu potansiyel ekolojik risklerin daha iyi anlaşılmasına katkı sunacağı düşünülmektedir.



2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Pestisit

2.1.1. Pestisitlerin tanımı ve kullanımı

Dünya yüz ölçümü aynı kalırken nüfus hızla artmaktadır. Nüfus artışının yanı sıra doğal afetler ve kentleşme nedeniyle ekilebilir alanlar giderek daralmaktadır. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün (FAO) raporlarına göre, dünya genelinde birçok insan yeterli ve dengeli beslenme imkânından mahrum kalmaktadır (FAO, 2019). Bu nedenle kullanılan alanlarda elde edilen ürün miktarının artırılması amaçlanmaktadır. Ürünün kalite ve miktarının artırılması bitkilerin maruz kaldığı hastalık, böcek ve zararlı otların öldürülmesiyle mümkündür. Tarımda ana mücadele yöntemi etkili, ekonomik ve hızlı sonuç veren pestisitlerin kullanıldığı kimyasal mücadeledir (Çallı, 2007).

Amerika Çevre Koruma Ajansı (EPA), tarımsal üretime zarar veren yabani otlar, haşereler ve mantarlar gibi organizmalara karşı kullanılan fiziksel, kimyasal veya biyolojik maddeleri "pestisit" olarak tanımlamaktadır (EPA, 2009). Türk Gıda Kodeksi (TGK), tarımsal mücadelede kullanılan tüm kimyasal maddeleri "pestisit" olarak tanımlarken, bu mücadele sonrasında tarım ürünlerinde bulunabilecek aktif maddeleri, onların bozunma veya reaksiyon ürünlerini ise "pestisit kalıntısı" olarak ifade etmektedir (TGK, 2017).

Pestisitler kullanılan doza bağlı olarak zararlı organizmalarda ölümcül ya da ölümcül olmayan etkilere neden olabilmektedir (Hwang ve ark., 2000; Guedes ve ark., 2016). Morfoloji, fizyoloji, davranış ve doğurganlıktaki değişim gibi ölümcül olmayan etkiler zararlı ilacın sınıfına ve hedeflenen türe göre değişmektedir (Meng ve ark., 2017; FAO, 2019; Hwang ve ark, 2000;). Bu etkileri değerlendirmek amacı ile fizyolojik ve biyokimyasal değişiklikler kullanılmaktadır (Zhao ve ark., 2018).

2.1.2. Pestisitlerin tarihi

1900'lü yıllardan sonra yaygınlaşan pestisit kullanımı eski Yunan zamanına dayanmaktadır. Kükürt, bakır, arsenik ve demir kullanılan ilk pestisitlerdendir. İkinci

Dünya Savaşı'nın ardından, insanların vücudunda organik klorlu pestisit kalıntılarına rastlanmıştır. Bazı pestisitlerin toksik etkilerinin bulunmadığı, ancak bazılarının sinir sistemini etkilediği, karsinojenik ve mutajenik özellikler gösterebildiği tespit edilmiştir (Karabay, 2000; Tiriyaki ve ark. 2010).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1947 yılında Pestisit Kalıntı Yasası kabul edilmiştir ve 1970 yılında EPA (Amerika Koruma Dairesi) kurulmuştur. Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ile Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 1960 yılında Pestisit Kalıntıları Kodeksi Komitesini kurmuş olup bu komite, pestisitlere ilişkin tanımlar yapmış ve izin verilen maksimum kalıntı seviyelerini belirlemiştir (WHO, 1962).

Günümüzde özellikle gelişmiş ülkelerde pestisitlerin bilinçli ve kontrollü bir şekilde kullanımı yaygınlaşmıştır. Avrupa Birliği (AB), Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Türkiye gibi ülkelerde bu konuda birçok yasa çıkarılmış, resmi kuruluşların yanı sıra gönüllü kuruluşlar da süreçte etkin rol oynamıştır. Bu sayede, bilgisiz ve kuralsız pestisit kullanımının önüne geçilerek, çevre dostu ve düşük riskli pestisitlerin tercih edilmesi sağlanmıştır. Amerika Çevre Koruma Ajansı (EPA) ise daha güvenilir olan bu pestisitlerin kullanımını teşvik etmiştir. (EPA, 2017).

2.1.3. Pestisitlerin bozunma mekanizmaları

Pestisitlerin çevredeki kalıcılığı, birkaç günden başlayarak 20 yıla kadar uzanabilmektedir (Beyoğlu, 2006). İlaçlama yapıldıktan sonra etken maddeler havaya karışmaktadır. Pestisitlerin parçalanmasında iki temel mekanizma rol oynar: serbest radikal reaksiyonları ve fotokimyasal reaksiyonlar. Güneş ışığı etkisiyle havada veya suda gerçekleşen reaksiyonlar, fotokimyasal reaksiyonlar olarak adlandırılır. Bu bozunmadan kaynaklanan yeni ürünün toksisitesi ana bileşiğin toksisitesinden daha fazla veya daha az olabilmektedir. Diğer bir hasar türü olan radikal reaksiyonda ise fotonlar havadaki moleküllerle etkileşime girerek serbest radikaller oluşturur ve bu serbest radikaller pestisitteki aktif maddelerle reaksiyona girerek bozunma oluşturur (Linde, 1994).

2.1.4. Pestisitlerin zararları

Pestisitler su ve toprağı kirleterek ekosistemin bozulmasına yol açar. Pestisitlerin sürekli kullanımının birçok olumsuz etkisi vardır. Pestisit kalıntıları çevrede uzun süre kalarak hedef olmayan organizmaları da etkilemektedir (Cao ve ark., 2015). Böylece hedef olmayan organizmalarda bu kimyasallar kronik toksisite oluşturabilmektedir

(FAO, 2016; WHO,2016). Ayrıca organizmalar bu kimyasallara dirençli hale gelebilmektedir (Tatlı, 2006).

Pestisitler canlılara deri ve solunum yoluyla doğrudan veya pestisit bulaşmış besin maddelerinin tüketilmesi ile dolaylı olarak etki eder. Pestisitler, insanlarda kronik (uzun süreli maruziyetle birikim) veya akut (tek doz maruziyet) zehirlenmelere yol açabilmektedir. Kronik zehirlenmeler, kanser, beyin hasarı, akciğer hastalıkları, böbrek ve karaciğerde nefroz, alerjiler, teratojenik etkiler (anne karnındaki bebekte deformasyonlar) ve mutajenik etkiler (genetik bozukluklar) gibi ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Williams ve ark.,1992; Gomez ve ark., 1988; Casmin, 1999; Tiryaki ve ark., 2010). Bazı pestisitlerin sağlık üzerindeki etkilerine göre sınıflandırılması, Tablo 2.1'de ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur. Bu tablo, pestisitlerin insan sağlığına olan farklı etkilerini kategorize ederek genel bir bakış sağlamaktadır.

Tablo 2.1. Pestisitlerin sağlık üzerine etkilerine göre sınıflandırılması (Ayaz ve Yurttagül, 2012).

Sağlık Üzerine Etki	Pestisit Adları
Mutajen	Aldicarb, Aldrin, Aldrazin, Benomil, Captofol, Carbofuran, Clorfeninfos, Cyanizin, Diclofluanid, Dimethoate, Disulfaton, Paraquat, Simazine, Tiram
Karsinojen	Aldrin, Benomil, Captofol, Captan, Carbofuran, Clorotalonil, 2, 4-D, Lindan, Tiram, Trifluralin, Zineb
Alerjen	Benomil, Captofol, Captan, Clorotalonil, Lindan, Maneb, Paraquat, Propachlor, Tiram, Zineb
Teratojen	Aldrin, Benomil, Captofol, Captan, 2, 4-D, Dinoseb, Diquat, Lindan, Maneb, MCPA, Paraquat, Propachlor, Tiram, Zineb

Pestisitlere kronik maruziyet sonucunda; cilt, gözler, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrekler, üreme sistemi, endokrin sistem ve kan üzerinde çeşitli etkilere neden olabilir (WHO, 2010). Organofosforlu bir pestisit olan Metil Parathion'un ince bağırsak dokusundaki patolojik etkisini konu alan çalışmada, Parathion uygulanan sıçanların ince bağırsak villuslarında bozulma, genişleme, granülasyon, lokal hücre infiltrasyonu belirlenmiştir (Öğütücü ve ark., 2007). Malathionin pestisiti kullanılarak yapılan bir çalışmada bu pestisitlerin reaktif oksijen türlerini (ROT) ve lipid peroksidasyonunu artırdığı belirlenmiştir (Olakkaran, 2020). Yapılan diğer bir çalışmada, Malathionin ve Klorpirifos pestisitlerinin beyin

dokusunda ROT üretimine neden olduğu prooksidan ve antioksidan dengesini bozduğu bildirilmiştir (Yadav ve ark., 2016).

Pestisit zehirlenmeleri ilaçlı gıdaların tüketilmesi, pestisit üretim ve ilaç hazırlama aşamalarında yeterli korunma sağlanamaması gibi birçok nedenle gerçekleşebilmektedir. Besinlerde mevcut olan pestisitlerin zararlı etkisini azaltmak bol su ile yıkama, kabuk soyma ve ısıl işlemler ile mümkün olabilmektedir. Üretim ve hazırlık aşamasında pestisite maruz kalmada ise koruyucu ekipman kullanılması; uygun şekilde ve minimum konsantrasyonlarda pestisit kullanımı insan sağlığı konusunda korunmayı sağlamaktadır (Tunçbilek ve ark., 1998).

2.1.5. Pestisitlerin kalıntı sorunu ve nedenleri

Tarımsal üretimde, bitki veya hayvan sağlığını korumak amacıyla kullanılan ürünler ve bu ürünlerin bozunma sonucu oluşan bileşenleri "kalıntı" olarak adlandırılmaktadır. Pestisitler, hormonlar ve veteriner ilaçları en çok bilinen kalıntılardır (Şık ve ark., 2011). İlaç uygulamasında yüksek dozda pestisit kullanımı ve amaca uygun pestisit kullanılmaması kalıntı sorununu ortaya çıkarmaktadır (Çallı, 2007).

Doğmamış bebekler ve çocuklar gibi hassas gruplar da dahil olmak üzere tüketicilere fark edilebilir bir sağlık riski oluşturmayan, bireyin vücut ağırlığına göre yaşam boyu gıdalardan alabileceği pestisit miktarının üst sınırı "maksimum kalıntı limiti" olarak tanımlanmaktadır. Ülkemizde Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğince pestisit kalıntı limitleri belirlenmektedir (TGK, 2017).

2.1.6. Pestisitlerin sınıflandırılması

2.1.6.1. Etki ettikleri canlı türlerine göre pestisitler

Pestisit sınıflandırması ve etkilediği gruplar Tablo 2.2.'de verilmiştir.

Tablo 2.2. Etki ettiği zararlı gruplara göre pestisitler (Tiryaki ve ark., 2010).

Pestisit Sınıfı	Etki Ettiği Zararlı Grubu
İnsektisitler	Böcek
Rodentisitler	Kemirgenler
Herbisitler	Yabancı otlar
Akarasitler	Akarlar
Bakterisitler	Bakteriler
Mollusisitler	Yumuşakçalar
Nematisitler	Parazitik kurtlar
Fungusitler	Mantarlar

Tarımsal üretimi olumsuz etkileyen zararlı türüne göre kullanılan pestisit değişmektedir. Fungusitler, mantarların üremesini engellemek amaçlı kullanılmaktadır (Ivic, 2010). Herbisitler, yabancı otların yok edilmesinde kullanılmaktadır (Kellogg ve ark., 2000). Akarisitler, tarım haricinde günlük hayatımızda da yer alan akarların kontrolünde kullanılmaktadır (Atabey, 2016). Bakterisitler, bakterileri yok etmede kullanılmaktadır (Atabey, 2016). Mollusisitler, salyangoz gibi yumuşakçalara karşı kullanılmaktadır (Yılmaz ve ark., 2008). Rodentisitler, kemirgenlere karşı genellikle depo ve evlerde kullanılmaktadır (Atabey, 2016). Nematisitler, toprak fumigantları olarak da bilinir ve toprak solucanlarını yok etmek için kullanılır. Bu kimyasallar, solucanların enzim aktivitelerini bozarak sinir sistemi ve solunum işlevlerini aksatır ve bu durum genellikle ölümleriyle sonuçlanır (Chitwood, 2003). İnsektisitler böcekler ile mücadelede kullanılmaktadır. Bu kimyasallar, böceklerde belirli enzimleri inhibe ederek sinir sistemi işlevlerini bozar ve bunun sonucunda sinir sistemi deformasyonlarına yol açar (Colin ve ark., 2004; Costa, 2008; Atabey, 2016).

2.1.6.2. Kimyasal yapılarına göre insektisitler

2.1.6.2.1. Organofosfatlar

Organik fosforlu (OP) insektisitler olarak da bilinir. Organofosfatlar fosforik asidin amid veya tiyol türevidir (Vural, 2005). Bu heterojen kimyasallar zararlı böcek ve otları kontrol etmek için tasarlanmıştır. OP insektisitler bitkilerin haşerelere karşı korunmasında kabul gören en etkili yöntemdir ve mahsul verimine önemli katkıları bulunmaktadır. OP insektisitler temas, solunum ve sindirim yoluyla etkilerini gösterir (Costa, 2006). Sinapslarda kolin esteraz enzimini tek yönlü inhibe ederek asetilkolin birikmesine neden olur böylece böcekte paraliz ve ölüme neden olur (Vural, 2005; Becker ve ark., 2010).

Organik fosforlu (OP) insektisitler, organik klorlu (OK) insektisitlerin kalıcı etkilerinin neden olduğu olumsuzlukları önlemek amacıyla alternatif kullanım yöntemi olarak ortaya çıkmıştır. OP insektisitler OK insektisitler ile kıyaslandığında daha düşük kimyasal stabilite ve omurgalılara karşı daha yüksek toksisite göstermektedir (Becker ve ark., 2010). Dünyanın bazı bölgelerinde kullanımı devam ediyor olsa da bu insektisitlerin kullanımı Türkiye'de halk sağlığını olumsuz etkilediği nedeniyle yasaklanmıştır (Vural, 2005).

OP sınıfındaki insektisitler arasında; Diazinon, Pirimiphos methyl, Temephos, Fenitrothion, Malathion, Naled, Dichlorvos (DDVP: Dimethyl 2, 2- dichlorovinyl phosphate), Fenthion, Chlorpyrifos benzeri bileşikler bulunmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998; Becker ve ark., 2010; Kumar ve ark., 2010).

2.1.6.2.2. Karbamatlar

Karbamatlı insektisitler, karbamik asit esterleridir. İsviçre'de 1951 yılında üretilen ilk bileşiklerde stabilite problemleri ortaya çıkmıştır bu nedenle yüksek aktiviteli N-metil karbamatlı bileşikler geliştirilmiştir. Geliştirilen bu bileşikler, zaman içinde önemli bir insektisit sınıfına dönüşmüştür (Becker ve ark., 2010). Alkil ve aril grupları içeren bileşikler, insektisit ve nematosit olarak; aromatik ya da alifatik gruplara sahip olanlar ise herbisit olarak işlev görmektedir (Becker ve ark., 2010).

Karbamat sınıfındaki insektisitler, kolin esterase enzimini geri döndürülebilir şekilde inhibisyona uğratar (Alten ve Çağlar, 1998; Vural, 2005; Becker ve ark., 2010). Kolin esterase inhibisyonu, asetil kolinin kolinerjik sinapslarda birikmesine yol açar; bu da sinir sisteminin aşırı uyarılmasına ile kasılma, paraliz ve ölüme neden olur. Karbamatlı insektisitler hem temas hem de mide yoluyla etkilerini göstermektedir (Alten ve Çağlar, 1998; Vural, 2005).

Karbamat sınıfındaki insektisitler arasında; Carbaryl, Carbosulfan, Propoxur ve Bendiocarb benzeri bileşikler bulunmaktadır (Smith, 1987; Alten ve Çağlar, 1998; Becker ve ark., 2010).

2.1.6.2.3. Organoklorinler

Organoklorlu (OK) insektisitler, alifatik veya aromatik karbon, klor ve hidrojen içeren bileşiklerdir. Bu bileşikler, klorlanmış hidrokarbonlar, klorlanmış organikler ve klorlu insektisitler gibi çeşitli isimlerle de anılmaktadır. OK insektisitler böceklere kısmen solunum yoluyla etki etsede genelde temas yoluyla etkisini gösterir (Alten ve Çağlar, 1998). Etkisini sinir sistemi sensörük nöronunda sodyum ve potasyum seviyelerinin dengesini bozup impulsun sağlıklı geçişini engelleyerek gösterir (Becker ve ark., 2010).

OK insektisitler tarım ve ormancılık sektöründe 1940-1960 yılları arasında yoğun olarak kullanılmış ancak çoğu ülkede barındırdığı tehlikeler nedeniyle kullanımı yasaklanmış veya sınırlandırılmıştır. Bu bileşiklerin olumsuz etkileri arasında, çevrede uzun süre kalma, suyla düşük, yağla yüksek çözünme, biyotransformasyonlarının ve

biyolojik parçalanmalarının yavaşlığı, geniş spektrumlu etkinlik ve hedef canlılarda direnç gelişimi gibi pek çok faktör yer almaktadır (Vural, 2005; Becker ve ark., 2010).

OK sınıfındaki insektisitler arasında; Aldrin, Endrin, Dieldrin, DDT (Dikloro Difenil Trikloretan), BHC (Benzen Hekza Klorür), Chlordane ve Heptachlor benzei bileşikler bulunmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998; Vural, 2005; Kang ve Chang, 2011).

2.1.6.2.4. Piretrin, sentetik piretroidler

Piretrinler doğal insektisitlerdir. Pire otu (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) bitkisinin çiçeklerinden elde edilen doğal piretrinler, insektisit etkisi gösteren en az altı esterin (Pretin 1-2, Cinerin 1-2 ve Jasmolin 1-2) karışımını içerir. Işık ve hava ile temasa girdiğinde kolayca bozunmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998; Vural, 2005).

Sentetik piretroidler (SP), doğal piretrinlerin alkol ve asit gruplarında yapılan modifikasyonlar ile geliştirilmiştir (Alten ve Çağlar, 1998). SP, doğal piretrinlere kıyasla daha yüksek kimyasal stabilite ve biyolojik aktivite içermektedir (Becker ve ark., 2010). Bu maddeler sinir hücre membranlarındaki sodyum kapılarına etki ederek böcekler üzerinde nörotoksik etki göstermektedir (Coats, 1990). Sentetik piretroidler knock-down (düşürücü), öldürücü ve repellent (kovucu) etkilere neden olmaktadır. SP aktivitelerini artırmak amacı ile sinerjistik bileşikler (PBO: Piperonil Bütoksit, Sülfoksit gibi) ile kullanılmaktadır (Mueller, 1990, Alten ve Çağlar, 1998; Becker ve ark., 2010). SP geniş etki alanına sahip insektisitlerdendir bu nedenle zararlı böceklerin yanında balıklar dahil diğer canlılar için de toksiktir (Mueller, 1990; Aydın ve ark., 2005). SP insektisitler tarım haricinde sivrisinek gibi birçok eklem bacaklının etkilerinden korunma amacıyla da kullanılmaktadır (Becker ve ark., 2010).

SP sınıfındaki insektisitler arasında; Permethrin, α -Cypermethrin, Bifenthrin, Cyfluthrin, Cyphenothrin, Deltamethrin, Etofenprox, λ -Cyhalothrin, Metofluthrin, Phenothrin, Resmethrin ve Tetramethrin benzeri bileşikler bulunmaktadır (Alten ve Çağlar, 1998; Becker ve ark., 2010).

2.1.6.2.5. Böcek gelişim düzenleyiciler (BGD)

Böcek gelişim düzenleyici insektisitler, böceklerin normal büyüme ve gelişimini etkilemektedir. Bu insektisitler, etki şekillerine göre kitin sentez inhibitörü (KSİ) ve juvenil hormon analogu (JHA) olarak ayrılmaktadır (Tunaz ve Uygun, 2004; Yanıkoğlu ve Çetin 2018).

- **Kitin sentez inhibitörleri (KSİ)**

Kitin, N-asetilglukozamin polimeridir. Kitin sentez inhibitörleri (KSİ) benzoilüre bileşikleridir. Bu tür bileşikler kitin sentetaz enziminin katalizlediği N-asetilglukozaminin polimerizasyon sürecini inhibisyona uğratar böylece böceklerin dış iskelet kitin tabakasının sentezini etkiler (Becker ve ark., 2010). İnsektisit uygulanmasından sonra deri değişim sırasındaki bozulma seviyesi kullanılan insektisite, doza ve böcek türüne göre değişmektedir. KSİ mide ve bağırsak yoluyla alındığında toksisitesini hedef organizmada daha fazla göstermektedir. Bu bileşikler derideki değişimi genellikle 3 biçimde etkilemektedir.

- a) Derideki değişimin engellenmesiyle böceğin eski deri içinde ölmesi.
- b) Deri değişiminin başlaması fakat tamamlanamaması.
- c) Eski kütikül kalıntılarının baş kapsülü ve mandibular bölgede kalmasıyla beslenmeyi ve gelişmeyi engellemesi.

Zararlı böceklerin kontrolünde, kitin sentez inhibitörleri (KSİ) larvasit olarak işlev görür. Böceklerde maruziyet sonrası ölüm larva, pupa ya da ergin çıkışı evrelerinde görülmektedir. Ergin bireylerde ölümcül olmayan durumlarda ise üreme kapasitelerinde düşüş görülmektedir (Thavara ve ark., 2007).

Kitin sentez inhibitörü sınıfındaki insektisitler arasında; Novaluron, Diflubenzuron ve Triflumuron benzeri bileşikler bulunmaktadır (Becker ve ark., 2010).

- **Jüvenil Hormon Analogları (JHA)**

Juvenil hormon analogları (JHA) kimyasal özellikleri bakımından terpenoid yapısındadır böylece böceğin kütikülasından hedef doku olan epidermise zahmetsizce geçerek etkilemektedir. JHA'nın memeliledeki toksisitesi oldukça düşüktür (Wright, 1976).

Levy ve Miller (1978) omurgasız bir canlı olan *Dugesia dorotocephala*'da yüksek dozda JHA olan Methoprene'e maruz bırakılan larva ile beslenmesi ile yapılan çalışmada yan etki gözlenmemiş olsa da diğer omurgasız canlılarda toksisite gerçekleştirilebilmektedir.

Miura ve Takahashi (1974) tarafından yapılan çalışmada, Methoprene'nin sivrisinek kontrol etmek amacıyla kullanılan konsantrasyonlardan daha yüksek

konsantrasyonlardaki maruziyetinde *Daphnia magna*, *Hyalella azteca* ve *Triops longicaudatus* gibi bazı organizmalarda akut toksisite gösterdiği belirlenmiştir.

JHA sınıfındaki insektisitler arasında; Pyriproxyfen, Methoprene ve Fenoxycarb yaygın olarak kullanılmaktadır. Fenoxycarb karbamat sınıfındaki bir insektisit olmasına karşın JHA ile benzer şekilde etki gösterir (Becker ve ark., 2010).

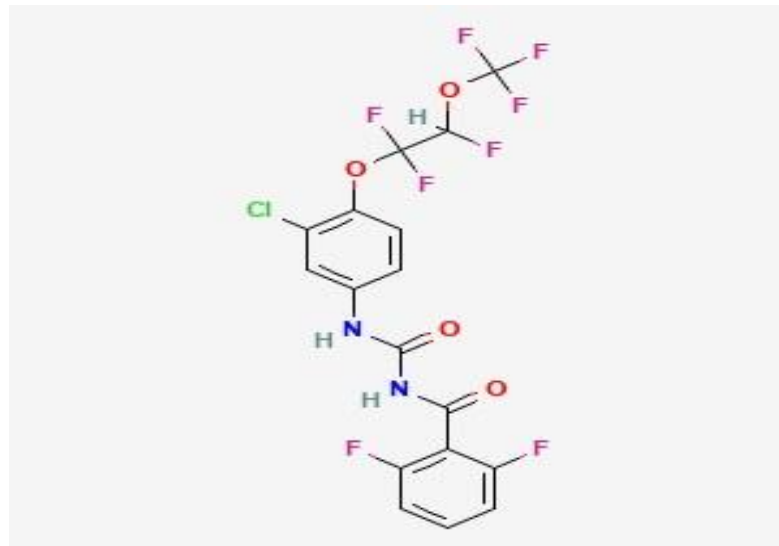
2.1.7. Novaluron

2.1.7.1. Novaluron'un tanımı ve tarihçesi

Novaluron, kitin oluşumunu güçlü bir şekilde inhibe eden bir benzoilfenil üredir (Ishaaya ve ark., 1974, 2001, 2002). Novaluron trips, beyaz sinek ve yaprak madencileri gibi böcek zararlılarının kontrolü için kullanılmaktadır. Novaluron, Amerika Birleşik Devletleri'nde elma, patates, brassicas, süs bitkileri ve pamuk gibi pek çok tarım ürünüde kullanılmıştır. Çevreye ve hedef dışı organizmalara düşük risk taşıdığı için Avrupa, Asya, Güney Amerika ve Avustralya gibi birçok ülkede kullanımına izin verilmiştir (EPA, 2017).

2.1.7.2. Novaluron'un fiziksel ve kimyasal özellikleri

Novaluron, ($\pm$)-1- [3-kloro-4-(1, 1, 2-trifloro-2-trifloro- metoksietoksi) fenil]-3-(2, 6-diflorobenzoil) üredir ve dört aşamalı bir reaksiyon sürecinde sentezlenir (Zou, 2008). Novaluron'un kimyasal yapısı Şekil 2.1.'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Novaluron'un kimyasal yapısı (NIH, 2024).

Novaluron Ph'dan etkilenmez, düşük buhar basıncı ve düşük su çözünürlüğüne (3 $\mu\text{g/L}$) sahiptir. Hidroliz ve fotoliz olma olasılığı düşüktür bu nedenle çevrede uzun

süre bozunmadan kalabilmektedir. Bu insektisit toprakta kuvvetli bir şekilde emilmekle birlikte toprak solunumu üzerinde olumsuz etki yaratmamaktadır. Novaluron'un toprak tarafından kuvvetli bir şekilde emilmesi yeraltı sularının kirlenme olasılığını azaltmaktadır (EPA, 2001).

2.1.7.3. Novaluron'un etki mekanizması

Böceklerin dış iskeleti, epidermiste bulunan çok katmanlı kütikülden oluşmaktadır (Akai ve King, 2013). Epidermise ek olarak orta bağırsak peritrofik membran denilen koruyucu kitin bazlı hücre dışı matrisi üretir (Dixit ve ark., 2008; Noh ve ark., 2018). Kitin deasetilaz proteinlerini kodlayan genler, kitin ile ilişkili hücre dışı matris üzerinde böcek gelişimi ve deri değiştirmede olumsuz etkiye sahiptir (Arakane ve ark., 2009; Xi ve ark., 2014).

Benzoilfenil üre bileşiği olan Novaluron kütikül bileşimini ve kitini değiştirir bu durum endokütikülün elastikiyetini ve sıklığını etkiler (Grosscurt ve ark., 1980). Larva aşamalarını etkileyerek, anormal endokütiküler birikimine ve rahatsız edici tüy dökümüne neden olarak ölüme sebebiyet verir (Santorum ve ark., 2021).

Novaluron çevreye ve hedef olmayan organizmalara yönelik riskleri az olan bir insektisittir. (Tunaz ve Uygun, 2004; Dhadialla ve ark., 2005). Bu insektisit memelilere karşı çok düşük toksisiteye sahip iken ($LD_{50} > 5000$ mg/kg) kuşlara, solucanlara ve toprak mikroflorasına karşı toksik değildir (Ishaaya ve ark., 2002). Novaluron dahil olmak üzere benzoilfenil üreler, larvalarda kitin biyosentez yolunu bloke etmemekle birlikte hücresiz sistemlerde kitin sentezini de engellemez (Oberlander ve Silhacek, 1998).

2.2. Cladocera

Cladocera genelini su pireleri olarak adlandırılan küçük kabukluların oluşturduğu takımdır (Forró ve ark., 2008). Bu takım Anomopoda, Ctenopoda, Onychopoda ve Haplopoda olarak 4 alt takıma ve açık bir şekilde tanımlanmış 11 familyaya sınıflandırılmaktadır (Korhola ve ark., 2001). Cladocera takımının yaklaşık 620 türü tanımlanmıştır (Korovchinsky ve ark., 1992; Forró ve ark., 2008).

Cladocera bireyleri pire benzeri hareketle suda sarsılarak yüzer (Dodson ve ark., 2010). Cladocera'ya ait türler tatlı sularda, küçük su birikintileri, gölcükler,

akarsuların sakin alanları ve acı ile tuzlu göller gibi yerlerde yayılırlar (Goldman ve Horne, 1983; Demirsoy, 1992; Korhola ve ark., 2001; Haney, 2010; Tanyolaç, 2011).

Cladocera, 2-6,0 mm uzunluğunda, ortada tek bileşik gözü bulunan, kafası aşağıya dönük ve göğüs kafesi ile karnını kaplayan kabuk bulunduran bir organizmadır (Lennon ve ark., 2001). Karapaks olarak adlandırılan bu kabuk genellikle şeffaftır ve bu canlıları kalp ve beslenme konularında gözlemlenebilir kılar (Ebert, 2005; EPA, 2009).

Cladocera'nın vücudu, kütiküler bir çift karapaksle çevrilidir. Bu iki karapaks arasında vücut uzantılarını taşıyan bölüm, abdomen (karın) ve toraks (göğüs) olarak ikiye ayrılır. Yanlardan yassılaştıran vücutlarında iki kabuğun uzantılarıyla şekillenen tek bir diken ve karın bölümünün sonunda bir çift pençe bulunur (Edmondson, 1959; Erençin ve ark., 1981).

Bu takımının birçok türünde iki çift anten ve 5 veya 6 uzuv bulunur. Birinci çift anten (antenül) kısa ve dallanmamıştır ikinci çift anten (antenna) büyük ve oldukça dallanmış bir yapıya sahiptir. Bunlar haricindeki uzuvlar beslenme ve solunum için kullanılan aparatlardır (Dodson ve ark., 2010).

Cladocera'da erkekler ve dişiler morfolojik olarak benzerdir. Erkek bireyler dişilere kıyasla küçük boyutları, büyük antenülleri ve bir kanca ile donatılmış ilk bacaklarıyla ayırt edilebilirler (Dodson ve ark., 2010). Cladocera döngüsel partogenez gösterir bu nedenle popülasyon yoğunluğunu dişiler kontrol eder (Forró ve ark., 2008). Döngüsel partogenezde eşeysiz üreme bazı aralıklarla eşeyli üreme ile desteklenir. Eşeyli üreme ile direnç yumurtaları sağlanır, bu yumurtalar canlıların zorlu koşullarda hayatta kalmasını ve uzak habitatlara dağılım göstermesini sağlar (Decaestecker ve ark., 2009).

2.2.1. *Daphnia magna*'nın tanımı

Cladocera takımında yer alan ve su piresi olarak da bilinen da bilinen *Daphnia magna* bakteri ve alg ile beslenmektedir (Jonczyk ve ark., 2005; Tan ve ark., 2011). Tanımlanan 100'den fazla *Daphnia* türü bulunmaktadır (Ebert, 2022).

Daphnia magna, hızlı büyüme oranları, yüksek üreme potansiyelleri ve kısa yaşam döngüleri gibi birçok özelliği ile ideal bir model organizmadır (Canton ve ark., 1978; Harmon ve ark., 2003; Cooman ve ark., 2005; Jemec ve ark., 2007; Altındağ ve ark.,

2008). Akuatik ekosistem başta olmak üzere birçok toksikoloji çalışmasında sıkça kullanılmaktadır (Kado ve ark., 1998).

Daphnia yüksek oranda protein ve temel yağ asidi içerir. İçerdikleri besin değeri canlı türüne ve yaşına göre değişir. Besin değerinin yaklaşık %50'si proteinlerden oluşur. Ergin bireyler daha yüksek miktarda yağ asidine sahiptir. *Daphnia* besleyici özelliğinin yüksek olması sayesinde predatör balık ve omurgasızların en değerli besin kaynaklarından (Akyıldız, 1992; Cirik ve Gökpınar, 1993; Dodson ve ark., 1995; Tan ve ark., 2011).

2.2.2. *Daphnia magna*'nın sistematigi

Daphnia magna'nın taksonomik hiyerarşisi Integrated Taxonomic Information System (ITIS) tarafından aşağıdaki gibi bildirilmiştir (ITIS, 2014).

Üst âlem: Eukaryota (Ökaryotlar)

Alem: Animalia (Hayvanlar)

Alt Alem: Mandibulata (Çeneliler)

Şube: Crustacea (Kabuklular)

Alt Şube: Hexapoda (Altıbacaklılar)

Sınıf: Branchiopoda (Kollarayaklılar)

Alt Sınıf: Phyllopoda (Yaprakayaklılar)

Takım: Cladocera (Damarlı kollarayaklar)

Alt Takım: Diplostraca (Çift kalkanlı kollarayaklar)

Familiya: Daphniidae (Daphniidae familyası)

Cins: *Daphnia* (*Daphnia* cinsi)

Tür: *Daphnia magna* (Büyük su piresi)

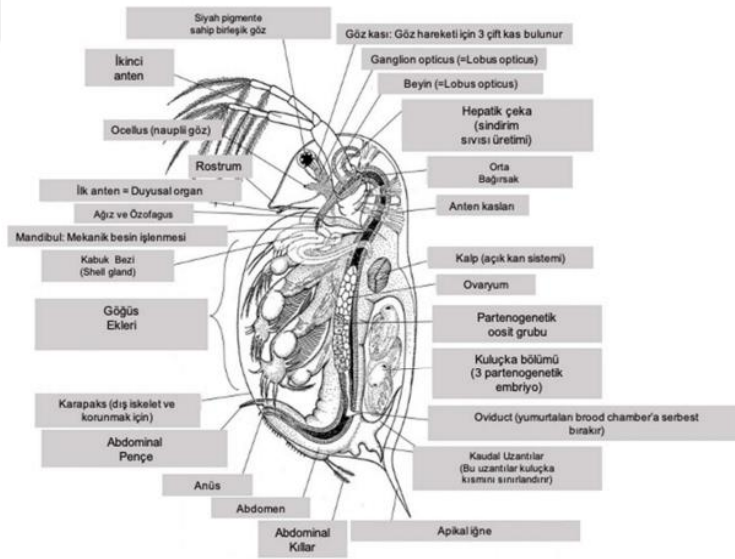
2.2.3. *Daphnia magna*'nın anatomisi ve morfolojisi

Daphnia, kalsiyumsuz kabuk ile çevrili bir organizmadır. Karapaks olarak bilinen bu kabuk, çift cidarlı olup içinde hemolimf akışı olan vücut boşluğunu oluşturur. Karapaks bileşiminin büyük bir çoğunluğunu kitin polissakariti oluşturur. *Daphnia magna* ergin birey olana kadar 4 ile 6 kez kabuk değiştirir. Ergin olduktan sonra kabuk

değiştirme ve gelişim belirli aralıklar ile devam eder (Alpbaz ve ark., 1992; Ebert, 2005).

Vücut yapıları; baş, gövde ve diken olmak üzere üç kısımdan oluşan *Daphnia magna* boyutu 0,2-3 mm arasında değişir. Duyu organlarının en önemlisi gözleridir ve yüzerek yönlendirilmesine yardımcı olur. Bu gözler embriyo gelişiminin son aşamasında iki kahverengi göz lekesi gibi gözüktürken genç ve yetişkin bireylerde mediyen çizgisinde birleşerek büyük bileşik göz halini alır. Bileşik bu göz özel kaslar sayesinde sürekli devam eden titreme hareketi yapar (Clare, 2002; Ebert, 2005; Demirsoy, 2001; Haney, 2010).

Daphnia'nın başında 5 çift uzantı barındırır. İlk çift uzantı antennüllerdir. Antennüller çubuk şeklinde, seksüel dimorfizm gösteren, duyu tüyleri ve koklama duyu kılıflarını taşıyan uzantılardır. İkinci çift uzantı, hareketi oluşturan yapıları olan antenlerdir. Diğer üç çift uzantıyı ise besin almak için kullanırlar (Cirik ve Gökpinar, 1993).



Şekil 2.2. Su piresi (*Daphnia magna*) morfolojik yapısı (Ebert, 2005).

2.2.4. *Daphnia magna*'nın fizyolojisi

Cladocera'da solunum ayaklar ve karapaksın iç duvarında gerçekleşir (Edmondson, 1959). Bir çift ostiyuma sahip olan kalp sırt kısmında yer alır, oval veya uzun bir kese şeklinde yapıya sahiptir. Kalp, kanı bir çift ostium deliği aracılığıyla alır ve vücuda dağıtır. Kan damarları olmamasına rağmen kalbe alınan kan tüm vücuda dağıtılırken

belirgin bir yol izler. Genelde renksiz olan kan, hemoglobin miktarının fazla olması durumunda kırmızıdır ve bu canlılarda tüm vücut kırmızı görünür (Ebert, 2005). *Daphnia magna*'nın vücut rengi hemoglobin oranı haricinde diyetindeki ana besine göre değişebilmektedir. Yeşil algler ile beslenen bireyler yeşil veya sarımtırak renge sahip iken bakteri ile beslenenler beyaz veya somon pembesi renktedir. Renklerdeki belirginlik ise beslenme ile orantılı olarak artmaktadır (Edmondson, 1959; Demirsoy, 1998). Karapaksın ön kısmında, yassı bir organ olan maksillar (kabuk bezi) yer alır. Maksillar boşaltım ve osmoregülasyondan sorumludur (Edmondson, 1959).

Daphnia magna'nın ağız ile başlayan basit yapıli sindirim sistemi bulunur. Bu sistem yemek borusu, orta bağırsak ve arka bağırsak olmak üzere üç ana bölümden oluşur. Orta bağırsağın baş kısmında iki küçük sindirim kesesi (divertikül) bulunur. Orta bağırsağın ön kısmı pH 6 ila 6,8 arasında, arka kısmı ise 6.6 ila 7,2 arasında değişir. Orta bağırsak, mikrovilluslara sahiptir ve epitelyumla kaplıdır. Besin bağırsak duvarının peristaltik kasılması ile bağırsak boyunca ilerler ve arka bağırsaktan atılır (Ebert, 2005).

Daphnia magna türlerinde sıcaklık düşüşü yaşam süresini artırır (Pennak, 1989). Bu türler 25°C'de 40, 20 °C'de 56 gün boyunca yaşayabilmektedir (Jonczyk ve Gilron, 2005). Bu nedenle yaz aylarında *Daphnia magna* popülasyonu azalırken sonbahar aylarında artar (Jonczyk ve Gilron, 2005; Grzesiuk ve ark., 2010; Pietrazak ve ark., 2010).

Daphnia'da oksijen taşımayı destekleyen çok alt birimli makromolekül olan hücre dışı solunum proteini hemoglobin (Hb) bulunur. Oksijenle yüklü olan oksihemoglobinin, kırmızı renktedir ve şeffaf olan *Daphnia* türüne kırmızı görünüm verir. Bu bireylerde en az dört adet Hb geni vardır. *Daphnia*, çevresel değişikliklere (oksijen konsantrasyonu, sıcaklık) yanıt olarak, suyun oksijen alımını artırmak amacıyla Hb konsantrasyonunu yaklaşık 20 kat kadar değiştirebilmektedir (Ebert, 2005).

2.2.5. *Daphnia magna*'nın beslenmesi

Su pireleri sudaki besinleri filtre ederek beslenir. Filtrasyon oranları sıcaklığa, vücut büyüklüğüne, oksijen konsantrasyonuna; yiyecek yoğunluğuna ve kalitesine bağlıdır. *Daphnia* bireyleri genellikle bakteri, alg, protozoa ve detritus benzeri canlılarla beslenir. Bu nedenle geniş besin kaynağına sahiplerdir (Lurling ve ark., 1997). *Daphnia* besinlerini genelde seçmeden alsa da aldıkları besinlerin kalitesi önemlidir.

Besinin bireyler için kalitesini etkileyen faktörler: besin maddesinin morfolojik özellikleri, sindirilebilirliği, besinsel değeri ve potansiyel toksik bileşimleridir (Lurling ve ark., 1997; Repka, 1997; Ebert, 2005).

Daphnia türleri su akımı üretmek için kabuklarının altında bulunan filopod adı verilen yaprak benzeri uzantıları kullanır. Filtrelenen besin partikülleri ritmik hareketlerle tutularak ventral besin oluklarında toplanır. Besin ventral besin oluklarından öğütülmek amacıyla ağız salgısı ile maksiller ve mandibullar arasına itilir. Öğütülmüş besinler yemek borusu ile orta bağırsağa oradan da son bağırsağa ilerler ve anüsle dışarı atılır (Hanski ve ark., 1983; Demirsoy, 1998; Roozen ve ark., 2001; Haney, 2010; Buck ve ark., 2011).

2.2.6. *Daphnia magna*'nın üremesi

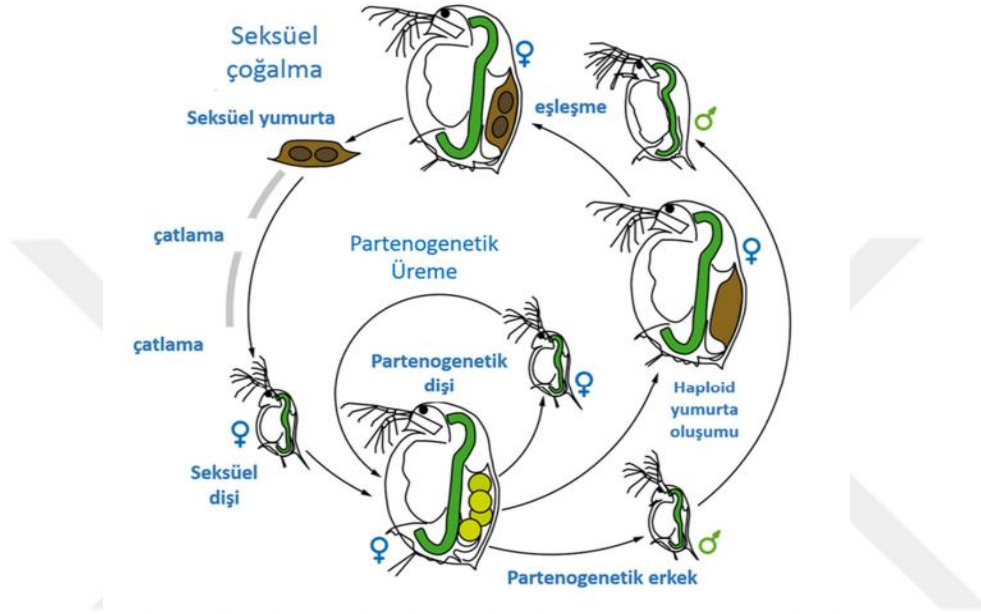
Daphnia türleri hem eşeysiz hem de eşeyli üreyerek heterogonik üreme gösterir. Bu türde popülasyon çoğunlukla eşeysiz üreyen dişilerden devam eder. Bu eşeysiz yumurtaların büyük çoğunluğu dişi çıkarken bazıları erkek olarak gelişir. Optimal koşullarda bulunan bu canlılar 2.5-3 günde bir yeni yumurtlama dönemine başlar (Cirik ve Gökpınar, 1993; Alekseev ve ark., 2001).

Partogenetik dönemde üretilen diploid (2n) yumurtalara subitan yumurta veya yaz yumurtası denilmektedir. Üretilen bu yumurtalar, karapaksın altında bulunan yavrulama odasına yerleştirilir. Bu oda abdominal süreçlerde kapanır. Partogenetik yumurta gelişimi genelde hemen olur. 20°C'de, embriyolar yaklaşık 1 gün sonra yumurtadan çıkar ama ileri gelişim yaklaşık 3 gün yavrulama odasında devam eder. Süre bittikten sonra yavrulama odasında bulunan genç *Daphnia*, annenin post-abdomenini ventral olarak eğerek serbest bırakılır. Yeni doğan ve yetişkin *Daphnia* çok benzerdir fakat yeni doğanda yavrulama odası henüz gelişmemiştir (Wetzel, 1975; Demirsoy, 2001).

Fazla birey oluşturarak türün yayılmasını sağlayan partogenetik yumurta üretimi bazı faktörler nedeniyle azalmakta ve yerini seksüel üremeye bırakmaktadır. Bu faktörler: kısa fotoperiyot, kuraklık, rekabet, düşük sıcaklık, mevcut besinin azalması ve aşırı popülasyon yoğunluğu olarak sıralanabilir (Hülsman, 2001; Rose ve ark., 2002).

Ortam koşulları bozulduğunda partogenez ile erkek bireyler meydana gelir ve haploid (n) yumurtalar oluşur. Meydana gelen erkek bireyler kopulasyon organı olarak görev yapan bir veya iki gonofora sahiptir. Bu sayede dişi ile çiftleştiğinde koruyucu zar ile

kaplıdır büyük yumurta (ephippium) oluşur. Dişinin kendi kabuğundan yapılmış kılıfta bulunan bu tür yumurtalara, kış yumurtası veya latent yumurta denilmektedir (Lavens ve ark., 1996). Laboratuvar şartlarında saklanabilen, kuraklık ve soğukluğa dayanıklı olan kış yumurtası suyun dibine batar ve uzun bir dinlenme süresinden sonra gelişmeye başlar (Tessier ve ark., 1983; Enserink ve ark, 1995; Clare, 2002; Ignace ve ark, 2011; Ebert, 2022).



Şekil 2.3. Su piresi (*Daphnia magna*) yaşam döngüsü (Ebert, 2005).

2.2.7. *Daphnia magna*'nın büyüme ve gelişmesi

Büyüme ve gelişme, çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler arasında besin türü, besin miktarı ve kalitesi, rekabet, predatör baskısı, suyun kimyasal yapısı ve sıcaklık yer alır (Cowgill ve ark., 1986; Glazier, 1992; Gliwicz ve ark., 1992; Klüttgen ve ark., 1996).

Daphnia türlerinin olgunlaşması için geçen süre 6 ile 10 gün arasındadır ve bu olgunlaşma vücut büyüklüğü ile ilişkilidir (Pennak, 1989). *Daphnia*'ların yaşam döngüleri dört safhadan oluşur. Bu safhalar: yumurta, juvenil, adolesan ve yetişkinlik (Jonczyk ve ark., 2005). *Daphnia*'da büyüme kuluçka kesesinde yumurta oluşumu ile başlar. Yumurtalar olgunlaştıktan sonra dışarı atılır ve kabuk değişimi başlar; kabuk değişimi tamamlandığında büyüme süreci başlar (Geldiay, 1970).

2.2.8. *Daphnia magna*'nın davranış ekolojisi

Daphnia magna yiyecek kaynaklarından, türdeşlerinden ve olası avcılardan koku ve kimyasal duyuları ile haberdar olur (Young, 1974; Consi ve ark., 1990; Roozen ve ark., 2001).

Daphnia türleri gruplar halinde yaşar ve habitatta bu çok yaygındır. Sosyal bir hiyerarşi olmamasına rağmen bu türün bireyleri arasında kaynak rekabeti vardır. *Daphnia magna*'nın su içindeki sıçrama benzeri davranışları, kullandıkları antenlerin çarpmasından kaynaklanmaktadır. Bu davranış, aşağı doğru vuruş ardından hızlı bir yukarı çıkış şeklinde tanımlanabilir. Haraketsiz kalan *Daphnia magna* zemine batma eğilimindedir (Ebert, 2005; Coors ve ark., 2009).

Daphnia magna genel göç davranışı göl ve göletlerin kıyı kesimine doğrudur. Buna ek olarak ışık ve balık varlığından etkilenen fototaktik davranış sayesinde yaptıkları günlük dikey göç çeşidine de sahiptir. Pozitif fototaktik genotipler üst seviyede, negatif fototaktik genotipler ise tabana yakın seviyede bulunur. Ayrıca su içinde bulunan balık sayısının fazla olması gibi durumlarda negatif fototaktik hareket ile tabana göç sağlanır. Günlük dikey göç ile *Daphnia*, gece suyun üst seviyelerine doğru göç ederken gündüzleri ise tekrar aşağı göç eder. Böylece gündüzleri avlanan balıklardan ve devamlı güneş ışıklarının olumsuz etkisinden kaçınmış olurlar (Hanski ve ark., 1983; Ebert, 2005; Coors ve ark., 2009; Haney, 2010).

2.2.9. *Daphnia magna*'nın yayılış alanları

Daphnia türleri baskın zooplanktonlar olarak göl ve göletlerin besin zincirinin bir parçasını oluşturur. *Daphnia* türlerinin dağılımını ve yaşam döngüsünü avcı varlığı da etkiler. Bu türler genellikle planktivor balıkların besin kaynağı olduğu göllerde daha küçük ve şeffaftır (Ebert, 2005; Hooper ve ark., 2008).

Daphnia popülasyonları geniş bir coğrafyaya yayılmaktadır. Bu popülasyonlar, kuzey ve güney yarım kürelerdeki göller, nehirler, havuzlar, rezervuarlar gibi tatlı su birikintilerinde ve nadiren tuzluluğu %4-20 arasında değişen deniz kıyısındaki tuzlu sularda da yer almaktadır. (Demirsoy, 2001). Bu türler büyüme koşullarının optimum olduğu periyotlarda (Cirik ve Gökpinar 1993), littoral kesimde ve organik maddelerin dekompozisasyona uğradığı alanlarda oldukça fazla sayıda bulunur (Erençin ve ark., 1981).

Sıcaklık *Daphnia magna*'da büyüme, üreme, yaşam süresi gibi birçok fizyolojik faktörü üzerinde etkilidir. *Daphnia* türlerinin gelişimi için en uygun sıcaklık aralığı 20-24 °C olarak tespit edilmiştir (Önalın, 1996).

2.2.10. *Daphnia magna*'nın optimal kültür koşulları

Daphnia çoğunlukla göl veya göletlerde bulunan tatlı su organizmasıdır bu nedenle kültür şartları durgun tatlı su ortamlarına benzer olmalıdır. *Daphnia* için kültür ortamları standartlaşmıştır. Bu ortamlar besin maddeleri, büyüme için gerekli temel mineraller ve kalsiyumu içeren distile su içerir (Clare, 2002). Diğer bir seçenek ise musluk suyunun üstü açık şekilde 24 saatten fazla süreyle bırakılıp klorunun buharlaştırılmasıdır. İyi bir büyüme ve üreme için kültür suyu belirli sertlikte (170 mg karbonat) olmalıdır. Bu canlılar sıcaklığa, oksijene, iletkenliğe, pH seviyesine ve kimyasal kirleticilere duyarlıdır (EPA, 2009). Optimum büyüme için gerekli koşullar Tablo 2.3.'de verilmiştir. Optimal koşullarda korunan kültürde 30 *Daphnia* ile doldurulmuş 1,2 litrelik bir kap, haftada yaklaşık 120 yenidoğan üretecektir (Heckmann ve ark., 2007).

Tablo 2.3. *Daphnia magna* için uygun kültür koşulları (EPA, 2009).

Faktör	Optimum oran
Ph	7-8,6
Sıcaklık	20-25°C
Çözünmüş oksijen	> 6mg/L
Sertlik	160-180 mg CaCO ₃ /L
Işık	16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık

2.2.11. *Daphnia magna*'nın toksikoloji çalışmalarda kullanımı

Daphnia magna, Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından akut ve kronik toksisite testleri için önerilen standart sucul test model organizmasıdır (EPA, 2002). Bu canlı kirleticilere duyarlı, düşük maliyetli ve laboratuvar koşullarında kolay yetiştirilebilir olması nedeniyle biyoanalizlerde ve sucul ortam analizlerinde sıklıkla kullanılır. *Daphnia magna*'da kimyasal birikimi morfoloji, kalp atım hızı, nefes alma, gelişim, beslenme ve yüzme davranışı gibi birçok faktörü etkiler (lee ve ark., 2021). Yüzme davranışındaki etki: yüzme hızı, dönüş sıklığı ve hızlanma olarak gözlemlenebilir (Persoone ve ark., 1993; Lilius ve ark., 1994; Ren ve ark., 2007).

3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Araştırma yeri

Araştırmalar Sakarya Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Histoloji Embriyoloji ve Genel Biyoloji Laboratuvarlarında yapılmıştır.

3.1.2. Canlı materyali

Araştırmada kullanılan *Daphnia magna* Sakarya Üniversitesi Biyoloji Laboratuvarında bulunan kültürden elde edilmiştir.



Şekil 3.1. *Daphnia magna*.

3.1.3. Kullanılan kimyasal

Rimon Supra (Novaluron CAS: 116714-46-6) ticari olarak satın alınmıştır.



Şekil 3.2. Novaluron.

Tablo 3.1. Novaluron'un kimyasal özellikleri.

Kimyasal Adı	N-[[3-kloro-4-[1,1,2-trifloro-2-(triflorometoksi) etoksi] fenil] karbamoil]-2,6-diflorobenzamid
Molekül Ağırlığı	492,7 gr/mol
Erime Sıcaklığı	Erime Sıcaklığı
Yoğunluk	1,66 gr/cm ³
Kapalı Formül	C ₁₇ H ₉ ClF ₈ N ₂ O ₄

3.2. Metod

3.2.1. *Daphnia magna* kültürü ve beslenme şartları

D. magna kültürü için klordan arındırılmış çeşme suyu kullanılmıştır. Kültür 65 x 26 x 40 cm ebatındaki cam akvaryumda, su seviyesi 35-40 cm olacak şekilde ayarlanmıştır (şekil 3.3). Populasyon yoğunluğu, birey/ 2 ml su olacak şekilde ayarlanmıştır. *Daphnia* kültürüne aydınlık süresi 16 saat ve karanlık süresi 8 saat olan fotoperiyot uygulanmıştır. Aydınlatma için beyaz floresan ışığı kullanılmıştır. Kültür sıcaklığı 20±2 °C'de sabit tutulmuş ve havalandırma motoru ile sürekli havalandırılmıştır. Akvaryumdaki bireyler *Spirulina* ile günde bir kez beslenmiştir.



Şekil 3.3. Akvaryum donanımı.



Şekil 3.4. *Daphnia magna* kültürü.

3.2.2. LC₅₀ Değerinin belirlenmesi

Novaluron'un 24 saatten küçük *Daphnia magna* popülasyonunun yarısını öldüren letal konsantrasyonunu (LC₅₀) belirlemek amacıyla yavrular kontrol ve konsantrasyon gruplarına ayrıldı. Novaluron'a maruz bırakmak için 24 saatten küçük bireyler seçildi. Kontrol grubu yalnızca akvaryum suyuna maruz bırakıldı, konsantrasyon gruplarına ise sırasıyla 100 mg/L, 10 mg/L, 1 mg/L, 0,1 mg/L, 0,01 mg/L, 0,001 mg/L ve 0,0001 mg/L Novaluron uygulaması yapıldı. Hazırlanan tüm konsantrasyon ortamlarına 20'şer birey konuldu ve deneyler 5 kez tekrarlandı. 48 saat süren akut toksisite testi uygulaması sırasında, canlılara herhangi bir besleme yapılmamış ve tüm uygulamalar aynı şartlarda (16 saat aydınlık ve 8 saat karanlık, 20±2 °C) yürütülmüştür. 24 ve 48 saatlik LC₅₀ konsantrasyonları SPSS 20.0 programı Probit Analizi ile hesaplanmıştır. Belirlenen LC₅₀ değeri, daha sonra yapılan testlerde en yüksek konsantrasyon değeri olarak kabul edilmiştir.

3.2.3. Sub-letal Novaluron konsantrasyon uygulamaları

Novaluron'un *Daphnia magna* üzerindeki LC₅₀ değerlerinin belirlenmesinin ardından gelişim toksisitesinin tespiti için konsantrasyonlar 3,75 µg/L 7,5 µg/L ve 15 µg/L olarak belirlenmiştir (Şekil 3.5.). Kontrol ve tüm konsantrasyon gruplarının deney süresince çözeltileri yenilenmiştir. 3 gün boyunca hazırlanan kontrol ile tüm konsantrasyon ortamlarına 10 birey konulmuş ve deneyler 5 tekrarlı gerçekleştirilmiştir. 72 saat maruziyetin ardından boy uzunluğu ve gelişim deformitelerinin yanı sıra, kalp büyüklüğü, kalp atım hızı, toraks ve abdominal kavite hareketleri yönünden değerlendirilmiştir.

3.2.4. Fizyolojik analizler

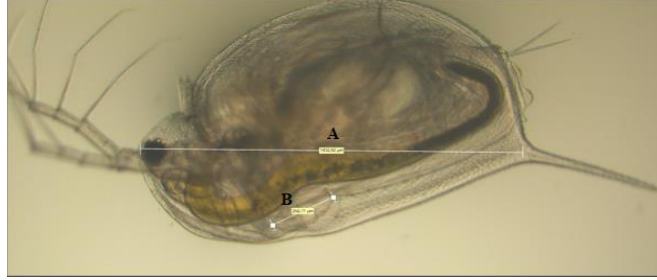
72 saat maruziyetin ardından Bownik (2017) yöntemiyle kalp atım, toraks ve abdominal kavite aktivitesi belirlenmiştir. İnvert mikroskop altında kalp, abdominal kamçı ve göğüs uzuvları bir dakika süreyle izlenmiştir ve fizyolojik aktiviteleri belirlenmiştir. Dakikadaki kalp atımı, toraks ve abdominal kavite değerleri için beş gözlemin ortalaması alınmıştır.

3.2.5. Morfolojik analizler

72 saat maruziyetin ardından morfolojileri İnvert mikroskop altında incelenip gözlenen anomalilerin not edilmesinin ardından Leica LAS-X programı ile görüntüler kayıt altına alınmıştır.

3.2.5.1. *Daphnia magna* uzunluk ve kalp çapı ölçümü

72 saat maruziyetin ardından uzunluk (göz ucundan kuyruk başlangıcına kadar) ve kalp çapı İnvert mikroskop ile incelenmiştir ve Leica LAS-X programı ile görüntüler kayıt altına alınmıştır. Kayıt altına alınan görüntülerin Leica LAS-X Office programı ile uzunluk ve kalp çapı ölçülmüştür.



Şekil 3.5. Leica LAS-X Office programı ile uzunluk (A) ve kalp çapı (B) ölçümü.

3.2.6. Gen Expresyon analizi

3.2.6.1. RNA izolasyonu için örnek toplanması

Novaluron'un 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L'lik sub-letal konsantrasyonlarına 24 saat boyunca maruz kalan *Daphnia magna* yavruları süzülerek eppendorf tüpüne konulmuş ve -80°C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.6.2. Total RNA izolasyonu

Real Time PCR da kullanmak için gerekli olan cDNA'ların oluşturulmasında ilk basamak RNA izolasyonudur. -80°C'den çıkartılan örnekler total RNA izolasyonu için homojenizasyon tüpü ile ezildi. Ezilen örneklerle daha sonra RNA izolasyon kitinin (A.B.T.TM RNA Purification Kit) protokolündeki işlemler gerçekleştirildi. Elde edilen total RNA'nın konsantrasyon ve saflıkları Nanodrop cihazı ile ölçüldükten sonra tüm RNA' lar -80°C de saklandı.

3.2.6.3. cDNA sentezi

İzole edilen RNA'lardan eşit konsantrasyonlarda kullanarak, A.B.T.TM cDNA Synthesis Kit (dT20) protokolüne uygun olarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA örnekleri Real Time PCR' da kullanılmak üzere -20°C'de saklandı.

3.2.6.4. Real-Time PCR

Farklı dozlarda Novaluron uygulaması yapılmış *Daphnia magna* yavrularından elde edile numunelerden mRNA analizi için A.B.T.TM 2X qPCR SYBR-Green MasterMix (without ROX) kullanılmıştır.

Tablo 3.2. mRNA ekspresyonu için hazırlanan RT-PCR karışımı.

	Hacim
2X qPCR SYBR-Green MasterMix karışımı	10 µL
Forward primer	1 µL
Reverse primer	1 µL
cDNA	5 µL
RNase-free water	3 µL
Toplam hacim	20 µL

Tablo 3.3. mRNA ekspresyonu için RT-PCR döngüsü.

Aşamalar	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü sayısı
Polimeraz aktivasyonu	95	5 dk	1
Denatürasyon	95	10 sn	40
Yapışma	60	30 sn	40
Uzama	60	5 sn	1

Tablo 3.4. Primer dizilimleri.

Primer	Forward primer (5'-3')	Reverse primer (5'-3')	Referans
<i>p-gp</i>	CCACTTGCGTTCAACTTCTT	TTCGCCGATTGATGTTCC	Liu <i>et al.</i> 2017
<i>gst</i>	GGGAGTCTTTTACCACCGTT	TCGCCAGCAGCATACTTG	Wang <i>et al.</i> 2016
<i>β-Actin</i>	GCCCTCTTCCAGCCCTCATT	TGGGGCAAGGGCGGTGAT	Houde <i>et al.</i> 2013
<i>cyp360A8</i>	TCGGCGAGATTTCACAGT	GCACATTCGGTTATCAAG	Wang <i>et al.</i> 2016

3.2.7. İstatistiksel analizler

Bütün istatistiksel analizler SPSS 20.0 yazılımı ile gerçekleştirildi. 24 ve 48 saatlik LC₅₀ konsantrasyonlarının belirlenmesi için Probit analizi uygulanmıştır. Sonuçlar ortalama ± st sapma şeklinde verilmiştir.

Elde edilen verilerin dağılımlarının homojenliği Shapiro-Wilk testi ile incelenmiştir. Normal dağılıma sahip gruplar için istatistiksel anlamlılık analizinde parametrik bir test olan One-way ANOVA kullanılırken, normal dağılıma sahip olmayan gruplarda ise parametrik olmayan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Daha sonra gruplar arası anlamlılık ANOVA Post Hoc testi olan Tukey HSD testleri yapılmıştır. Analizler, %95, %99, %99,9 güven düzeyi ve 0,05, 0,01, 0,001 anlamlılık değeri kullanılarak yapılmıştır.



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. LC₅₀ Değerinin Hesaplanması

Novaluron'a maruz bırakılan *Daphnia magna* yavruları SPSS 20.0 programı ile yapılan Probit analizleri sonucunda LC₅₀ değerleri 24 saat için $2,405 \pm 1,154$ µg/L, 48 saat için 61 ± 11 µg/L olarak tespit edildi. Elde edilen LC₅₀ değerleri göz önüne alınarak araştırma boyunca uygulanacak konsantrasyonlar 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L olarak belirlendi.

4.2. Morfolojik analizler

Kontrol ve Novaluron uygulaması yapılan gruplarda, *Daphnia magna* yavruları 72 saat boyunca invert mikroskop ile izlendi. Kontrol grubunda anormal gelişen rastlanmazken 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L uygulaması yapılan gruptaki *Daphnia magna*'larda anormal gelişim tespit edildi. Sekonder anten, abdominal kamçı, kuyruk ve sırt yapılarında gözlemlenen anormallikler kayıt altına alındı.

4.2.1. Kontrol grubu

Kontrol grubu bireylerinde normal gelişim gözlemlendi. Sekonder anten, abdominal kamçı, kuyruk ve sırt yapısında herhangi bir morfolojik bozukluğa rastlanmadı (Şekil 4.1.).



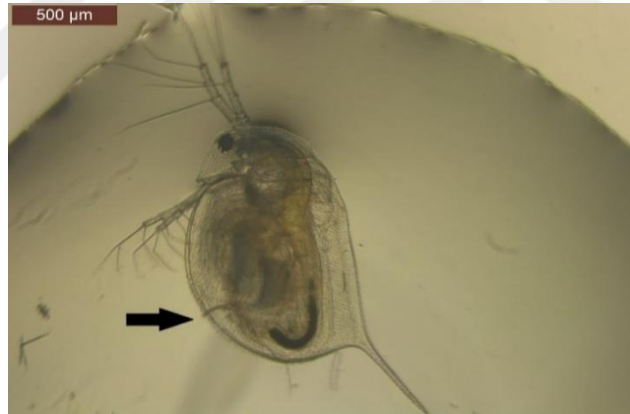
Şekil 4.1. Kontrol grubu, *Daphnia magna* anatomisi.

4.2.2. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, 72. saatin sonunda 3,75 µg/L Novaluron'a maruz bırakılan bireylerin morfolojilerinde çeşitli anomaliler tespit edildi. Sekonder antende kırılma (Şekil 4.2), abdominal kamçıda yarıklık (Şekil 4.3), kuyrukta kırılma (Şekil 4.4) ve perikardiyal ödem (Şekil 4.5) gözlemlendi.



Şekil 4.2. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, sekonder antende kırılma (ok).



Şekil 4.3. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kamçıda yarıklık (ok).



Şekil 4.4. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, kuyrukta kırılma (ok).



Şekil 4.5. 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, perikardiyal ödem (ok).

4.2.3. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması

Kontrol grubu ile kıyaslandığında 7,5 µg/L Novaluron'a maruz bırakılan gruba ait *Daphnia magna* yavrularında 72. saatte morfolojik farklılaşmalar tespit edildi. Görülen anomaliler 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grupla kıyaslandığında daha şiddetliydi. Sekonder antende kırılma gözlemlendi (Şekil 4.6). Abdominal kamçıda yarıklık oluşumu (Şekil 4.7) ve perikardiyal ödem (Şekil 4.8) gibi bulgular 3,75 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grupta olduğu gibi bu grupta da izlendi. Bunun yanı sıra kuyruk ucunda kopma (Şekil 4.9) ve abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması (Şekil 4.10.) gözlemlendi.



Şekil 4.6. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, sekonder antende kırılma (ok).



Şekil 4.7. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kamçıda yarık (ok).



Şekil 4.8. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, perikardiyal ödem (ok).



Şekil 4.9. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, kuyruk ucunda kopma (ok).



Şekil 4.10. 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması (ok).

4.2.4. 15 µg/L novaluron uygulaması

Kontrol grubu ile kıyaslandığında 15 µg/L Novaluron'a maruz bırakılan gruba ait *Daphnia magna* yavrularında 72. saatte morfolojik farklılaşmalar tespit edildi. Görülen anomaliler, 7,5µg/L Novaluron uygulaması yapılan grupla kıyaslandığında daha şiddetliydi. Sekonder antende kırılma gözlemlendi (Şekil 4.11.). Abdominal kamçıda yarıklık oluşumu (Şekil 4.12.), perikardiyal ödem (şekil 4.13.) ve abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması (Şekil 4.14.) gibi bulgular 7,5 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grupta olduğu gibi bu grupta da izlendi. Bunun yanı sıra kuyrukTA kıvrılma (Şekil 4.15.) gözlemlendi.



Şekil 4.11. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, sekonder antende kırılma (ok).



Şekil 4.12. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kamçıda yarık (ok).



Şekil 4.13. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, perikardiyal ödem (ok).



Şekil 4.14. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması (ok).

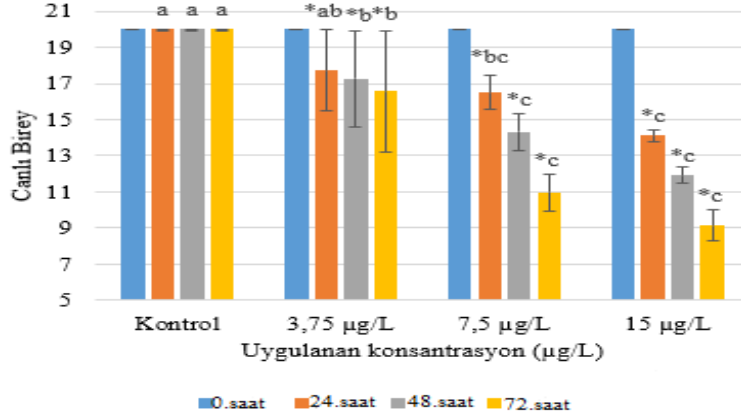


Şekil 4.15. 15 µg/L Novaluron uygulaması yapılan grup, kuyrukta kıvrılma (ok).

4.3. İstatistiksel Analizler

4.3.1. Mortalite analizleri

Novaluron'a maruz kalan deney grubundaki bireylerde, kontrol grubuna kıyasla 24., 48. ve 72. saatlerde sağkalım oranında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.16.). Novaluron uygulaması, konsantrasyon artışına bağlı olarak mortaliteye sebep olmuştur. Kontrol grubuna göre en düşük birey sayısı uygulamanın 72.saatte $9,14 \pm 0,00$ değeriyle 15 µg/L'lik Novaluron uygulanan grupta saptanmıştır.

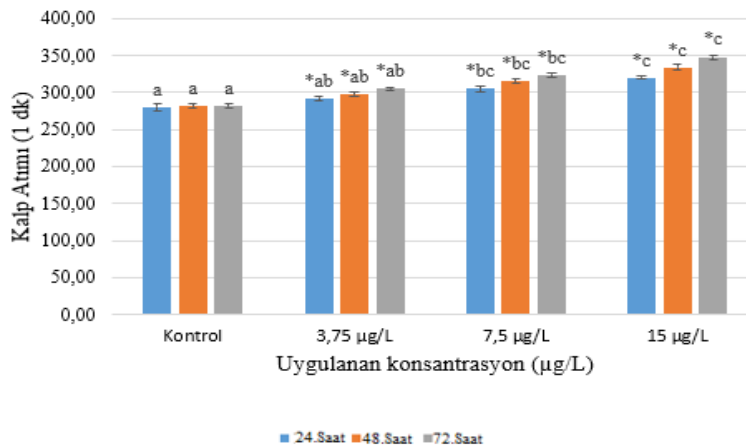


Şekil 4.16. Novaluron maruziyetinin *D. magna*'da sağkalım oranına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.2. Fizyolojik toksisite analizleri

4.3.2.1. Kalp atım sayısı

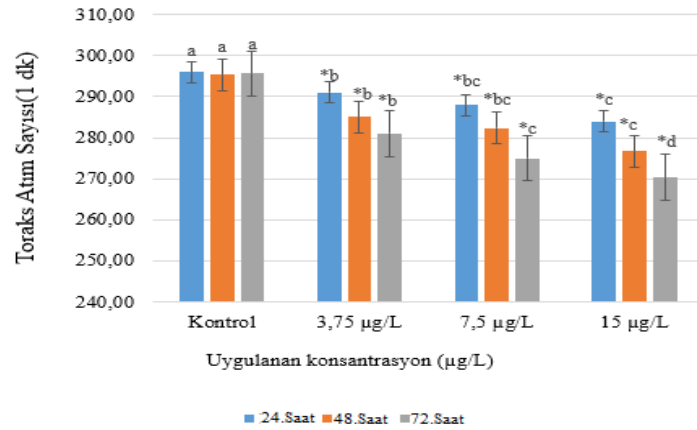
Novaluron uygulaması sonucunda, kontrol grubuna kıyasla deney grubundaki bireylerde, kalp atım hızında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (Şekil 4.17). *Daphnia*'da kalp atım hızının Novaluron konsantrasyon artışına paralel olarak arttığı görülmüştür. Kontrol grubuna göre en yüksek kalp atım sayısı uygulamanın 72. saatinde $348,00\pm3,00$ değeriyle $15 \mu\text{g/L}$ 'lik Novaluron uygulanan grupta saptanmıştır.



Şekil 4.17. Novaluron maruziyetinin *Daphnia magna*'da kalp atım sayısına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.2.2. Toraks aktivitesi

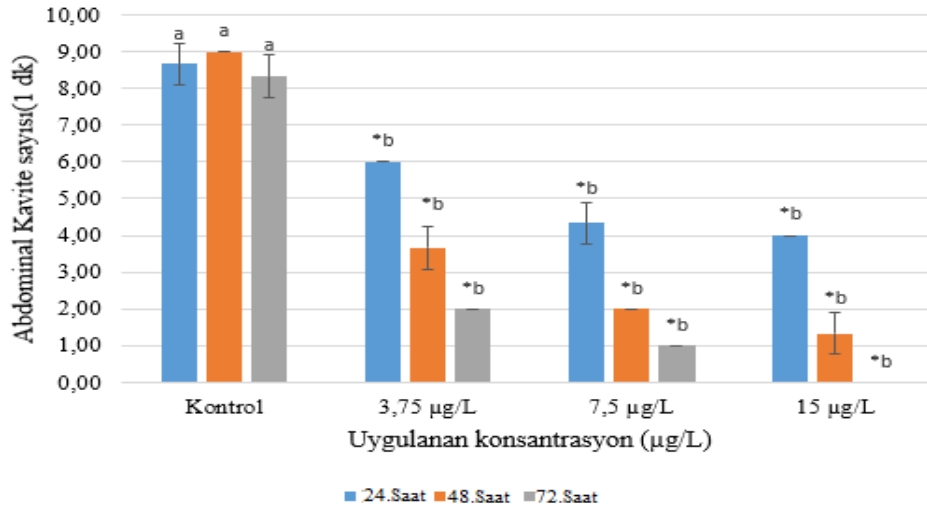
Novaluron uygulama sonucunda, 1 dakikadaki toraks atım sayısı sayıldığında, kontrol grubuna kıyasla deney grubundaki bireylerde azalma gözlemlenmiştir (Şekil 4. 18). Novaluron konsantrasyonu artışına bağlı olarak toraks aktivitesinde anlamlı düzeyde bir azalma tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre en düşük toraks aktivitesi ise uygulamanın 72. saatinde $270,33 \pm 0,58$ değeriyle 15 µg/L'lik Novaluron uygulanan grupta saptanmıştır.



Şekil 4.18. Novaluron maruziyetinin *Daphnia magna*'da toraks aktivitesine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p < 0,05$).

4.3.2.3. Post- abdominal kavite

Novaluron uygulaması sonucunda, kontrol grubuna kıyasla deney grubundaki bireylerde post-abdominal kavite aktivitesinde istatistiksel olarak azalma olduğu tespit edildi (Şekil 4.19). Deney grupları kendi içerisinde kıyaslandığında, Novaluron konsantrasyonu artışına bağlı olarak post-abdominal kavitede istatistiksel bir fark tespit edilmedi. Kontrol grubuna göre en düşük abdominal kavite aktivitesi ise uygulamanın 72. saatinde $0,00 \pm 0,00$ değeriyle 15 µg/L'lik Novaluron uygulanan grupta saptanmıştır.



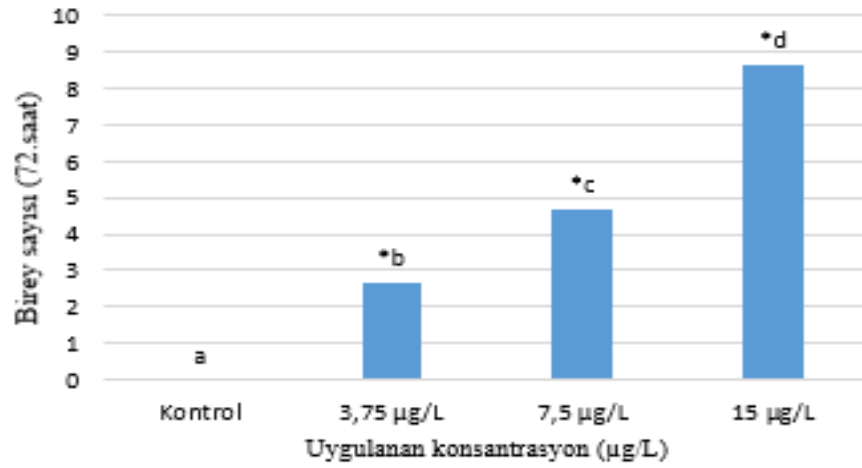
Şekil 4.19. Novaluron maruziyetinin *Daphnia magna*'da post-abdominal kavite aktivitesine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.3. Morfolojik analizler

Kontrol ve deney grubuna ait *Daphnia magna* yavruları 72 saat boyunca invert mikroskop ile izlendi. 72 saat normal ve anormal gelişen yavru sayıları not edildi. Kontrol grubunda anormal gelişen yavrulara rastlanmazken 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L uygulaması yapılan gruptaki *Daphnia magna*'da anormal gelişimler tespit edildi.

4.3.3.1. Sekonder anten anomalisi

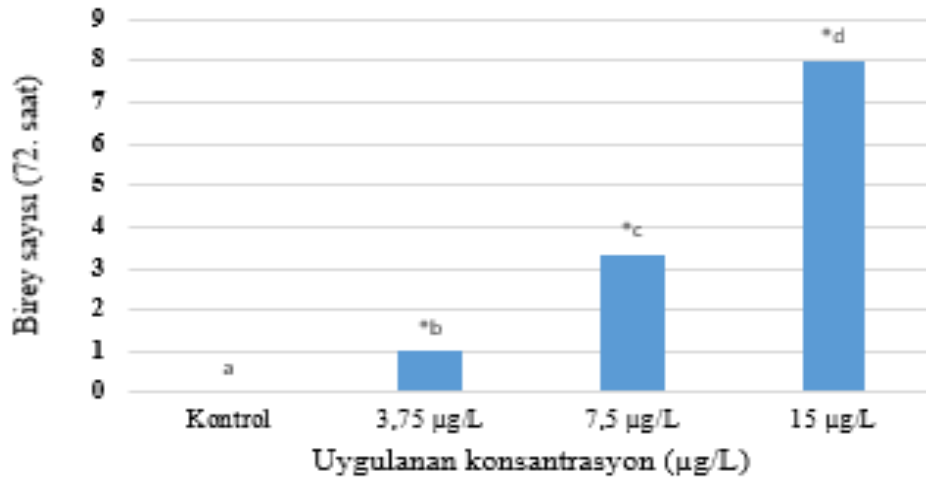
Gelişimin 72. saati itibari ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, sekonder anten anomalisi olan birey sayıları not edilmiş ve Şekil 4.20'de verilmiştir. Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak sekonder anten malformasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artışa sebep olduğu görülmüştür.



Şekil 4.20. Novaluron maruziyetinin 72. Saatinde sekonder anten anomalisine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatikselsel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.3.2. Perikardiyal ödem anamolisi

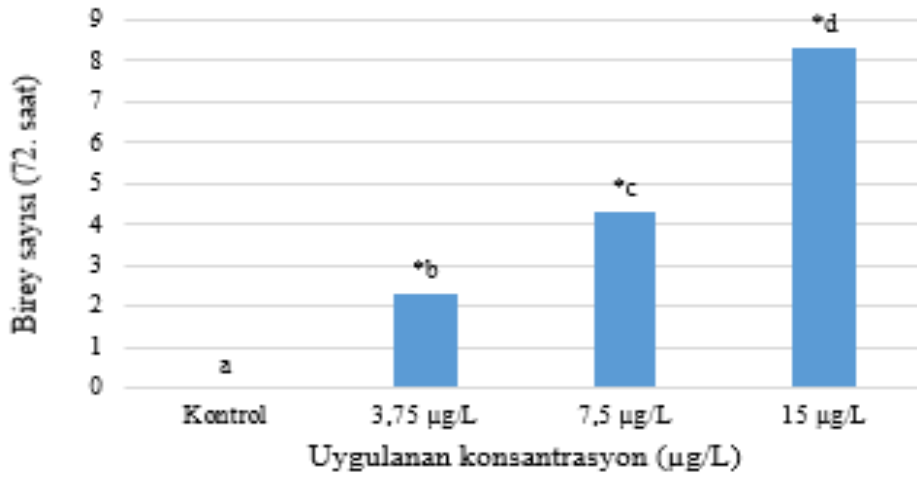
Gelişimin 72. saati itibari ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, perikardiyal ödem görülen birey sayıları not edilmiş ve Şekil 4.21’de verilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde perikardiyal ödeme sebep olduğu görülmüştür



Şekil 4.21. Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*’da perikardiyal ödeme etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatikselsel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.3.3. Kuyruk anomalisi

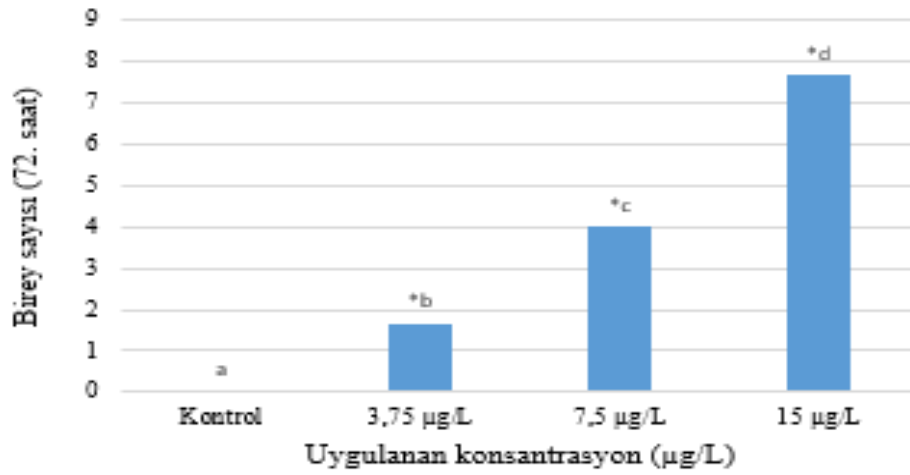
Gelişimin 72. saati itibari ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, kuyruk deformasyonu görülen birey sayıları not edilmiş ve Şekil 4.22’de verilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kuyruk deformasyonuna sebep olduğu görülmüştür.



Şekil 4.22. Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*’da kuyruk anomalisine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatikselsel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.3.4. Abdominal kamçı anomalisi

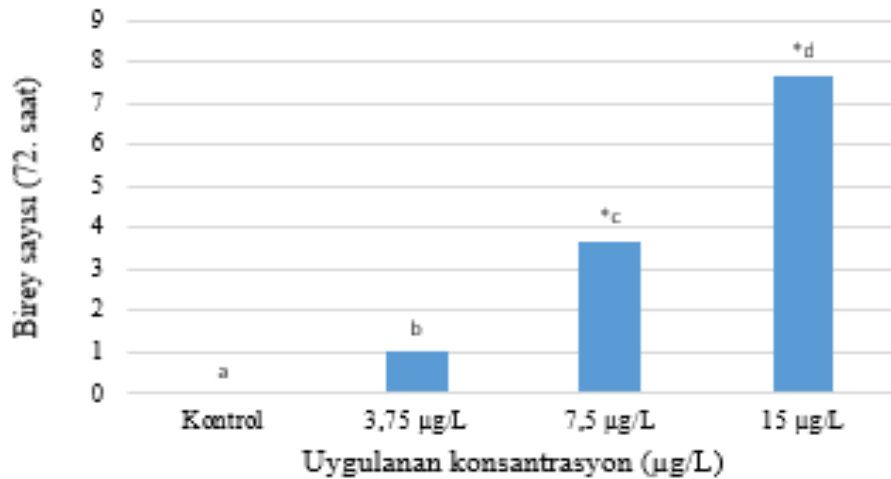
Gelişimin 72. saati itibari ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, abdominal kamçı deformasyonu görülen birey sayıları not edilmiş ve Şekil 4.23’te verilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde abdominal kamçı deformasyonuna sebep olduğu görülmüştür.



Şekil 4.23. Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da abdominal kamçı anomalisine etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.3.4. Abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması

Gelişimin 72. saati itibarı ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, abdominal kısmın vücudun kaudal kısmına doğru çıkması deformasyonu görülen birey sayıları not edilmiş ve Şekil 4.24'te verilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde abdominal kısmın vücudun kaudal kısma çıkma deformasyonuna sebep olduğu görülmüştür.

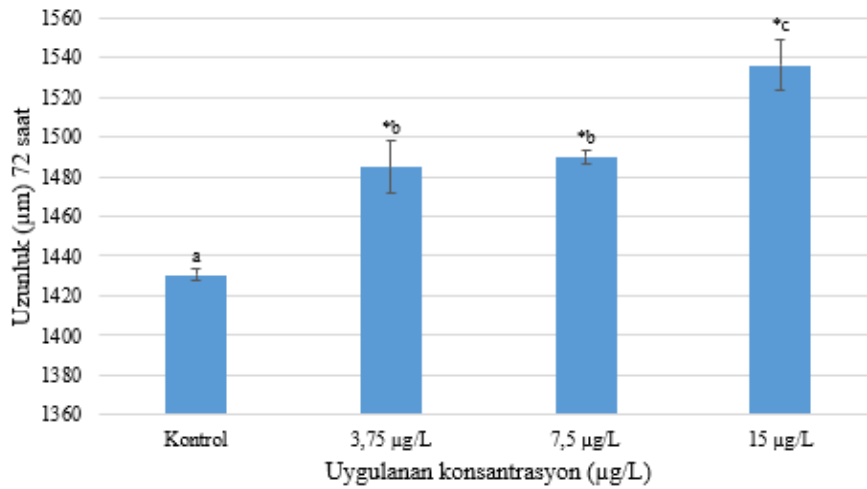


Şekil 4.24. Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da abdominal kamçının dışta kalmasına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harflerle ifade edilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.3.5. Boy uzunluğu ve kalp çapı analizleri

- **Boy uzunluğu ölçümü**

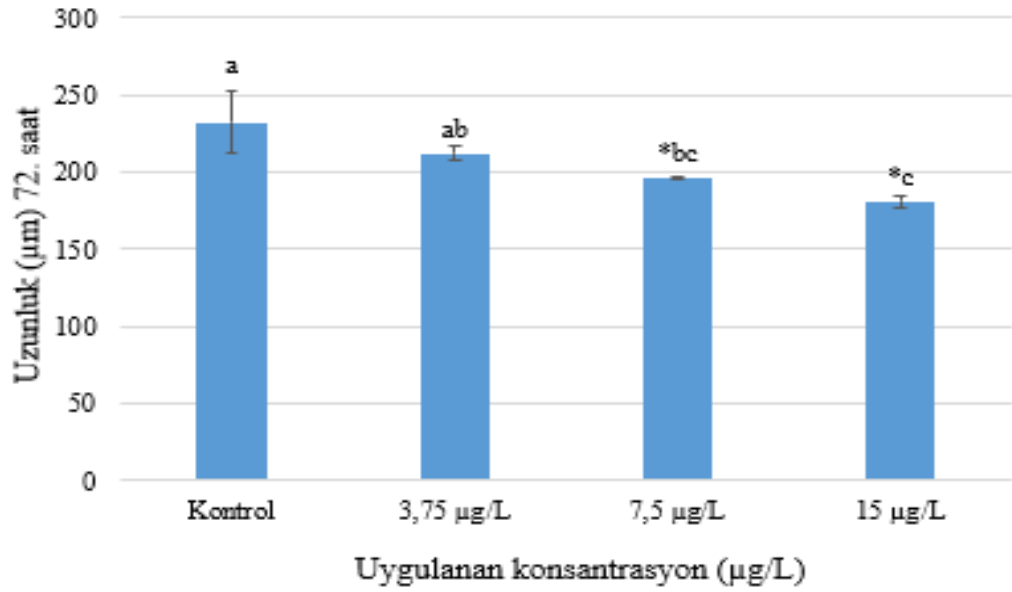
Gelişimin 72. saati itibari ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, bireylerin boy uzunluğu lölerek not edilmiş ve şekil 4.25'te verilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde boy uzunluğuunda artışa sebep olduğu görölmüştür.



şekil 4.25. Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da boy uzunluğuuna etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arasın istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel ayrım bulunmaktadır ($p<0,05$).

- **Kalp apı ölçümü**

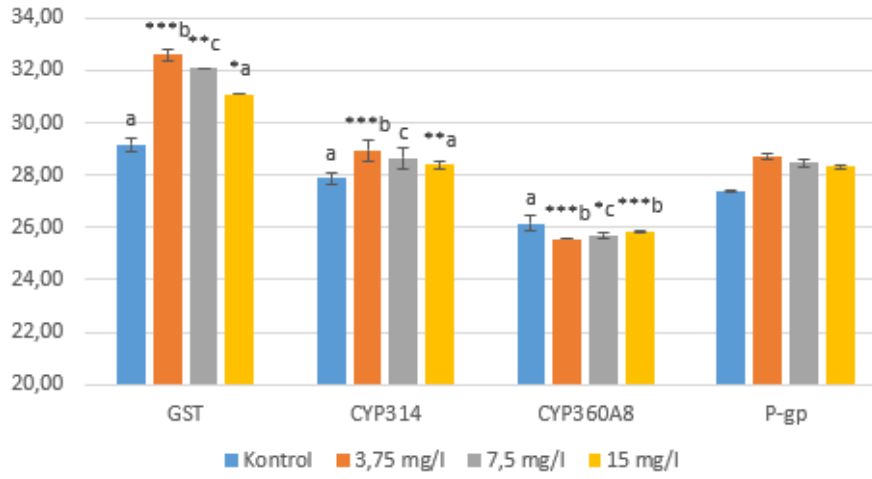
Gelişimin 72. saati itibari ile Novaluron uygulaması yapılmış deney gruplarında, bireylerin kalp çapları lölerek not edilmiş ve şekil 4.26'de verilmiştir. Kontrol grubu ile kıyaslandığında, Novaluron uygulamasının, konsantrasyon artışına paralel olarak istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde kalp çapında azalmaya sebep olduğu görölmüştür.



Şekil 4.26. Novaluron maruziyetinin 72. saatinde *Daphnia magna*'da kalp çapına etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. * ile gösterilen gruplar arası istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel ayrım bulunmaktadır ($p<0,05$).

4.3.4. Gen ekspresyon analizleri

Bu çalışmada akut Novaluron toksikasyonuna maruz kalan *Daphnia magna*'da detoksifikasyon (*cyp314*, *cyp360A8*, *gst* ve *p-gp*) sistem ile ilişkili genlerin mRNA transkript seviyesi Real Time PCR ile belirlenmiştir. *cyp360A8* genine ait ekspresyon seviyesi 24. saatte kontrol grubuna göre düştüğü gözlemlenmiştir ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$) (Şekil 4.27). *cyp314* ve *Glutathione S-transferase (gst)* genlerine ait ekspresyon seviyeleri 24. saatte kontrol grubuna göre arttığı gözlemlenmiştir ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$) (Şekil 4.27). *P-glycoprotein (p-gp)* genine ait ekspresyon seviyesi 24. saatte kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farka neden olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.27. Novaluron maruziyetinin 24. saatinde *Daphnia magna*'da gen ekspresyonuna etkisi. Veriler aritmetik ortalama±standart sapma şeklinde sunulmuştur. *,**,*** ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Farklı harfler ile gösterilen gruplar arasında istatistiksel ayırım bulunmaktadır ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Daphnia magna gibi sucul organizmalar, pestisitlerin ekotoksikolojik etkilerini değerlendirmede ve çevresel risk analizlerinde önemli bir model organizma olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada kitin sentez inhibitör pestisitlerinden Novaluron'un *Daphnia magna* yavrularının fizyoloji, morfoloji ve gen ekspresyonlarında oluşturduğu toksik etkiler analiz yöntemleri ile tespit edilmiştir. 48 saatlik LC₅₀ konsantrasyonları belirlendikten sonra, *Daphnia* yavrularına 72 saat boyunca 3,75 µg/L, 7,5 µg/L ve 15 µg/L konsantrasyonlarda Novaluron uygulaması yapılmıştır. *Daphnia magna* gelişimi kontrol ve deney gruplarında deney süresince invert mikroskop ile izlenmiştir. Novaluron maruziyetinin deney gruplarında ölüme ve morfolojik anomalilere neden olduğu görülmüştür. Deney gruplarında maruziyetin 72. saatinde kuyrukta kırılma ve kopma, perikardiyal ödem, sekonder antenlerde kırılma, abdominal kamçıda yarıklık, abdominal kısmın vücudun kaudal bölgeye doğru çıkması, boy uzunluğunda artma ve kalp çapında azalma gibi morfolojik anomaliler tespit edilmiştir. Ayrıca maruziyetin 24. saati itibari ile kalp atım hızında artma, toraks ve abdominal kavite aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir.

Kalp atış hızı gibi fizyolojik parametreler, çevresel stres faktörlerinden hızlı bir şekilde etkilenecek *Daphnia magna* gibi sucul organizmaların genel sağlığına dair önemli bilgiler sunmaktadır. Kabuklularda kalp atış hızı, sıcaklık, pH, ışık, kan bileşimi, solunum ve vücut büyüklüğü gibi birçok faktörden etkilenir (Florey ve Kriebel, 1974). Özellikle çevresel stres faktörleri, kabukluların fizyolojik tepkilerini önemli ölçüde şekillendirmektedir. Kentleşme ve sanayileşme ile kimyasal madde kullanımı giderek artmış ve bu durum sucul ekosistemler üzerinde ciddi tehditler oluşturmuştur. *Daphnia magna* gibi hassas sucul organizmalar, çevresel kirleticilere karşı yüksek duyarlılık göstermekte ve ekotoksikolojik değerlendirmelerde model organizma olarak kullanılmaktadır (Haniffa ve Porselvi, 1985).

Daphnia magna'da kirleticilerin kalp atış hızı üzerindeki etkisi araştıran birçok çalışma mevcuttur. Friberg-Jensen ve ark. (2010) tarafından *Daphnia magna*'da sipermetrin ve azoksistrobin pestisitlerinin etkisini araştırdıkları çalışmada

Sipermetrin'in sub-letal konsantrasyonlarının kalp aktivitesini artırdığı tespit edilmiştir. Benzer olarak Novaluron'un da diğer pestisitler gibi *Daphnia* kalp atış hızını kontrol ile kıyasla deney gruplarında artırdığını göstermiştir. Bu sonuçlar, Novaluron'un sub-letal konsantrasyonlarda dahi sucul organizmalarda fizyolojik değişimlere neden olabileceğini göstermektedir.

Kalp atım hızına ek olarak, bu organizmaların diğer temel fizyolojik aktiviteleri de benzer şekilde kirleticilerin etkilerine duyarlıdır. Örneğin, torasik ekstremite aktivitesi, yalnızca besin toplama ve oksijen taşıma gibi hayati işlevlerde değil, aynı zamanda çevresel toksinlere yanıt olarak ortaya çıkan değişimlerin erken tespitinde de kritik bir biyomarker görevi görmektedir. Toraks aktivitelerindeki değişikliklerin incelenmesi, kirleticilerin organizma düzeyindeki etkilerini anlamada değerli bir katkı sunmaktadır. Toraks ekstremite aktivitesi besin toplama ve oksijen taşıma gibi fizyolojik aktiviteler için su akışını gerçekleştirir (Ebert, 2005). Ekstremiteler, suyu filtreleme odasından ritmik hareketlerle pompalar bu nedenle pestisitler gibi çeşitli kimyasallardan hızlıca etkilenebilmektedir. Torasik ekstremite aktivitesindeki değişiklikler, bu tür kimyasalların organizmalar üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini erken dönemde değerlendirmek için etkili bir biyomarker olarak kullanılmaktadır (Tkaczyk ve ark., 2021). *Daphnia magna* üzerinde kirleticilerin toraks aktivitesine olan etkisini inceleyen birçok çalışma, bu parametrenin toksik etkilerin belirlenmesinde değerli bir gösterge olduğunu ortaya koymuştur. *Daphnia magna*'da Bisfenol AF'nin (BPAF) kronik ve akut toksik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Bisfenol AF'nin sub-letal konsantrasyonlarının toraks aktivitesini azalttığı tespit edilmiştir (Guo ve ark., 2019). Novaluron'un da BPAF'ye benzer şekilde *Daphnia magna*'da toraks aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. Bu bulgu, Novaluron'un sucul organizmalar üzerindeki fizyolojik etkilerini daha iyi anlamak için önemli kanıtlardan biridir.

Daphnia magna'nın post-abdominal kısaç hareketleri gibi diğer fizyolojik parametreleri de pestisitlere maruz kalma durumunda önemli değişiklikler göstermekte ve toksik etkilerin değerlendirilmesinde bir diğer potansiyel biyomarker olarak öne çıkmaktadır. *Daphnia magna*'nın karın bölgesinde karyonik bacaklara yapışmış ve parçacık temizlemek için kullanılan bir çift kısaç, dinlenme, kıvrılma ve gerilme olmak üzere üç aşamalı post-abdominal kısaç hareketini oluşturur (Ebert, 2005;

Bownik, 2019). Bu hareket, çeşitli çevresel ve fizyolojik faktörlerden etkilenebilir ve toksinlere maruz kaldığında bu hareketin hızında ve şeklinde değişiklikler gözlemlenebilir. *Daphnia magna*'da kirleticilerin post- abdominal kısaç hareketi üzerindeki etkisi araştıran birçok çalışma mevcuttur. Bownik ve Szabelak (2021) tarafından Fipronil (FIP)'in *Daphnia magna* üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada fibronil'in yüzme hızında ve pençe aktivitesinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmada benzer olarak Novaluron'un *Daphnia* post-abdominal kısaç hareketini kontrol ile kıyaslandığında deney gruplarında azaltığını göstermiştir.

Toraks ve post-abdominal kısaç hareketlerinin yanı sıra, *Daphnia magna*'nın kuyruk yapısı, sekonder antenleri ve kalp gibi organları da kirletici maddelere karşı belirgin değişimler göstermektedir. Bu noktada, organizmanın hareket kabiliyeti ve çevresel değişimlere uyum sağlama becerisi, toksik etkilerin ve çevresel kirleticilerin organizma üzerindeki genel etkisini daha iyi değerlendirmek için büyük bir öneme sahiptir. Kuyruk ve anten gibi yapılar, çevresel faktörlerin organizmadaki etkilerini gözlemlemede diğer önemli göstergeler olarak ortaya çıkmaktadır. *Daphnia magna*'da kuyruk, sadece organizmanın hareket yeteneğinde değil, aynı zamanda denge sağlama fonksiyonları için de oldukça önemli bir yapıdır. Kuyruk, aynı zamanda *Daphnia*'nın yön kontrolü ve su içindeki hareketliliği üzerinde etkilidir (Ebert, 2005). Çeşitli kimyasallara maruz kalındığında, *Daphnia*'da kuyruk deformasyonları meydana gelebilmektedir. Cui ve ark. (2017) tarafından Klorantraniliprol, Siyantraniliprol ve Flubendiamid gibi diamidlerin *Daphnia magna* üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada diamidlerin kavisli kuyruk dikenine neden olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda diamidlerden farklı olarak, Novaluron'un *Daphnia magna*'da kuyruk dikeninde kırılma ve kopmalara sebep olduğu tespit edilmiştir.

Daphnia magna'daki sekonder antenler hareket etmesini, çevresel değişimlere uyum sağlamasını ve av aramasını kolaylaştıran yapılar olarak tanımlanır (Ebert, 2005). Bu yapılar, sucul ortamdaki fiziksel değişimlere ve kimyasal etmenlere son derece duyarlı olup, çevresel stres koşulları ve toksik maddelerle karşılaştığında hızlı bir şekilde etkilenebilir. Dolayısıyla da organizmanın çevresel koşullara verdiği yanıtları izlemek için önemli biyomarkerler olarak kullanılırlar. *Daphnia magna*'da kirleticilerin sekonder antenler üzerindeki etkileri, birçok ekotoksikolojik çalışmanın odak noktası olmuştur. Örneğin, Toumi ve ark. (2015) tarafından organofosforlu insektisit olan Malathion'un akut ve kronik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Malathion'un

gelişmemiş sekonder antenlere ve kavisli veya kısa kuyruk dikenine neden olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, bu çalışmada Novaluron'un *Daphnia magna* sekonder antenlerinde kırılmalara neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu bulgu, Novaluron'un *Daphnia* üzerindeki potansiyel zararlı etkilerini daha iyi anlamak için önemli bir gösterge sunmakta ve sekonder antenlerin toksik etkilere karşı gösterdiği duyarlılığı vurgulamaktadır. Ayrıca, sekonder antenlerin bozulması, organizmanın çevresel stresle başa çıkma yeteneğini zayıflatabilir ve bu durum, organizmanın hayatta kalma şansını olumsuz yönde etkileyebilir.

Daphnia magna'nın boy uzunluğu da tıpkı diğer parametreler gibi organizmanın sağlığı, gelişimi ve çevresel koşullara adaptasyonu hakkında önemli bilgiler sunmaktadır. Boy uzunluğu, *Daphnia*'nın büyüme hızını ve sağlığını izlemek için kullanılan temel bir biyomarker olup, çevresel stres koşullarının organizma üzerindeki etkilerini anlamada önemli bir araçtır. Bu organizmanın boy uzunluğu, genetik faktörler, besin durumu, su sıcaklığı ve kirletici etmenler gibi çeşitli çevresel faktörlerden etkilenmektedir. *Daphnia magna*'da kirleticilerin boyut üzerindeki etkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur. Örneğin, Gottardi ve ark. (2017) tarafından α -Sipermetrin'in *Daphnia magna* üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, α -Sipermetrin'in sub-letal konsantrasyonlarının yetişkinlerin büyümesini ve yenidoğanların boyutunu olumsuz yönde etkilediği tespit edilmiştir. Buna karşılık, Novaluron'un *Daphnia* boyutunda artışa neden olduğunu göstermiştir. Trinitrotoluen uygulamasının, Novaluron'a benzer olarak *Daphnia magna*'da vücut uzunluğunda ve yenidoğan sayısında önemli bir artışa neden olduğu görülmüştür. Düşük dozların yararlı etki, yüksek dozların ise toksik etki gösterdiği bir hormetik tepki tespit edilmiştir (Stanley ve ark., 2013). Novaluron da *Daphnia magna*'da boy uzunluğu açısından hormetik bir etki göstermiş olabilir.

Kalp çapı gibi kardiyofizyolojik parametreler, organizmanın genel sağlığı hakkında önemli bilgiler sunarak, çevresel kirleticilerin etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılmasına yardımcı olmaktadır. Kalp, organizmanın metabolik süreçlerini düzenleyen ve oksijen ile besinleri vücuda dağıtan bir organ olarak kritik bir rol oynar (Ebert, 2005). Kalp çapı, çevresel koşullar, toksik maddelere maruz kalma, sıcaklık değişiklikleri ve diğer fizyolojik faktörlerden etkilenebilir. Bu nedenle, kalp çapındaki değişiklikler, organizmanın metabolik durumu ve çevresel streslere nasıl tepki verdiği hakkında değerli bilgiler sunar. Bu parametreyi anlamak, *Daphnia*'nın genel sağlığını

değerlendirmede ve çevresel değişimlerin organizma üzerindeki etkilerini gözlemlemede faydalı olabilmektedir. *Daphnia magna* gibi sucul organizmalarda, kirleticilerin kalp çapı üzerindeki etkisi birçok araştırmanın konusu olmuştur. Ribeiro ve ark. (2023) tarafından Rasemik amfetamin (rac-AMP) ve enantiyomerlerinin *Daphnia magna* üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmada Rasemik amfetamin'in kalp alanını daralttığı ve kalp hızını düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu bulgular, kirleticilerin kalp fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkilerini ve bu parametrenin toksik etkilerin değerlendirilmesindeki önemini ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, Novaluron'un *Daphnia magna* üzerindeki etkileri araştırıldığında, bu pestisit uygulamasının da kalp çapını daralttığı ve kalp alanında belirgin bir azalma meydana getirdiği gözlemlenmiştir. Bu sonuç, Novaluron'un sucul organizmalar üzerindeki toksik etkilerini daha iyi anlamak için önemli bir bulgudur. Kalp çapındaki bu tür değişiklikler, organizmanın stres altında nasıl tepki verdiği ve kirletici maddelere karşı hassasiyetinin bir göstergesi olarak kullanılabilir.

Çevresel kirleticiler, sucul organizmalarda çeşitli fizyolojik değişikliklere yol açabilir ve bunlardan biri de perikardiyal ödemdir. Perikardiyal ödem, kalp bölgesinin etrafında sıvı birikmesiyle karakterize edilir ve bu durum, kalp fonksiyonlarını olumsuz etkileyebilir. Bu tür ödem, organizmanın kardiyovasküler sisteminin verimli bir şekilde çalışmasını engelleyebilir ve genel sağlık durumunu bozar. Perikardiyal ödemin gözlemlenmesi, çevresel kirleticilerin organizmanın kalp sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerini değerlendirmede önemli bir biyomarker olarak kullanılabilir. Ölü organizmalarda bulunan, özellikle ölüm sonrası bozulma ve çürümeyle ilişkili olan kadaverin ve putresin gibi aminlerin *Daphnia magna*'da perikardiyal ödeme neden olduğu gösterilmiştir (Braga ve ark., 2024). Diğer bir çalışmada genellikle yüzey sularında bulunan bu herbisit olan Atrezin'in zebra balığı embriyolarında perikardiyal ödeme neden olduğu bildirilmiştir. Çalışma öncelikli olarak zebra balığına odaklanmış olsa da Atrezin'in *Daphnia magna* gibi diğer sucul organizmalarda da benzer etkilere neden olma potansiyelini vurgulamıştır (Souza ve ark., 2023). Park ve ark. (2019) tarafından kitin sentez inhibitörü Etoksazol ile yapılan çalışmada Etoksazol'un *Danio rerio*'da kalp ödemi ile canlılık kaybı, anormal kalp hızı ve gelişimsel yetersizliğe neden olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, Novaluron'un *Daphnia magna*'da kontrol ile kıyaslandığında deney gruplarında perikardiyal ödem gözlemlenmiştir. Bu bulgular, çevresel kirleticilerin sucul organizmalar üzerindeki toksik etkilerini

anlamada perikardiyal ödemi önemli bir biyolojik göstergelerden biri olarak ön plana çıkarmaktadır.

Toksik kimyasallara maruz kalan organizmalar, bu durumun oluşturduğu stresi hafifletmek ve hayatta kalabilmek için detoksifikasyon sistemlerini içeren savunma mekanizmalarını etkinleştirir. Bu sistem, özellikle toksik maddelere karşı adaptif yanıt oluşturarak organizmanın hayatta kalmasını destekler (Ankley ve Villeneuve, 2006). Bu nedenle fizyolojik ve morfolojik parametrelere ek olarak Novaluron'un detoksifikasyon genlerinin (*cyp314*, *gst*, *cyp360A8* ve *p-gp*) ekspresyonu üzerindeki etkisi de incelenmiştir.

Glutasyon S-transferaz (*gst*), serbest oksijen radikallerine (ROS) karşı önemli koruyucu mekanizmalar sağlayan bir Faz II enzim sınıfıdır (Liu ve ark., 2017). Bu çalışmada, Novaluron maruziyetinin *gst* gen ekspresyonu üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bulgular, Novaluron'un 24 saatlik kısa süreli maruziyetinde bile *gst* ekspresyonunun indüklendiğini ortaya koymuştur. Bu durum, Novaluron'un *Daphnia magna*'da oksidatif stres oluşumuna yol açtığını ve organizmanın bu strese karşı *gst* yoluyla adaptif bir yanıt verdiğini göstermektedir.

cyp360A8, omurgasızlarda *cyp3A* geninin homoloğu olarak işlev görür ve çevresel toksinlere karşı önemli bir adaptif yanıt mekanizması sunar. Bu genin, özellikle ksenobiyotik bileşiklere (yabancı kimyasallar) maruz kalındığında detoksifikasyon sürecini desteklemek amacıyla eksprese edildiği bilinmektedir (Liu ve ark., 2017). *cyp360A8* gen ekspresyonu kontrol grubu ile kıyaslandığında, kontrole göre anlamlı şekilde azaldığı belirlenmiştir. Bu durum akut Novaluron toksikasyonunun *Daphnia magna*'larda detoksifikasyon sistemi olumsuz yönde etkileğini göstermektedir.

cyp314, sitokrom p450 ailesine ait bir enzim olup, özellikle steroid hormon metabolizmasında önemli bir role sahiptir. Bu gen, ekdizon gibi hormonların biyotransformasyonunu gerçekleştirerek büyüme, üreme ve deri değiştirme gibi fizyolojik süreçleri düzenler (Rewitz ve Gilbert 2008). *cyp314* gen ekspresyonu da en düşük Novaluron konsantrasyonu olan 3.75 µg/L grubunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış göstermiş. 7,5 µg/L ve 15 µg/L konsantrasyonunda gen ekspresyonunda azalma gözlemlenmiştir. Bu durum, düşük dozlarda adaptif bir savunma yanıt oluştuğunu, ancak yüksek dozlarda toksik yükün gen ekspresyonunu baskılayabileceğini işaret eder.

p-gp, ATP enerjisi kullanarak plazma zarı boyunca substrat taşınmasını gerçekleştirir ve ABC taşıyıcı ailesinin kritik bir üyesidir. Sucul organizmalarda, *p-gp*'nin özellikle yumurtalar, embriyolar, larvalar ve solungaçlarda lokalize olduğu ve bu bölgelerde çevresel toksinlere karşı doku koruma bariyeri oluşturduğu belirlenmiştir (Campos ve ark., 2014). Çalışmada, *p-gp* gen ekspresyonu Novaluron konsantrasyonlarının hiçbirinde anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Bu nedenle, *p-gp*'nin Novaluron'un toksik etkilerine karşı belirgin bir savunma yanıtı oluşturmadığını veya bu genin bu pestisite duyarsız olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, bu çalışma Novaluron'un *Daphnia magna* üzerindeki akut toksik etkilerini vurgulamakta ve sucul ortamların kirlenmesini önlemek için pestisit kullanımının dikkatli bir şekilde yönetilmesi ve düzenlenmesi gerektiğinin altını çizmektedir. Novaluron'un kalp atım hızını artırması, toraks ve abdominal aktiviteleri azaltması, morfolojik değişikliklere yol açması ve gen ekspresyonunu etkilemesi gibi bulgular, bu kimyasalların sucul ekosistemler üzerindeki etkilerini anlamak için daha kapsamlı, uzun süreli araştırmalara ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır. Novaluron'un kronik etkilerini ve sucul ekosistemler üzerindeki uzun vadeli etkisini araştıran daha fazla çalışma, ekotoksikolojik risklerini daha iyi anlamak ve sucul ortamların korunmasına yönelik önemli çıkarımlar sunmak için gereklidir.



KAYNAKLAR

- Akai, H., King, R.C. (Eds.), 2013. Insect Ultrastructure, vol. 1. Springer Science & Business Media.
- Aksakal, F.I., 2020. Evaluation of boscalid toxicity on *Daphnia magna* by using antioxidant enzyme activities, the expression of genes related to antioxidant and detoxification systems, and life-history parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 237C:108830.
- Akyıldız, A. R. 1992. Balık Yemleri ve Teknolojisi. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yayınları: 1280, Ders kitabı: 366, Ankara
- Alekseev, V., W. Lampert. 2001. *Daphnia*'da dinlenme yumurta üretiminin anne tarafından kontrolü. *Nature*, 414/6866: 899-901.
- Alpbaz, A., G. ve ark., 1992. Su Piresi yetiştiriciliği (Teknik Bülten). E.Ü. SÜYO Yayınları No:33
- Alten, B. & Çağlar, S. S. (1998). Vektör ekolojisi ve mücadelesi (1st ed.). Ankara, Turkey: T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü Bizim Büro Basımevi. Google Scholar
- Altındag, A., Ergonul, M.B., Yigit, S., Baykan, O., 2008. The acute toxicity of nitrate on *Daphnia magna* Straus. *African Journal of Biothecnology*, 7 (23): 4298–4300
- Altshuler, I., Demiri, B., Xu, S., Constantin, A., Yan, N. D., & Cristescu, M. E. (2011). An integrated multi-disciplinary approach for studying multiple stressors in freshwater ecosystems: *Daphnia* as a model organism. *Integrative and comparative biology*, 51(4), 623-633
- Amerikan Koruma Dairesi (EPA), 2001 Erişim Tarihi:13.07.2001 https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/ppls/000550-00195-20010731.pdf
- Amerikan Koruma Dairesi, EPA. 2001. Diazinon Revised Risk Assessment and Agreement with Registrants Washington, DC U.S. Environmental Protection Agency.
- Amerikan Koruma Dairesi (EPA), 2009 Erişim Tarihi: 03.02.2009 <http://www.epa.gov>. Erişim Tarihi: 03.02.2009
- Amerikan Koruma Dairesi (EPA). Geleneksel riski azaltılmış pestisit programı. 2017. <https://www.epa.gov/pesticide-registration/conventional-reduced-risk-pesticide-program>.
- Ankley, G.T., Villeneuve, D.L., 2006. The fathead minnow in aquatic toxicology: past, present and future. *Aquat. Toxicol.* 78, 91–102.
- Anonymous. 1984. OECD Guideline for Testing of Chemicals. *Daphnia* sp., Acute Immobilization Test and Reproduction Test. No:202.

- Anonymous. 2008. OECD Guideline for Testing of Chemicals. *Daphnia magna* Reproduction Test. No:211.
- Arakane, Y., Dixit, R., Begum, K., Park, Y., Specht, C. A., Merzendorfer, H., ...& Beeman, R. W. (2009). Analysis of functions of the chitin deacetylase gene family in *Tribolium castaneum*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 39(5-6), 355-365.
- Atabey, T. (2016). Edirne yöresinde üretilen pirinçlerde pestisit tayini. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Ayaz, A., & Yurttagül, M. (2012). Besinlerdeki Toksik Öğeler-II. Ankara Sağlık Bakanlığı Yayınları, (727).
- Aydın, M. E., Yıldız, S., Kara, G., & Tor, A. (2005). Konya yeraltı suyunda klorlu benzenlerin gc/ecd ile analizi. *Selçuk Üniversitesi Mühendislik, Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 20(2), 1-6.
- Bae, JW; Kim, SH; Kim, DH; Ha, JJ; Yi, JK; Hwang, S.; Ryu, BY; Pang, MG; Kwon, WS Ras ile ilişkili proteinler (Rab), benzersiz bir aktivasyon mekanizmasını takiben erkek doğurganlığıyla ilgili anahtar proteinlerdir. *Çoğalt. Biyol.* 2019, 19, 356–362. [Google Akademik] [CrossRef]
- Bae, JW; Im, H.; Hwang, JM; Kim, SH; Ma, L.; Kwon, HJ; Kim, E.; Kim, MO; Kwon, WS Vanadium, protein kinaz A aktivitesi ve tirozin fosforilasyonu yoluyla sperm hareketliliğini ve kapasitasyon durumunu olumsuz yönde etkiler. *Çoğalt. Toksikol.* 2020, 96, 195–201. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]
- Bae, JW; Kwon, WS Fipronilin erkek doğurganlığı üzerindeki etkilerinin araştırılması: Kapasitasyon mekanizmasının anlaşılması. *Çoğalt. Toksikol.* 2020, 94, 1–7. [Google Akademik] [CrossRef]
- Bae, JW; Kwon, WS Bifentrinin erkek doğurganlığı üzerindeki zararlı toksik etkileri. *Çoğalt. Toksikol.* 2021, 101, 74–80. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]
- Bae, JW; Kwon, WS Pestisitlerin sinerjisti olan piperonil bütoksit, erkek aracılı üreme toksisitesini ortaya çıkarabilir. *Çoğalt. Toksikol.* 2021, 100, 120–125. [Google Akademik] [CrossRef]
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M. B., Dahl, C. & Kaiser, A. (2010). Mosquitoes and their control. Berlin, Almanya: Springer Science & Business Media. Google Scholar
- Beyoğlu, D. (2006). Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden temin edilen bal örneklerinde naftalin aranması ve miktar tayini (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey))
- Bianchini, A., Wood, C.M., 2002. Physiological effects of chronic silver exposure in *Daphnia magna*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 133C:137- 145.
- Bianchini, A., Wood, C. M., 2003. Mechanism of acute silver toxicity in *Daphnia magna*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 22:1361–1367.

- Bownik, A., & Stępniewska, Z. (2015). Protective effects of ectoine on behavioral, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna* subjected to hydrogen peroxide. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 170, 38–49. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2015.02.002>.
- Bownik, A., Stępniewska, Z., & Skowroński, T. (2015). Effects of ectoine on behavioural, physiological and biochemical parameters of *Daphnia magna*. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 168, 2–10.
- Bownik, A., Kowalczyk, M., & Bańcerowski, J. (2019). Lambda-cyhalothrin affects swimming activity and physiological responses of *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 216, 805-811.
- Bownik, A., Ślaska, B., & Dudka, J. (2020). Cisplatin affects locomotor activity and physiological endpoints of *Daphnia magna*. *Journal of hazardous materials*, 384, 121259.
- Bownik, A., Ślaska, B., Bochra, J., Gumieniak, K., & Gałek, K. (2019). Procaine penicillin alters swimming behaviour and physiological parameters of *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 18662-18673.
- Bownik, A., Sokołowska, N., Ślaska, B., 2018. Effects of apomorphine, a dopamine agonist, on *Daphnia magna*: Imaging of swimming track density as a novel tool in the assessment of swimming activity. *Sci. Total Environ.* 635, 249-258.
- Bownik, A., & Szabelak, A. (2021). Short-term effects of pesticide fipronil on behavioral and physiological endpoints of *Daphnia magna*. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 33254-33264
- Braga, A.P.A., Vallim, J.H., Castanha, R.F. et al. Toxicity Assessment of the Biogenic Amines Cadaverine and Putrescine in Aquatic Organisms. *Water Air Soil Pollut* 235, 197 (2024). <https://doi.org/10.1007/s11270-024-06983-z>
- Buck, J., L. Truong, A. Blaustein. 2011. Batrachochytrium dendrobatidis'te zooplankton tarafından avlanma: ölümcül amfibi kitrid mantarının biyolojik kontrolü. *Biyolojik Çeşitlilik ve Koruma*, 20/14: 3549-3553. 08 Şubat 2013 tarihinde <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10531-011-0147-4> adresinden erişildi.
- Canton, J.H., Adema, D.M.M., 1978. Reproducibility of short-term and reproduction toxicity experiments with *Daphnia magna* and comparison of the sensitivity of *Daphnia magna* with *Daphnia pulex* and *Daphnia cucullata* in short-term experiments. *Hydrobiologia*, 59:135-140.
- Cao, M., Li, S., Wang, Q., Wei, P., Liu, Y., Zhu, G., & Wang, M. (2015). Track of fate and primary metabolism of trifloxystrobin in rice paddy ecosystem. *Science of the Total Environment*, 518, 417-423.
- Casmin, J. (1999). Tocsicological effects of pesticides. *Journal of Food Association*, 21(2), 276-279.
- Chadwick, W., & Little, T. J. (2005). A parasite-mediated life-history shift in *Daphnia magna*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1562), 505-509
- Chang, MC Fallop tüplerine biriken spermatozoanın gübreleme kapasitesi. *Doğa* 1951, 168, 697–698. [Google Akademik] [CrossRef] [PubMed]

- Chitwood, D. J. (2003). Research on plant-parasitic nematode biology conducted by the United States Department of Agriculture–Agricultural Research Service. Pest Management Science: Formerly Pesticide Science, 59(6-7), 748-753.
- Cirik, S. ve Ş. Gökpınar. 1993. Plankton Bilgisi ve Kültürü. Ege Üniv. Su Ürünleri Fak. Yayınları: 19, İzmir
- Clare, J. 2002. "Daphnia: Bir akvaryumcunun rehberi" (Çevrimiçi). 05 Aralık 2012'de <http://www.caudata.org/Daphnia/#anatomy> adresinden erişildi.
- Coats, J. R. (1990). Mechanisms of toxic action and structure-activity relationships for organochlorine and synthetic pyrethroid insecticides. Environmental Health Perspectives, 87, 255-262.
- Colin, M. E., Bonmatin, J. M. and Moineau, I. 2004. A method to quantify and analyze the foraging activity of honey bees: Relevance to the sublethal effects induced by systemic insecticides. Archives of Environmental Contamination and Toxicology Volume, 47, 387–395.
- Consi, T., M. Passani, E. Macagno. 1990. Daphnia magna'da göz hareketleri. Gözün bölgeleri farklı davranışlar için uzmanlaşmıştır. Karşılaştırmalı Fizyoloji Dergisi A, 166/3: 411-420. 08 Şubat 2013'te <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2324997> adresinden erişildi.
- Cooman, K., Debels, P., Gajardo, M., Urrutia, R., & Barra, R. (2005). Use of Daphnia spp. for the ecotoxicological assessment of water quality in an agricultural watershed in South-Central Chile. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 48, 191-200.
- Coors, A., J. Vanoverbeke, T. De Bie, L. De Meester. 2009. Daphnia magna'nın doğal popülasyonlarında arazi kullanımı, genetik çeşitlilik ve toksik madde toleransı. Su Toksikolojisi, 95/1: 71-79.
- Costa LG. Current issues in organophosphate toxicology. Clin Chim Acta, 2006; 366(1-2): 1-13
- Costa, L., "Toxic effects of pesticides," Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 7th edition, Editör: C. Klaassen, McGraw-Hil, New York, 883- 930 2008.
- Cowgill, U.M., Emmel, H.W., Hopkins, D.L., Appelegath, S.L. and Takahash, I.T. 1986. The influence of water on reproductive success and chemical composition of laboratory reared populations of Daphnia magna. Water Research, vol.20, No.3, pp. 317-323.
- Cui, F., Chai, T., Qian, L., & Wang, C. (2017). Effects of three diamides (chlorantraniliprole, cyantraniliprole and flubendiamide) on life history, embryonic development and oxidative stress biomarkers of Daphnia magna. Chemosphere, 169, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.11.073>
- Çallı Altun, N. (2007). Katı-faz ekstraksiyon ve gaz kromatografik metotlarla gıda örneklerinde pestisit analizleri. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Bursa
- B., Altenburger, R., Gómez, C., Lacorte, S., Pina, ~ B., Barata, C., Luckenbach, T., 2014. First evidence for toxic defense based on the multixenobiotic resistance (MXR) mechanism in *Daphnia magna*. Aquat. Toxicol. 148, 139–151

- Çelikel Y. 2011. Alpha-Cypermethrin'in *Daphnia magna* (Straus 1820) (Cladocera, Crustacea) Üzerine Akut Toksik Etkisinin Araştırılması, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- Dai, Z., Xia, X., Guo, J., & Jiang, X. (2013). Bioaccumulation and uptake routes of perfluoroalkyl acids in *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 90(5), 1589-1596.
- de Souza, V. V., da Silva Souza, T., de Campos, J. M. S., de Oliveira, L. A., Ribeiro, Y. M., de Melo Hoyos, D. C., ... & Lacerda, S. M. D. S. N. (2023). Ecogenotoxicity of environmentally relevant atrazine concentrations: a threat to aquatic bioindicators. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 189, 105297.
- Decaestecker, E., De Meester, L., & Mergeay, J. (2009). Cyclical parthenogenesis in *Daphnia*: sexual versus asexual reproduction. *Lost sex: The evolutionary biology of parthenogenesis*, 295-316.
- Demirsoy A. Yaşamın Temel Kuralları, Omurgalılar (sürüngenler, kuşlar ve memeliler). Birinci Baskı, Ankara: Meteksan A.Ş, 1992; cilt 3; s. 279-82.
- Demirsoy, A. 1998. Yaşamın Temel Kuralları, Omurgasızlar = invertebrata böcekler dışında Cilt-II / Kısım-I, ikinci baskı, 818-830, Ankara
- Demirsoy, A. 2001. Yaşamın Temel Kuralları, omurgasızlar = invertebrata böcekler dışında Cilt-II / Kısım-I, dördüncü baskı, 799 -817, Ankara
- Dhadialla, TS; Retnakaran, A.; Smagghe, G. Böcek büyümesini ve gelişimini bozan böcek öldürücüler. *Kompr. Mol. Böcek. Bilim.* 2005, 6, 55–116. [Google Akademik]
- Dixit, R., Arakane, Y., Specht, C. A., Richard, C., Kramer, K. J., Beeman, R. W., & Muthukrishnan, S. (2008). Domain organization and phylogenetic analysis of proteins from the chitin deacetylase gene family of *Tribolium castaneum* and three other species of insects. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(4), 440-451.
- Dodson, S. I., & Hanazato, T. (1995). Commentary on effects of anthropogenic and natural organic chemicals on development, swimming behavior, and reproduction of *Daphnia*, a key member of aquatic ecosystems. *Environmental health perspectives*, 103(suppl 4), 7-11.
- Dodson, S. L., Cáceres, C. E., Rogers, D. C., Cladocera and other branchiopoda in *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates* (Third Edition), Thorp, J. H, Covich, A. P. (Eds), Academic Press, 773-827, 2010
- Ebert, D. 2005. *Daphnia'da Parazitizmin Ekolojisi, Epidemiyolojisi ve Evrimi*. Bethesda, Maryland: Ulusal Biyoteknoloji Bilgi Merkezi (ABD).
- Ebert. D. (2005). Introduction to the Ecology, Epidemiology, and Evolution of Parasitism in *Daphnia*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2042/>
- Ebert, D. (2022). *Daphnia* as a versatile model system in ecology and evolution. *EvoDevo*, 13(1), 16.
- Edmondson, W. T. 1959. *Freshwater Biology*. 2nd Edition John Wiley and Sons Inc. Press. New York
- Enserink, E., M. Kerkhofs, C. Baltus, J. Koeman. 1995. Gıda kalitesinin ve kurşun maruziyetinin *Daphnia magna*'da olgunlaşma üzerindeki etkisi: bir takas mekanizmasına dair kanıt. *İşlevsel Ekoloji*, 9/2: 175-185.

- Environmental Protection Agency EPA. (2002). Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms. http://www.epa.gov/region6/water/npdes/wet/wet_methods_manuals/atx.pdf.
- Environmental Protection Agency (EPA) (2009) National primary and secondary drinking water regulations. United States Environmental Protection Agency, EPA 816-F09-004, Washington
- Erençin, Z., Köksal, G., 1981, (Inland Water Sciences) In Turkish, İçsular Temel Bilimleri, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Sayı: 273, Ankara.
- Ersoy, M., 2005. Farklı besin ortamlarında üretime alınan su piresi (*D. magna*)'nın ürün verimliliği, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 104s.
- Ferreira, A.L.G., Loureiro, S. Soares, A.M.V.M., 2008. Toxicity prediction of binary combinations of cadmium, carbendazim and low dissolved oxygen on *Daphnia magna*. *Aquatic Toxicology*, 89:28-39.
- Florey, E. and M.E. Kriebel (1974). The effects of temperature, anoxia and sensory stimulation on the heart rate of unrestrained crabs. *Comp. Biochem. Physiol.* 48A: 285-300.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO 2013 Statistical Yearbook 2013: World Food and Agriculture. Rome, Italy, 65. URL: <http://www.fao.org/docrep/018/i3107e/i3107e00.htm>, Son Erişim Tarihi: 27/09/2022
- Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO (2019) The State of Food Security and Nutrition in the World. Rome.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO (2021) World Food and Agriculture- Statistical Yearbook 2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb4477en>: Son erişim Tarihi:13/08/2022
- Forró, L., Korovchinsky, N. M., Kotov, A. A., Petrusek, A., Global Diversity of Cladocerans (Cladocera; Crustacea) in Freshwater, *Hydrobiologia* 595 (2008) 177-184.
- Freese, Heike M., Schink, B., 2011. "Composition and Stability of the Microbial Community inside the Digestive Tract of the Aquatic Crustacean *Daphnia magna*". *Microbial Ecology*. 62 (4): 882–894 <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9886-8>
- Friberg-Jensen, U., Nachman, G., & Christoffersen, K. S. (2010). Early signs of lethal effects in *Daphnia magna* (Branchiopoda, Cladocera) exposed to the insecticide cypermethrin and the fungicide azoxystrobin. *Environmental toxicology and chemistry*, 29(10), 2371–2378. <https://doi.org/10.1002/etc.290>
- Geldiay, R. 1970. *Daphnia*'larda biyolojik ve ekolojik araştırmalar. E.Ü. Fen Fak.
- Glazier, D.S. 1992. Effects of food genotype, and maternal size and age on offspring investment in *Daphnia magna*. *Ecology*, 73(3), pp.910-926
- Gliwicz, M.Z. and Guisande, C. 1992. Family planning in *Daphnia*: resistance to starvation in offspring born to mothers grown at different food levels. *Oecologia*, 91: 463-467 p.

- Glover, C.N., Wood, C.M., 2005. Physiological characterisation of a pH- and calcium dependent sodium uptake mechanism in the freshwater crustacean, *Daphnia magna*. *Journal of Experimental Biology*, 208:951-959.
- Goldman, C. R., & Horne, A. J. (1983). *Limnology*. (No Title).
- Gomez-Arroyo, S., Castillo-Ruiz, P., Cortés-Eslava, J., & Villalobos-Pietrini, R. (1988). Vicia faba-sister chromatid exchanges of the organophosphorus insecticides methyl parathion, dimethoate, oxydemeton methyl, azinphos methyl and phoxim. *Cytologia*, 53(4), 627-634.
- Gomez-Oliván, L. M., Galar-Martínez, M., Islas-Flores, H., García-Medina, S., & SanJuan-Reyes, N. (2014). DNA damage and oxidative stress induced by acetylsalicylic acid in *Daphnia magna*. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 164, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2014.04.004>
- Gottardi, M., Birch, M. R., Dalhoff, K., & Cedergreen, N. (2017). The effects of epoxiconazole and α -cypermethrin on *Daphnia magna* growth, reproduction, and offspring size. *Environmental toxicology and chemistry*, 36(8), 2155–2166. <https://doi.org/10.1002/etc.3752>
- Grosscurt, A. C., & Andersen, S. O. (1980). VII Effects of Diflubenzuron On Some Chemical And Mechanical Properties Of The Elytra Of Lept I Not Ars A Decemlineata. *hn<9zci &107 O*, 85.
- Grzesiuk, M., B. Pietrzak, A. Bednarska. 2010. *Daphnia magna* erkek ve dişilerinin yaşam süresi. *Hydrobiologia*, 643: 71-75.
- Guedes J.A.C, Silva R.O., Lima C.G., Milhome M.A.L, Nascimento R.F., 2016, Matrix effect in guava multiresidue analysis by QuEChERS method and gas chromatography coupled to quadrupole mass spectrometry, *Food Chemistry* 199, 380–386.
- Guo, J., Liu, J., & Li, S. (2019). Influences of bisphenol AF on the reproduction and growth of *Daphnia magna*. *China Environmental Science*, 39(10), 4394-4400.
- Hanazato, T. 2001. Pesticide effects on freshwater zooplankton: an ecological perspective. *Environmental Pollution* 112 (1): 1-10.
- Haney, J. 2010. "Daphnia magna" (Çevrimiçi). Kuzeydoğu'nun (ABD) Zooplanktonuna Dair Görüntü Tabanlı Bir Anahtar. 01 Şubat 2012'de http://cfb.unh.edu/CFBKey/html/Organisms/CCladocera/FDaphnidae/GDaphnia/Daphnia_magna/daphniamagna.html adresinden erişildi.
- Haniffa, M.A. and Porselvi, M. 1985. Effect of distillery effluent on food utilisation of freshwater fish. *Barbusu utilistigmbicus*. *Life Sci. Adv.* 2(2&3): 143-46
- Hanski, I., E. Ranta. 1983. Düzensiz ortamlarda bir arada yaşama: Kaya havuzlarında üç *Daphnia* türü. *Hayvan Ekolojisi Dergisi*, 52/1: 263-279.
- Harmon, S. M., Specht, W. L., & Chandler, G. T. (2003). A comparison of the daphnids *Ceriodaphnia dubia* and *Daphnia ambigua* for their utilization in routine toxicity testing in the southeastern United States. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 0079-0085.

- Heckmann, L. H., Callaghan, A., Hooper, H. L., Connon, R., Hutchinson, T. H., Maund, S. J., & Sibly, R. M. (2007). Chronic toxicity of ibuprofen to *Daphnia magna*: Effects on life history traits and population dynamics. *Toxicology letters*, 172(3), 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.06.001>
- Hoang, C.T., Gallagher, J.S., Klaine, S.J., 2007. Responses of *Daphnia magna* to pulsed exposures of arsenic. *Environmental Toxicology*, 22:308-317
- Hooper, H., R. Connon, A. Callaghan, G. Fryer, S. Yarwood-Buchanan, J. Biggs, S. Maund, T. Hutchinson, R. Sibly. 2008. Popölasyon büyüme hızı kullanılarak karakterize edilen *Daphnia magna*'nın ekolojik nişi. *Ekoloji*, 89/4: 1015-1022.
- Hülsman, S. 2001. Reproductive potential of *Daphnia galeata* in relation to food conditions: implications of a changing size-structure of the population. *Hydrobiologia*, 442:241-252 p.
- Hwang J-M, Bae J-W, Jung E-J, Lee W-J, Kwon W-S. Novaluron Has Detrimental Effects on Sperm Functions. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(1):61. <https://doi.org/10.3390/ijerph19010061>
- Hwang, B. H., & Lee, M. R. (2000). Solid-phase microextraction for organochlorine pesticide residues analysis in Chinese herbal formulations. *Journal of Chromatography A*, 898(2), 245-256.
- Ignace, D., S. Dodson, D. Kashian. 2011. Toksikolojik çalışmalarda kullanılmak üzere *Daphnia magna*'da (Crustacea, Branchiopoda) cinsiyet belirlemenin kritik zamanlamasının belirlenmesi. *Hydrobiologia*, 668/1: 117-123.
- Ishaaya, I., & Casida, J. E. (1974). Dietary TH 6040 alters composition and enzyme activity of housefly larval cuticle. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 4(4), 484-490.
- Ishaaya, I., Kontsedalov, S., Mazirov, D., & Horowitz, A. R. (2001). Biorational agents: mechanism and importance in IPM and IRM programs for controlling agricultural pests. *Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet*, 66 (2a), 363-374.
- Ishaaya, I., Kontsedalov, S., & Horowitz, A. R. (2002). Emamectin, a novel insecticide for controlling field crop pests. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 58(11), 1091-1095.
- IUCN, 2012. "Tehdit Altındaki Türlerin IUCN Kırmızı Listesi" (Çevrimiçi). 08 Şubat 2013'te <http://www.iucnredlist.org/search> adresinden erişildi.
- Ivic, D. (2010). Curative and eradivative effects of fungicides. *Fungicides*, 3-22.
- İleri, S., & Karaer, F. (2011). Tekstil işletmesi atıksularında Fenton prosesi ile akut toksisite giderimi. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, 16(2), 1-10.
- Jemec, A., Drobne, D., Tisler, T., Trebse, P., Ros, M., & Sepčić, K. (2007). The applicability of acetylcholinesterase and glutathione S-transferase in *Daphnia magna* toxicity test. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology*: CBP, 144(4), 303–309. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.10.002>

- Jemec, A., Tišler, T., Drobne, D., Sepčić, K., Fournier, D. Trebše, P., 2007. Comparative toxicity of imidacloprid, of its commercial liquid formulation and of diazinon to a non-target arthropod, the microcrustacean *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 68:1408-1418
- Jeong, T. Y., Kim, H. Y., & Kim, S. D. (2015). Multi-generational effects of propranolol on *Daphnia magna* at different environmental concentrations. *Environmental pollution* (Barking, Essex: 1987), 206, 188–194. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.07.003>
- Jonczyk, E., & Gilron, G. U. Y. (2005). 10. Acute and chronic toxicity testing with *Daphnia* Sp. Test, 1, 337-393.
- Kado, N.Y., Kuzmicky, P.A., Loarca-Piña, G., Mumtaz, M.M., 1998. Genotoxicity
- Kang JH, Chang YS. Organochlorine Pesticides in Human Serum, Pohang University of Science and Technology (postech), Republic of Korea, 2011; 215-240
- Karabay, N. Ü. (2000). Bazı sinerjistik etkili insektisitlerin memeli sistemleri üzerinde toksik etkilerinin araştırılması.
- Kellogg, R.L., Nehring, R., Grube, A., Goss, D.W. and Plotkin, S. 2000. Environmental indicators of pesticide leaching and run off from farm fields. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service. Retrieved on 2007- 10-03
- Kim, J., Kim, S., An, K. W., Choi, C. Y., Lee, S., & Choi, K. (2010). Molecular cloning of *Daphnia magna* catalase and its biomarker potential against oxidative stresses. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP*, 152(3), 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2010.05.001>
- Kim, H.J., Koedrith, P., Seo, Y.R., 2015. Ecotoxicogenomic approaches for understanding molecular mechanisms of environmental chemical toxicity using aquatic invertebrate, *Daphnia* model organism. *International journal of molecular sciences*, 16:12261-12287
- Kim, SH; Bae, JW; Kim, DH; Jeong, DJ; Ha, JJ; Yi, JK; Kwon, WS Temephos'un erkek doğurganlığı üzerindeki zararlı etkileri: Fare modeli üzerinde in vitro bir çalışma. *Çoğalt. Toksikol.* 2020, 96, 150–155. [Google Akademik] [CrossRef]
- Klüttgen, B., Kuntz, N. and Ratte, T.H. 1996. Combined effects of 3,4- Dichloroaniline and food concentration on life-table data of two related Cladocerans, *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia quadrangula*. *Chemosphere*, vol. 32, no. 10, pp. 2015-2028
- Korhola, A., Rautio, M., Cladocera and other branchiopod crustaceans in Tracking Environmental Change Using Lake Sediments, Smol, J. P., Birks, H. J. B. and Last, W. M. (Eds), Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 5-41, 2001.
- Korovchinsky, N. M., Sididae and Holopediidae (Crustacea: Daphniiformes) in Guides to Identification of the Microinvertebrates of the Continental Waters of the World, Vol. 3, SPB Academic Pub., The Netherlands, 1992.
- Kumar, S. V., Chinniah, C., Muthiah, C., & Sadasakthi, A. (2010). Management of two spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. A serious pest of brinjal, by integrating biorational methods of pest control. *Journal of Biopesticides*, 3(1), 361.

- L.R. Hansen et al. Behavioral responses of juvenile *Daphnia magna* after exposure to glyphosate and glyphosate-copper complexes *Aquatic Toxicology* (2016)
- Lampert, W., 2011. *Daphnia: Development of a Model Organism in Ecology and Evolution*. International Ecology Institute.
- Lars-Henrik Heckmann R. C. (2007). Culturing of *Daphnia magna* -Standard Operating Procedure. http://www.reading.ac.uk/web/FILES/biosci/Culturing_Daphnia_201KB.pdf
- Lavens, P. and Sorgeloos, P. 1996. Manual on the production and use of food for aquaculture.
- Lee, Y., Yoon, D. S., Lee, Y. H., Kwak, J. I., An, Y. J., Lee, J. S., & Park, J. C. (2021). Combined exposure to microplastics and zinc produces sex-specific responses in the water flea *Daphnia magna*. *Journal of hazardous materials*, 420, 126652.
- Lennon, J. T., Smith, V. H., & Williams, K. (2001). Influence of temperature on exotic *Daphnia lumholtzi* and implications for invasion success. *Journal of Plankton Research*, 23(4), 425-433.
- Levy, R., Miller, T.W. Tolerance of the planarian *Dugesia dorotocephala* to high concentrations of pesticides and growth regulators. *Entomophaga* 23, 31–34 (1978).
- LINDE, C.D., 1994, Physico-Chemical Properties and Environmental Fate of Pesticides, Environmental Hazards Assessment Program, Environmental Protection Agency
- Lilius, H., Isomaa, B. and Holmström, T. 1994. A comparison of the toxicity of 50 reference chemicals to freshly isolated rainbow trout hepatocytes and *Daphnia magna*. *Aquatic toxicology*, 30, 47-60.
- Little TJ, O'Connor B, Colegrave N, Watt K, Read AF. Maternal transfer of strain-specific immunity in an invertebrate. *Curr Biol*.2003; 13:489–492.
- Little, T. J.; Chadwick, W.; Watt, K., 2008. "Parasite variation and the evolution of virulence in a *Daphnia*-microparasite system" (PDF). *Parasitology*. 135 (3): 303– 308.
- Liu, Y., Fan, W., Xu, Z., Peng, W., Luo, S., 2017. Comparative effects of graphene and graphene oxide on copper toxicity to *Daphnia magna*: Role of surface oxygenic functional groups. *Environ Pollut*, 236;962-970.
- Liu, S., Cui, M., Li, X., Thuyet, D. Q., Fan, W., 2019. Effects of hydrophobicity of titanium dioxide nanoparticles and exposure scenarios on copper uptake and toxicity in *Daphnia magna*. *Water Research*, 154:162-170.
- Lurling, M., De Lange, H.J. and Donk, E.V. 1997. Changes in food quality of the green algae *Scenedesmus* induced by *Daphnia* infocemics: biochemical composition and morphology. *Freshwater Biology*, 38: 619-629 p.
- Marinco Bioassay Laboratory, Inc. 2005. "Daphnids" (Çevrimiçi). Marinco Bioassay Laboratory Su Ürünleri Yetiştiriciliği. 30 Ocak 2012'de <http://mblaquaculture.com/content/organisms/daphnids.php#daphnia> adresinden erişildi.

- McLaughlin et al. 2005. Common and Scientific Names of Aquatic Invertebrates from the United States and Canada: Crustaceans. American Fisheries Society Special Publication Daphnia magna
https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=83884#null
- Meinertz, J. R., Greseth, S. L., Gaikowski, M. P., & Schmidt, L. J. (2008). Chronic toxicity of hydrogen peroxide to *Daphnia magna* in a continuous exposure, flow-through test system. *The Science of the total environment*, 392(2-3), 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.12.015>
- Meng, F., Li, Y., Zang, Z., Li, N., Ran, R., Cao, Y., ... & Li, W. (2017). Expression of the double-stranded RNA of the soybean pod borer *Leguminivora glycinivorella* (Lepidoptera: Tortricidae) ribosomal protein P0 gene enhances the resistance of transgenic soybean plants. *Pest management science*, 73(12), 2447-2455.
- Meng, Q., Xiangdong L.I., Feng, Q. Cao, Z., 2008. The Acute and Chronic Toxicity of Five Heavy Metals on the *Daphnia magna*. *Bioinformatics and Biomedical Engineering, ICBBE 2008. The 2nd International Conference on Shanghai*, 16-18 May, pp. 4555-4558.
- Metchnikoff E. Ueber eine Sprosspilzkrankheit der Daphniden. Beitrag zur Lehre über den Kampf der Phagocyten gegen Krankheitserreger. *Virchows Arch. pathol. Anat Physiol.*1884; 96:177–193.
- Miura, T., & Takahashi, R. M. (1974). Insect developmental inhibitors. Effects of candidate mosquito control agents on nontarget aquatic organisms. *Environmental Entomology*, 3(4), 631-636.
- Mucklow, P. T., & Ebert, D. (2003). Physiology of immunity in the water flea *Daphnia magna*: environmental and genetic aspects of phenoloxidase activity. *Physiological and biochemical zoology*, 76(6), 836-842.
- Mueller-Beilschmidt, D. (1990). Toxicology and environmental fate of synthetic pyrethroids. *Journal of Pesticide Reform*, 10(3), 32-37.
- National Center for Biotechnology Information NIH (2024). PubChem Compound Summary for CID 93541, Novaluron. Retrieved October 29, 2024 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Novaluron>
- Noh, M. Y., Muthukrishnan, S., Kramer, K. J., & Arakane, Y. (2018). Group I chitin deacetylases are essential for higher order organization of chitin fibers in beetle cuticle. *Journal of Biological Chemistry*, 293(18), 6985-6995.
- Oberlander, H., & Silhacek, D. L. (1998). New perspectives on the mode of action of benzoylphenyl urea insecticides. In *Insecticides with Novel Modes of Action: Mechanisms and Application* (pp. 92-105). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- OECD (2004), Test No. 202: *Daphnia* sp. Acute Immobilisation Test, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/9789264069947-en>.
- OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, 2016. Section 2, Test No. 211: *Daphnia magna* Reproduction Test". www.oecd-ilibrary.org. Retrieved

- Olakkaran, S., Purayil, A. K., Antony, A., Mallikarjunaiah, S., & Puttaswamygowda, G. H. (2020). Oxidative stress-mediated genotoxicity of malathion in human lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 849, 503138.
- Öğütçü, A., Ulusoy, Y., Kahraman, K., Uzunhisarcıklı, M., Uzun, F.G., Taştan, H., 2007, Metil Parathion'un Sıçanların İnce Bağırsak Dokusu Üzerine Etkisi ve Vitamin C ve E'nin Koruyucu Rolü, *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 18, 21-26.
- Önalan, S.K., 1996. Farklı besi ortamlarının su perisi (*Daphnia magna*) 'nın yaşaması üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 30s.
- Park, H., Lee, J. Y., Park, S., Song, G., & Lim, W. (2019). Developmental toxicity and angiogenic defects of etoxazole exposed zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 217, 105324. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2019.105324>
- Pennak, R.W. 1989. Eubranchiopoda (Fairy, Tadpole, and Clam Shrimps), Ch. 15. IN: *Fresh-water Invertebrates of the United States*, 3rd Ed. Protozoa to Mollusca. John Wiley & Sons, Inc., NY.
- Persoone, G. and Janssen, C.R. 1993. Freshwater invertebrate toxicity tests. Colow (eds) *Handbook of Ecotoxicology*, Blackwell scientific, 51-65, Oxford.
- Persoone, G., Baudo, R., Cotman, M., Blaise, C., Thompson, K., Moreira-Santos, M., Vولات, B., Törökne, A., Han, T., 2009. Review on the acute *Daphnia magna* toxicity test – Evaluation of the sensitivity and the precision of assays performed with organisms from laboratory cultures or hatched from dormant eggs. *Knowledge Management Aquatic Ecosystems*, 393(01):29.
- Pietrazak, B., A. Bednarska, M. Grzesiuk. 2010. *Daphnia magna* erkek ve dişilerinin uzun ömürlülüğü. *Hydrobiologia*, 643/1: 71-75. 08 Şubat 2013 tarihinde <http://rd.springer.com/article/10.1007/s10750-010-0138-6> adresinden erişildi.
- Ren, Z., Zha, J., Ma, M., Wang, Z., & Gerhardt, A. (2007). The early warning of aquatic organophosphorus pesticide contamination by on-line monitoring behavioral changes of *Daphnia magna*. *Environmental monitoring and assessment*, 134(1-3), 373–383. <https://doi.org/10.1007/s10661-007-9629-y>
- Ren et al., 2015 Z. Ren, X. Zhang, X. Wang, P. Qi, B. Zhang, Y. Zeng, R. Fu, M. Miao
- Repka, S. 1997. Effects of food type on the life history of *Daphnia* clones from lakes differing in trophic state *Daphnia galeata* feeding on *Scenedesmus* and *Oscillatoria*. *Freshwater Biology*, 37: pp. 675-683
- Rewitz, K.F., Gilbert, L.I., 2008. *Daphnia* Halloween genes that encode cytochrome P450s mediating the synthesis of the arthropod molting hormone: evolutionary implications. *BMC Evol. Biol.* 8, 60
- Ribeiro, C., Gomes, C., Pérez-Pereira, A., Carrola, J. S., Tiritan, M. E., Langa, I., Couto, C., & Castro, B. B. (2023). Enantioselectivity in the Ecotoxicity of Amphetamine Using *Daphnia magna* as the Aquatic Model Organism: Morphophysiological, Behavioral, Reproductive and Biochemical Parameters. *Environmental toxicology and chemistry*, 42(8), 1743–1754. <https://doi.org/10.1002/etc.5646>

- Roozen, F., M. Lüring. 2001. Daphnia'nın yiyecek, rakipler ve avcılardan gelen koku i u larına kar ı davranı sal tepkisi. Plankton Ara tırma Dergisi, 23/8: 797-808. 08  ubat 2013 tarihinde <http://plankt.oxfordjournals.org/content/23/8/797.full> adresinden eri ildi.
- Rose, R.M., Warne, M.S.J. and Lim, R.L. 2002. Some life history responses of the cladoceran *Ceriodaphnia cf. dubia* to variations in population density at two different food concentrations. *Hydrobiologia*, 481:157-164 p.
- Santorum, M., Gastelbond-Pastrana, B. I., Scudeler, E. L., Santorum, M., Costa, R. M., & Carvalho Dos Santos, D. (2021). Reproductive toxicity of Novaluron in *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) and its impact on egg production. *Chemosphere*, 273, 129592. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129592>
- Smith, G. J. (1987). Pesticide use and toxicology in relation to wildlife: organophosphorus and carbamate, compounds. US Government Documents (Utah Regional Depository), 510.
- Soderhall, K., 1999. Editorial. Invertebrate immunity. *Dev. Comp. Immunol.* 23, 263–266.
- Stanley, J. K., Perkins, E. J., Habib, T., Sims, J. G., Chappell, P., Escalon, B. L., Wilbanks, M., & Garcia-Reyero, N. (2013). The good, the bad, and the toxic: approaching hormesis in *Daphnia magna* exposed to an energetic compound. *Environmental science & technology*, 47(16), 9424–9433.
-  ık B. Certel M. Yıldız G. (2011) Pestisitler ve Gıda Güvenliği. Gıda Mühendisliği Dergisi, 34: 54-57
- Tan, Q.G., Wang, W.X, 2011. Acute toxicity of cadmium in *Daphnia magna* under different calcium and pH conditions: Importance of influx rate. *Environmental Science and Technology*, 45: 1970–1976.
- Tanyolaç, J., Limnoloji: Tatlı Su Bilimi, 4. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 2006.
- Tanyolaç, J., Limnoloji, Tatlı Su Bilimi, Hatipoğlu Yayıncılık, 6. Baskı, 2011.
- Tarım ve Orman Bakanlığı Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü İl Düzeyinde Bitki Koruma  r nlerinin Kullanım (Zirai Mücadele Uygulamalarında) Miktarları, 2021) <https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Menu/115/Resmi-Tarimsal-Ilac-Istatistikleri>.
- Tarım ve Orman Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü (2019). URL: <https://cevreselgostergeler.csb.gov.tr/tarim-ilaci-pestisit-kullanimi-i-85834>, Son Erişim Tarihi: 13/10/2022.
- Tatlı,  . 2006. Ege bölgesine özgü bazı ya  meyve sebze ve kurutulmuş gıda ürünlerinde pestisit kalıntı düzeylerinin tespiti.  ukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 121 s, Adana.
- Tessier, A., L. Henry, C. Goulden. 1983. *Daphnia*'da açlık: enerji rezervleri ve üreme dağılımı. *Limnoloji ve O inografi*, 28/4: 667-676.

- Thavara U, Tawatsin A, Chansang C, Asavadachanukorn P, Zaim M, Mulla MS. Simulated Field Evaluation of the Efficacy of two Formulations of Diflubenzuron, a Chitin Synthesis Inhibitor Against Larvae of *Aedes aegypti* (L.) (DIPTERA: CULICIDAE) In WaterStorage Containers. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health 2007; 38: 269-75
- Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S., 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 26(2): 154-169
- Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K., & Ślaska, B. (2021). *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. The Science of the total environment, 763, 143038. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143038>
- Tkaczyk, A., Bownik, A., Dudka, J., Kowal, K., & Ślaska, B. (2021). *Daphnia magna* model in the toxicity assessment of pharmaceuticals: A review. Science of the Total Environment, 763, 143038.
- Toumi, H., Boumaiza, M., Millet, M., Radetski, C. M., Camara, B. I., Felten, V., & Ferard, J. F. (2015). Investigation of differences in sensitivity between 3 strains of *Daphnia magna* (crustacean Cladocera) exposed to malathion (organophosphorous pesticide). Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes, 50(1), 34–44. <https://doi.org/10.1080/03601234.2015.965617>
- Tunaz, H.; Uygun, N. Böcek haşere kontrolü için böcek büyüme düzenleyicileri. Türk. J. Agric. İçin. 2004, 28, 377–387. [Google Akademik]
- Tunçbilek, A. Ş., Ayvaz, A., & Saatçi, E. (1998). Pestisitlerin Çevreye Etkisi ve Yayılma Yolları. Kayseri I. Atık Sempozyumu, Kayseri, Bildiri Kitabı, 316-325.
- Tunçbilek, A. Ş., Tiryaki, O., & Gedikli, S., (2010). Determination of Organochlorine Pesticide Residues in Drinking Water Of Kayseri, Turkey. Fresenius Environmental Bulletin, vol.19, no.7, 1283-1289
- Türk Gıda Kodeksi TGK Pestisitlerin Maksimum Kalıntı Limitleri Yönetmeliği Rehberi, 2017 Erişim Tarihi: 06.06.2017 https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Gida_Isletmeleri/Pestisit_Rehber.pdf
- Türk Gıda Kodeksi TGK Üzüm Pekmezi Tebliği T.C. Resmî Gazete, 30.06.2017, (Tebliğ No: 2017/8)
- Vural, N. (2005). Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 73(381), 504-520.
- Weider, L. J. (1993). Niche breadth and life history variation in a hybrid *Daphnia* complex. Ecology, 74(3), 935-943.
- Wetzel, R.G. 1975. Limnology. W. B. Saunders Company. p. 419-439, Philadelphia.
- Williams, JR, Richardson, CW, & Griggs, RH (1992). Hava faktörü: hava değişkenliğini bilgisayar simülasyonuna dahil etme. Weed Technology, 6 (3), 731-735.

- World Health Organization WHO Expert Committee on Pesticide Residues, & Agriculture Organization of the United Nations. Panel of Experts on the Use of Pesticides in Agriculture. (1962).
- World Health Organization (WHO), (1986). Carbamate Pesticides. A General Introduction, Environmental Health Criteria 64, Geneva.
- World Health Organization (WHO), (1990). International Programme on Chemical Safety Environmental Health Criteria 98 Tetramethrin, Geneva.
- World Health Organization (WHO), (2004). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification, WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, 16-26.
- World Health Organization (WHO), (2005). The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2005. Switzerland.
- World Health Organization (WHO), (2005). Safety Of Pyrethroids for Public Health Use. WHO/CDS/WHOPE/GCDPP, Geneva, 2005.10.
- World Health Organization (WHO), (2010). Preventing disease through healthy environments, To Highly Hazardous Pesticides: A Major Public Health Concern, 2010.
- World Health Organization WHO & FAO. International code of conduct on pesticide management guidelines on highly hazardous pesticides. Rome, 2016
- World Health Organization. (WHO), (2019). The state of food security and nutrition in the world 2019: safeguarding against economic slowdowns and downturns (Vol. 2019). Food & Agriculture Org.
- Wright, J. E. (1976). Environmental and toxicological aspects of insect growth regulators. Environmental Health Perspectives, 14, 127-132.
- Xi, Y., Pan, P. L., Ye, Y. X., Yu, B., & Zhang, C. X. (2014). Chitin deacetylase family genes in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae). Insect Molecular Biology, 23(6), 695-705.
- Yadav S., Singh M., ve Yadav R., 2016, Organophosphates Induced Alzheimer's Disease: An Epigenetic Aspect. Journal of Clinical Epigenetics, 2(1), 2472-1158.
- Yanıkoglu A. ve Çetin H. 2018. Böcek Gelişim Düzenleyicileri ve Böcek Gelişim Düzenleyici İnsektisitler. IV. Ulusal Vektör Mücadelesi Sempozyumu, Antalya, Türkiye, 1-4 Kasım 2018, ss.52-52.
- Yılmaz, A., ve Binzet, A., "Genel zararlılar" Zirai Mücadele Teknik Talimatları, Editör: M. Aydemir, T.C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bitki Sağlığı Araştırmaları Daire Başkanlığı, Ankara, 159-200, 2008
- Young, S. 1974. *Daphnia magna*'nın renk duyarlılığındaki yön farklılıkları. Deneysel Biyoloji Dergisi. 61: 261-267. 08 Şubat 2013 tarihinde <http://jeb.biologists.org/content/61/1/261.full.pdf> adresinden erişildi.
- Zhao, X., Situ, G., He, K., Xiao, H., Su, C., & Li, F. (2018). Functional analysis of eight chitinase genes in rice stem borer and their potential application in pest control. Insect molecular biology, 27(6), 835-846. <https://doi.org/10.1111/imb.12525>

Zou YF (2008). "Study on synthesis of insecticide novaluron". Journal of Henan University of Technology



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : İrem Tok

ÖĞRENİM DURUMU:

- Lisans:** 2021, Necmettin Erakan Üniversitesi, Fen Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
- Yükseklisans:** 2024, Sakarya Üniversitesi, Biyoloji Program

