



EGE ÜNİVERSİTESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MELANOGRYLLUS DESERTUS (PALLAS 1771)
(ORTHOPTERA: GRILLIDAE)’DA 2,4-D
(DİKLOROFENOKSİASETİK ASİT)’ NİN
TESTİSE ETKİLERİ**

Sezin HÜDAVERDİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 10.02.2011

Bornova-İZMİR

2011

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**MELANOGRYLLUS DESERTUS (PALLAS 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)’DA 2,4-D
(DİKLOROFENOKSİASETİK ASİT)’NİN
TESTİSE ETKİLERİ**

Sezin HÜDAVERDİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Gürsel ERGEN

Biyoloji Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu : 401.04.00

Sunuş Tarihi : 10.02.2011

Bornova-İZMİR

2011

Sezin HÜDAVERDİ tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak sunulan “*Melanogryllus desertus* (Pallas 1771) (Orthoptera: Gryllidae)’da 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit)’nin Testise Etkileri” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi’nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 10/02/2011 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği / oyçokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleriİmza

Jüri Başkanı: Prof. Dr. Gürsel ERGEN

.....


Raportör Üye: Prof. Dr. Sema İŞİSAĞ ÜÇÜNCÜ

.....


Üye: Yrd. Doç. Dr. Fevzi KIRKIM

.....


ÖZET**MELANOGRYLLUS DESERTUS (PALLAS, 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE)’DA 2,4-D
(DİKLOROFENOKSİASETİK ASİT)’NİN TESTİSE ETKİLERİ**

HÜDAVERDİ, Sezin

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Gürsel ERGEN
Şubat 2011, 40 sayfa

Tarımsal pestisitlerin sınırsız ve denetimsiz kullanımının, çarpıcı çevresel hasarlara yol açtığı iyi bilinmektedir. Bu çalışmada, yabancı otlarla mücadelede çok yaygın olarak kullanılan 2,4-D herbisitinin, laboratuvar koşullarında (sıcaklık: 28 ± 2 °C; bağıl nem: %45-50; fotoperiyot: 16 saat aydınlık/ 8 saat karanlık) kültürü yapılan ergin *Melanogryllus desertus* testisleri üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Bu amaçla örnekler bir kontrol ve üç deneme grubuna ayrılmıştır. Deneme gruplarında; ergin erkek bireylere 2,4-D üç farklı konsantrasyonda (1000, 2500 ve 5000 ppm) besin içinde verilmiştir. 2,4-D uygulamasını takiben 48, 96 ve 120 saat sonra kontrol ve deneme grubu hayvanlarının testisleri disekte edilerek, ışık mikroskopunda incelenmesi için hematoksilin-eozin ile boyanıp hazırlanmıştır.

2,4-D maruziyeti sonucunda; konsantrasyonla doğru orantılı olarak testislerde dejeneratif değişikliklerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. 2,4-D’ye maruziyet, olgun sperm miktarında belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Spermatogenik hücrelerde (sist kümelerinde) deformasyon ve vakuole ek olarak nekroz oluşumu da not edilmiştir. Bu sonuçlara göre 2,4-D, testiste histopatolojik hasara neden olmuştur.

Anahtar Sözcükler: Herbisit, 2,4-D, *Melanogryllus desertus*, Testis, Histopatoloji.

ABSTRACT**THE EFFECTS OF 2,4-D (Dichlorophenoxy acetic acid) ON
MELANOGRYLLUS DESERTUS (PALLAS, 1771)
(ORTHOPTERA: GRYLLIDAE) TESTIS**

HÜDAVERDİ, Sezin

M.Sc. in Biology
Supervisor: Prof. Dr. Gürsel ERGEN
February 2011, 40 pages

It is well known that, the unrestricted and uncontrolled using of agricultural pesticides striking environmental damage. In this study, the effects of herbicide 2,4-D, which is widely used to combat weeds, in laboratory conditions (temperature: $28\pm 2^{\circ}\text{C}$, relative humidity: %45-50; photoperiod: 16 hours daylight, 8 hours darkness) on adult *Melanogryllus desertus* testis have been analysed.

For this purpose, the samples have been divided into one control and three experiment groups. In experiment groups; 2,4-D has been given to male subjects in nutrients out of 3 different concentration (1000, 2500, 5000 ppm). Following the 2,4-D prosedure, after 48, 96 and 120 hours, the testis of animals in control and experiment groups have been dissected and has been dyed with hematoxylin-eosin and prepared to be analysed in light microscope.

As a consequence of 2,4-D exposure, some degenerative changes have been observed in the direct proportion with concentration. The exposure to 2,4-D has caused a clear decrease in the amount of mature sperm. In addition to the deformation and vacuole in the spermatogenic cells (cyst groups) and necrosis has been noted. According to the established results, 2,4-D has caused histopathological damage over testis.

Keywords: Herbicide, 2,4-D, *Melanogryllus desertus*, Testis, Histopathology.

TEŞEKKÜR

Çalışma konumun belirlenmesinde ve tezimin her aşamasında değerli bilgileri, sonsuz desteği ve sabrı ile her zaman yanımda olan danışman hocam, Zooloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gürsel ERGEN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam sırasında bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen Yüksek Lisans öğrencileri Duygu YORNUK ve Beklan Eren ÖZKAN'a; fotoğrafların çekimlerinde yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Melih Ertan ÇINAR'a ve hayatımın her aşamasında benimle olan, beni destekleyen sevgili annem ve babama, sevgili eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vii
TEŞEKKÜR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Pestisitler.....	2
1.2 Herbisitler.....	3
1.3 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit (2,4-D).....	5
1.3.1 2,4-D’ nin Çeşitli Canlılar Üzerine Etkileri.....	7
1.4 Böceklerde Erkek Üreme Sistemi.....	11
1.4.1 Testis.....	11
1.4.2 Spermatogenez.....	13
1.4.3 Spermatozoa.....	14
2. MATERYAL VE METOT.....	16
2.1 Böceklerin Yetiştirilmesi.....	16
2.2 Deneyde Kullanılan Herbisit.....	16
2.3 Ön Denemeler.....	17
2.4 Deneysel Prosedür.....	17
2.5 Histolojik Yöntem.....	18
3. BULGULAR.....	19

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.1 Ön Denemeler.....	19
3.2 Histolojik Bulgular.....	19
3.2.1 Kontrol Grubu.....	19
3.2.2 Deneme Grupları.....	20
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	30
KAYNAKLAR.....	34
ÖZGEÇMİŞ.....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1.1 2,4-D ve Dimetilamin tuzunun moleküler yapısı.....	5
1.2 Böceklerde erkek üreme sisteminin genel yapısı.....	12
1.3 Sperm gelişim bölgelerini gösteren testis folikülü.....	14
1.4 Böcek spermatozoon yapısı.....	15
2.1 <i>M. desertus</i> erkek ve dişi bireyleri.....	16
3.1 Kontrol grubunda spermatogenik hücreleri içeren sistler (S) ve aralarındaki interstisiyel alanların (İa) genel görünümü.....	20
3.2 Kontrol grubunda İnterstisiyel alan (İa) ve spermatogenik hücreler (Sh).....	20
3.3 Kontrol grubunda tipik kamçılı yapılarıyla spermler (**).	21
3.4 Deneme grubu, 1000 ppm, 96 saatlik uygulama. Normal görünümlü Sistler (S) ve interstisiyel alanlar (İa). Bağ doku kılıfındaki ayrılımlar (→) ve Sist kümelerinde epiteliyel ayrılımlar (*).	22
3.5 Deneme grubu, 1000 ppm, 120 saatlik uygulama. Normal görünümlü sist (S) ve bazı sistlerdeki spermatogenik hücrelerde nekroz (N), normal görünümlü interstisiyel alan (İa) ve bazı intersitisiyel alanlarda vakuol (V) oluşumu.....	23
3.6 Deneme grubu, 2500 ppm, 96 saatlik uygulama. İnterstisiyel alandaki boşluklar (İa) ve sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasındaki ayrılımlar (*)	24
3.7 Deneme grubu, 2500 ppm, 120 saatlik uygulama. Sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasında ayrılımlar (*), sist kümelerini saran epitel örtüde düzensiz görünüm (elips içerisinde), bazı sistlerde nekroz (N), sist içinde vakuol (V) oluşumu.....	25

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.8 Deneme grubu, 2500 ppm, 120 saatlik uygulama. Sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasında ayrılmalar (*), sist kümelerini saran epitel örtüde düzensiz görünüm (elips içerisinde), bazı sistlerde nekroz (N) ve interstisiyel alanda vakuol (V).....	25
3.9 Deneme grubu, 5000 ppm, 96 saatlik uygulama. Genel görünümde deformasyonlar ile nekroz (N) ve vakuol (V) oluşumu, spermatogonik hücreler ile etrafındaki örtü epiteli arasında epitelisel ayrılmalar (*)......	26
3.10 Deneme grubu, 5000 ppm, 96 saatlik uygulama. Sistler içerisinde genişleyen nekrotik alanlar (N), interstisiyel alanda (İa) boşluklu görünüm ve sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde şekil bozukluğu (elips içinde) ve epitelisel ayrılmalar (*)......	27
3.11 Deneme grubu, 5000 ppm, 96 saatlik uygulama. Bazı sistlerde boşluklar olarak izlenen sperm sayısı azalışı (**) ve vakuol (V) oluşumu.....	27
3.12 Deneme grubu, 5000 ppm, 120 saatlik uygulama. Sistlerde yaygın nekroz (N) ve içlerinde geniş vakuoller (V), epitel örtüde çok belirgin ayrılmalar (*), kırılmalar (elips içinde) ve kaynaşmalar (→), örtünün ayırt edilemediği bölgeler (dikdörtgen içerisinde),.....	28
3.13 Deneme grubu, 5000 ppm, 120 saatlik uygulama. Epitel örtüde kırılmalar (elips içinde) ve ayırt edilemez görünüm (dikdörtgen içerisinde) nedeniyle nekroz (N) ve vakuol (V) içeren sistlerde tübüler organizasyonun bozulması.....	29
3.14 Deneme grubu, 5000 ppm, 120 saatlik uygulama. Olgun sperm sayısında azalma (**), sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde kırılma (elips içinde), sistlerde ileri seviyede nekroz (N) ve vakuol (V) oluşumu.....	29

ÇİZELGELER DİZİNİ**Çizelge****Sayfa**

1.1	Türkiye’de yıllara göre pestisit tüketimi.....	3
1.2	Türkiye’de en yoğun kullanılan pestisitler.....	4
1.3	2,4-D’ nin fiziksel özellikleri.....	6

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

a.e/L	: Asit eşdeğeri/L
a.i/cm²	: Aktif madde/ cm ²
2,4-D	: 2,4-Diklorofenoksiasetik asit.
DMA	: Dimetilamin.
EPA	: Environmental Protection Agency- Çevre Koruma Ajansı.
FAO	: Food and Agriculture Organization-Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü.
H&E	: Hematoksilen- Eozin.
LC₅₀	: Letal konsantrasyon. Test hayvanlarının %50' sini öldürmek için gerekli konsantrasyon.
LD₅₀	: Letal doz. Test hayvanlarının %50' sini öldürmek için gerekli doz.
LOEC	: Lowest Observable Concentration- Gözle Görülen Etkinin Başladığı Konsantrasyon.
NOEC	: Non- Observable Concentration- Hiçbir Etkinin Görülmediği Konsantrasyon.
ppm	: Parts Per Million- Milyonda bir birime verilen isim.
U.S EPA	: U.S. Environmental Protection Agency- Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı.
USDA	: U.S. Department of Agriculture- Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı.

1. GİRİŞ

Dünyada tarım kültürünün yaygınlaşmasının ardından insanlar, ürünlerin zararlılardan, hastalıklardan ve yabancı otlardan korunması için tarımsal ilaçların kullanılması zorunlu hale gelmiştir. II. Dünya Savaşından sonra kimyasal bileşiklerin, özellikle de pestisitlerin bulunmasıyla birlikte zararlılara karşı zirai mücadele çalışmaları hız kazanmaya başlamıştır. Pestisitler zararlı organizmaları engellemek, zararlarını azaltmak ya da kontrol altına almak için yaygın olarak kullanılan kimyasal maddelerdir. Amerikan Federal Pestisit Ürünleri veri tabanında halen aktif olarak kayıtlı 20.000 madde ürünü vardır. Pestisitlerde kullanılan kimyasal maddelerin sayısı da, pestisit aktif maddesi, bu maddelerin dönüşüm ürünleri, yardımcı kimyasallar ve çözücülerle birlikte 6400 civarındadır (Kaplan, 2009).

İnsanoğlunun bu kimyasalları üretme nedeni zararlı olarak nitelendirilen canlılarla savaşmak olsa bile; sık kullanımları çevreyi kirletmekte, pestisitler su ve toprak başta olmak üzere kullanıldıkları alana yayılmaktadırlar. Tarımsal arazilere, orman veya bahçelere uygulanan pestisitler, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara geçmekte ve değişime uğramaktadır. Çevreye yayılan tüm kimyasal maddeler en sonunda insana ulaşır. Bu nedenle çevre sağlığı açısından pestisitlerin yapılarında bulunan etken madde önemlidir. Çünkü canlılarda akut ya da kronik etki eden ve onların ölümüne sebep olan pestisit yapısındaki etken maddedir (Sak, 2004).

Pestisitlerin, püskürtülerek uygulanması sırasında bir kısmı dağılma ve buharlaşma nedeniyle kaybolur. Kalan kısmı ise toprak yüzeyinde ve bitkilerin üzerinde birikir. Havaya karışan pestisit, rüzgar ile taşınarak yağmur ya da kar yağışıyla tekrar yeryüzüne döner. Bu yollarla da hedef olmayan diğer canlılar pestisitlere maruz kalır. Zehirli kimyasal maddeler olan pestisitlerin akut zehirlenme, kanser, doğum kusurları, kısırlık, sinir sistemi bozuklukları ve başka pek çok zararlı etkisi olduğu gösterilmiştir (Kaplan, 2009).

Bu çalışmanın amacı, zirai mücadele yöntemleri içinde yabancı otlarla mücadelede kullanılan 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D)'in, kara çekirge olarak da bilinen *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)'un testislerine olan

etkilerini histolojik olarak ortaya koymaktır. Bu çerçevede önce pestisit ve herbisit hakkındaki genel bilgiler ile 2,4-D'nin biyofizikokimyasal özellikleri verilecektir.

1.1 Pestisitler

Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılan ve önemli ölçüde çevre kirliliğine neden olan pestisitler, ekonomik bir şekilde üretilmeleri ve kullanım kolaylıkları nedeniyle; ürünü hastalıkların, böceklerin, yabancı otların ve diğer zararlıların olumsuz etkilerinden koruyarak verim ve kaliteyi güvence altına almayı amaçlayan tarımsal savaşında çok önemli bir yer tutmaktadır

Tarımsal zararlıların çeşidine göre bitkilere farklı pestisitler uygulanır. Pestisitler genelde etki ettikleri canlı grubuna göre isimlendirilirler. Aşağıda görüldüğü üzere yedi farklı pestisit çeşidi vardır. Bunlar hem doğal maddelerden izole edilebilir hem de ticari olarak sentezlenebilirler.

İnsektisit : Böcek ve haşerelere karşı kullanılır.

Fungusit : Mantarlara karşı kullanılır.

Herbisit : Yabancı otlara karşı kullanılır.

Mollusit : Yumuşakçalara karşı kullanılır.

Rodentisit : Kemirgenlere karşı kullanılır.

Nematisit : Yuvarlak solucanlara karşı kullanılır.

Akarisit : Akarlara karşı kullanılır.

Ülkemizdeki pestisit tüketimi gelişmiş ülkelere nazaran oldukça düşüktür. Ancak tarım faaliyetlerinin fazla olduğu Akdeniz ve Ege gibi bölgelerdeki pestisit tüketimi Türkiye ortalamasının çok üzerindedir. Türkiye’de yoğun tüketilen pestisitler (Çizelge 1.1) çevre ve sağlık açısından önemli riskler taşımaktadır (Delen ve ark., 2005).

Çizelge 1.1 Türkiye’de yıllara göre pestisit tüketimi (kg veya l)* (Delen ve ark., 2005).

Pestisit grupları	1979	1987	1994	1996	2002
İnsektisitler	2.287.658	3.303.446	2.064.991	3.027.380	2.250.898
Akarisitler	203.107	240.360	192.279	223.857	296.809
Yağlar	1.594.526	2.147.106	2.147.106	2.871.160	2.248.238
Fumigant ve Nemasitler	315.665	322.227	530.738	1.076.661	1.559.489
Rodentisit ve Mollusitler	5.600	2.124	2.509	3.268	1.794
Fungisitler	1.537.315	2.611.960	2.201.406	2.951.191	1.964.292
Herbisitler	2.451.997	3.495.044	3.902.588	3.643.971	3.697.397
TOPLAM	8.395.848	12.112.267	10.871.792	13.797.488	12.198.917

*göz taşı ve toz kükürt dahil değildir.

Pestisitler, içerdikleri kimyasal maddelere göre üçe ayrılırlar:

1. İnorganik Maddeler
2. Doğal Organik Maddeler
 - a)Bitkisel Yağlar
 - b)Petrol Yağları vb.
3. Sentetik Maddeler
 - a)Klorlu Hidrokarbonlar
 - b)Organik Fosforular
 - c)Diğer sentetik organik maddeler (Azotlu bileşikler, Piretroidler)

Bu çalışmada kullanılan 2,4-D herbisitler sınıfına dahildir.

1.2 Herbisitler

Herbisit kelimesi (herbicide); herba (=yabani ot), cide (=öldürücü) olup yabancı ot öldürücü anlamına gelmektedir. Herbisitler istenmeyen yabancı otları azaltmak veya öldürmek için kullanılan kimyasal maddelerdir ve olumsuz etkileri besin zinciri yoluyla diğer canlılara da taşınır. Bu kimyasalların hormonlar üzerinden, özellikle bitkilerle beslenen böcek türlerinin bıraktıkları yumurta sayısını, gelişimlerini ve eşey oranını etkilediği, ayrıca glikojen seviyesinde düşüş

ve kromozom bozukluklarında artma gibi etkilere de neden olduğu bu alanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kaya ve Yanıkoğlu, 1999).

Herbisitler;

1. Seçici olmayan herbisitler (total herbisitler)
2. Seçici herbisitler (selektif herbisitler)

olmak üzere iki sınıfa ayrılır.

2,4-D; yüksek derecede seçiciliğe sahiptir (Ecevit vd., 1999).

Herbisitler bitkilere etki yerlerine göre de üçe ayrılır:

1. Sistemik herbisitler: Bitkinin vasküler sistemine yayılarak etki ederler. Bitkinin kök ve yapraklarıyla temas halinde oldukları için bitkinin damarlarından hızla absorbe edilirler. Çalışmamızda kullanılan 2,4-D bu gruba örnek olarak verilebilir. Geniş yapraklı bitkiler üzerinde etkilidir (Ecevit vd., 1999).

2. Kök ve tohumları etkileyen herbisitler: Toprağa bırakılan herbisitler tohumlara ve köklere etkiyerek gelişimlerini engeller. Arsenik asit türevleri bu herbisitlere örnektir.

3. Kontakt herbisitler: Bitkinin yaprak ve gövdesiyle temas ettiği an ölümüne neden olur. Örnek olarak bipridil grubu verilebilir (Washington State Department of Ecology, 2001).

Çizelge 1.2 1999-2002 yıllarında Türkiye’de en yoğun kullanılan herbisitler ve herbisit tüketimindeki payları (Delen ve ark., 2005).

Herbisit	Yıllara göre herbisit tüketimindeki paylar (%)			
	1999	2000	2001	2002
2,4-D	45,28	44,34	47,49	33,62
Trifluralin	27,02	27,86	20,21	24,60
Molinate	7,10	6,44	3,69	3,50
Propanil	4,54	3,62	-	-
Glyphosate isopropylamin	4,10	6,94	9,08	7,57
Chloridazon	-	-	5,38	-
Metalocho	-	-	-	5,10
TOPLAM	88,04	89,20	85,85	74,39

- İlk beş herbisit arasında değildir.

Hem herbisitler içinde hem de tüm pestisitler içinde ülkemizde en yoğun tüketilen etkili maddelerden biri çizelge 1.2’de görüldüğü gibi 2,4-D (diklorofenoksiasetik asit)’dir.

Çalışmamızda kullanılan 2,4-D, seçici ve sistematik bir herbisit olan klorofenoksiasetik asit türevidir.

1.3 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit (2,4-D)

Genel adı : 2,4-Diklorofenoksiasetik asit

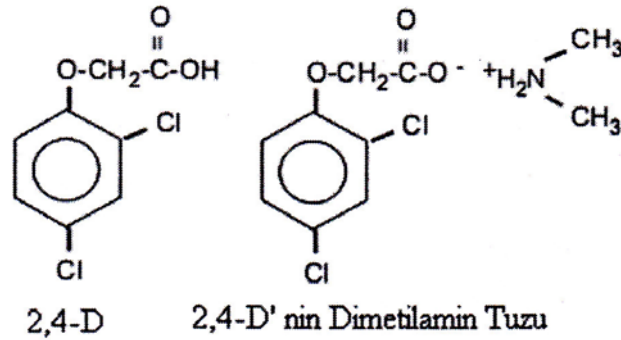
Kapalı formülü : $C_8H_6Cl_2O_3$

Moleküler ağırlığı : 221,0

2,4-D yaklaşık 50 yıldır dünyada yaygın olarak kullanılan bir herbisit çeşididir. İlk olarak 1942 yılında bulunmuş ve ilk kez 1948’de Amerika Birleşik Devletleri’nde kullanılmıştır (EPA, 2004). 2,4-D kısmen kalıcı bir kimyasaldır ve yarılanma ömrü 20 - 200 gün arasındadır (Garabrant and Philbert, 2002).

Halka açık alanlardaki çimlerde, tarım arazilerinde ve yol kenarlarındaki geniş yapraklı bitkilerin kontrolünde tercih edilir. Çok geniş bir yayılım göstermesinden dolayı insan ve çevre sağlığı için tehdit oluşturur (Reregistration Eblity Decision, 2005).

Ticari herbisit ürünlerinde üç tuz (Şekil 1.1) (dimetilamin, tiriizopropanolamin ve izopropilamin) ve iki ester formu (izooktil ester ve butoksietil ester) çoğunlukla, asit formu ise daha seyrek olarak kullanılır (Munro et al., 1992).



Şekil 1.1 2,4-D ve Dimetilamin tuzunun moleküler yapısı (Journal of Pesticide Reform, 1999)

EPA, 1994 yılında 2,4-D ürünlerinde dioksinlerin bulunduğunu rapor etmiştir. 2,4-D'nin amin ve ester formlarında dioksinin bulunması bu maddeyi çok daha tehlikeli bir hale getirir. Dioksinler, immün sistemin zayıflamasına, doğurganlığın azalmasına, seks hormonlarında değişmelere ve kansere neden olur (Washington State Department of Ecology, 2001).

2,4-D, bitkilerin büyüme ve gelişim sürecini kontrol eden ve oksin olarak adlandırılan bitkisel hormonları taklit eder. Doğadaki normal süreçte bitki büyüme sürecinde oksin konsantrasyonları zaman zaman değişiklik gösterir. 2,4-D kararlı ve kalıcı olduğu için, bu maddeye maruz kalmış bitkilerde oksin konsantrasyonu oldukça yüksek düzeydedir. Bunun neticesinde asit ve protein sentezi uyarılarak normal olmayan bir büyüme ortaya çıkar. Bitki ölümü, bitkinin taşıma sisteminin (floem ve ksilem) kendi büyümesi ile çöküp yıkılması sonucu meydana gelir (Journal of Pesticide Reform, 1999).

2,4-D farklı formlardaki bileşikler halinde bulunabilir. Bu çalışmada 2,4D'nin dimetil amin (DMA) formu kullanılmıştır. Bu kimyasalın farklı formlarının genel fiziksel özellikleri çizelge 1.3'de gösterilmektedir.

Çizelge 1.3 2,4-D'nin fiziksel özellikleri, (FAO, 1996).

BİLEŞİK ADI	2,4-D asit	Dimetilamin 2,4-D tuz	Butoksietilester 2,4-D tuz
BUHAR BASINCI	-	6,8-9	-
ÇÖZÜNÜRLÜK	2,3	72,9	-
ÖZKÜTLE	1,56	1,24	1,20
ERİME NOKTASI	140,5	-	-
KOKU	Fenolik	Kuvvetli amonyak	Fenolik
FİZİKSEL DURUM	Katı	Katı ya da sıvı	Katı ya da sıvı

2,4-D'nin saklama ve taşıma koşulları içerdiği aktif maddeye göre değişkenlik gösterir. Uygun koşullar altında 1-2 yıl veya daha fazla süre saklanabilir (FAO, 1996).

1.3.1 2,4-D'nin Çeşitli Canlılar Üzerine Etkileri

1941'de sentezlenmesinin ardından 1948'de ABD'de piyasaya sürülen 2,4-D, 1950'den itibaren tüm dünyada üretilmeye başlanmıştır. 1970'lerin sonunda, yumuşak doku sarkoması (STS) ve Hodgkin hastalığı (HD) ile 2,4-D arasında bağlantı olduğu ileri sürülmüştür. Bu raporları, herbisitlere maruz kalan tarım işçileri ve Vietnam gazilerinde görülen lenfoma ve sarkomalar ile ilgili çalışmalar takip etmiştir.

2,4-D'nin, eritrosit membranının fosfolipid yapısını bozduğu ve membran iskeletindeki spesifik oksidatif dönüşümlerin sonucu eritrositlerde morfolojik değişimlerin olabileceği belirtilmiştir (Suwalski et al., 1996).

Bradberry et al. (2000) yaptıkları çalışmada, diğer klorofenoksi ve herbisitlerin insanlar ve memeliler üzerinde toksik etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Bu etkiler, toksik maddenin hücre metabolizmasına katılması ile metabolizma değişimi sonucu oksidatif fosforilasyon reaksiyonlarının bozulması ve hücre membranlarında yapı ve fonksiyon bozukluğu olarak ortaya çıkmıştır.

Bradberry et al. (2000), 2,4-D gibi klorofenoksi asitlerin, hücresel metabolizmayı bozmalarından başka, asetik asite yapısal benzerlikleri olduğunu ve asetil Co-A analogları oluşturabileceklerini belirtmiştir. Asetil Co-A oluşumu glukoz metabolizması, kolesterol, steroid hormon ve asetilkolin üretimini içeren temel metabolik olaylar için gereklidir. Bu reaksiyonların bozulması neticesinde, memelilerde meydana gelen kolesterol profillerinde değişimler, miyotoni, kalp ritm bozukluğu, kas seğirmesi, immünotoksikolojik ve nörotoksikolojik etkiler ortaya çıkmaktadır.

Son yıllarda sitotoksitenin moleküler mekanizmalarını araştıran birçok çalışma 2,4-D'nin apoptozisi de uyardığını göstermiştir. Örneğin; Kaioumova et al. (2001 a; 2001 b) yaptıkları araştırmalarda 2,4-D'nin dimetilamin (DMA) tuzunun direkt olarak mitokondriyumlara etki ederek apoptozise neden olduğunu ve insan lenfositlerini öldürdüğünü göstermiştir. Benzer bir çalışmada, De Moliner et al. (2002), 2,4-D asidinin ilk olarak mitokondriyumlara zarar verdiğini ve farelerde beyincik granüler tabaka hücrelerinde apoptozisi artırabileceğini ortaya koymuştur.

2,4-D'nin bazı fosfolipidlere bağlanıp membranın fiziksel etkileşimini bozarak lipidlerin peroksidasyonunu artırabileceğini belirtilmiştir (Duchnowicz et al., 2003). Ayrıca aynı çalışmada 2,4-D'nin yağ asitlerinin 16. karbon atomuna etki ederek membran akışkanlığını ve insan eritrositlerin de hemolizisi arttırdığı gösterilmiştir.

2,4-D ile yapılan çalışmalar sonucunda bu maddenin üreme işlevleri üzerinde olumsuz etkiler oluşturduğu saptanmıştır. ABD'de 2,4-D uygulanan arazilere yakın bölgelerde yaşayan 21-40 yaş arası erkeklerden alınan semen örnekleri ile yapılan çalışmalarda, sperm sayıları normalden düşük bulunan erkeklerin üre örneklerinde normalden beş kat daha fazla 2,4-D olduğu gözlenmiştir (Swan, 2003).

EPA, 2,4-D'nin erkek üreme organları üzerindeki olumsuz etkilerini belirtmiş ve söz konusu maddenin olgunlaşan sperm miktarında azalma, atrofi ve interstisiyel alanda dejenerasyona neden olduğunu rapor etmiştir (EPA, 2004).

Laboratuar hayvanları 2,4-D ile akut oral doza maruz kaldıklarında, ataksi (kasların koordinasyonsuzluğu) ve miyotoni (kasın tonik spazmı) ortaya çıkmıştır (U.S EPA/OPP, 2005).

Wistar albino erkek sıçanlarda 2,4-D'nin testis dokusu üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada, herbisit dozuna bağlı olarak testis dokusunda histopatolojik hasarların (seminifer tübüllerde atrofi, spermatogenik hücre sırasında bozulma, tunika albuginea kalınlığında incelme ve testis hasarları) olduğu saptanmıştır (Özdaş ve ark., 2006).

Deney hayvanlarına yüksek dozlarda 2,4-D verilmesi sonucu anoreksiya, diyare, kilo kaybı, ağız ve yutakta ülser oluşumu böbrek, karaciğer ve merkezi sinir sisteminde hasarlar ortaya çıkmıştır. Bunların dışında bazı türlerde miyelin kılıfın hasar görmesi ile omurgada eğrilikler ve miyotoni (kasın tonik spazmı) ortaya çıkmıştır (USDA, 2006).

Farelerde 2,4-D'nin olumsuz etkileri, tiroid fonksiyonun azalması, kan parametrelerinin değişmesi, trigliserit, kolesterol ve glukoz değerlerinin azalması,

gonad doku ağırlığının azalması, adipoz dokuda ve karaciğerde mikroskobik lezyonlar olarak gözlenmiştir (USDA, 2006).

Yalçinkaya (2006) yaptığı çalışmada, 2,4-D'nin medulla spinalis üzerine etkilerini araştırmış ve herbisit konsantrasyonundaki artışla orantılı olarak omurilikte nöronal kayıplar, hücre içi ödem, Nissl granüllerinde bozulmalar gözlemiştir.

Bıçer ve ark. (2006), sıçanlarda 2,4-D'nin ovaryum dokusu üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada, doz artışına bağlı olarak foliküler yapıda ve oositlerde dejeneratif etkiler saptamıştır.

2,4-D'nin *Poecilia reticulata*'da (lepestes) testis dokusuna olan etkilerinin araştırıldığı çalışmada; uygulanan doza bağlı olarak, olgun sperm miktarında azalma, testisin interstisiyel dokusunda ödem ve nekroz, sertoli hücrelerinde irileşme, spermatogonium epitelinde deformasyon tespit edilmiştir (Hansoy, 2010).

Bazı karasal omurgasızlarda ve böceklerde, çoğu herbisitte olduğu gibi 2,4-D toksisitesi ile ilgili az bilgi bulunmaktadır. Bu da araştırmacıları bu konuda çalışma yapmaya yönlendirmiştir.

Gall and Dogger (1967), buğday yaprak arısı larvalarının 2,4-D'ye duyarlı olmasına rağmen, kimyasalın erginler ve yumurtalar üzerindeki etkisinin az olduğunu göstermişlerdir.

İnsektisit olan chlordan'ın sublethal dozlarına maruz kalan *Periplaneta americana* örneklerinde toplam hemosit sayısının arttığı gözlenmiştir (Gupta and Sutherland, 1967; Gupta'dan 1985).

Hoy (1985), 0,34mg a.i/cm² 2,4-D'ye (butoksietanol ester) maruz kalan ergin *Scytanotus simplex* (kırkayak) örneklerinde ölüm oranının, herbisite maruz kalmamış gruplara göre daha fazla olduğunu belirtmiştir. En yüksek ölüm oranının (%45) 2,4-D ile doğrudan temas ve herbisite maruz kalmış bitkilerin tüketimi ile gerçekleştiği, hatta çok düşük bir dozda bile (0,034 mg a.i/cm²) ölüm gerçekleştiği gözlenmiştir.

Spodoptera eridania'da (Lepidoptera) 2,4-D uygulaması, sitokrom P₄₅₀'yi uyarak insektisit toksisitesinde sinerjik etkilere sebep olmuştur. Ayrıca carbaryl ve permethrin toksisitesini de düşürmüştür (Kao et al., 1995).

Bal arıları için 2,4-D zehirsiz olarak sınıflandırılmıştır. Palmer and Krueger (1997), 2,4-D'nin DMA ve 2-etilhekzil ester formu ile yaptıkları iki çalışmada, 100 µg/arı dozunda (değer yaklaşık olarak 1075 mg/kg vücut ağırlığı dozuna karşılık gelmektedir) hiçbir ölüm ve yan etki belirlememişlerdir.

Parazitik hymenopter olan *Pimpla turionellae* ile yapılan çalışmada 2,4-D'nin 50 ppm ve üzeri konsantrasyonlarının kontrol gruplarına nazaran yumurta açılımını önemli ölçüde düşürdüğü; erginlerin besinine karıştırılan 300 ppm'lik konsantrasyonun ise yaşam süresini ve konağa yumurta bırakımını azalttığı ortaya çıkarılmıştır (Özkan ve Yanıkoğlu, 1999).

Drosophila melanogaster'in ana kuşak ve F1 kuşaklarına uygulanan 300 ppm'lik 2,4-D derişiminin, pupa olma süresi ve pupa evresini geciktirip, ergin birey çıkış sayısını azalttığı, 100 ppm'lik diğer etkili derişimin F3 kuşaklarında pupa evresini kısalttığı gösterilmiştir (Kaya ve Yanıkoğlu, 1999).

Martinez et al. (2001), 2,4-D ve bir herbisit olan picloram'ın *Canthan cyanellus* (bok böceği)'un üreme sistemini bozduğunu belirtmişlerdir.

Balavenkatasubbaiah et al. (2002) yaptıkları çalışmada, fungusit (bayleton) uygulaması sonucu ipek böceğinde toplam hemosit sayısının ve protein miktarının arttığını, toplam karbohidrat ve lipid miktarlarının ise azaldığını rapor etmişlerdir.

Macrobrachium rosenbergii'de (büyük tatlı su karidesi) sekiz ayrı phthalate esterinin hemositlerde apoptozis ve nekroz ile hücre ölümüne sebebiyet verdiği saptanmıştır (Sung et al., 2003).

Coccinellid (uğur böceği) larvalarına, 2,4-D dimetilamin tuzu (DMA) uygulanması sonucunda ölüm oranları bütün yaş gruplarında 4 katına çıkmış ve pupalaşma süresi artmıştır (Adams et al., 1986, USDA'dan 2006).

Sucul omurgasızlarda, 2,4-D asit formu için LC₅₀ değeri 25 mg/L'den (su piresi), 1389 mg/L (kerevit) kadar çeşitlilik gösterir. Sucul omurgasızlardaki bu

yüksek değişkenlik 2,4-D'nin ester formunun LC₅₀ değerinde daha da belirgin olarak ortaya çıkar [0,092 mg a.e/L (*Palaemonetes pugio*)- 66 mg a.e/L (*Gammarus fasciatus*)] (USDA, 2006).

Daphnia magna (su piresi) ile yapılan 21 günlük çalışmada 2,4-D asit formunun NOAEC (etki göstermeyen konsantrasyon) değeri 79 mg/L; LOAEC (en düşük etki gösteren konsantrasyon) değeri ise 151 mg/L olarak saptanmıştır (Ward and Boeri, 1991). DMA tuzu ile yapılan çalışmada ise 21 günlük LC₅₀ değeri 75,7 mg/L olarak belirlenmiştir (Ward, 1991, USDA'dan 2006).

Karasal omurgasızlar için kabul edilen NOAEC değeri, arılar için kontakt toksisite değeri olan 1075 mg/kg vücut ağırlığıdır. Fakat parazitik arıların daha düşük dozlarda 2,4-D'ye duyarlı olduğu belirtilmiştir (USDA, 2006).

Uçkan ve Sak (2010) yaptıkları çalışmada, *Pimpla turionellae* larvalarında uygulanan doza bağlı olarak hemositlerin mitotik aktivitesinde azalma, apoptotik hücre sayılarında ise artma olduğunu göstermiştir.

2,4-D'nin *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)'un hemositlerine olan etkisinin araştırıldığı çalışmada, hemositlerde morfolojik hasarın yanı sıra, toplam hemosit sayısı ve bozulmuş hemosit sayısında artış olduğu gözlenmiştir (Öner, 2010).

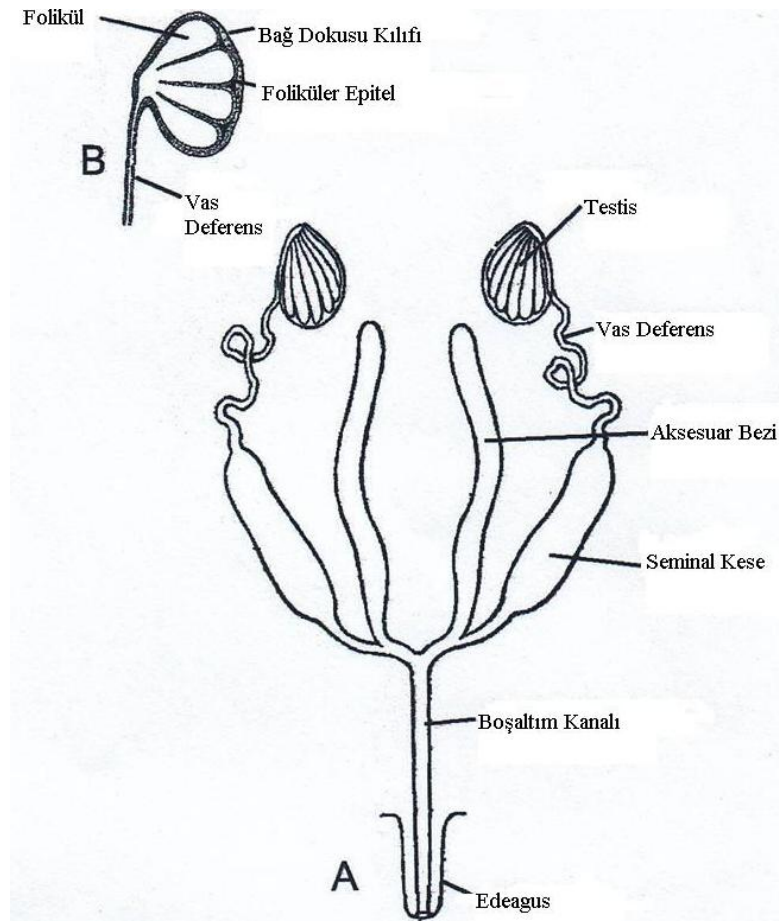
1.4 Böceklerde Erkek Üreme Sistemi

Böceklerin erkek üreme organları, genellikle seminal vesikül (kese) çifti ve boşaltım kanalının ortası ile bağlantılı olan bir çift testisten meydana gelir. Medyan (orta) kanalla bağlı gonad çifti; primordial üreme hücrelerinden oluşan germinal bölge ile tüp dizilerinden meydana gelir. Spermatogoniadan üretilen tüpler, birbirini izleyen gelişim bölgelerinde bulunur. Her bir sekonder spermatogonium dört spermatozoayı oluşturur. Birçok böcekte boşaltım kanalı veya vas deferens içine açılan birkaç aksesuar bezi vardır (Chapman, 1969).

1.4.1 Testis

Testis; abdomendeki sindirim sisteminin altında, genellikle orta hatta yakın konumda ve bir çift olarak bulunur. Primitif böcekler tek testise sahiptir

(Wigglesworth, 1965). Her bir testis, birkaç testis tüpü veya folikül serisi içerir (Chapman, 1969). Başlangıçta her folikül, temel membran üzerine dayanan epitel tabakadan oluşur. Daha sonra folikül gruplarının etrafı bağ doku kılıfı ile sarılır (Klowden, 2007). Testis; Coleoptera-Adephaga'da tek bir folikülden, Acrididae'de ise 100'den fazla sayıda folikülden ibarettir. Lepidoptera'da iki testis tek bir kapsül içinde birbirine bağlı olarak bulunur (Chapman, 1969). *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)'da (Gryllidae) çok sayıda folikülden oluşan, bir çift testis mevcuttur.



Şekil 1.2 A. Böceklerde erkek üreme sisteminin genel yapısı. B. Testisin boyuna kesiti (Klowden, 2007).

Her bir folikül, birbirinden ayrı olarak vas efferens tüpleri vasıtasıyla ana kanal olan vas deferens ile bağlantı kurar. Vas deferens, epitel doku ile bazal membran ve onun dışındaki halkasal kas tabakasına kalın bağ yapar. Vas deferens'ın bir ucu, çiftleşme sırasında dişiye geçmeden önce spermlerin

depolandığı seminal kese formuna genişler (Wigglesworth, 1965; Klowden, 2007) (Şekil 1.2).

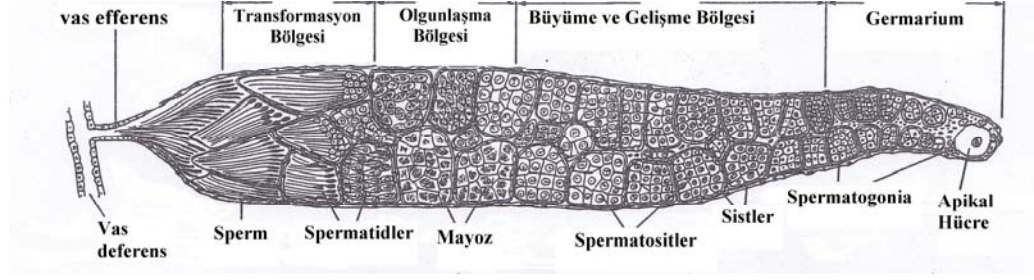
Ektodermal orjinli olan boşaltım kanalının terminal kısmı, kopulasyon organı olarak görev yapan edeagus şeklini alır (Şekil 1.2). Edeagus, Apterygotlarda bulunmazken, Pterygotların çoğu türünde mevcuttur. Edeagus; 9. Abdomen segmenti ile bağlı bir çift ektodermal loptan farklılaşır. Bu organ genellikle genital bölme içerisine gizlenmiştir (Chapman, 1969; Klowden, 2007).

Genelde bir çift olarak bulunan erkek aksesuar bezleri, vas deferense veya boşaltım kanalının distal ucuna açılabilir (Chapman, 1969). *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)'da (Gryllidae) saçaklı yapıdan oluşan, tek aksesuar bezi mevcuttur. Aksesuar bezlerinin salgıları, seminal sıvı içinde sperm ile karışır (Chapman, 1969).

1.4.2 Spermatogenez

Böceklerdeki spermatogenez, memelilerdeki ile çok benzerlik gösterir. Her iki grupta da az sayıda apikal kök hücre bölünmeye devam ederek, spermatogonial hücreleri oluşturur (Klowden, 2007).

Her testis folikülünde farklı gelişim evrelerindeki üreme hücrelerinin oluşturduğu ve birbirini izleyen gelişim bölgeleri mevcuttur (Şekil 1.3). Bu bölgelerde, spermatogenezin farklı aşamalarındaki hücre tiplerini gözlemlemek mümkündür. Her bir testis folikülünün distal ucunda, primordial sperm hücresi olan spermatogonia üretmek için bölünen germarium bulunur (Şekil 1.3). Bu bölgedeki apikal hücrelerin etrafı spermatogonia ile çevrilidir (Wigglesworth, 1965). Spermatogonia; Orthoptera, Lepidoptera, Dictyoptera ve Homoptera'da, sitoplazmik bağlantıları ile büyük apikal hücreden besin temin eder. Bu apikal bağlantılar kısa süre içinde kaybolur ve spermatogonia çevresinde bulunan sist (küme) formundaki diğer hücrelerle birleşir. Sist içindeki tüm hücreler, genellikle primer spermatogoniumdan meydana gelir (Chapman, 1969). Germarium altında, genellikle üç gelişim bölgesinin bulunduğu kabul edilir (Wigglesworth, 1965; Chapman, 1969; Klowden, 2007). Şekil 1.3'de transformasyon, olgunlaşma ve büyüme-gelişme isimleri ile tanımlanan bu bölgeleri ayrıntılı olarak görmekteyiz.



Şekil 1.3 Sperm gelişim evrelerinin görüldüğü testis folikülü (Wigglesworth, 1965).

1. Büyüme ve gelişme bölgesi: Bu gelişim bölgesinde sist içinde çevrelenmiş primer spermatogonia, mitoz bölünmeler ile çoğalarak spermatosit şeklini alır.

2. Olgunlaşma bölgesi: Bu bölgede; her bir spermatosit, spermatid üretmek için mayoz bölünme geçirir. Mayoz bölünme ile spermatositler önce iki prespermatide, daha sonra dört spermatide dönüşür.

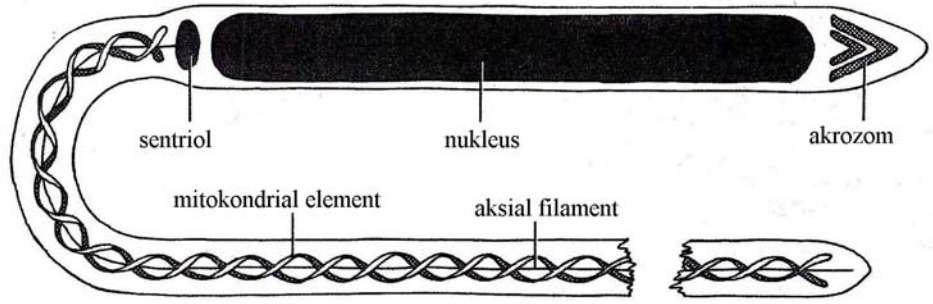
3. Transformasyon bölgesi: Kapsülle sarılı spermatidlerin, kamçılı spermatozoaya dönüştüğü bölgedir. Spermiogenez adı verilen bu süreçte spermatidler, gelişim ve değişim evrelerini takiben dölleme yeteneğine sahip spermatozoa formuna dönüşür (Wigglesworth, 1965; Chapman, 1969; Klowden, 2007).

Bu gelişim bölgelerini; *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)'da da (Gryllidae) görmek mümkündür.

1.4.3 Spermatozoa

Spermatozoa üretimi testis folikülleri içinde meydana gelir. Böcek spermi, morfolojik olarak omurgalı spermine benzerlik gösterir. Hareketi sağlayan uzun bir kamçı ile baş bölgesinden oluşur (Klowden, 2007).

Spermin baş kısmında haploid nükleus ile uç kısımda yer alan ve farklılaşma sırasında Golgi aygıtından oluşan akrozomal kompleks bulunur (Şekil 1.4). Akrozom; dölleme için yumurta membranını eriten akrozin enzimi içerir.



Şekil 1.4 Böcek spermatozoon yapısı (Klowden, 2007).

Apterygot spermi kamçı taşımazken, *Melanogryllus desertus* (Pallas, 1771)'un da dahil olduğu Pterygot spermi mikrotüplerden oluşan ve hareket yeteneğine sahip bir kamçı taşır (Şekil 1.4). Kamçının hareket parçasına aksonem denir. Aksonem; sperm nukleusunun kaidesinde, sentriolden orjinlenen mikrotübüllerden oluşur (Wiglessworth, 1965). Şekil 1.4'de de görüldüğü gibi sentriol; nukleusun hemen arkasında yer alır ve sperm kuyruğu boyunca ilerleyen aksial filamentten meydana gelir. Çekirge sperminin kamçasındaki aksial filament; 9 dış aksesuar tübülü, 9 çift tübül ve 2 merkezi tübül olmak üzere 9+9+2 şeklinde düzenlenen mikrotübüllerden meydana gelir (Chapman, 1969; Klowden, 2007). Mikrotübül halkaların hareketi, sperm kuyruğunun kamçılanmasına neden olur. Aksial filamentin iki tarafını spiral şeklinde çevreleyen mitokondrial elementler bulunmaktadır (Şekil 1.4).

2. MATERYAL VE METOT

2.1 Böceklerin Yetiştirilmesi

Çalışmada kullanılan *M. desertus* ergin erkek fertleri ile kültürün gelişmesi için yararlanılan ergin dişi fertler (Şekil 2.1) ilkbaharda doğadan (Tekirdağ / Çorlu) toplanarak $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklık, %45- 50 bağıl nem ve uzun gün (16 saat ışık, 8 saat karanlık) fotoperiyodundaki laboratuvar ortamında, 39x28x28cm boyutlarındaki plastik kaplarda kültüre alındı. Çekirgeler, ticari kanatlı yemi Yemta ile beslendi. Su gereksinimleri ise ağzı pamukla tamponlanmış su dolu cam tüpler, yumurtlama kabı olarak kullanılan ve dibinde ıslak pamuk yerleştirilen küçük kapakların üzerine ters konularak sağlandı. Her gün gözlenen kaplardan yumurtaların bırakıldığı nemli pamuklar alınarak yumurtaların gelişmesi takip edildi. İlk nimflerin 10-12 gün içerisinde ortaya çıktığı ve deri değişimleri ile ayırt edilen dokuz nimfal evre sonrasında çekirgelerin ergin hale geldiği gözlemlendi. 2,4-D uygulama çalışmada, gelişim evrelerini tamamlayıp ergin hale gelen çekirgelerin erkek fertleri kullanıldı.



Şekil 2.1 *M. desertus* erkek (E) ve dişi (D) bireyleri.

2.2 Deneyde Kullanılan Herbisit

Deneylerde 2,4-D'nin ticari formülasyonlarından biri olan ve buğday, mısır ve pirinç gibi tahıl ürünlerinde geniş yapraklı tek yıllık yabancı otları kontrol etmek için yaygın olarak kullanılan Koruma Weed Killer D (Koruma Tarım A.Ş.) uygulandı.

2.3 Ön Denemeler

M. desertus'da 2,4-D'nin testislerdeki etkisini gözlemleyebilmek için uygulama konsantrasyonunun belirlendiği ön çalışmalar yapıldı. Bu amaçla yedi gün süreyle ergin çekirgelere besin içinde 2,4-D'nin herbisit derişimi olan 250 ppm'den başlanarak sırasıyla 500, 1000, 2500, 5000, 7500 ve 10000 ppm'lik konsantrasyonlar uygulandı. Her bir konsantrasyon için iki erkek çekirge kullanıldı. Ön denemeler üç kez tekrarlandı.

2.4 Deneysel Prosedür

Ön denemeler sonucunda, *M. desertus* ergin erkek testisleri üzerine 2,4-D'nin etkisini belirlemek için; düşük (1000 ppm), orta (2500 ppm) ve yüksek (5000 ppm) olmak üzere üç farklı konsantrasyonun 96 ve 120'şer saat boyunca uygulanması uygun görüldü. Kontrol gruplarına hiçbir madde uygulaması yapılmadı.

Koruma Weed Killer D adlı ve emülsiyon halindeki ticari preparatta 1 litrede 500 gr 2,4-D bulunmaktadır. Bu emülsiyondan 1 ml alınarak 99 ml distile su ile sulandırılıp; 1 ml'sinde 5 mg 2,4-D etken maddesi bulunan 5000 ppm'lik yüksek uygulama konsantrasyonu elde edildi. 5000 ppm'lik bu karışımdan 20 ve 50 ml alınıp distile su ile 100 ml'ye tamamlandığında sırasıyla 1000 ppm'lik düşük ve 2500 ppm'lik orta dozda uygulama konsantrasyonları elde edildi. Hazırlanan uygulama konsantrasyonları belirli miktardaki ($\approx$ 5,5 gr) besine emdirilip bir gün boyunca kurumaya bırakıldı. Uygulamaya hazır hale gelen besinler, yarıçapı 4.5 cm, yüksekliği 18 cm olan 1 lt'lik cam kavanozlara kondu. İçlerine iki adet ergin erkek *M. desertus* bırakıldı. 2,4-D uygulanmış besini yemeleri sağlamak için; deneme grubu örnekleri, stok kültürden alınıp 48 saat süreyle aç bırakıldı. Kavanozların ağızları hava sirkülasyonunu önlemeyecek

şekilde kapatıldı. 1000, 2500 ve 5000 ppm'lik her bir konsantrasyon 96 ve 120 saat süreyle uygulandı. Her bir konsantrasyon ve süre için, ikişer adet ergin erkek *M. desertus* kullanıldı. 2,4-D uygulamasını takiben 96 ve 120 saat sonra histolojik örneklemeler yapıldı. Deneyler her bir konsantrasyon ve kontrol grupları için üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi.

2.5 Histolojik Yöntem

Farklı ve konsantrasyonlarda 96 ve 120 saatlik 2,4-D uygulaması yapılmış deneme grupları ile kontrol gruplarında yer alan ergin erkek çekirgeler böcek fizyolojik suyu içinde, Olympus SZX7 stereomikroskop altında disekte edildi.

Histolojik çalışmalar için Bouin sıvısında 12 saat tespit edilen testis dokusu %70 alkolde pikrik asitten arındırılıp, etil alkol serilerinde dehidrasyon işlemine tabi tutuldu. Ardından ksilolde şeffaflaştırılarak total durumda parafin bloklara gömülen doku örneklerinden Reichart mikrotom ile 5µm kalınlığında alınan kesitler Mayer's Hematoxylin Eosin (H&E) boyama tekniği ile boyanıp, entellan (Merck) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BX51 ışık mikroskobu altında incelendi ve fotoğrafları çekildi.

3. BULGULAR

3.1 Ön Denemeler

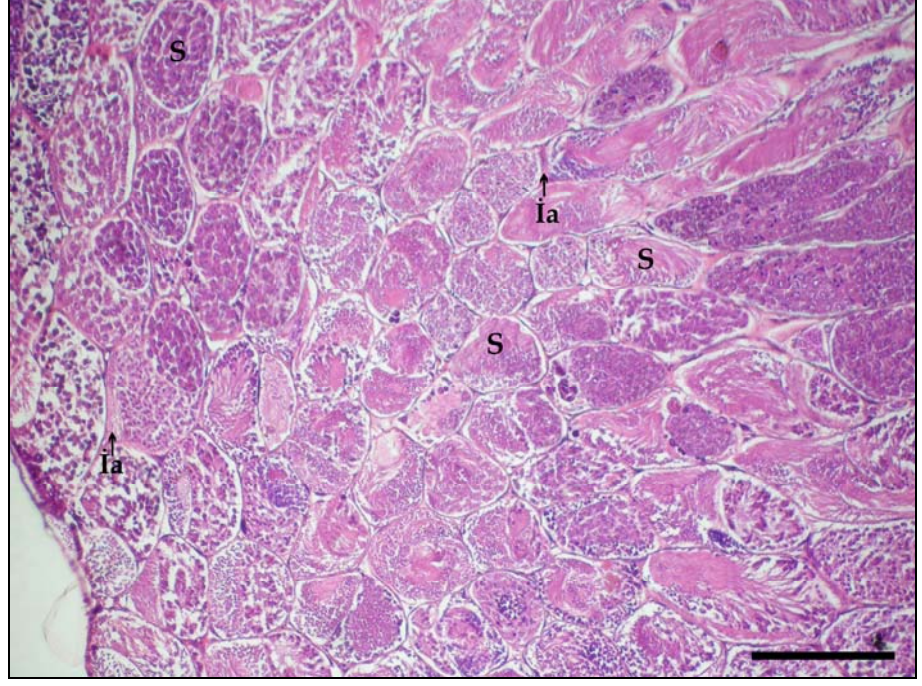
Ön denemelerde yedinci günün sonunda 2,4-D'nin 500, 1000 ve 2500 ppm'lik konsantrasyonlarında ergin erkek *M. desertus* bireylerinde ölüm olmadığı, ancak 5000 ppm'lik konsantrasyonda %37.8 oranında ölüm gerçekleştiği görülmüştür. Ölüm oranları 7500 ppm'lik konsantrasyonda %72.7 ve 10000 ppm'lik konsantrasyonda ise %86.4 olarak saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında esas denemelerde çekirge ölümlerinin başladığı 5000 ppm yüksek, 2500 ppm orta ve 1000 ppm düşük doz olarak kullanılmıştır.

3.2 Histolojik Bulgular

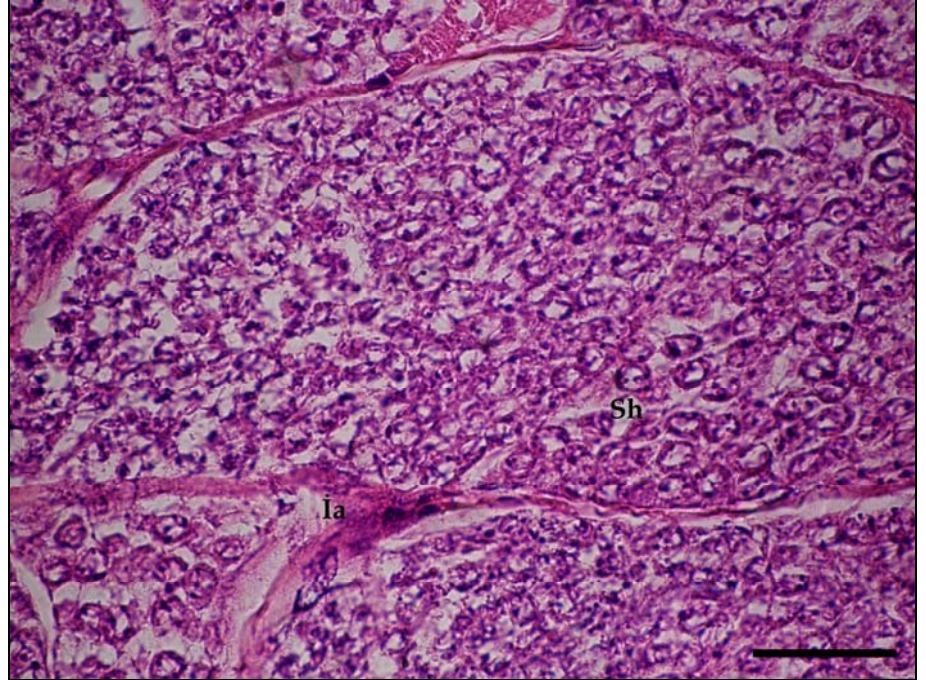
3.2.1 Kontrol grubu

Kontrol grubunda yer alan *M. desertus* ergin erkek bireylerinin testislerinden alınan kesitlerin, H&E ile boyanması sonucu hazırlanan preparatlarda testise ait hücre çekirdeklerinin mor, sitoplazmalarının ise açık-koyu kırmızı-pembe renkte boyandığı gözlenmiştir (Şekil 3.1).

M. desertus testisleri çok sayıda folikülden oluşan iki simetrik loptan ibarettir. Her folikül, temel membran üzerine dayanan epitel tabakadan meydana gelir. Gelişim esnasında folikül gruplarının etrafı bağ doku kılıfı ile sarılır. Spermatogonia çevresinde, sist formundaki hücreler yer alır. Farklı gelişimsel evrede bulunan spermatogenik hücreleri içeren sistler (S) ve interstisiyel alanlar (İa) Şekil 3.1'de görülmektedir.



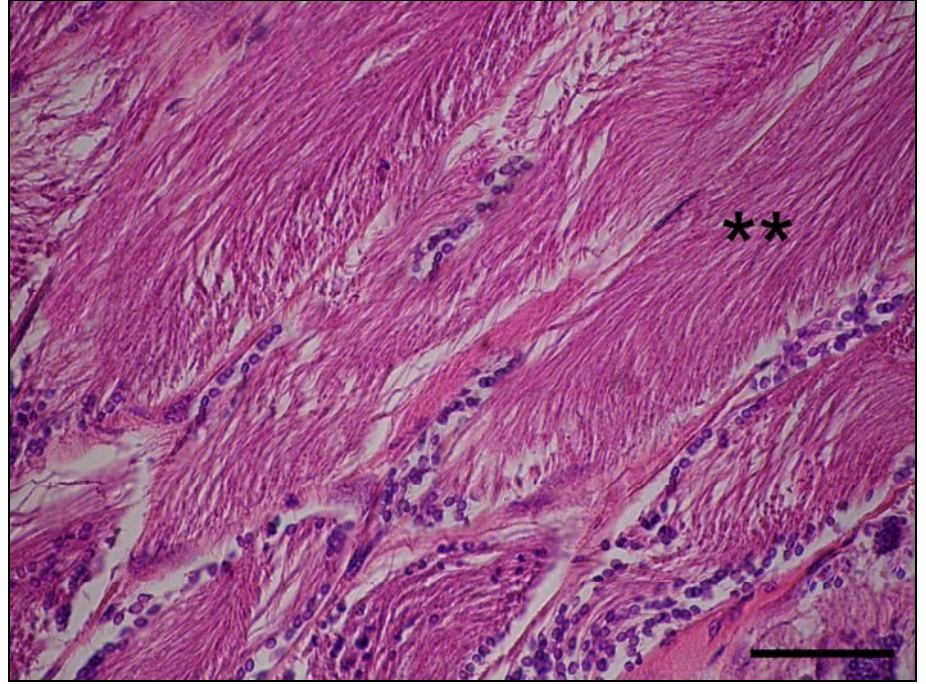
Şekil 3.1 Kontrol grubunda spermatogenik hücreleri içeren sistler (S) ve aralarındaki interstisiyel alanların (İa) genel görünümü. Bar: 100µm.



Şekil 3.2 Kontrol grubunda interstisiyel alan (İa) ve spermatogenik hücreler (Sh). Bar: 25µm.

Kontrol grubunda, testis folikülü içerisinde yer alan farklı gelişim evrelerindeki spermatogenik hücrelerinin dizilişi düzenlidir. Sist çevresini saran epitel tabaka hücreleri düzgün dizilimlidir. İnterstisiyel alan boşluksuz ve normal görünümündedir (Şekil 3.1 ve 3.2).

M. desertus'da spermatogoniadan olgunlaşan spermatositler ve tipik kamçılı yapılarıyla spermier şekil 3.3'de rahatlıkla görülmektedir. Kontrol grubunda olgunlaşan spermierin genel görünümü normal ve sayıları oldukça fazla olarak gözlenmektedir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 Kontrol grubunda tipik kamçılı yapılarıyla spermier (**). Bar: 25µm.

3.2.2 Deneme grupları

Çalışmada 24, 48, 72, 96 ve 120 saatlik sürelerde uygulama yapılmıştır. Ancak 24, 48 ve 72 saatlik süreler sonunda elde edilen bulgular kontrol grubuna göre hiçbir farklılık göstermediğinden, histopatolojik inceleme 96 ve 120 saat uygulama yapılan örnekler üzerinde gerçekleştirilmiştir.

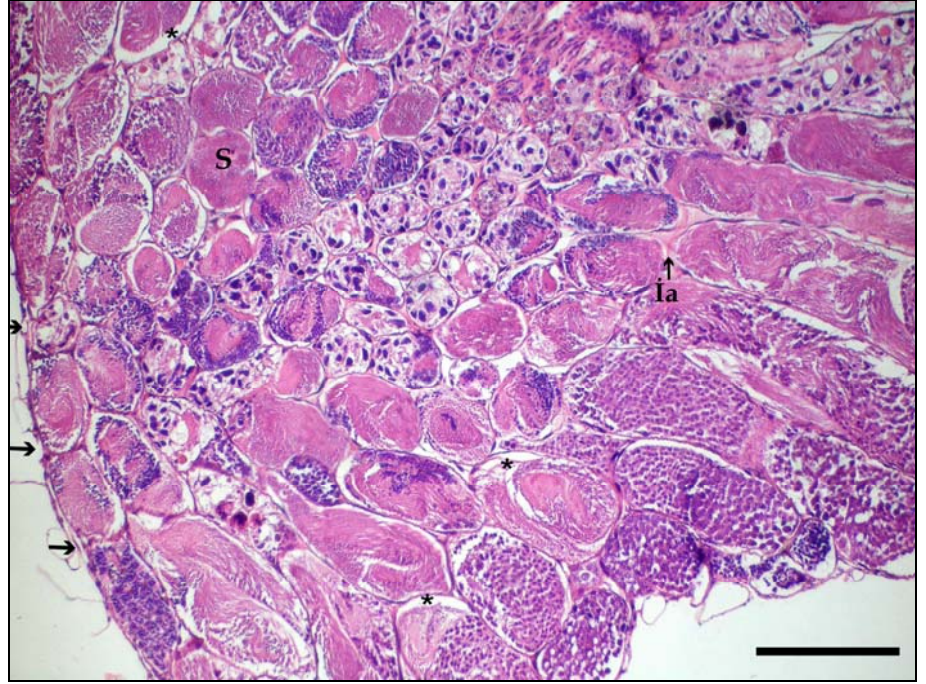
Uygulama yapılan gruplarda izlenen bulgular doğrultusunda, herbisitinin konsantrasyonuna ve uygulama süresine bağlı olarak testislerde dejeneratif

değişiklikler not edilmiştir. Bu bulgular; olgun sperm miktarında düşüş, interstisiyel alanda genişleme ve vakuollü görünüm, geniş boşlukların olduğu nekrotik bölgelerin ortaya çıkması, spermatogenik hücreleri içeren sist kümeleri ile etrafını saran epitel doku arasında epiteliyel ayrılma ve genel tübüler görünümde bozulma olarak belirlenmiştir. Aşağıda konsantrasyonlara göre sonuçlar ayrı ayrı verilmektedir.

3.2.2.1 1000 ppm uygulama grubu

A. 96 Saat

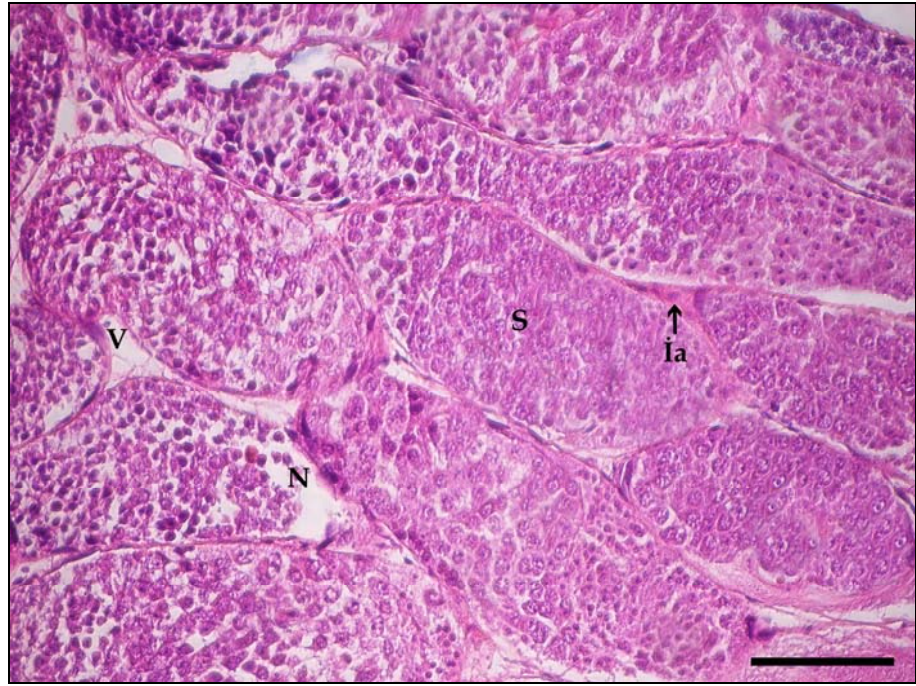
Testis yapısı kontrol grubuna büyük ölçüde benzerlik göstermesine karşın, folikülü saran bağ doku kılıfında yer yer ayrılmalar ve düzensiz görünüm saptanmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 Deneme grubu, 1000 ppm, 96 saatlik uygulama. Normal görünümlü sistler (S) ve interstisiyel alanlar (İa). Bağ doku kılıfındaki ayrılmalar (→) ve Sist kümelerinde epiteliyel ayrılmalar (*). Bar: 100µm.

B. 120 Saat

Bu uygulama grubunda, normal seyreden interstisiyel alanlar olmasının yanında, interstisiyel alanda yer yer boşluklu görünüm olarak karşımıza çıkan vakuolleşme olgusu izlenmiştir. Sist içindeki spermatogenik hücrelerde az sayıda da olsa nekrotik alanlar not edilmiştir (Şekil 3.5).

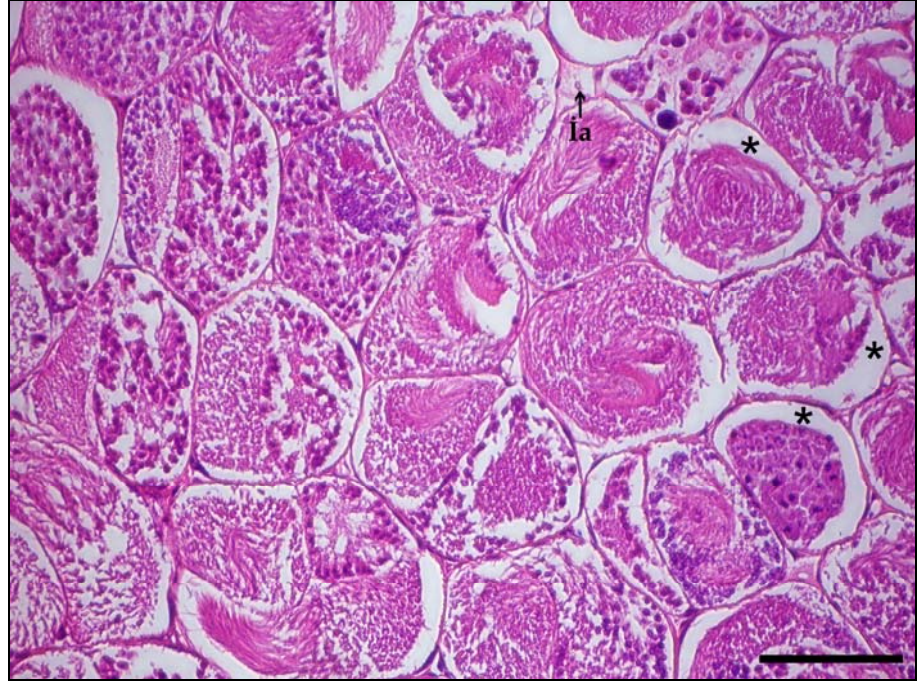


Şekil 3.5 Deneme grubu, 1000 ppm, 120 saatlik uygulama. Normal görünümlü sist (S) ve bazı sistlerde nekroz (N), normal görünümlü interstisiyel alan (İa) ve bazı intersitisiyel alanlarda vakuol (V) oluşumu. Bar:25µm.

3.2.2.2 2500 ppm uygulama grubu

A. 96 Saat

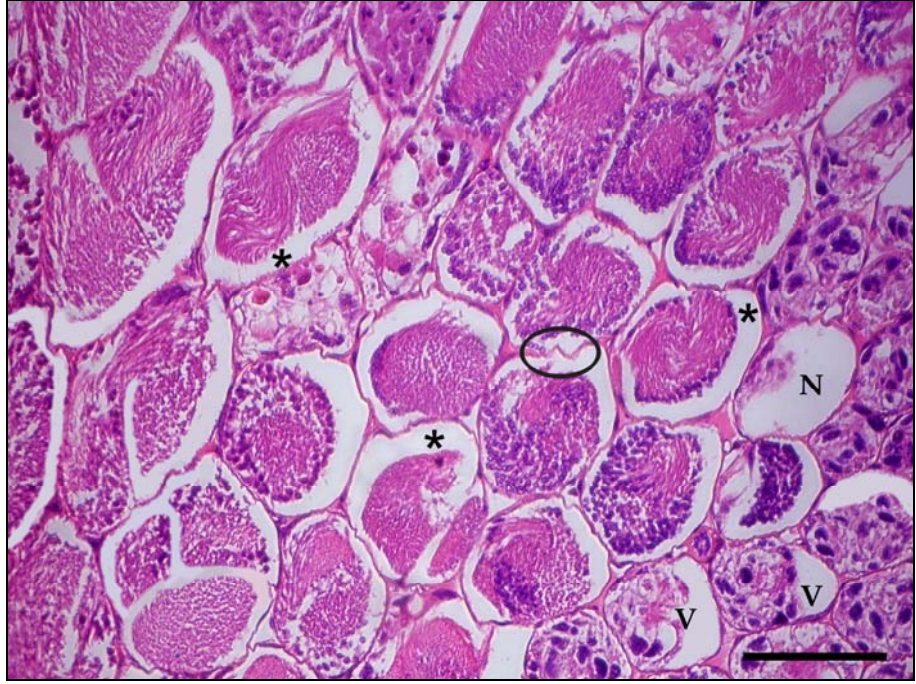
Bu grupta göze çarpan ilk değişiklik, doku bütünlüğü genel olarak korunmuş olmasına karşın yer yer genişlemiş olarak görülen interstisiyel alandaki boşluklar ve spermatogenik hücreleri içeren sist kümeleri ile bunları saran epitel örtü arasındaki epiteliyel ayrılmalardır (Şekil 3.6).



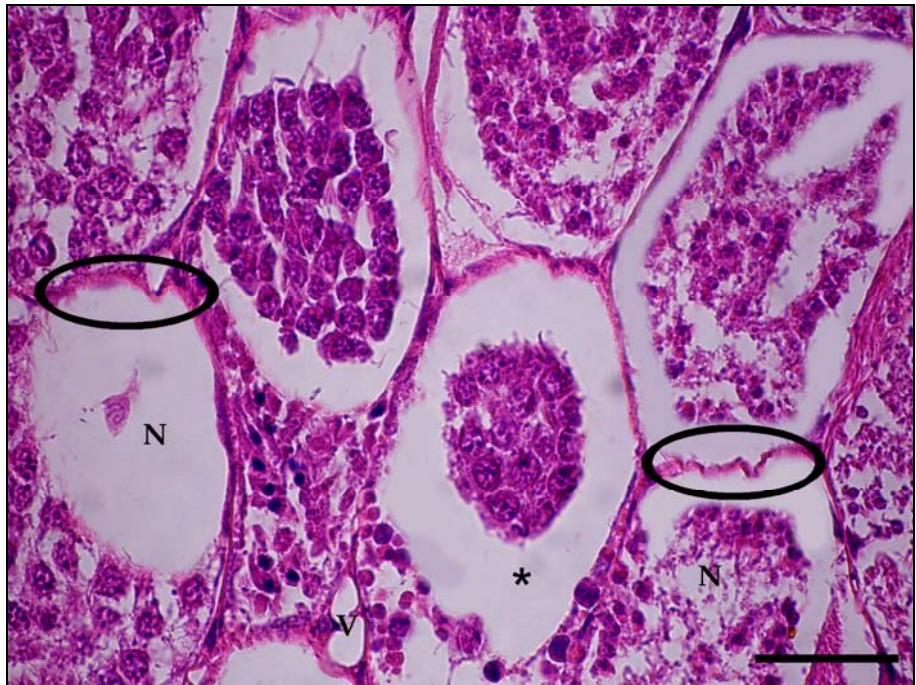
Şekil 3.6 Deneme grubu, 2500 ppm, 96 saatlik uygulama. İnterstisiyel alandaki boşluklar (İa) ve sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasındaki ayrılmalar (*). Bar: 50µm.

B. 120 Saat

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu grupta dikkat çeken ilk değişiklik, nekrotik alanlardır. Spermatogenezin gelişim evresindeki hücreler ile etrafını saran epitel örtü arasında geniş ayrılmalar izlenmektedir. Bütün gelişim aşamalarında görülmekle birlikte, özellikle ileri gelişim evrelerindeki spermatogenik hücreleri içeren sist kümelerini çevreleyen epiteldeki ayrılmalar daha belirgin olarak dikkat çekmektedir (Şekil 3.7). Epitel örtüde yer yer düzensiz görünüm ve bazı sistlerin yaygın nekroza uğradığını düşündüren vakuoller izlenmiştir. Vakuollere ayrıca, sistler içerisinde de rastlanmaktadır (Şekil 3.7 ve 3.8).



Şekil 3.7 Deneme grubu, 2500 ppm, 120 saatlik uygulama. Sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasında ayrılmalar (*), sist kümelerini saran epitel örtüde düzensiz görünüm (elips içerisinde), bazı sistlerde nekroz (N), sist içinde vakuol (V) oluşumu. Bar: 50µm.

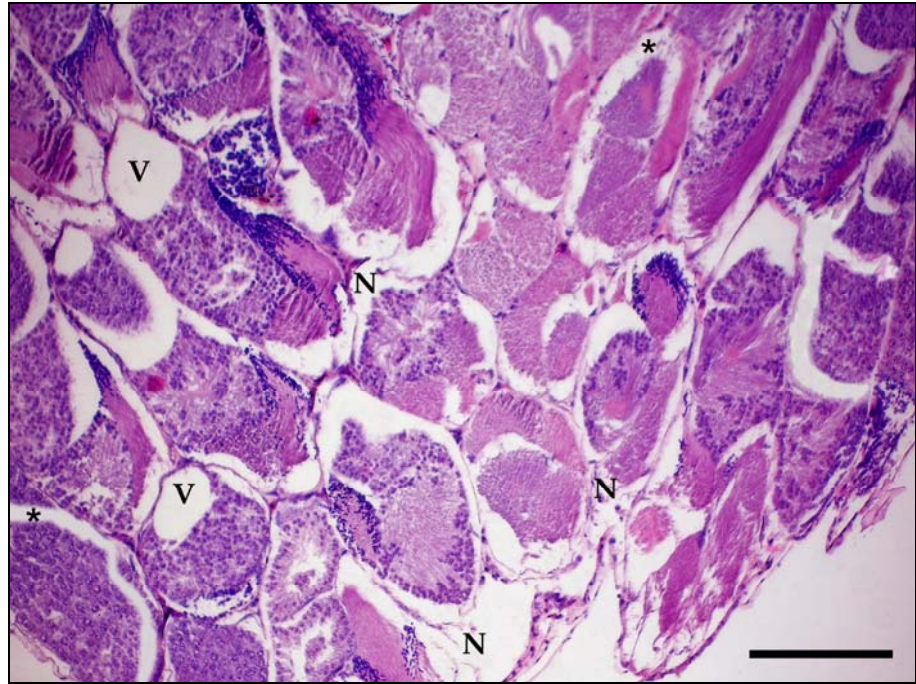


Şekil 3.8 Deneme grubu, 2500 ppm, 120 saatlik uygulama. Sist kümeleri ile etrafını saran epitel örtü arasında ayrılmalar (*), sist kümelerini saran epitel örtüde düzensiz görünüm (elips içerisinde), bazı sistlerde nekroz (N) ve interstisiyel alanda vakuol (V). Bar: 25µm.

3.2.2.3 5000 ppm uygulama grubu

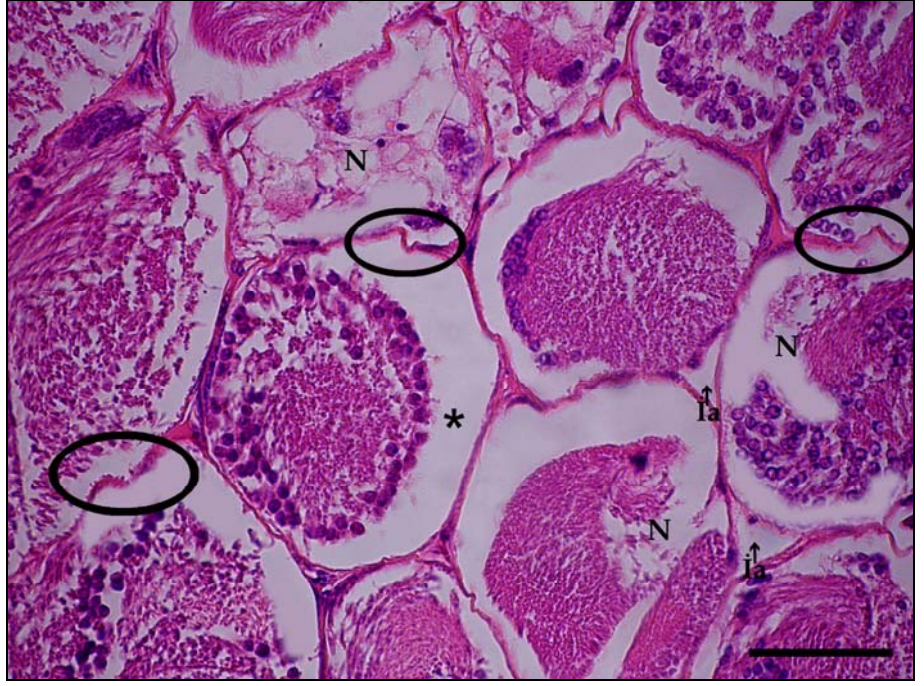
A. 96 Saat

Bu uygulama grubunda testis yapısındaki deformasyonun genellikle artış gösterdiği izlenmiştir. Doku boşluklu, parçalı görünmekte, adeta bütünlüğü bozulmaktadır (Şekil 3.9).

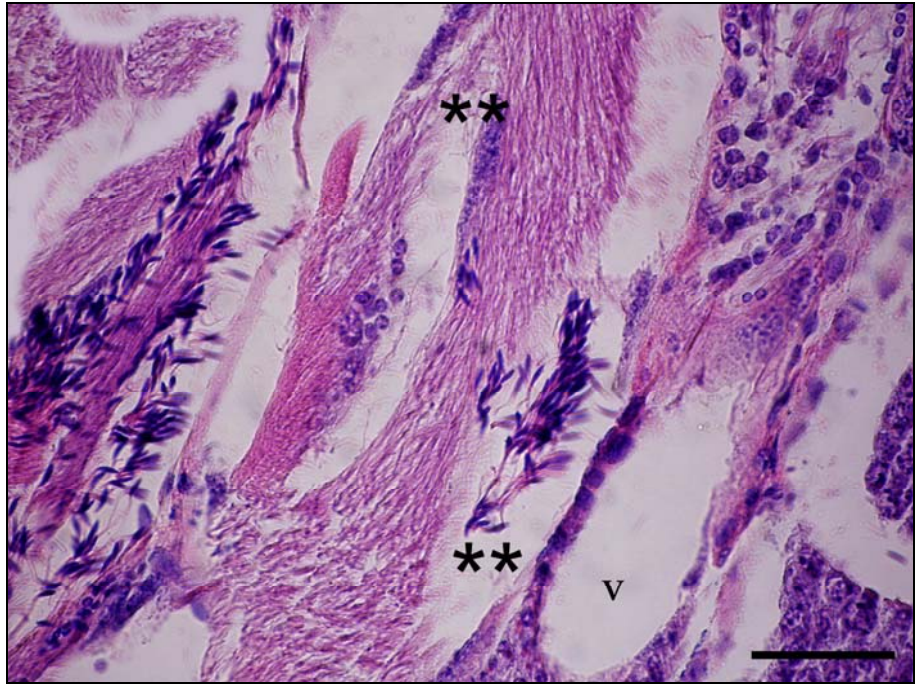


Şekil 3.9 Deneme grubu, 5000 ppm, 96 saatlik uygulama. Genel görünümde deformasyonlar ile nekroz (N) ve vakuol (V) oluşumu, spermatogenik hücreler ile etrafındaki örtü epiteli arasında epiteliyel ayrılmalar (*). Bar:100µm.

Uygulanan 2,4-D konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak, sistlerdeki nekrotik alanlarda belirgin genişleme, interstisiyel alanda boşluklu görünüm, sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde şekil bozuklukları ve epiteliyel ayrılma dikkat çekmektedir (Şekil 3.10). Ayrıca olgun sperm sayısında azalma olduğunu düşündüren, yer yer geniş boşluklar ve sperm taşıyan sistler içerisinde vakuolizasyon not edilmiştir (Şekil 3.11).



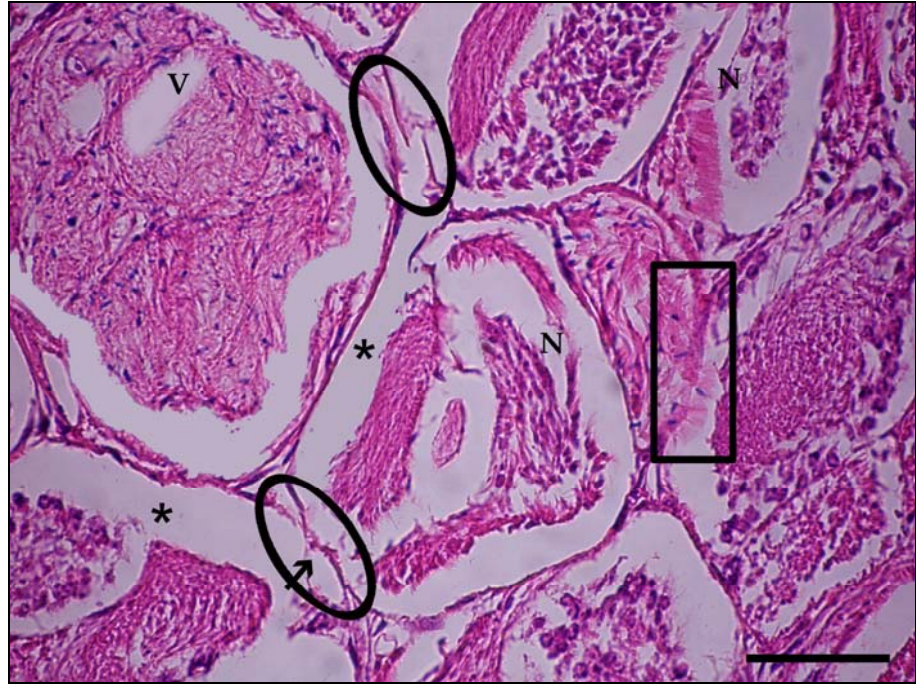
Şekil 3.10 Deneme grubu, 5000 ppm, 96 saatlik uygulama. Sistler içerisinde genişleyen nekrotik alanlar (N), interstisiyel alanda (İa) boşluklu görünüm, sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde şekil bozukluğu (elips içinde) ve epiteliyel ayrılmalar (*). Bar: 25µm.



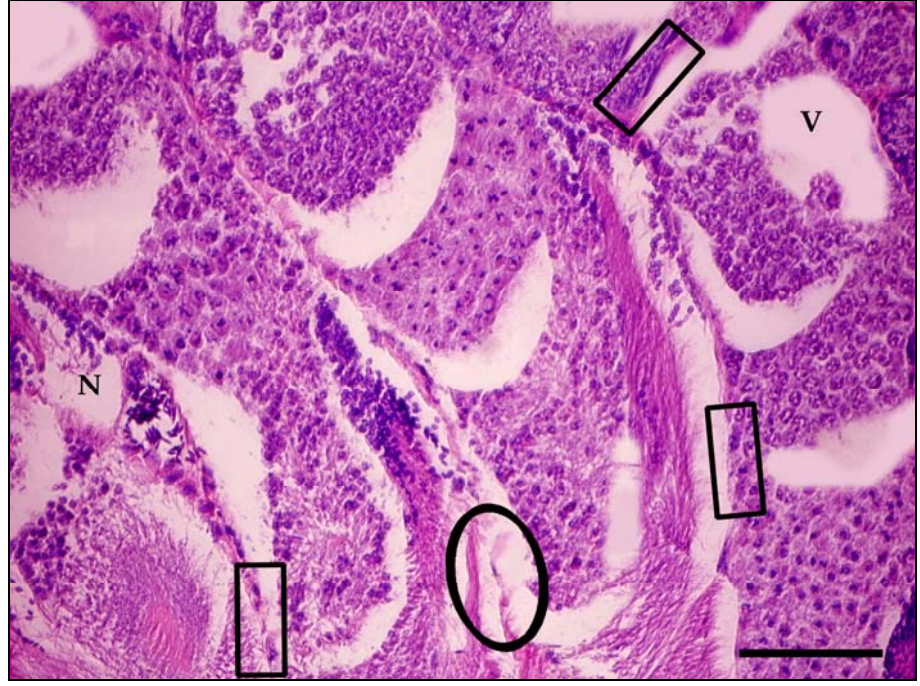
Şekil 3.11 Deneme grubu, 5000 ppm, 96 saatlik uygulama. Bazı sistlerde boşluklar olarak izlenen sperm sayısı azalışı (**) ve vakuol (V) oluşumu. Bar: 25µm.

B.120 Saat

Bu deneme grubunda 2,4-D'nin etkileri en ileri düzeyde izlenmiştir. Sistlerde nekroz çok yaygınlaşmış, içlerinde oluşan vakuollerin sayısı ve kapladıkları alanlar artmıştır (Şekil 3.12). Sistleri çevreleyen epitelin spermatogenik hücre kümelerinden ayrılmış olması iyice belirginleşmiştir. Epitelde yer yer kırılmalar, kaynaşmalar görülmektedir. Bu deformasyonlar nedeniyle bazı sistlerin çevresinde epitel örtü neredeyse ayırt edilemez haldedir. Epitelde izlenen deformasyonun, nekrotik alanlar ve vakuollere ek olarak bazı sistlerde genel tübüler görünümü bozduğu kaydedilmiştir (Şekil 3.13). Bu grupta ayrıca olgun sperm içeren sist alanlarının azaldığı, boşluklu görünüm aldığı not edilmiştir. Bu sistlerde olgun sperm sayısı belirgin bir şekilde azalma göstermektedir (Şekil 3.14).



Şekil 3.12 Deneme grubu, 5000 ppm, 120 saatlik uygulama. Sistlerde yaygın nekroz (N) ve içlerinde geniş vakuoller (V), epitel örtüde çok belirgin ayrılmalar (*), kırılmalar (elips içinde) ve kaynaşmalar (→), örtünün ayırt edilemediği bölgeler (dikdörtgen içerisinde). Bar: 25µm.



Şekil 3.13 Deneme grubu, 5000 ppm, 120 saatlik uygulama. Epitel örtüde kırılmalar (elips içinde) ve ayırt edilemez görünüm (dikdörtgen içerisinde) nedeniyle nekroz (N) ve vakuol (V) içeren sistlerde tübüler organizasyonun bozulması. Bar: 50µm.



Şekil 3.14 Deneme grubu, 5000 ppm, 120 saatlik uygulama. Olgun sperm sayısında azalma (**), sist kümelerini çevreleyen epitel örtüde kırılma (elips içinde), sistlerde ileri seviyede nekroz (N) ve vakuol (V) oluşumu. Bar: 25µm.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tarımda birim alandan elde edilen verimin artırılması amacıyla pestisit olarak isimlendirilen tarımsal ilaçlarının kullanımı günümüzde oldukça yaygınlaşmıştır. Ancak giriş bölümünde de vurgulandığı üzere amaca uygun olmayan şekilde aşırı ve kontrolsüz kullanıldıklarında çevreye ve canlılara zarar verirler. Pestisitlerin çevresel riskleri hedef olmayan canlılarda oluşturdukları toksik etkilerdir.

Besin zincirinin ilk halkasını bitkiler, sonraki halkalarını otçul ve etçil hayvanlar oluşturur. Ekosistemde yaşayan canlılar arasında bir denge vardır. Herhangi bir düzeyde ortaya çıkan değişme dalgalanmalar oluşturarak dengenin bozulmasına yol açar. Bu dengenin korunması için; pestisitler de denilen tüm tarım ilaçlarının uygun ve denetimli kullanımı gerekir.

Yabancı otlarla mücadelede ülkemizde çok yaygın kullanılan etkili maddelerden biri olan 2,4-D'nin zararlarının araştırılması ve bu geniş çaplı kullanımın doğuracağı çevresel sorunların saptanması büyük önem taşımaktadır. 2,4-D'nin insanlar üzerindeki zararlı etkilerinin doğrudan araştırılması olanaksız olduğu için besin zinciriyle insana kadar taşınan bu maddenin diğer canlılar üzerindeki etkilerin ortaya konması daha da büyük önem kazanır.

Sunulan çalışmada araştırma materyali olarak kullanılan *M. desertus*'un laboratuvar ortamında kültürü ve yetiştirilmesi oldukça kolaydır. Hızla çoğalan bir tür olmasının yanı sıra, boyutlarının küçüklüğü de çok sayıda örnekle çalışılmasını mümkün kılar. Çok kolay ve çok sayıda yavru bırakma özelliğine sahiptir. Gelişimleri ve erişkinliğe ulaşma süreleri nem, sıcaklık ve yem gibi dış etkenlerle kontrol edilebilir. Tüm bu özellikleri sebebiyle *M. desertus* deneysel çalışmalarda rahatça kullanılmaktadır.

Daha önce de belirtildiği üzere, karasal omurgasızlarda ve böceklerde 2,4-D toksisitesine dair bilgiler sınırlıdır.

Gall ve Dogger'ın (1967) araştırmasında buğday yaprak arısı erginlerinde 2,4-D'ye hassasiyetin az olduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışmada *M. desertus*

erkeklerinde testis dokusu 2,4-D'nin 2500 ve 5000 ppm'lik konsantrasyonlarında ciddi şekilde etkilenmiştir.

Scytanotus simplex'de 2,4-D'nin ölüm oranına etkisi ortaya konmuştur (Hoy, 1985). *M. desertus*'da ölüm oranına dair bir araştırma yapılmamıştır. Ancak yüksek konsantrasyon olan 5000 ppm'de % 37.8 oranında ölüm vakasına rastlanmıştır.

Pimpla turionellae'da 2,4-D'nin yumurta açılımına olumsuz etkileri ortaya konmuş, ancak sperm oluşumuna etkilerine dair bilgi verilmemiştir (Özkan ve Yanıkoğlu, 1999). *D. melanogaster*'de 2,4-D uygulamasının başkalaşım evrelerini etkilediği de bilinmektedir (Kaya ve Yanıkoğlu, 1999). 2,4-D *Canthan cyanellus*'da da üreme sistemini bozan etkiler göstermiştir (Martinez et al., 2001).

Görüldüğü gibi 2,4-D'nin üreme sistemine etkileri farklı böcek türlerinde değişik düzeylerde izlenmiştir. Ancak bu kimyasalın bir tatlı su balığı olan *P. reticulata*'da (Hansoy, 2010), Wistar albino sıçanlarda (Özdaş ve ark., 2006) ve insanlarda (Swan, 2003) testis dokusunu ve sperm sayısını olumsuz etkilediği halde, böcek testisleri üzerindeki etkilerine dair bir rapora rastlanmamaktadır. Sunulan çalışma, 2,4-D'nin *M. desertus* testislerinde 1000 ppm'lik konsantrasyondan başlamak üzere ve artan konsantrasyona bağlı olarak artan biçimde olumsuz etkiler oluşturduğunu ortaya koymuştur.

Ergin erkek *Poecilia reticulata* ile yapılan çalışmada, uygulanan 2,4-D konsantrasyonudaki artışa bağlı olarak olgun sperm miktarında düşüş, interstisiyel alanda ödem, nekroz ve fibrozis, spermatogonum epitelinde deformasyon saptanmıştır (Hansoy, 2010).

Farelerle yapılan çalışmada erkek bireylere pellet yemlerle 2,4-D verilmesi sonucu, uygulanan dozdaki artışa bağlı olarak testis dokusunda, tunica albuginea ve seminifer tübül çeperinde incelmeler, sperm sayısında azalma, spermatogonik hücre serisinde deformasyon ve nekroz oluşumu tespit edilmiştir (Özdaş, 2005).

Albino farelere organik fosforlu bir insektisit olan Dimethoate uygulanmış ve seminifer tübüllerde spermatogonik hücre sıralarının bozulduğu, germ

hücrelerinde dejenerasyon meydana geldiği ve sayılarının azaldığı bildirilmiştir (Sayım, 2004).

Tordon 75 (2,4-D ve 4-amino-3,5,6-trikloropiklonik asit karışımı) uygulanan sıçanların testislerinde seminifer tübüllerde daralma ve büzülme, yüksek doz grubunda testis ağırlığında azalma ve nekroz oluşumu gözlemlendiği bildirilmiştir (Oakes et al., 2002).

Nitrazepam uygulanan sıçanlarda, seminifer epiteldeki bazı bölgelerde spermatogenik hücre serilerinde değişik derecelerde nekroz görülmüştür. Sperm miktarında değişiklik meydana gelmemesine rağmen spermatositlerde nekroz olduğu tespit edilmiştir (Sanbuissho et al., 1995).

Tetrachlorodibenzopdioxin (TCDD) uygulanan erişkin sıçanlarda düşük dozda testise ters bir etki görülmezken, yüksek doz grubunda seminifer tübüllerin germinal epitelinde bozulma, germ hücrelerinin gelişimsel evrelerinde değişiklik, spermatid sayısında ve spermatogenezde azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Chahoud et al., 1992).

2,4-D'yi tarlada uygulayan erkek tarım işçilerinde ise sperm sayılarında gözle görülür bir azalma ve yapısal bozulmaların meydana geldiği rapor edilmiştir (Lerda and Lizzi, 1991).

Yapılan çalışmada, gözlenen değişimler yukarıda söz edilen raporlarla büyük ölçüde uygunluk göstermektedir.

Çalışmamızda düşük konsantrasyon (1000 ppm) uygulanan örneklerde 96 saat sonunda testis yapısı kontrol grubuna büyük ölçüde benzerlik göstermesine karşın, folikülü saran bağ doku kılıfında yer yer ayrılmalar ve düzensiz görünümün ortaya çıktığı saptanmıştır. 120 saatin sonunda saptanan değişimler ise, normal görünümlü yapıların yanı sıra interstisiyel alanda boşluklu görünüm belirginleşen çıkan vakuolleşme olgusu ve yaygın olmayan sist içindeki spermatogenik hücrelerde oluşan nekrotik alanlardır.

2500 ppm'lik konsantrasyon uygulanan deneme grubunda, düşük konsantrasyonda gözlenen bulgulara ilaveten, sist kümesinde yer alan spermatogenik hücreler ile epitel örtü arasında ayrılmalar gözlenmiştir. Ayrıca

interstisiyel alandaki vakuollü görünüm daha belirgin bir hal almıştır. Sist kümesini saran epitel örtüdeki düzensizleşme ve spermatogenik hücrelerde meydana gelen nekrozun geniş yer kaplaması ise, uygulanan konsantrasyonun artmasıyla hücre kayıplarındaki artışın ne derece bağlantılı olduğunu ortaya koymaktadır.

Düşük (1000 ppm) ve orta (2500 ppm) konsantrasyonlarda gözlenen bulgular, yüksek uygulama konsantrasyonu olan 5000 ppm’de artarak devam etmektedir. Bunun yanı sıra 5000 ppm’de 120 saatin sonunda sist yapısının genel görünümünde deformasyon göze çarpmaktadır. Bu deformasyona bağlı olarak genel tübüler görünümde ortaya çıkan bozulmalar oldukça dikkat çekici seviyededir. Spermatid oluşumunda gerileme, olgun sperm sayısında azalma ve sperm taşıyan sistler içerisinde vakuolizasyon not edilmiştir. Farklı gelişim evrelerindeki spermatogenik hücrelerde meydana gelen nekroz ileri düzeyde karşımıza çıkmaktadır. Deneme süresince genel olarak spermatogenik hücreler ile epitel örtüleri arasında ayrılma, sperm oluşumunda gerileme, nekrotik alan ve vakuol oluşumu tespit edilmiştir. Bulgular, histopatolojik oluşumların uygulanan konsantrasyon artışı paralelinde arttığını belirgin biçimde ortaya koymaktadır ve 2,4-D’nin *M. desertus* testislerinde spermatogenik aktiviteyi bozan hasarlara sebebiyet verdiğini göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmanın; 2,4-D’ nin *M.desertus* testislerine etkisini genel anlamda belirlediği söylenebilir. Sunulan bulguların, 2,4-D’nin besin zinciri ile insanlara ulaşması durumunda, testis dokusu ve sperm üretiminde oluşabilecek hasarların belirlenmesi için yapılacak araştırmalara ışık tutabileceği umulmaktadır.

Bu ve benzeri çalışmalardan elde edilen bulguların da ışığında, tarımda yaygın şekilde kullanılan 2,4-D’nin çok daha kontrollü ve dikkatli kullanımının doğadaki denge ve canlıların sağlığı için büyük önem taşıdığı sonucuna varılır. Dolayısıyla USDA’ya (2006) göre birçok herbisit in böcekler ve diğer omurgasızlar için zararsız olduğu varsayımının çok da doğru olmadığı söylenebilir. Bu nedenle 2,4-D’nin böcek testislerinde meydana getirebileceği olumsuz etkileri incelemek için ışık mikroskobu ile yapılan bu tez çalışmasının, bu alandaki az sayıdaki araştırmalara katkısının olabileceği ümit edilmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Balavenkatasubbaiah, M., Mallikarjuna, M., Nataraju, B. and Thiagarjan, V.,** 2002, Effect of Systemic Fungicide on Total Hemocyte Count and Hemolymph Biochemical Changes in Silkworm, *Bombyx mori* L., infected with *Beauveria bassiana*. *Int. J. Indust. Entomol.*, 2002, 189-194 pp.
- Biçer,S., Ateş, U., Uyanıkgil, Y., Baka, M., Özdaş, E., Yavaşoğlu, A. ve Ergen, G.,** 2006, Bir Herbisit Olan 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit)' in Sıçanlarda Ovaryum Dokusu Üzerine Etkisi. *Toksikoloji Dergisi*, 6 (1-2): 19-26.
- Bradberry, S.M., Watt, B.E., Proudfoot, A.T. and Vale, J.A.,** 2000, Mechanisms of Toxicity, Clinical Features, and Management of Acute Chlorophenoxy Herbicide Poisoning: A Review. *Clinical Toxicology*, 38:2,111-122.
- Chahoud, I., Hartman, J., Rune, G.M., Neubert, D.,** 1992, Reproductive toxicity and toxicokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 3. Effects of single doses on the testis of male rats, *Arch. Toxicol.*, 567-72.
- Chapman, R.F.,** 1969, The Insect Structure and Function. *Reader in Entomol. Zoology Department, Birkbeck College, London*, 270-280 pp.
- De Molier, K.L., Evangelista De Duffard, A.M., Soto, E., Duffard, R. and Adamo, A.M.,** 2002, Induction of apoptosis incerebellar granule cells by 2,4- dichlorophenoxyacetic acid. *Neurochem Res.* 27(11): 1439-46.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A.,** 2005, Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre, Ankara.
- Duchnowicz, P. and Koter, M.,** 2003, Damage to the erythrocyte membran caused by chlorophenoxyacetic herbicides. *Cell Mol Biol Lett.* 8(1):25-30.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ecevit, O., Mennan, H., Aksoy, H.M. ve Akça, İ., 1999, Tarımsal Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri, O.M.Ü Ziraat Fak. Ders Kitabı No:32, Samsun, 25 s.

EPA. Health Effects Div., 2004, “*Toxicology Disciplinary Chapter for the Reregistration Eligibility Decision Document*”, <http://docket.epa.gov/edkpub/do/EDKStaffItemDetailView?objectId=090007d4802c9067> (Erişim tarihi: 03.03.2009).

FAO, 1996, Pesticide Residues in Food (Food Agricultural Organization), *Plant Production and Protection Paper*, 140: 31-38.

Gall, A. and Dogger, J.R., 1967, Effect of 2,4-D on the wheat stem sawfly. *J. Econ. Entomol.* 60(1): 75-7. (Cited in USDA 1997).

Garabrant, D.H. and Philbert, M.A., 2002, Review of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) epidemiology and toxicology. *Crit Rev Toxicol.* 32(4): 233-57.

Gupta, A. P., 1985, “Cellular Elements in the Hemolymph” , In *Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology*, G.A. Kerkut and L. I. Gilbert Eds. Pergamon Press, New York, 3: 401-451.

Hansoy, Z., 2010, Bir Herbisit Olan 2,4-D (Diklorofenoksi asetik asit)’nin *Poecilia reticulata* (Teleostei, Poeciliidae)’da Testis Dokusu Üzerine Etkisi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Hoy, J.B., 1985, Toxicity of 2,4-D to millepedes (Polydesmidae: Diplopoda): Food contamination and residue distribution as factors. *J. Econ. Entomol.* 78(2): 302-304. (Cited in USDA 1997).

Journal of Pesticide Reform / Spring 1999.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kaioumova, D., Kaioumova, F., Opelz, G. and Susal, C.,** 2001a, Toxic effects of the herbicide 2,4- dichlorophenoxyacetic acid on lymphoid organs of the rat. *Chemosphere*. 43(4-7): 801-5.
- Kaioumova, D., Susal, C. and Opelz, G.,** 2001b, Induction of apoptosis in human lmyphocytes by the herbicide 2,4- dichlorophenoxyacetic acid. *Hum Immunol*. 62(1): 64-74.
- Kao, L.M., Wilkinson, C.F. and Brattsten, L.B.,** 1995, In-vivo Effects of 2,4-D and Atrazine on Cytochrome P-450 and Insecticide Toxicity in Southern Armyworm (*Spodoptera eridania*) Larvae. *Pest. Sci*. 45: 331-334.
- Kaplan, M.,** 2009, Organik Gıdalar Neden Tercih Edilmeli?. *Bilim Teknik Dergisi* Sayı 501: 30-33.
- Kaya, B. ve Yanıkoğlu, A.,** 1999, 2,4-D ve 4-CPA'nın *Drosophila melanogaster* in F1, F2 ve F3 kuşaklarında gelişim süresi ve ergin birey sayılarına etkisi. *Tr. J. of Zoology*. 23 (1999) Ek Sayı 1, 297-301.
- Klowden, M.J.,** 2007, Physiological Systems in Insects. *Second Eddition University Idaho Moscow /Elsevier*. 203-213 pp.
- Lerda, D. and Lizzi R.,** 1991, Study of Reproductive Function in Persons Occupationally Exposed to 2,4-D, *Mutation Research*, 262: 47-50.
- Martinez, I.M., Lumaret, J.P. and Cruz, M.R.,** 2001, Suspected side effects of a herbicide on dung beetle populations (Coleoptera: scarabaeidae). *C.R. Acad Sci III*. 324(11): 989-94.
- Munro, I.C., Carlo, G.I., Orr, J.C., Sund, K.G., Wilson, R.M., Kennepohl, E., Lynch, B.S., Jablinske, M. and Lee N.L.,** 1992, A comprehensive, integrated review and evalution of the scientificevidence relating to the safety of the herbicide 2,4-D. *J. Amer. Coll. Toxicol*. 5:559-664.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Oakes, D.J., Webster, W.S., Woodman and P.C.D.B., Ritchie, 2002, Testicular changes induced by chronic exposure to the herbicide formulation, Tordon 75D (2,4-D ve 4-amino-3,5,6-trichloropiclonic acid) in rats, *Reproductive Toxicology*, 16: 281-289.

Öner, H.D., 2010, *Melanogryllus desertus* (Pallas,1771) (Orthoptera:Gryllidae) Hemositleri Üzerine 2,4-D(Diklorofenoksiasetik asit)'nin Etkileri, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Özdaş, E., 2005, Bir Herbisit Olan 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit)'nin Sıçanlarda Testis Dokusu Üzerine Etkisi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.

Özdaş, E., Songül, B., Ateş U., Ergen, G., Uyanıkgil, Y., Baka, M. ve Yavaşoğlu, A., 2006, Bir Herbicide Olan 2,4-D'nin Sıçanlarda Testis Dokusunun Üzerine Etkisi, *Ege Tıp Dergisi*, 45(3): 169-174.

Özkan, A. ve Yanıkoğlu, A., 1999, Effects of 2,4-D and maleic hydrazide on the glycogen level in the embryonic development of *Pimla turionellae* (L.) (Hym., ichneumonidae). *J. Appl. Entomol.* 123:211-6.

Palmer, S. and Krueger, H., 1997, 2,4-D Dimethylamine Salt: An Acute Contact Toxicity Study with the Honey Bee: Lab Project Number: 467-102: 467/052297/BLDNC.EFA/SUB467. Unpublished study prepared by WildlifeInternational Ltd. 32 p. {OPPTS 850.3020}. MRID 44517304.

Reregistration Eligibility Decision (RED), 2005, 2,4-D; EPA 738-R-05-002; U.S. Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, D.C.

Sak, O., 2004, Cypermethrinin *Pimla turionellae* L. (Hym., Ichneumonidae), Toplam Protein, Lipit ve Karbonhidrat Miktarı ile Hemositlerine Etkisi (Doktora tezi).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Sanbuissho, A., Terada, S., Masuda, N., Teranishi, M., Masuda, H., 1995, Male reproductive toxicity study of nitrazepam in rats, *J. Toxicol Sci.*, 20(3): 319-28.

Sayım, F., 2004, Pestisitlerin Sıçanlar Üzerindeki Subkronik Etkilerinin İncelenmesi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, 119s.

Sung, H., Kao, W. And Su, Y., 2003, Effects and toxicity of phthalate esters to hemocytes of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquatic Toxicology* 64 (2003) 25-37.

Suwalaky, M., Benites, M., Villena, F., Aguliar, F. and Sotomayor, P., 1996, Interaction of 2,4-dichlorophenoxyacetiv acid (2,4-D) with cell and model membranes. *Biochim Biophys. Acta* 125: 111-119.

Swan, S.H, 2003, Semen Quality in Relation to Biomarkers of Pesticide Exposure, *Environ. Health Persp.*, 111:1478-1484.

Uçkan, F. ve Sak, O., 2010, Cytotoxic Effect of Cypermethrin on *Pimpla turionellae* (Hymenoptera: Ichneumonidae) Larval Hemocytes. *Ekoloji* 19,75, 20-26.

U.S EPA/OPP (U.S. Enviromental Protection Ageency/ Office of Pesticide Programs), 2005, Reregistration Eligibility Decision for 2,4-D. EPA 738-R-005-002.

USDA (U.S. Deparment of Agriculture), 2006, 2,4-D Human Health and Ecological Risk Assessment FINAL REPORT.

Ward, T. and Boeri, R., 1991, Chronic Toxicity of 2,4-D to the Daphnid *Daphnia manga*: Lab. Project Number: 9040-D. Unpublished study prepared by Resource Analysts, *Inc./EnviroSystem Div.* 38 p. MRID 418535211.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Washington State Department of Ecology, 2001, Herbicide Risk Assessment for the Aquatic Plant Management Final Supplemental Enviromental Impact Statement, Appendix C, 3: Publication number: 00-10-043.

Wigglesworth, B., 1965, The Principles of Insect Physiology. University of Cambridge/ London. 636-638 pp.

Yalçinkaya, M., 2006, Bir Herbisit Olan 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit)'in *Poecilia reticulata* P., 1859'da Medulla Spinalis Üzerine Etkileri, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 97s.

ÖZGEÇMİŞ

Sezin Hüdaverdi, 1980 yılında Salihli’de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Manisa/Salihli’de tamamladı. 1997 yılında Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü’nde lisans öğrenimine başladı. Yabancı Diller Bölümü’nde 1 yıl İngilizce hazırlık okuduktan sonra 2002 yılında Biyoloji Bölümü’nden mezun oldu. 2008 yılında Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Zooloji Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans eğitime başladı. Halen özel bir okulda Biyoloji Öğretmenliği yapmaktadır.