



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2,4-D HERBİSİTLERİ VE ENDÜSTRİYEL ATIK SULARININ EKOTOKSİK ETKİLERİNİN AZASERİN-SIÇAN MODELİNDE KARACİĞER VE PANKREASTA ARAŞTIRILMASI

Erkan KALIPCI

DOKTORA TEZİ

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Ocak-2011
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

DOKTORA TEZİ

2,4-D HERBİSİTLERİ VE ENDÜSTRİYEL ATIK SULARININ EKOTOKSİK ETKİLERİNİN AZASERİN-SIÇAN MODELİNDE KARACİĞER VE PANKREASTA ARAŞTIRILMASI

Erkan KALIPCI

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr.Celalettin ÖZDEMİR

2011, 114 Sayfa

Jüri
Doç.Dr.Celalettin ÖZDEMİR
Prof.Dr.Haydar ÖZTAŞ
Doç.Dr.Tahir ATICI
Doç.Dr.M.Faik SEVİMLİ
Doç.Dr.Cengiz AKKÖZ

Bu çalışmada; ülkemizde yaygın olarak kullanılan 2,4-D asit dimetilamin tuzu ile 2,4-D asit isooktilester herbisitleri ve içerisinde 2,4-D asitin de bulunduğu pestisit endüstrisi komposit atık suyunun, pankreas ve karaciğerdeki ekotoksik ve/veya kanserojenik etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Araştırmada; Longnecker ve Curphey tarafından geliştirilen Azaserin-sıçan modeli uygulanmış olup her grupta 8 adet olmak üzere toplamda 56 adet Wistar Albino türü erkek sıçan kullanılmıştır. Grup 1 ve Grup 2'de bulunan sıçanlar standart diet ile Grup 7 sıçanları ise komposit atık su içeren diyetle beslenmiştir. Grup 2, Grup 4 ve Grup 6'da bulunan sıçanlara, 14 günlük iken 3 hafta boyunca azaserin (30 mg/kg/hafta), i.p. olarak enjekte edilmiştir. Azaserin uygulandıktan 1 hafta sonra, azaserin uygulanmayan (Grup 3, Grup 5) ve azaserin uygulanan (Grup 4 ve Grup 6) tüm gruplar pestisitli yemler ile (200 mg/kg/gün) 4 ay beslenmiştir.

Çalışma sonucunda; grupların vücut, karaciğer ve pankreas ağırlıkları karşılaştırıldığında; gruplar arasında fark görüldüğü fakat gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Standart diet ile beslenen sıçanların (Grup 1) karaciğer ve pankreaslarında atipik hücre fokusları, adenoma ve karsinoma gözlenmemiştir. Azaserin, 2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester ile komposit atık suyun verildiği gruplarda bulunan sıçanların, karaciğer ve pankreaslarında ekotoksik ve histopatolojik değişiklikler ile atipik hücre fokuslarının oluştuğu belirlenmiştir. Fokusların kantitatif yükleri hesaplanmış olup pestisitlerin buğday ve topraktaki kalıntı miktarları da tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: AAHF, Kantitatif analiz, Pankreas ve karaciğer, 2,4-D Asit, Sıçan.

ABSTRACT

Ph.D THESIS

INVESTIGATION OF ECOTOXIC EFFECTS BELONGING TO 2,4-D HERBICIDES AND INDUSTRIAL WASTEWATER ON LIVER AND PANCREAS BY AZASERINE-RAT MODEL

Erkan KALIPCI

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK UNIVERSITY
DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN ENVIRONMENTAL ENGINEERING

Advisor: Assoc.Prof.Dr. Celalettin ÖZDEMİR

2011, 114 Pages

Jury
Assoc.Prof.Dr. Celalettin ÖZDEMİR
Prof.Dr.Haydar ÖZTAŞ
Assoc.Prof.Dr.Tahir ATICI
Assoc.Prof.Dr.M.Faik SEVİMLİ
Assoc.Prof.Dr.Cengiz AKKÖZ

In this study, it was aimed to study the ecotoxic and/or cancerogenic effects of 2,4-D acid dimethylamine salt and 2,4-D acid isooctylester herbicides that are commonly used in our country and composite waste water of the pesticides industry including 2,4-D acid on pancreas and liver.

In the study, the Azaserin-rat model, developed by Longnecker and Curphey, and 56 Wistar Albino type male rats with 8 rats in each group were used. The rats in Group 1 and Group 2 were fed through standard diet while those in Group 7 were fed with a diet including composite waste water. The rats in group 2, 4, and 6 were injected azaserin for 3 weeks (30 mg/kg/week) when they were 14 days old. One week after the application of azaserin, all the groups that weren't applied azaserin (groups 3 and 5) and those that were applied azaserin (groups 4 and 6) were fed for 4 months using the feed with pesticides (200 mg/kg/day).

At the end of the study, there was no statistically significant difference among the groups although a difference was observed between the groups when the weights of body, liver and pancreas were compared ($P>0,05$). No atypical cell focuses, adenomas and carcinomas were determined in the livers and pancreases of the rats that were fed through the standard diet (Group 1). The livers and pancreases of the rat in the groups that were fed with azaserin, 2,4-D acid D-amine salt and 2,4-D acid isooctylesters and the composite waste water were determined to form ecotoxic and hystopathological changes and atypical cell focuses. The quantitative loads of focuses were measured the amounts of residues in the soil and wheat were also determined.

Keywords: AACF, Quantitative analysis, Pancreas and liver, 2,4-D Acid, Rat.

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez çalışmam boyunca her türlü kolaylığı göstererek beni yönlendiren danışman hocam Doç.Dr. Celalettin ÖZDEMİR'e ve histoloji laboratuvar çalışmaları konusunda yardım ve katkılarını esirgemeyen Prof.Dr. Haydar ÖZTAŞ ile Dr.Hasan KALIPCI'ya saygı ve teşekkürlerimi arz ederim.

Çevre Mühendisliği bölüm hocalarıma, desteklerini kalbimde hissettiğim her zaman yanımda olan değerli aileme, 09101055 numaralı projemize verdiği desteklerden dolayı Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'ne, tezimin hazırlanması esnasında bilgisayar başında harcadığım uzun saatler için bana sabır ve anlayış gösteren sevgili eşim Özgül KALIPCI ve kızım S.Kardelen KALIPCI'ya sonsuz teşekkürler…

Erkan KALIPCI
KONYA-2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **iv**

ABSTRACT ..... **v**

ÖNSÖZ ..... **vi**

İÇİNDEKİLER ..... **vii**

KISALTMALAR ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI **4**

2.1. Pestisitlerin Tanımı ve Kısa Tarihçesi 4
2.2. Pestisitlerde Lethal Doz 6
2.3. Pestisitlerde Tolerans 6
2.4. Pestisitlerin İnsanlara ve Diğer Canlılara Etkileri 6
2.4.1. Kanserojen etkileri 9
2.5. Pestisitlerin Sulara Etkileri 10
2.6. Pestisitlerin Toprağa Etkileri 12
2.7. Dünya'da, Türkiye'de ve Konya'da Pestisit Kullanımı 13
2.8. Kanser 19
2.8.1. Kanserin kısa tarihçesi 19
2.8.2. Kanserin oluşumuna yol açan etkenler 20
2.9. Çalışmada Kullanılan Pestisitler 22
2.9.1. 2,4-D asit (2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester) 22
2.9.2. 2,4-D'nin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri 25
2.9.3. 2,4-D'nin absorbsiyonu, dağılımı ve atılımı 27
2.10. 2,4-D İle Yapılmış Toksikolojik Araştırmalar 29
2.11. Azaserin-Sıçan Modeli 41
2.12. Sıçan Pankreas ve Karaciğerinin Histolojik Yapısı 43
2.12.1. Pankreas 43
2.12.2. Karaciğer 47

3. MATERYAL VE METOT **49**

3.1. Materyal 49
3.1.1. Çalışmada kullanılan deney hayvanları 49
3.1.2. Bitki, toprak ve endüstriyel atık su örnekleri 49
3.1.3. Kimyasallar ve cihazlar 50
3.2. Metot 50
3.2.1. Deney hayvanlarına uygulanan azaserin-sıçan yöntemi 50
3.2.2. Doku örneklerinin alınması ve değerlendirilmesi 52
3.2.3. Doku tespiti (Fiksasyon) 53
3.2.4. Dokuların yıkanması 53
3.2.5. Sudan kurtarma (Dehidrasyon) 53
3.2.6. Şeffaflandırma 53

3.2.7. Bloklama (Parafinizasyon) 54
3.2.8. Parafin kesitlerinin hazırlanması 54
3.2.9. Deparafinizasyon 54
3.2.10. Boyama....55
3.2.11. Boyanmış preparatların kapatılması....55
3.2.12. Bitki ve toprakda kalıntı analizi ile endüstriyel atık su analizi....55
3.2.13. İstatistiksel analiz....56

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA 57

4.1. Uzun Süreli Hayvan Deneylerinden Elde Edilen Bulgular....57
4.1.1. Vücut ağırlıkları....57
4.1.2. Karaciğer ağırlıkları 57
4.1.3. Pankreas ağırlıkları 60
4.1.4. Sıçan pankreaslarının histopatolojik ve kantitatif analizleri 61
4.1.5. Sıçan karaciğerlerinin histopatolojik ve kantitatif analizleri....73
4.2. Bitki Ve Toprakda Kalıntı Analizi İle Endüstriyel Atık Su Analizi Bulguları 82

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER....84

KAYNAKLAR 93

ÖZGEÇMİŞ....114

KISALTMALAR

AAHF: Atipik asinar hücre fokusu
AST: Aspartat aminotransferaz
ALT: Alanin aminotransferaz
AP: Alkalen fosfataz
AB: Avrupa Birliği
BHC: Benzenehexachloride
CAT: Katalaz enzimi
DNA: Deoksiribonükleikasit
DDT: Diklorodifenoltrikloroethan
DDD: Dichlorodiphenyl dichloroethane
DMB: Dimetilbenzantrasenin
FAO: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
HCL: Hidroklorikasit
IARC: Uluslar Arası Kanser Araştırma Kuruluşu
İ.P.: İntra peritonal
LDH: Laktaz dehidrogenaz
NHL: Non-hodgkin lenfomalar
PCNB: Pentachloronitrobenzene
RNA: Ribonükleikasit
RfD: Referans doz
SOD: Süperoksit dismutaz enzimi
TP: Total protein
U.S.EPA: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Kurumu
WHO: Dünya Sağlık Örgütü

1. GİRİŞ

2,4-D grubu herbisitler; evler, bahçeler, parklar ve ormanlar, çayırlar, buğday, mısır, soya fasulyesi, pirinç, yulaf ve şeker pancarı gibi oldukça farklı yerlerde farklı amaçlar için geniş yapraklı zararlı otlara karşı mücadele amacıyla kullanılmaktadır. Bu pestisitlerin değişik ticari formlarda, halen 200'den fazla formülasyonu bulunmaktadır (PMRA, 2005). İsveç ve Avrupa Birliği ülkelerinin bir kısmında bu ilaçların kullanımının yasaklanması ve bazı sınırlamaların getirilmiş olmasına rağmen, ülkemizde böyle bir sınırlama veya yasaklanma bulunmamaktadır.

2,4-D asitin 1999-2002 yılları arasında ülkemizde kullanım miktarlarının ortalaması alındığında, yıllara göre herbisit tüketimindeki paylarının %42.68 olduğu belirlenmiştir (Delen ve ark., 2005). 2,4-D'nin ucuz olması halen yaygın bir şekilde kullanılmasına neden olmaktadır. Ülkemizde en çok tüketilen herbisitlerden olan 2,4-D'nin sentezlenmesi aşamasında dioksinlerle de bulaşma riski bulunmaktadır. Bilindiği gibi dioksinlerin hem zehirlilik etkisi hem de kanser yapıcı etkisi bulunmaktadır (Delen ve ark., 2005: Anonymous, 1995; Blair, 2002). Bu nedenle birçok ülke, tüketilecek 2,4-D'li preparatların dioksinden arındırılmış olması koşulunu getirmişlerdir (Delen ve ark., 2005: Ware, 1994). Ancak ülkemizde böyle bir koşul yoktur. Bu nedenle, tüketilen 2,4-D'li preparatların dioksinle kirlenmiş olabileceği şüphesi de ortaya çıkmaktadır (Delen ve ark., 2005: Alpöz ve ark., 2001).

Dünya'da 2008 yılında 12.4 milyon yeni kanser vakası ve 7.6 milyon kanser kaynaklı ölüm görüldüğü tahmin edilmektedir. Bunlardan karaciğer kanseri en fazla ölüme sebebiyet veren üçüncü kanser türü olarak yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2008 yılı Dünya Kanser Raporunda 'Erkek ve kadınlarda ölüm oranlarının yükselişte olduğu kanser türlerinden olan karaciğer ve pankreas kanserlerine daha fazla önem verilmesi gerektiği' belirtilmektedir. 'Yaygın biçimde insanlarda görülen kanserlerin %80'e varan bir oranının, beslenme, sosyal ve kültürel alışkanlıklar da dâhil olmak üzere yaşam tarzı boyutlarını da içerecek şekilde tanımlandığı, çevresel etkenlerden kaynaklandığı' belirtilmektedir (Boyle ve Levin, 2008). Türkiye'de kansere bağlı ölümler, enfeksiyon hastalıklarındaki gerilemenin de etkisiyle 1990 yılından itibaren kardiyovasküler sistem hastalıklarından sonra ikinci sıraya yükselmiştir (İzmirli ve ark., 2007). Ülkemizde 2000 yılı verilerine göre 33,419 (yüzbinde 49,29) kanser vakası tespit edilmiştir. Bu vakaların 19,982'sinin erkek (yüzbinde 58,18) 13,437'sinin kadın (yüzbinde 40.16) bireylerde olduğu görülmüştür (Hamzaoğlu ve Özcan, 2005).

Pankreas kanserinin meydana geliş oranı toplumların beslenme alışkanlıklarının değişimine bağlı olarak hızlı bir artış göstermekte olup, yapılan araştırmalar pankreas kanseri ile beslenme alışkanlığı arasında önemli bir ilişkinin olabileceğini göstermektedir (Langman ve Boyle, 1998). Bu pestisitlerin bileşiminde azda olsa mevcut olduğu bilinen dioksinin, azaserin-sıçan modelinde pankreasta neoplastik değişimlerin artmasına neden olduğu gösterilmiştir (Öztaş, 2000). Bu nedenle, çevresel etkenlere bağlı olarak meydana geliş oranında bir artışın gözlendiği pankreas kanserinin artışında bu pestisitlerin bir şekilde etkili olabileceklerini öne sürmek mümkündür. Elde edilen mevcut literatür bilgilerinde; karaciğerle aynı embriyonik ve yapısal özelliklere sahip pankreasta 2,4-D'lerin nasıl bir etki oluşturduğu konusunda herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Pankreas kanserinin teşhisi ile sonlanma evresi arasında genelde oldukça kısa sayılabilecek bir zaman diliminin olması çoğunlukla pankreas kanseri nedeniyle meydana gelen ölümlerin sebebinin belirlenmesini zorlaştırmaktadır. Günümüzde çevresel etkenlere bağlı olarak karaciğer ve pankreas kanserinin görülme sıklığının gittikçe artması, bu kanserin epidemiyolojisinin daha dikkatli araştırılmasını zorunlu kılmaktadır.

2,4-D grubu pestisitler orta derecede dayanıklı kimyasallar olup, yarılanma sürelerinin 20-200 gün arasında değişim gösterdiği, uygulandıkları ürünlerin gelişiminde yavaşlamaya neden oldukları, uygulandıkları alanlarda belirli bir süre sonra bile tespit edilebildikleri öne sürülmüştür (Donald, 1999). 2,4-D grubu pestisitlerin yağmur ve sulama suları ile taşınabilmeleri nedeniyle kalıntılarının kırsal alandaki akarsularda, su havzalarında tespit edilebildikleri bilinmektedir (Sierra Club of Canada, 2005). Diğer taraftan bu pestisitlerin kuşların embriyonik evrelerinde teratojenik etkiye sahip oldukları, farklı şekillerde balıkların ve diğer canlıların ekolojik ortamlarını etkiledikleri saptanmıştır (Wang ve ark., 1994). Çevresel kontaminasyona ve epidemiyolojik çalışmalarla toksisiteye sebep oldukları bilinen 2,4-D grubu pestisitlerin kullanımının azaltılmasının İsveç örneğinde olduğu gibi çeşitli kanserlerin oluşumunu azaltıcı yönde etkili olabileceği öne sürülmüştür (Hardell ve Erikson, 1999).

Bu tür pestisitlerin; üretim ve paketleme birimlerinde çalışan işçiler ile ilacı tarım alanlarına uygulayan işçilerin birinci dereceden riske maruz kaldıkları, uygulanan tarımsal alanlarla temasta olanların ise ikinci dereceden riske maruz kaldıkları bilinmektedir. Bu pestisitlerle temas eden insanlarda deri ve gözlerde kızarma ve kaşıntı genel semptom olarak bilinmektedir. Ayrıca bu pestisitlerin canlıların enerji üretim mekanizmasında düzensizliğe (Zychlinkski ve Zolnierowich, 1990), hücresel

mutasyonlara neden olabildikleri (Palmiera ve ark., 1994), içerdikleri dioksin (2,3,7, 8-TCDD) nedeniyle çevreye ve insan sağlığına zararlı oldukları öne sürülmüştür (Littorin, 1994). 2,4-D'nin de içerisinde bulunduğu Klorofenoksiasetik asit grubu herbisitlerin başlıca akut toksik etkileri; kas sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinde olmaktadır. 2,4-D yüksek dozda, hayvanlarda ventriküler fibrilasyonla ölüme neden olmaktadır. Tek dozla, birkaç saat içinde kaslarda zayıflık ve sertlik, vücut hareketlerinde düzensizlik, konvülziyon ve koma görülmektedir. Ayrıca böbrek yetmezliği ve pulmoner ödem de oluşturabilmektedir. İnsanlarda akut zehirlenme belirtileri hayvanlardakine benzemekte ve 3-4 gramla semptomlar açığa çıkmaktadır. Klorofenoksiasetik asitlerle akut zehirlenmelerde ölüm oranı yüksektir. 2,4-D'ye, işleri nedeni ile maruz kalanlarda; deri ve inhalasyon yolu ile absorbsiyon sonucu nörolojik semptomlarla karakterize edilen polinevrit görülmektedir (Vural, 2005).

Ülkemizde kullanılan 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin çevreye ve gıdalara kalıntı bırakması halinde, canlının karaciğer ve pankreasında ne tür bir etki bırakacağı, toksik ve/veya kanserojenik etkisinin olup olmadığı hakkında bir bilgi mevcut değildir. Toksik ve/veya kanserojenik etki oluşturabileceğinden şüphelenilen bir maddenin kanser oluşumundaki etkilerinin araştırılması amacıyla iyi bilinen canlı deney modellerinden yararlanılması yaygın ve kullanışlı bir metottur. Yapılan bu çalışmada da, Longnecker ve Curphey (1975) tarafından ilk defa kullanılan ve bugün oldukça iyi bilinen azaserin-sıçan modeli kullanılmıştır. 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester ile pestisit endüstrisi ham atık suyunun, canlının pankreas ve karaciğerinde toksik veya kanserojenik bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Ayrıca, Azaserin-sıçan modeli ile sıçan ekzokrin pankreaslarında ve karaciğerlerinde deneysel olarak neoplastik değişim meydana getirilerek bu değişimler üzerinde 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin neoplastik yapıların gelişimindeki olası etkileri de histolojik teknikler yardımıyla araştırılmıştır. Sıçan pankreas ve karaciğerlerinde neoplastik değişimler meydana getirmek için sıçanlara intra peritonal (i.p.) azaserin enjeksiyonu yapılmıştır. Enjeksiyonları takip eden bir aylık süreçte ekzokrin pankreasta ve karaciğerde atipik hücre fokuslarının (AHF) oluşumu mümkün olup yemlerine 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester eklenerek; bu pestisitlerin, meydana getirilen bu neoplastik değişimler üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Bunun yanı sıra, 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilesterin, alınan bitki ve toprak örneklerindeki kalıntı oranları da tespit edilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Pestisitlerin Tanımı ve Kısa Tarihçesi

Pestisitler, besin maddelerinin üretimi, tüketimi ve depolanması sırasında besin maddelerini bozan ve bitkilere zarar veren böcekleri, mikroorganizmaları ve diğer zararlıları yok etmek için kullanılan kimyasal maddelerdir (Özcan, 2003). Çoğunlukla tarımsal mücadelede bitki sağlığını korumak amacıyla kullanılmaktadırlar (Öncüer, 1991). Pestisitler; görünüş ve fiziksel yapılarına ve formulasyon şekillerine göre, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine göre, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna göre, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine göre çok değişik şekillerde sınıflandırılmaktadırlar (Yönten, 2006).

İnsanların pestisitleri tanımaları yıllar öncesine uzanmaktadır. İlk pestisitler fungusit olarak kullanılan kükürt ve yine fungusit ve insektisit olarak kullanılan arsenik, bakır ve demirin basit tuzları gibi inorganik maddelerdir. Bazı bitkilerin köklerinden elde edilen ve zehirli olan derris, nikotin ve piretrin maddeleri kullanılan ilk doğal organik pestisitlerdir. Sentezlenmiş organik pestisitlerin bulunması bitki ve hayvan hastalıklarına ait birçok probleme çözüm getirmiştir. Bu pestisitlerden birçoğu yüksek düzeyde zehirli ve kullanımları oldukça tehlikelidir. Kutsal sayılan bazı tuzların, fethedilen yerlerin küllerinin 'Nonselective' herbisit olarak, M.Ö. 1200 yılında kullanıldığı, kükürdün insektisit ve fungusit özelliğinin M.Ö. 1000 yılında keşfedildiği, 'Hellebore' (*Helleborus niger, Helleborus orientalis* ve *Veratrum album*) adlı bitkilerin fare, sıçan ve böceklerin kontrolü için M.Ö.100 yılında kullanıldığı bilinmektedir. 'Arsenik' M.S. 900 yılında Çinliler tarafından böceklere karşı kullanılmış olup, 'Mineral yağ' M.S. 1300 yılında develerde 'Uyuz hastalığına' karşı kullanılmıştır. Tütün ekstraktlarının M.S. 1690'da kontak insektisiti olarak kullanıldığı, dumanlarının ise M.S. 1773'de fumigant olarak kullanıldığı literatürde yer almaktadır (Anonim, 2001a; Sarıgül, 2006).

Tabii kaynaklı organik ve inorganik maddelerin bitki koruma alanında çeşitli zararlılara karşı kullanılmasına II. Dünya savaşı öncesine kadar devam edilmiştir. Sentetik pestisitlerin devreye girişi ile bu maddelerin yoğun olarak kullanımına geçilmiştir. Kısa sürede etkili olan ve alternatifleri de pek bulunmayan bu sentetik pestisitlerden, ilk organik fosfatlı insektisit olan TEPP (tetraethylpyrophosphate) Bernard Shrader tarafından 1938'de sentezlenmiş olup, ilk organik klorlu insektisit olan

DDT ise 1874'de sentezlenmiş ve Paul Muller tarafından 1939'da insektisit özelliği kefşedilmiştir.

İlk ditiyokarbamat fungusidi olan 'Zineb', Heuberger ve Manns tarafından 1943'de, ilk herbisit olan 'Amonyum sulfamat', Dupont tarafından 1945'de, ilk karbamat herbisidi 'Phoropaum', Templeman ve Sexton tarafından yine 1945'de, ilk dikarboksimid fungusiti olan 'Captan', Kittlesan tarafından 1949'da keşfedilmiş ve piyasaya sunulmuştur. İlk karbamat insektisitleri olan 'İsolan, Dematen, Pyramat ve Pyrolan' 1951'de, ilk sentetik prietroid olan 'Allethrin' ise Sumitoma tarafından 1949'da sentezlenmiş ve bitki koruma hizmetine verilmiştir.

İlk repellent etkili 'Deet' 1955'de, ilk mikrobiyal insektisit olan '*Bacillus thuringiensis'* 1938'de kullanılmaya başlanmıştır. İlk bitki gelişmesini düzenleyicilerden olan 'Etilen ve Asetilen' 1937'de keşfedilmiştir. Araştırmamıza konu olan ilk hormon etkili 2,4-D ise 1942'de keşfedilmiştir (Anonim, 2001a).

Pestisitlere karşı ilk direnç olayı İsveç'te 1946 yılında DDT'ye karşı karasineklerde gözlenmiştir. 1948'de ise 'Aldrin' ve 'Dieldrin'in toprakta en fazla kalıcı özelliğe sahip insektisitler olduğu açıklanmıştır. Bilindiği gibi, pestisitlerin tarım ürünlerinde bıraktığı kalıntı (residü), hem ülkelerin dış ticaretleri, hem de insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından ayrı bir önem arzetmektedir. Pestisit uygulamaları sırasında yapılacak araştırmalar ve alınacak tedbirlerle bu kalıntıların insan ve çevreye zarar vermeyecek seviyelerde olmaları kontrol edilebilir ve sağlanabilirse emniyetli bir kullanım gerçekleştirilmiş olacaktır. Nitekim, pestisit tolerans listelerinin hazırlanma gereğinden hareketle ilk toleranslar (insan ve hayvan sağlığına zararsız maksimum pestisit kalıntı seviyeleri) 1954 yılında tespit edilmiştir. Bunların yanı sıra kalıcılık, kümülatif karakterlilik, fazla risklilik konusunda yapılan çalışmaların sonuçları da konunun önemini daha da artırmıştır.

Özellikle 1970 yılında başlayan çevre koruma hareketlerinden sonra bütün dünyada pestisit kullanımının çok daha kontrollü yapıldığı, mevcut etkili maddelerin yeniden emniyetlilik testlerine alındığı ve bu değerlendirmeler sonucunda bazı pestisitlerin çeşitli ülkelerde yasaklandığı, kısıtlandığı veya kontrollü bir şekilde kullanımının yapıldığı bilinmektedir. Bu uygulamalara ışık tutan istenmeyen pestisit özelliklerinden en önemlileri, çevrede kalıcılıklarının fazla oluşu; kendilerinin, dönüşüm ürünlerinin veya içerdikleri gayri safiyetlerin canlılara önemli derecede toksikolojik etkilere sahip olmalarıdır (Anonim, 2001a).

2.2. Pestisitlerde Lethal Doz

Öldürücü doz anlamına gelen lethal doz, zehirliliğin bir göstergesi olarak kabul edilir ve toksikolojik bakımdan önemlidir. Uygulanan populasyonun %50'sini öldüren doz, lethal doz olarak kabul edilir ve buna LD_{50} adı verilir. LD_{50}, populasyonunda %50 oranında ölüm meydana getirebilmek için hedef organizmanın her bir kilogramı için canlıya verilmesi gereken toksik maddenin miligram cinsinden miktarını ifade eder ve mg/kg, ppm (milyonda bir kısım), ppb (milyarda bir kısım) olarak birimlendirilirler (Öncüer, 1991). Araştırmamıza konu olan 2,4-D'nin farelerde (ağız yolu ile) LD_{50} değeri 375 mg/kg, tavşanlarda ise (deri yoluyla) LD_{50} değeri 1500 mg/kg'dır (Anonim, 1995). LD_{50} değerleri sıçan için 666 mg/kg, tavşan için 800 mg/kg, civciv için 541 mg/kg vücut ağırlığı olarak bulunmuştur (Hill ve Carlisle, 1947; Yalçınkaya, 2006).

2.3. Pestisitlerde Tolerans

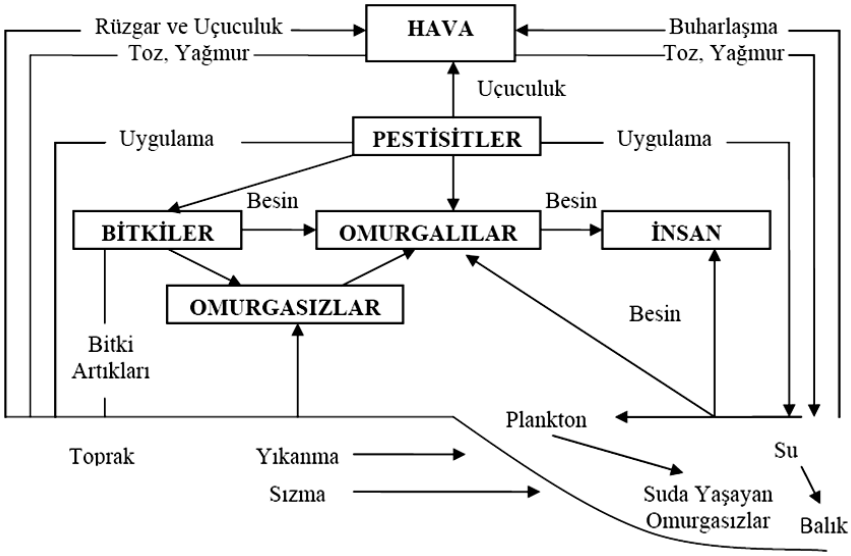
Pestisitlerin insan ve hayvan yiyeceği olarak kullanılan ürünlerle beraber tüketilmesine müsaade edilen kalıntı miktarına 'tolerans miktarı' adı verilir ve ppm, ppb veya mg/kg ile ifade edilir. Pestisitler için belirlenen tolerans değerinin üzerinde bulunan pestisit miktarı, insan ve hayvanlar için zehir olarak kabul edilir (Öncüer, 1991).

2.4. Pestisitlerin İnsanlara ve Diğer Canlılara Etkileri

Son yıllarda yapılan çalışmalarda sıvı ve endüstriyel atıklarla birlikte gerek tarımsal alanda kullanılan pestisitler gerekse de toksik kimyasal maddeler çeşitli yollarla akarsu, deniz ve göllere karışıp, balıklar ve bu sularla beslenen küçük ve büyük memeli hayvanlara hatta insanlara kadar ulaşmaktadır. Pestisitlerin çevredeki sirkülasyonu Şekil 2.1'de verilmiştir.

Kullanılan pestisitler uygulama sonrası belirli bir süreç içinde güneş ışığı ile dekompozisyona uğramamışsa veya bakteri faaliyetleri ile kimyasal yapıları bozulmamışsa zamanla toprakta birikir. Toprakta biriken pestisitler toprak mikroorganizmaları ve bazı hayvansal zararlıların yok olmalarına ya da geçici süre inaktive olmalarına neden olurlar. Ayrıca alüminyum, bakır, kalay gibi ağır metaller içeren pestisitlerin yarılanma ömürleri uzun olduğu için bitkiler tarafından alınabilme ve

sonrasında insanlarda sağlık sorunlarına neden olabilme durumları vardır (Yönten, 2006).



Şekil 2.1. Pestisitlerin çevredeki sirkülasyonu (Göktürk, 2007)

Pestisitler kullanıldığı zaman etkisini bir süre sonra yitirir ve tekrar ilaçlama yapılır. Bu işlem bir iki defa tekrarlanınca ürün üzerinde bir kısım kalıntı kalır. Bu kalıntılar insan ve çevre sağlığı bakımından problem oluşturmaktadır. Pestisitler vücutta birikim yaparak toksisite göstermektedirler. Vücuda alındıklarında enzimler etkisiyle bozunarak bir kısmı vücuttan atılmaktadır (Gürcan, 2001).

İnsanlarda zehirlenmeler pestisitlerin vücuda deri, solunum veya sindirim yolları ile alınması ile gerçekleşmektedir. Zehirlenme akut (bir defada tek bir dozdan) veya kronik (uzun sürede birikim sonucu) olarak iki şekilde gerçekleşir. Gıdalardaki pestisit kalıntılarının vücuda alımı ile oluşan kronik zehirlenme sonucu, akciğer hastalıkları, kanser, beyinde hasar, karaciğer ve böbrekte nefrozlar oluşabilir. Teratojen (ana karnında bebekte deformasyon), mutajen (genetik bozukluklar) ve allerjen etki gösteren pestisitler de vardır. Koruyucu elbise ve maske giymeden bazı organik fosforlu bileşiklerin kullanılması ani ölümlere neden olabilmektedir.

Pestisitlerle ilgili zehirlenmeler genellikle pestisit üretim tesislerinde, ilaç hazırlama ve ilaçlama sırasında ve ilaçlı besinlerin yenmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. İlaçlı gıdaların yenmesi ile ortaya çıkanlar en yaygın olanlardır. Pestisitlere uzun süre maruz kalındığında; sinir, solunum, kalp damar, mide, bağırsak ve dolaşım

sistemlerinde, karaciğer, böbrek gibi iç organlarda deri ve gözlerde çeşitli hasarlar meydana gelmektedir (Tatlı, 2006).

Çiftlik hayvanlarının doğrudan ya da dolaylı olarak pestisitlerle temaslarından olumsuz yönde etkilendikleri görülmüştür. Hayvanların bünyelerine geçen ilaçlar akut zehirlenmelere yol açmaktadır. Ayrıca kronik olarak bünyede birikim gösterirler ve canlıların hastalanmalarına neden olurlar ya da et, süt, yumurta gibi hayvansal ürünlere geçerler. Bu da dolaylı yoldan tüketiciyi etkiler. Bu nedenle ilaçlama yapılan yerlerdeki çiftlik hayvanları bu sahadan uzaklaştırılmalı ve her ilaca göre özel olarak belirlenen zamandan önce buraya sokulmamalıdır. İlaçlanan hayvan yemleri de belirli bir süre sonra hayvanlara verilmelidir, aksi takdirde zehirlenmeler görülebilir. İlaçlama alanındaki hayvan yem ve su kapları uzaklaştırılmalı ya da üzeri örtülmelidir. Bunların yanı sıra pestisitler; hayvanlarda üreme kapasitesine, genetik karakterlerde değişimlere ve hormonal denge durumuna da olumsuz yönde etki ederler.

Ürünlerimize zarar veren böcekleri değişik yollarla yok eden ve bu şekilde bize yararlı olan böcekler de vardır. Bunlara asalak (parazit) ve avcı (predatör) böcekler denir. Bitki koruma ilaçları bu gibi böceklere de etki etmektedir (Öztürk,1990). Arılar da böcek olduğundan, bitki koruma ilaçları bunlara da etkili olmaktadır. Pestisitler içerisinde arılara en fazla zarar veren ilaçlar insektisitlerdir. Arı zehirlenmesinin en genel belirtisi, arı kovanları önünde bol miktarda ölü arıların görülmesidir. Pestisitler arılara kontakt, fumigasyon ve mide zehiri olmak üzere 3 yolla etki etmektedir (Göktürk, 2007).

Tarım ilaçları su içindeki veya kenarındaki bitkilerle ya da böceklerle savaş sırasında ilaçların doğrudan doğruya uygulanması, ilaçlanmış bitki ve toprak yüzeylerinden ilaçların yağmur suları ile yıkanması, ilaç endüstrisi artıklarının akar veya durgun sulara boşaltılması ya da toprağa boşaltılması halinde bunların topraktaki hareketleri, uygulama aletlerinin, boş ambalaj kaplarının su kaynaklarında yıkanmasıyla sulara ulaşır. Pestisitlerin balıklara etkisi çok değişiktir. Direk olarak öldürmelerinden başka, beslenme ortamlarındaki değişiklikler, sudaki oksijenin azalması vb. yollarla da ölüme yol açabilir. Birçok ilaçlar balıkların büyüme oranlarına, çoğalmalarına ve davranışlarına etki yaparlar, dokularını zarara uğratabilirler. Tarım ilaçlarından etkilenen balıklar düşmanları tarafından daha kolay avlanırlar, diğer balıklarla daha az rekabet edebilir, mevsimlik ısı değişmeleri, çoğalma ve geçici açlık gibi konulara daha az dayanıklı hale gelirler (Öztürk,1990).

Kuşların ve yaban hayvanlarının pestisitlerden etkilenmeleri, çevreye dağılan pestisitle doğrudan temas ya da daha önce pestisit nedeniyle zehirlenerek ölmüş hayvansal besinlerle beslenmeleri sonucu olmaktadır. Kuşların ve yaban hayvanlarının dokularında birikebilen pestisit kalıntıları, kalıntı miktarına bağlı olarak öldürücü olabildiği gibi böbrek, karaciğer, üreme organları ve diğer organlarda zarar meydana getirebilmekte, bunların fonksiyonlarını bozmakta ya da üreme potansiyellerini azaltmaktadır. Kuşlar ilaçlı tohumları ya da ilaçla ölmüş olan toprak kurtları, salyangoz ve sümüklü böcekleri yemek suretiyle pestisitlerden olumsuz yönde etkilenmektedir. Düşük dozlarda ise yaşamsal fonksiyonlarında azalma olmaktadır (Toros ve Maden, 1991).

2.4.1. Kanserojen etkileri

Pestisitlerin çoğu kanserojen özelliğe sahip olup, bu nedenle bir kısım pestisitin üretimi ve kullanımı birçok ülkede yasaklanmıştır. WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve Uluslararası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC) tarafından kanserojen etkiye sahip oldukları saptanan aldrin, DDT, dieldrin, hexacholorobenzen gibi bir kısım pestisitleri saymak mümkündür. Aldrin, araniti klorobenzilat, DDT, dieldrin, miraks, strabane, heptaklor, amitrole, avadex, bis (2-kloroetil) eter, N-(2-Hidroksietil)-hidrazin ve Pentachloronitrobenzene'nin (PCNB) bir kısım hayvanlarda kanser oluşturduğu gösterilmiştir.

Fitzhugh ve Nelson (1947) yaptıkları çalışmalarda; yüksek dozda DDT ile beslenen sıçanların karaciğerlerinde tümöre rastlamışlardır. Innes ve arkadaşları (1969) iki fare türünde DDT kullanımına bağlı olarak karaciğer kanserinin önemli bir miktarda arttığını istatistiksel olarak bildirmişlerdir. Uluslar Arası Kanser Araştırma Kuruluşu (IARC) sponsorluğunda yapılan ilave çalışmalar, farede DDT'nin hepato-karsinojenitesini (Karaciğer kanseri) doğrulamıştır. Benzeri şekilde hepatomanın, 250 ppm'lik DDE veya DDD ile beslenen farelerde arttığını göstermişlerdir. Tomatis (1976); insanlarda kanserojen etkisi bulunan veya etkisinden şüphe edilen kimyasallar üzerinde çalışmıştır. Toplamda 94 adet kimyasalın 10 tanesinin kanserojen etki gösteren pestisitler olduğunu, hayvan deneyleri ile göstermiştir. Bu pestisitler, amitrole, aramite, BHC, chlorobenzilate, DDD, DDE, DDT, dieldrin, lindane ve mirex olarak belirtilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, en az bir memeli türünde kanserojenik özelliği belirtilmiştir.

Ayrrıca aldrin, captan, chloramben, chlordane, chlordimeform, chlorothalonil, diallate, diaminazide, dicofol, etylenedibromide, heptacholor, hexachlorobenzene, nitrofen, pentachloronitrobenzene (quintozene), perthane, terpene polychlorinates (strobane), tetrachlorvinphos, toxaphene ve trifluralinin de benzeri özelliklere sahip olabileceği öne sürülmüştür. Ancak kanserojen özelliği belirtilmiş pestisitlerin çoğunu oluşturan klorlandırılmış pestisitlerin *in vitro* mutajenite testlerinde negatif sonuç verdikleri gözlenmiştir. Fakat bu pestisitlerin üretildikleri yerlerdeki çalışanlar üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, buralarda çalışan işçilerde kanser oranının yüksek olduğunu ortaya koymuştur (IARC, 1983). WHO (Dünya Sağlık Örgütü) ve IARC (Uluslar Arası Kanser Araştırma Kuruluşu) tarafından insanlarda kanserojenik etkiye sahip pestisitler Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Uçman, 2005).

Çizelge 2.1. İnsanlarda kanserojen etkiye sahip pestisitler (Zeren ve Yaşarbaş, 1989)

Aldrin	Chlorothalonil	Hexachlorobenzen
Amitrole	DDD, DDE	Lindane
Aramite	DDT	Mirex
Avadex	Diallate	Nitrofen
BHC	Diaminazide	PCNB
Captan	Diclorvos	Perthane
Chloramben	Dicofol	Quintozene
Chlordane	Dieldrin	Strobane
Chlordimeform	Ethylen dibromit	Toxaphene
Chlorobenzilate	Heptachlor	Trifluralin

2.5. Pestisitlerin Sulara Etkileri

Pestisitlerin su ekosistemine ulaşmaları değişik yollarla olmaktadır. Örneğin; drenaj ve sulama kanalları içindeki ve çevresindeki yabancı otlara veya sivrisinek gibi vektör böceklerin mücadelesi sırasında bataklıklara doğrudan yapılan pestisit uygulamaları ile karışmaktadır. Pestisit kullanılmış alanlardaki ilaçların, yağmur suları ile toprak altı sularına veya ırmaklara karışması yoluyla da çeşitli pestisitler akuatik bitki ve böceklere ulaşmaktadır. Ayrıca havadaki ilaç zerrelerinin rüzgârla sulara taşınması veya pestisit üretimi yapan fabrika artıklarının durgun veya akarsulara boşaltılması sonunda denizler pestisitlerle kirlenmektedir. Uygulama aletlerinin ve boş ambalaj kaplarının yıkanıp temizlenmesi sırasında da ilaç artıkları sulara karışmaktadır. Bir su ekosistemine ulaşan pestisitin su içinde dağılışı; ilacın stabilitesine,

formülasyonuna ve kimyasal yapısına bağlıdır. Bazı organik pestisitlerin suda erime ve homojen şekilde dağılma özelliği çok yüksektir. Buna karşılık bazı inorganik tuzlar suda çözünmeden çökmektedirler.

Pestisit bakiyelerinin suda eser miktarda bulunması halinde bile akuatik canlıların besin zincirinde çok önemli yeri olan zoo ve phyto planktonların gelişmelerini önleyebilmektedir. Sudaki organizmaların ilacı absorbe veya metabolize etmesi; sudaki pestisit seviyesine, organizmanın fizyolojisine, sıcaklığa ve daha önceden bünyede mevcut ilaç kalıntısına bağlıdır. Pestisitlerden ölen organizmalar dibe çökerek birikirler. Çürüme esnasında açığa çıkan CO_2 ve zehirli gazlar diğer akuatik organizmalara da zarar verir.

Halen pestisit kalıntısı için açık denizlerde yakın bir tehlike söz konusu değildir. Ancak drenaj ve sulama kanalları, dar körfezler, bazı göl ve durgun sular ile kuyu sularında değişik oranlarda pestisit kalıntılarına rastlanılmaktadır. Bu konuda yapılan bir araştırmada; Adana Seyhan Sulama Bölgesi'nden alınan su örneklerindeki lindan, heptachlor, aldrin ve endosülfan gibi pestisitlerin kalıntı miktarları araştırılmıştır. Su örnekleri sulama kanalı, drenaj kanalı ve kuyu suyundan alınmıştır. Araştırma sonucunda; sulama kanalında maksimum lindan konsantrasyonu 0,28 µg/L, heptachlor konsantrasyonu 0,15 µg/L, aldrin konsantrasyonu 0,68 µg/L ve endosülfan konsantrasyonu 0,1 µg/L 'dir. Drenaj kanalında ise bulunan maksimum lindan konsantrasyonu 0,24 µg/L, heptachlor konsantrasyonu 0,69 µg/L, aldrin konsantrasyonu 0,90 µg/L ve endosülfan konsantrasyonu 0,27 µg/L 'dir. Kuyu suyunda bulunan maksimum lindan konsantrasyonu 0,37 µg/L, heptachlor konsantrasyonu 0,73 µg/L, aldrin konsantrasyonu 0,89 µg/L ve endosülfan konsantrasyonu 0,26 µg/L 'dir.

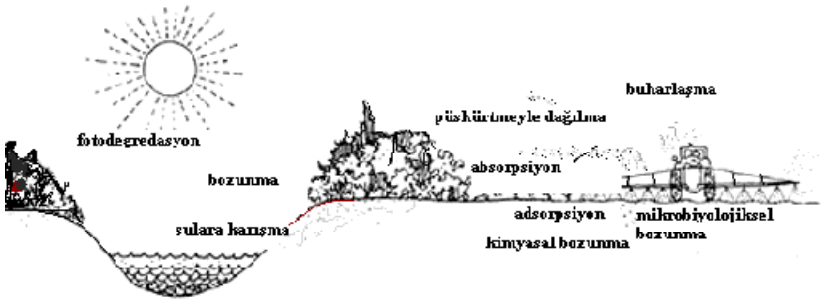
Türkiye'de 1976-1977 yıllarında yürütülen diğer bir araştırma projesinde, İskenderun-Antalya sırasındaki Akdeniz kıyı kesiminden sağlanan çeşitli balık türleri ve karides örneklerinde DDT %100, dieldrin %74,7, BHC %99,1, aldrin %86,7 ve endrin %65,5 oranında bulunmuştur. Balık etlerinde belirlenen ortalama organik klorlu insektisit düzeyi 0,339 mg/kg olarak hesaplanmıştır.

Karadeniz'deki balıklarda bulunan DDT miktarı, Akdeniz'deki DDT miktarına; Akdeniz'deki BHC izomerleri, aldrin, dieldrin, endrin, Karadeniz'de tespit edilen oranlara göre daha yüksek düzeylerde bulunmuştur. Karadeniz'deki pestisit kalıntılarının artmasında, Tuna Nehri'nden gelen Avrupa ülkelerine ait atıklar ile Karadeniz'e akan nehirlerin taşıdığı ilaç kalıntılarının önemi büyüktür (Anonim, 1991; Özcan, 2003).

Pestisitlerin kullanılması bu nedenle mutlaka denetim altında olmalı, su kütlelerinin denetimi düzenli olarak yapılmalıdır. Pestisit ve su yosunlarının kontrolünden önce yüzeysel su kütleleri, göller dikkatle değerlendirilmelidir. Eğer bu değerlendirme yapılmayacak olursa pestisitler verdikleri yararın çok üzerinde zarar meydana getirebilmektedir (Güler ve Çobanoğlu, 1997).

2.6. Pestisitlerin Toprağa Etkileri

Toprak kirliliği sadece toprağın kirliliği olarak kalmaz. Söz konusu pestisitler topraktan havaya buharlaşabilecekleri gibi yer altı sularına sızarak veya akarak da tehlike yaratabilir. Toprak kirliliğine bağlı olarak canlılar ve insanlar pestisitleri doğrudan alabilirler. Ayrıca pestisitler toprak aracılığıyla bitkilere geçebilir ve kimi kültür bitkilerinde söz konusu kimyasallar toksik düzeyde birikebilmektedir. Pestisitin topraktaki varlığını sürdürmesi toprağa nasıl taşındığına bağlı bir durumdur. Sızma, evaporasyon, erozyon, bitkilerce alınma vb. yollarla yayılabilmektedir (Yönten, 2006). Şekil 2.2'de pestisitlerin tarımsal olarak çevreye yayılımı gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Pestisitlerin tarımsal olarak çevreye yayılmaları (Yönten, 2006)

Bitki hastalık ve zararlılarına karşı kullanılan pestisitler; yağmur, rüzgâr gibi çeşitli etkenlerle toprağa dolaylı yolla ulaşabilmektedir. Topraktaki zararlı böceklere, nematodlara ve tohum ilaçlamaları sırasında tohuma uygulanan pestisitler ise direkt olarak toprağa karışmaktadır. Bu şekilde toprakta devamlı birikim halinde olan pestisitler, tüketilen ürünler aracılığı ile insan, evcil hayvanlar ve yaban hayatına ulaşarak çevre sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Akman ve ark., 2000).

Pestisitlerin toprakta kalıcı yani persistent olması; kullanılan ilacın grubuna, formülasyon şekline, toprak tekstürüne, ilacın absorbe edilme durumuna, toprak nemi

ve sıcaklığına, ilacın yağmur, sulama veya drenaj suları ile yıkanma özelliğine göre değişmektedir (Anonim, 2006a).

Pestisit kalıntıları ile bulaşmış topraklarda yetiştirilen ürünlerin, ilaçları topraktan bünyelerine aldıkları belirlenmiştir. Örneğin; aldrin ile ilaçlanmış tarlalarda yetiştirilen patates ve havuçta aldrin kalıntısı, yoğun aldicarbe uygulanmış topraklarda yetiştirilen karpuzlarda ise aldicarbe kalıntısı görülmüştür (Akman ve ark., 2000).

Yapılan çeşitli araştırmalar, yıllar önce yasaklanmış olmasına rağmen DDT'nin bazı topraklardaki miktarında henüz bariz bir azalmanın olmadığını ortaya koymaktadır. Bu kalıntılar, yarılanma ömrü uzun olan bazı pestisitlerin toprakta hareketsiz ve depolanmış halde kaldığını göstermektedir (Anonim, 2006a). Biyosfere dâhil olan pestisitlerin bozulmadan uzun süre doğal koşullarda kalmaları önemli çevre kirliliğine neden olmaktadır. Pestisitlerin toprakta kalma süreleri 1-2 hafta ile 2 yıldan daha fazla (15 yıl veya daha fazla) olabilmektedir (Akman ve ark., 2000).

Pestisitlerin kırsal alanda artan bir şekilde devamlı olarak kullanılması, diğer kirlenmelerin aksine ekolojik bir felaket olarak kabul edilmektedir. Pestisitlerin büyük bir kısmı son derece zehirlidir ve özellikle insan ve hayvanların çeşitli organlarında birikerek kanser oluşmasına neden olurlar. Ayrıca besin zinciri içerisinde bu maddelerin bitkiler ve hayvanlar tarafından alınması ve sonuçta insanların belirli dokularında, özellikle de yağ dokusunda birikimi akut ve kronik zehirlenmelere hatta ölümlere neden olmaktadır (Taşkaya, 2004).

Gerçekten de pestisitler çevreyi kirletmenin çeşitli nedenleri arasında tek ve üstün bir yere sahiptirler. Diğer bütün kirleticilerin aksine pestisitler kültür bitkilerini tahrip eden zararlıları, insan yada evcil hayvanlardaki bazı parazitleri yok etmek için isteyerek kullanılırlar (Özbayrak, 2004). Pestisitlerin devamlı kullanılmaları; sonuçta çevrenin ve besinlerin kirlenmesine, biyolojik dengenin bozulmasına ve pestisitlere dirençli türlerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (Akman ve ark., 2000; Gezer, 2006).

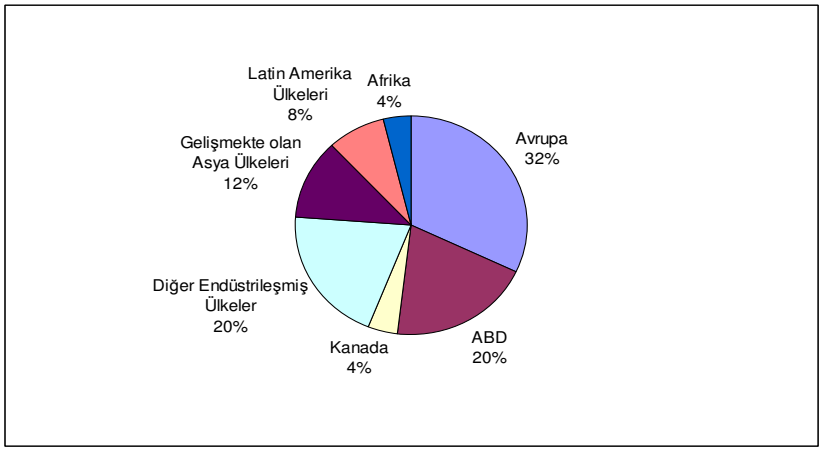
2.7. Dünya'da, Türkiye'de ve Konya'da Pestisit Kullanımı

2000 yılı itibariyle dünyada 10 firma toplam pestisid ticareti hacminin %90'ına sahiptir ve bu ticaretten 27 milyon dolarlık pay almaktadırlar. Bunlar Bayer-Novartis, Monsanto, Du Pont, Zeneca, AgrEvo, Rhône-Poulene, Cyanamid, DowAgro ve Basf firmalarıdır. Dünya pestisid tüketimi 2001 yılında 3,2 milyon tona ulaşmıştır. Toplam

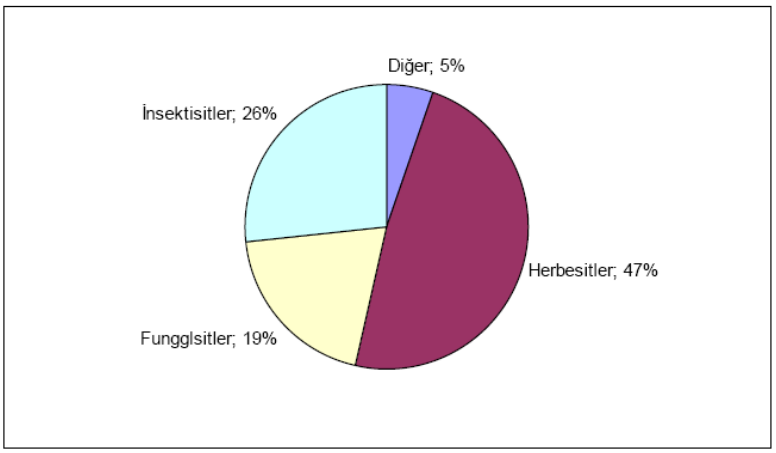
dünya pazar değeri ise 38 milyon dolardır. Bu tüketimin yaklaşık %85'i tarım sektöründendir. Pestisid tüketiminin %75'i gelişmiş ülkelere aittir. Gelişmiş ülkelerden de ABD, Batı Avrupa ve Japonya ilk sıralarda yer almaktadır. Çizelge 2.2'de 2000 yılı itibariyle kıtalara ve bölgelere göre pestisid kullanım miktarları ve Şekil 2.3'de de pestisidlerin bölgesel dağılımı verilmiştir (Akhabuhaya, 2000; Karaer ve Gürlük, 2003).

Çizelge 2.2. Dünya'da pestisit tüketimi (Akhabuhaya, 2000)

Kıtalar ve Bölgeler	**Pestisit Tüketimi (Bin ton)**
Avrupa	800
ABD	500
Kanada	100
Diğer Endüstrileşmiş Ülkeler	500
Gelişmekte olan Asya Ülkeleri	300
Latin Amerika Ülkeleri	200
Afrika	100
TOPLAM	**2500**



Şekil 2.3. Pestisidlerin bölgesel dağılımı (Akhabuhaya, 2000)



Şekil 2.4. Dünya'da tarım ilaçları kullanımının pestisit gruplarına göre dağılımı (Göktürk, 2007)

Dünya'da tarım ilaçları kullanımının pestisit gruplarına göre dağılımı Şekil 2.4'de verilmiştir. Şekil 2.4'de görüldüğü üzere herbisitler tarım ilaçları içinde %47'lik bir payla birinci sırayı almaktadır. Bunu %29' ile insektisitler izlemekte ve fungisitlerin ise %19'luk bir payı bulunmaktadır (Göktürk, 2007).

Türkiye'de pestisit kullanımı, gelişmiş ülkelerle karşılaştırıldığında oldukça düşük düzeydedir. AB ülkelerinde pestisit kullanımı 1.2–13.8 kg/ha arasında ülkelere göre değişen oranlarda kullanılmaktadır. Ülkemizde ise 1993 - 1999 arası yıllar değerlendirildiği zaman pestisit kullanımı 490 – 700 g/ha'dır (Delen ve ark., 2005; Turabi, 2004; Tatlı, 2006). Nitekim hektara etkili madde olarak pestisit kullanımı; Türkiye'de 0,63 kg iken, ABD'de 3,5 kg, İtalya'da 7,6 kg, Yunanistan'da 6 kg, Fransa'da 4,4 kg, Hollanda'da 17,5 kg ve Almanya'da 4,4 kg'dır (Dağ ve ark., 2000).

Çizelge 2.3. Türkiye'de zirai mücadele ilaçlarının tüketim miktarları (kg/L) (Gezer, 2006)

GRUPLAR	YILLAR				
	1996	1997	1998	1999	2000
I.İnsektisitler	8,798,070	12.355.025	11.999.185	11.504.726	11.778.017
II.Akarisitler	856,163	702.688	645.372	309.693	746.745
III.Yağlar	3,880,631	2.172.389	2.342.373	2.371.834	3.571.933
IV.Nematositler-Toprak fumigantları	728,055	884,917	1,630,864	1,637,487	1,368,463
V.Rodentisit-Molusitler	88,657	89,921	50,747	55,630	19,730
VI.Fungusitler	5,563,143	8,847,039	7,289,101	7,159,321	7,776,679
VII.Herbisitler	7,259,913	7,810,361	5,076,797	7,285,098	6,957,872
VIII.Zirai Mücadelede Kul. Diğer Malzemeler	---	194,534	871,052	1,242,962	1,318,874
Genel Toplam	27,174,632	33,056,874	29,905,489	31,985,443	33,548,313

Türkiye'de zirai mücadele ilaçlarının 1996-2000 yılları arasında tüketim miktarları Çizelge 2.3'de verilmiştir. Çizelge 2.3'de de görüldüğü üzere Türkiye'de kullanılan pestisit miktarı yılda yaklaşık olarak 32,000 tonu bulmaktadır. Bu değerler ülkemizin AB ülkelerine göre oldukça düşük pestisit tükettiğini göstermektedir. Ancak ülkemizde yürütülen kalıntı analiz sonuçlarına göre de pestisit kalıntısı açısından riskli ürün sayısının çok az olduğu bildiriliyorsa da AB' nin Hızlı Alarm Sistemi sonuçlarına

göre AB'ye ülkemizden giden ürünlerde pestisit kalıntısı bulunması dikkat çekicidir. Ülkemizden AB ülkelerine ihraç edilen ürünlerde 2002 yılında uygun bulunmayan parti sayısı 141 iken, 2003 yılında 202 olmuştur. 2002 yılında 9 parti, 2003 yılında 22 parti, 2007 yılında 28 parti ve 2008 yılında ise 56 parti pestisit kalıntısı nedeniyle uygun bulunmamıştır (Delen ve ark, 2005; 2010; Tatlı, 2006).

Araştırmamıza konu olan 2,4-D'lerinde içerisinde yer aldığı, Türkiye'de 1999-2002 yıllarında en yoğun kullanılan 5 herbisit ve herbisit tüketimindeki payları Çizelge 2.4'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.4. 1999-2002 yıllarında Türkiye'de en yoğun kullanılan herbisitler ve herbisit tüketimindeki payları

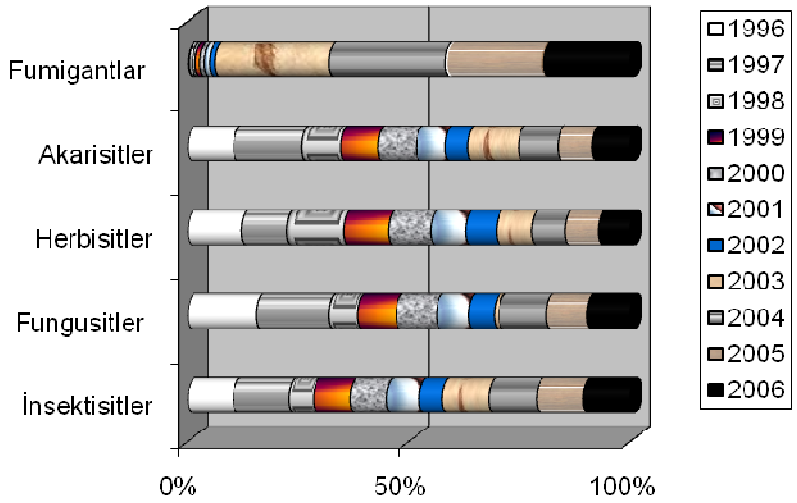
Herbisit	Yıllara göre herbisit tüketimindeki payları (%)			
	1999	2000	2001	2002
2,4-D	45,28	44,34	47,49	33,62
Trifluralin	27,02	27,86	20,21	24,60
Molinate	7,10	6,44	3,69	3,50
Propanil	4,54	3,62	-	-
Glyhposate isopropylamin	4,10	6,94	9,08	7,57
Chloridazon	-	-	5,38	-
Metalochlor	-	-	-	5,10
TOPLAM	88,04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

- ilk beş herbisit arasında değildir

Çizelge 2.4'de görüldüğü gibi, 1999-2002 periyodunda Türkiye'de 7 herbisit yıllara göre en yoğun kullanılan 5 etkili maddeyi oluşturmuştur. Bu 5 etkili maddenin tüm herbisit tüketimindeki payı yıllara göre; %89,20 ile %74,39 arasında değişmektedir. Oysa, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı verilerine göre; piyasada 1999'da 61, 2000'de 60, 2001'de 62, 2002'de 65 herbisit etkili madde bulunmakta idi. Araştırmamıza konu olan 2,4-D asitin 1999-2002 yılları arasında (4 yılda boyunca kullanımına göre) ülkemizde kullanım miktarlarının ortalaması alındığında yıllara göre herbisit tüketimindeki paylarının %42,68 olduğu belirlenmiştir (Delen ve ark, 2005).

Kalıpcı ve ark.'nın (2010) yapmış olduğu çalışma ile belirlenen Konya'da 1996-2006 yılları arasında kullanılan pestisitler aşağıda Şekil 2.5'de verilmiştir. Şekil 2.5'de görüldüğü üzere Konya'da 1996-2006 yılları arasında kullanılan ilaç gruplarının toplamı alındığında; en çok kullanılan ilaç grubunun 8,579,722 kg ile herbisitler olduğu,

ikinci sırada 7,424,272 kg ile fungusitler, üçüncü sırada 5,614,550 kg ile insektisitler, dördüncü sırada 248,483 kg ile akarisitler ve beşinci sırada 100,943 kg ile fumigantların kullanıldığı tespit edilmiştir.



	İnsektisitler	Fungusitler	Herbisitler	Akarisitler	Fumigantlar
1996	581.398	1.161.118	1.045.711	25.945	285
1997	508.350	1.205.350	870.000	38.170	842
1998	312.550	495.450	1.115.109	22.103	680
1999	464.043	634.919	864.987	20.961	982
2000	463.395	679.098	819.731	21.165	1.015
2001	418.451	538.410	680.710	16.287	1200
2002	290.352	430.552	587.975	12.688	359
2003	591.478	76.838	685.850	28.450	25.848
2004	602.357	795.240	654.258	22.103	26.547
2005	597.325	684.257	634.651	19.200	22.565
2006	590.850	723.140	620.740	21.426	19.630

Şekil 2.5. Konya'da 1996-2006 yılları arasında kullanılan pestisitler (kg) (Anonim, 2001b; Anonim, 2002; Anonim, 2003; Anonim, 2004; Anonim, 2005; Anonim, 2006b; Anonim, 2007'den adapte edilmiştir.)

Konya ilinde 2001 yılında tüketilen toplam ilaç miktarlarının ilçeler bazındaki kullanım oranları Çizelge 2.5'de verilmiştir. İl geneli göz önüne alındığında insektisit, fungusit, herbisit ve akarisitlerin en fazla tüketildiği ilçelerin sıralaması ise aşağıda verilmiştir. Buna göre;

- En fazla insektisit, Merkez ilçede (65,940 kg) kullanılmış olup, 2. sırada Çumra ilçesinde (55,440 kg), 3. sırada ise Ilgın ilçesinde (42,300 kg) kullanılmıştır.

- En fazla fungusit, Merkez ilçede (98,750 kg) kullanılmış olup, 2. sırada Akşehir ilçesinde (56,400 kg), 3. sırada ise Çumra ilçesinde (48,950 kg) kullanılmıştır.
- En fazla herbisit, Merkez ilçede (140,350 kg) kullanılmış olup, 2. sırada Kadınhanı ilçesinde (65,300 kg), 3. sırada ise Sarayönü ilçesinde (51,300 kg) kullanılmıştır.
- En fazla akarisit, Çumra ilçesinde (4,520 kg) kullanılmış olup, 2. sırada Ereğli ilçesinde (2,750 kg), 3. sırada ise Bozkır ilçesinde (2,500 kg) kullanılmıştır.

Çizelge 2.5. Konya ilinde 2001 yılında tüketilen toplam ilaç miktarları (Anonim, 2002)

İLÇE ADI	İNSEKTİSİT Kg	FUNGUSİT Kg	HERBİSİT Kg	AKARİSİT Kg	KIŞLIK YAĞ Kg	DİĞERLERİ Kg	İLÇE' DE KULLANILAN I,F,H,A TOPLAM MİKTARI Kg
MERKEZ	65940	98750	140350	550	9800	1200	305590
AHIRLI	204	220	410	60	77	-	894
AKÖREN	30	-	2000	-	-	-	2030
AKŞEHİR	33500	56400	31650	2100	3500	300	123650
ALTINEKİN	10255	21575	24320	-	-	240	56150
BEYŞEHİR	5040	17305	15800	120	1800	150	38265
BOZKIR	980	4350	1640	2500	8300	550	9740
CİHANBEYLİ	21620	34480	47750	-	-	-	103850
ÇELTİK	2318	3200	15540	-	-	-	21058
ÇUMRA	55440	48950	49980	4520	1760	650	158890
DERBENT	-	4560	3800	-	-	-	860
DEREBUCAK	0	0	0	0	0	0	0
DOĞANHİSAR	1810	6340	3100	-	50	-	11250
EMİRGAZİ	218	380	1200	-	-	-	1798
EREĞLİ	38514	46820	41400	2750	2200	950	129484
GÜNEYSINIR	685	10300	3150	150	-	-	14285
HADİM	305	400	450	35	220	-	1190
HALKAPINAR	130	2830	400	-	-	-	3360
HÜYÜK	435	2520	440	10	150	-	3405
ILGIN	42300	38250	45700	210	500	280	126460
KADINHANI	33482	33315	65300	95	-	190	132192
KARAPINAR	31260	35800	50980	150	-	70	118550
KULU	23725	12950	42400	-	-	50	79075
SARAYÖNÜ	20450	21575	51300	50	180	110	93375
SEYDİŞEHİR	10280	14300	9800	580	1640	590	34960
TAŞKENT	0	0	0	0	0	0	0
TUZLUKÇU	250	1920	2150	-	-	-	4320
YALIHÜYÜK	6700	980	900	2400	240	-	10980
YUNAK	12580	19940	28800	-	-	-	61320
TOPLAM (KG)	418451	538410	680710	16280	30417	5330	1654481

2.8. Kanser

2.8.1. Kanserin kısa tarihçesi

İnsanlarda kansere ait veya en azından muhtemelen kanser olabilecek hastalıklara ait bilinen ilk bilgilere M.Ö. 5300 ve 4500 yılları arasında rastlanmaktadır (Grmek, 1975; Shimkin, 1977). Mısırlı mumyalarda bulunan pelvik lezyonlar ve osteosarkomalar, bu hastalığın insanlık tarihi kadar eski olduğunu ortaya koymaktadır (Moodie, 1923). M.Ö. 1500'de Ebers Papirus'larında kanserin, 'tedavi edilemeyen deri ülseri' olarak tanımlandığı bilinmektedir (Wolff, 1907). Hippocrates (M.Ö. 460-375) neoplastik değişimlerin farklı evreleri için *carcinos* ve *carcinomas* terimlerini kullanmıştır (Ewing, 1940). Galen 2. yy'da kan ile karışmamış safra sıvısının, kansere sebep olabileceğini öne sürmüş ve bu teori 17. yüzyıla kadar büyük ölçüde kabul görmüştür (IARC., 1990). Ramazzini (1713) ve Rigoni-Stern (1842), rahibeler arasında meme kanserinin normale göre daha fazla görülmesinin nedenlerini araştırmışlardır. Işık mikroskoplarının teşhis amacıyla patolojik çalışmalarda kullanılmaya başlanması ile kanserin, hücrelerin farklılaşması ile meydana gelebileceği yönünde görüşler öne sürülmüştür. Virchow (1858) yaptığı araştırmalarda, kanser hücrelerinin diğer hücrelerden farklı büyüdüklerini gözlemlemiştir. Virchow, tüm kanser hücrelerinin sadece bağ dokudan kaynaklandığını öne sürmüş, ancak aynı dönemlerde Thiersch (1865) epitelyal tümörlerin, epitelyum hücrelerinden meydana geldiğini öne sürmüştür. Nowell (1976) kanserin, bir hücre populasyonu içerisinde farklı büyüme avantajına sahip hücrelerde, sürekli meydana getirdiği klonal değişim sonucu meydana geldiğini ileri sürmüştür.

Daha sonraki dönemlerde yapılan çalışmalar ise kanser oluşumunun hücrelerde herhangi bir nedenle ortaya çıkan fazla sayıdaki değişime bağlı olabileceğini, genetiksel, fiziksel, kimyasal ve viral etkenlerin mutasyonları tetikleyebileceği veya oluşan mutasyonların metabolik etkilerinin kanser oluşumunu arttırabileceğini ortaya koymuştur. Üreme hücreleri (germ-line) mutasyonlarının, kanser oluşumunda etkili olduğu, ancak neoplastik gelişim için diğer bir kısım metabolik olaylara da ihtiyaç duyulduğu sonucuna varılmıştır (Vainio ve ark., 1992).

Erken dönemlerden itibaren kimyasal maddelerin kansere sebep olabileceği tahmin edilmiş olup, yapılan epidemiyolojik çalışmalar ve gözlemler, kanser ile çevresel faktörler arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir. Kanser gelişiminin nasıl

olduğu araştırılmış olup, kanserleşmenin birbirinden farklı en az iki basamaktan oluşan olaylar zinciri sonucu ortaya çıktığı, başlangıç (initation) ve gelişim (promotion) evrelerini içeren iki basamaklı karsinogenesiz modeli genel olarak kabul edilmiştir (Rous ve Kidd, 1941). Daha sonraki dönemlerde yapılan çalışmalarda, bu aşamaların herbirinin birçok ara basamak içerdiği ve ilk basamağa ayrıca gelişim (progression) evresinin eklenmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir (Vainio ve ark, 1992).

2.8.2. Kanserin oluşumuna yol açan etkenler

Kanser, çoğunlukla genetik bir değişim sonucu başlamakta olup, bu değişimin meydana gelmesinde birçok ajanın rol oynadığı bilinmektedir. Karsinogenesiz olayının büyük ölçüde mutajenik değişimlerin etkili olması sonucu ortaya çıktığı günümüzde kabul edilmektedir. Kanser oluşumunda, genetik faktörlerin, çevresel faktörlerin, virütik faktörlerin ve onkogenlerin etkili olduğu düşünülmektedir (Tannock ve Hill, 1992).

2.8.2.1. Çevresel faktörler

Epidemiyolojik çalışmalar belirli kanser türlerinin görülme sıklığının; çevresel faktörlere (kirlilik, kimyasal maddeler, X ve UV ışınları gibi) ve yaşama biçimine (antioksidant faktörler, vitaminler, lifli veya yağlı yiyecekler gibi besin maddelerinin alınımı veya yokluğu gibi) bağlı olduğunu göstermektedir. Beslenme bozuklukları ve aşırı sigara ile alkol tüketimi kanser oluşumunda oldukça etkili olan çevresel faktörler olarak kabul edilmektedir (Tannock ve Hill, 1992).

Güneş ışınları ile yapılan kısa dalga boylu ışınlar, hücrelerin DNA'ları üzerinde etkili olmak suretiyle çoğunlukla kansere yol açabilmektedir. Deri kanseri oluşumunda aşırı derecede güneş ışığına maruz kalmak en önemli neden olarak bilinmektedir. Radyasyon, önemli bir kanser oluşturucu etken olup, hangi dozda etkili olduğunun bilinmesi çoğunlukla zordur. Eşik dozun altında radyasyona maruz kalındığında, hücrelerin DNA onarım mekanizmaları, çoğunlukla DNA'larda meydana gelen hasarı onararak mutasyonlar sonucu kanser oluşumunu engelleyebilmektedir. Ancak fazla oranda mutasyona yol açan radyasyon sonucu onarım mekanizması yeterli olamamaktadır (Tannock ve Hill, 1992).

2.8.2.2. Kimyasal karsinojenler

Uluslararası Kanser Araştırma Kurumunun (IARC, 1990) yayınladığı araştırma raporları, bir kısım kimyasal maddelerin insanlarda kanser meydana getirebileceği yolundaki bulguları destekler niteliktedir. Yapılan epidemiyolojik ve deneysel kanser çalışmaları yaklaşık 60 civarında kimyasal maddenin insanlarda kanser meydana getirebilme potansiyeline sahip olduklarını ortaya koymaktadır (Hechto ve Hoffmann, 1988).

Bir kısım kimyasal maddeler doğrudan hedef hücrelerine etki ederken, diğer bir kısmı metabolik yolda reaktif elektrofilik formlara dönüşerek kanser oluşumunda etkili olabilir. Ayrıca kimyasal maddelerin karsinojenik etkileri çeşitli faktörlere ve canlının türüne göre değişebilir. Örneğin; sürekli aflatoksin B_1 ile beslenen kemirgenlerde karaciğer tümörü oluşurken aynı şekilde beslenen farelerde bu oluşum gözlenmez.

Kanserojen maddelerin; cinsiyet, yaş, çevre gibi bir kısım faktörler nedeniyle canlı türlerinde farklı etkiye sahip oldukları bilinmektedir. Kimyasal maddenin dozu ve veriliş şekli diğer bir önemli faktör olarak kabul edilir. Kimyasal maddelere maruz kalma süresi de etkili olan bir diğer faktör olup, insanlarda kanser genelde orta yaştan sonra ortaya çıkan bir hastalık olarak kabul edilir (Tannock ve Hill, 1992).

2.8.2.3. Virüsler

DNA ve RNA virüslerinin, sağlam hücrelerin kanser hücrelerine dönüştürülmesinde kısmen rol oynadıkları bilinmektedir. En çok çalışılan virüsler *Simian virüs* 40 (DNA virüsü) ve *Rous Sarkoma* virüsleri (RNA virüsü) olup, virüsler neoplastik gelişmelerde hücreleri enfekte ederek ve onların DNA'larında bir kısım kalıtsal değişimlere neden olarak etkili olurlar. Bilindiği gibi çoğu virüsler konakçı hücre genomuna entegre olmadan litik olarak çoğalırlar, ancak bazı durumlarda hücrenin genomuna entegre olabilirler. Bu durumda viral gen, konakçı hücrenin DNA replikasyon mekanizmasını aktive ederek hücreyi S-fazına yöneltir ve hücrenin tekrar tekrar bölünmesine yol açabilir. Buna bağlı olarak viral gen bir onkogen gibi etki ederek konakçı hücrenin neoplastik değişime uğramasına neden olabilir (Tannock ve Hill, 1992).

2.8.2.4. Onkogenler

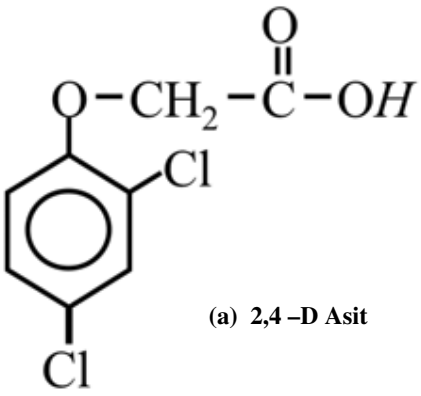
Onkogenler hücrelerde normalde bulunan proto-onkogenler olup, bunların virütik veya kimyasal bir nedenle mutasyona uğrayarak normal görevlerini yapamamaları sonucu neoplastik aktiviteye yol açmalarına neden olabilirler. Proto-onkogenler, nokta mutasyonu, kromozomal translokasyon yada viral genlerin etkileri ile değişime uğratılarak aktif yada inaktif özellik kazanabilirler. Herhangi bir proto-onkogenin baz dizilişi değişime uğradığında, genin şifrelediği protein ürünü kusurlu olarak sentezlenir. Örneğin, ras proto-onkogen grubunda bulunan bir tek bazın değişimi sonucu hücre sürekli sinyal oluşturacak şekilde uyarılabilir ve sonuçta hücrelerin farklılaşmayı veya büyümeyi durdurmasını kontrol eden sinyallerin tanınmamasına neden olabilir (Yıldız, 2004:Tannock ve Hill, 1992).

2.9. Çalışmada Kullanılan Pestisitler

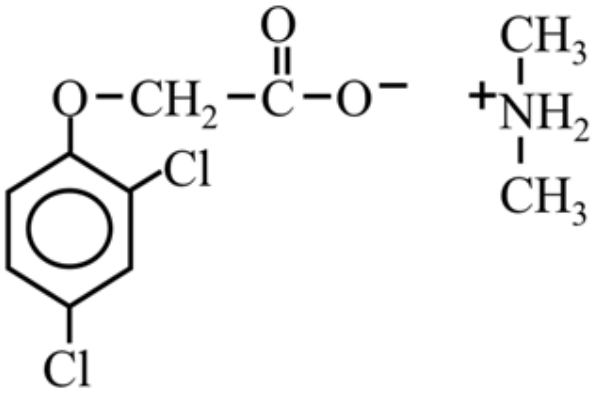
İstenmeyen bitkiler ve yabancı otları yok etmek için kullanılan zirai ilaçlara 'herbisit' ismi verilmektedir. Herbisitler bitkilerdeki etkilerine göre; non-selektif herbisitler (seçici olmayan) ve selektif herbisitler (seçici) şeklinde ikiye ayrılırlar. Non-selektif herbisitler bütün bitki türlerini etkilerken, selektif herbisitler ise belirli bir bitki türü için toksik özellik taşıyan, diğerleri için toksik özellik içermeyen herbisitlerdir (Ecevit ve ark., 1999). Yapılan bu çalışmada; selektif herbisitlerden Klorofenoksiasetik grubunda yer alan 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisiti ile içerisinde 2,4-D asitin de bulunduğu pestisit üreten bir fabrikadan alınan ham atık suyun (ekosisteme arıtılmadan verilmesi durumunda) ekotoksik ve/veya kanserojenik etkisi araştırma konusu olarak seçilmiştir.

2.9.1. 2,4-D asit (2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester)

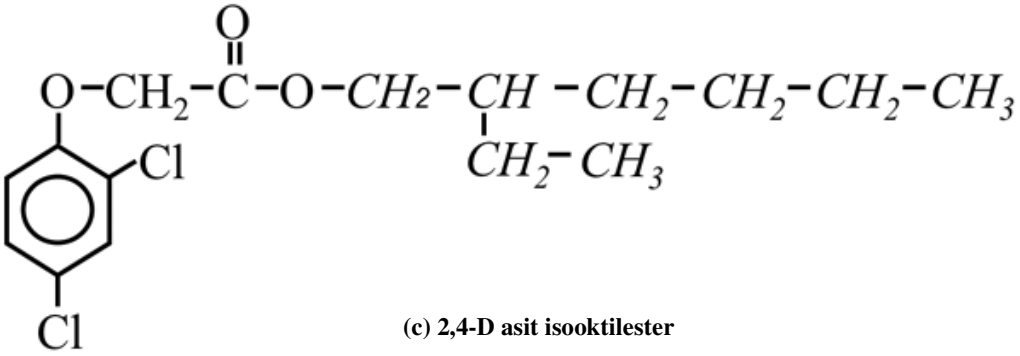
2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit) ilk kez bitki büyüme regülatörü olarak 1942 yılında Zimmerman ve Hithoock tarafından geliştirilmiş ve herbisit olarak 1944 yılında Hammer ve Tukes tarafından kullanılmıştır (Yönten, 2006). 2,4-D, fenoksialkanoik asit herbisitlerden olup yaygın bir kullanım alanına sahiptir (Vroumsia ve ark., 2005; Güngör, 2007). 2,4-D asit, 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester'in kimyasal yapısı aşağıda Şekil 2.6'da verilmiştir.



(a) 2,4 –D Asit



(b) 2,4-D asit dimetilamin tuzu



(c) 2,4-D asit isooktilester

Şekil 2.6. 2,4-D asit (a), 2,4-D asit dimetilamin tuzu (b) ve 2,4-D asit isooktilester'in (c) kimyasal yapısı (Hager, 2007)

Aslında, hormonların biyolojik aktivitesine benzer organik bileşikler geliştirmek istenirken 2,4-D etkili herbisitler bulunmuştur. Bu bileşiği bulan Zimmerman ve Hitchcock bu maddenin herbisit özelliğini bilmeden büyüme hormonu olarak rapor etmişlerdir. Bu araştırıcılar yapmış oldukları tarla denemelerinde 2,4-D'lerin geniş

yapraklı yabancı otlara karşı etkili olduğunu ve selektif özelliğini bulmuşlardır. Ancak, bu araştırmalar bir süre gizli tutulmuştur (Ecevit ve ark., 1999). Çünkü Amerika; tarımsal amaçlar dışında, Vietnam savaşında 2,4-D ve 2,4,5-T karışımını bitki örtüsünü kurutmak için kullanmıştır (Westing, 1979). 2,4-D, klorofenoksi bileşikler grubundan olup, beyaz pudra halindedir. Asit, ticari olarak kendi başına kullanılamaz. Genellikle amin ve ester tuzları olarak kullanılır. 2,4-D'nin ester formu, buharlaşma ile kaybedileceğinden amin tuzlarının kullanımı daha yaygındır. Ayrıca, kil ve organik madde miktarı yüksek olan topraklarda, herbisit konsantrasyonunda absorbsiyon nedeni ile yüksek tutulması gerekir. Her iki form da geniş yapraklı yabancı otlara etkilidir, ancak ester formu uçucudur. Bu sebeple karışık tarım yapılan alanlarda kullanılması tavsiye edilmez. Rüzgâr yardımıyla uçarak buğday ekili alanların yanında bulunan diğer kültür bitkilerine zarar verebilir. Karadeniz, Marmara, Ege ve Akdeniz Bölgelerinde karışık tarım yapıldığı için kullanılmamalıdır. Ester formları, geniş alanlarda hububat tarımı yapılan Orta, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde tercih edilmelidir. Ester formlarının yabancı otlara etkililikleri daha yüksektir. Amin formları daha az etkili olmakla birlikte, uçucu olmamaları sebebiyle karışık tarım yapılan alanlarda güvenle kullanılabilirler (Tepe, 1997). Bu herbisit ile ilgili bilgiler ve farklı formlarının genel özellikleri aşağıda Çizelge 2.6'da verilmiştir (Yalçınkaya, 2006).

Çizelge 2.6. 2,4-D'nin farklı formlarının genel özellikleri (Koca, 2001)

2,4-D Formu	Sudaki Çözünürlüğü	Yağdaki Çözünürlüğü	Su ile Karıştırıldığındaki Görünümü	Buharlaşabilmesi
2,4-D asiti, saf	Çözünmez	Çözünmez	Süt gibi (Sütümsü)	Tehlikeli değil
Amin tuzu	Çözünür	Genelde çözünmez	Temiz	Tehlikeli değil
Sodyum Tuzu	Orta Çözünürlük	Çözünmez	Temiz	Tehlikeli değil
Esterle buharlaşabilen formu	Çözünmez, fakat emülsiyonlaşabilir	Çözünür	Süt gibi	Buharlaşabilir

2.9.2. 2,4-D'nin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri

2,4-D beyaz-sarı renkte pul, toz, kristal ve katı madde halinde bulunabilir, fenolik aromaya sahiptir (Walters, 1999). Fenoksiherbisitler, ticari preparatlarda amin, ester ve tuzları türevlerinde bulunabilirler. Bununla beraber etkin maddesi serbest asit formudur (Sota ve ark., 2003; Güngör, 2007). 2,4-D'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 2.7'de verilmiştir.

Çizelge 2.7. 2,4-D'nin fiziksel ve kimyasal özellikleri (Güngör, 2007)

Molekül Formülü	C8H6O3Cl2
Molekül Ağırlığı	221.04 g/mol
Suda Çözünürlüğü	900 mg/L
Erime Noktası	138 °C
Kaynama Noktası	160 °C
Buhar Basıncı	0 mm Hg (20°C) 1.4x10-7 mm Hg (25 °C)
pKa	2.3

2,4-D'nin bir üyesi olduğu klorlanmış fenoksi asetik asit türevleri (esterler ve aminler) en genel ve en geniş alanda kullanılan herbisitlerdir. Bu herbisitlerin yaygın kullanımı yabani otların mekanik ayıklanmasının yerini almıştır (Khalil, 2003). Bitkiler 2,4-D'yi, uygulamadan sonraki 4 ila 6 saat içerisinde absorblar. 2,4-D yabani otların kök ve sürgün büyüme noktalarında birikerek büyümeyi inhibe eder (Kwan ve Chu, 2004; Shankar ve ark., 2006; Güngör, 2007). Biyolojik özellikleri göz önüne alındığında kullanım yerleri; geniş yapraklı otlar (Sarıot, Gökbaş, Hardal, Köygöçüren, Pelemir, Akhindiba, Arap Baklası, At Kuyruğu, Ballıbaba, Çoban Çantası, Çoban Değneği, Demir Dikeni, Dön Baba, Düğün çiçeği, Fare kulağı, Gelincik, Güneş Çiçeği, Kavancı Otu, Sirken, Kekre, Mürdümük, Papatya, Pıtrak, Sığır dili, Tarla Sarmaşığı, Tas Yoncası, Tavşan Ekmeği, Turna Gagası, Yabani Tere, Yapışan Otu, Kanarya Otu, Yemlik, Zühre Tarağı)'dır. 2,4-D bitkilere kök ve yaprakları sayesinde alınır, bunu takiben floem sayesinde yukarılara taşınır (U.S. EPA, 1989). Yalçınkaya (2006) 2,4-D'lerin uygulandıktan sonra 2-4 hafta boyunca toprakta kaldığını, Öztürk (1997) ise 2,4-D'lerin 1-18 ay arasında toprakta kalabildiklerini belirtmiştir.

2,4-D'lerin topraktaki yarılanma ömürlerinin U.S. EPA (2005) tarafından 6.2 gün olduğu, Griffin (2005) tarafından ise 10 gün olduğu bildirilmiştir. 2,4-D'lerin toprakta *Agrobacterium* ve *Pseudomonas gibi* farklı mikroorganizmalar tarafından parçalanabildiği, bu parçalanma esnasında 2,4-D'lerin önce 2,4-Dichlorophenol, sonra 4,6-Dichlorocatechol ve son olarak da herbisit özelliği olmayan α-chloromuconic asit oluştuğu bildirilmiştir (Rao, 1999). Diğer hususlar ise aşağıda belirtilmiştir:

Güvenlik; tozları teneffüs etmemeli ve deri ile temas etmemelidir. Uygulamada dikkat edilecek hususlar; rüzgâr hızı düşük olduğu zaman ilaçlama yapılmalı, ilaç taneciklerinin hassas bitkilere kadar gitmemesine özen gösterilmelidir. Dekara atılacak aktif madde doğru hesaplanmalıdır. Ekipmanın temizlenmesi; ekipmanı %1'lik amonyak ile doldurup 12-24 saat bıraktıktan sonra kuvvetli bir deterjan veya Na_3PO_4 maddesi ile iyice yıkamalıdır. Daha sonra kurutup birkaç defa temiz su ile çalkalanmalıdır. Topraktaki birikimi; çeşitli şartlara bağlı olarak 3-4 haftadan 3-4 aya kadar toprakta kalır. Depolanması ve nakliyatı; gübre, tohum, insektisid ve fungusitlerle birlikte muhafaza edilmemelidir (Öden, 1962; Hektaş, 1995; Yalçınkaya, 2006).

Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO) 1975 yılında pestisit formülasyonlarına sınırlamalar getirmiş ve kullanım alanı esasına göre 5 farklı formülasyon kategorisi belirlemiştir. Çizelge 2.8'de pestisitlerin bu kategorilere göre sınıflandırılması görülmektedir. Birinci ve ikinci kategoride bulunanlar sadece lisans sahibi uygulayıcılar tarafından ve çok sıkı gözetim altında kullanılabilen pestisitlerdir. Üçüncü kategoridekiler ise ticari uygulayıcılar tarafından kullanılabilirler. Araştırma konumuz olan 2,4-D'nin de içinde bulunduğu dördüncü ve beşinci kategoridekiler ise çok özel amaçlar için izin verilenlerdir (Cuci, 2005).

Çizelge 2.8. Ekonomik önemi olan bazı pestisitlerin formülasyonlarının kullanım kategorileri (Kolankaya ve Akay, 2000)

Kategori 1	Kategori 2	Kategori 3	Kategori 4	Kategori 5
-	Aldicarp	Carbufuran	Carbaryl	Carbaryl
	Carbufuran	Diazinon	2,4-D	2,4-D
	Demeton-S- Methyl	Demeton-S- Methyl	DDT	DDT
			Diazinon	Diazinon
	Methomyl	Dimethoate	Dimethoate	Endosulfan
		Endusulfan	Endosulfan	Fenitrothion
		Lindane	Fenitrothion	Lindane
		Methomyl	Lindane	Malathion
		Parathion	Malathion	Paraquat
		Parathion-Methyl	Paraquat	Thiram
		Thiram	Parathion	Ziram
		Ziram	Thiram	
			Ziram	

2.9.3. 2,4-D'nin absorbsiyonu, dağılımı ve atılımı

Bazı klorofenoksi asitler, tuzları ve esterleri; deride, gözlerde, solunumda ve gastrointestinal yapıda tahrişlere sebep olur. 2,4-D'nin absorbsiyonu aşağıda verilmiştir.

2,4-D gastrointestinal bölge tarafından iyi bir şekilde absorbe edilmektedir. Bu bileşiklerin akciğerler tarafından absorblanması daha düşük seviyededir. Deriden absorbsiyonu ise minimum miktarlarda olur (Arnold ve ark., 1989). 2,4-D'nin akciğer ve deriden bileşikleri absorblanabilir (EXTOXNET., 1996). Klorofenoksi bileşiklerinin yağ yapılarda birikiminden anlamlı bir şekilde söz edilmez.

Altı-sekiz saat arasında 2,4-D'den 1 mg/kg uygulanan domuzların kan, karaciğer, böbrek ve akciğerlerinde ve sıçanların dalaklarında 2,4-D birikimi gözlenmiştir. Kas ve beyinde ise düşük seviyede gözlenmiş olup aradan 24 saat geçtiğinde ise dokularda ilaca rastlanmamıştır. Sadece altı gün daha eser miktarda hayvanların lâktaz asidinde gözlenebilmektedir. 2,4-D sıçanlarda ve domuzlarda doğrudan plasentaya geçer. Sıçanların uterus, plasenta, fetus ve amniyonik sıvılarında %20 oranında 2,4-D maddesi tespit edilmiştir. Tavukların yumurtalarında düşük seviyelerde gözlenir (EXTOXNET., 1996; U.S. Nat., 1995). 2,4-D çoğu türde oral doz uygulamasından sonraki 8 saat içinde yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır (Erne, 1966a). 2,4-D nin 5 mg/kg vücut ağırlık dozunun verildiği insanlarda absorbsiyonu tam ve hızlıdır. Plazmada yüksek seviyenin, bir çalışmada 4 saatten sonra meydana geldiği belirtilirken, benzer bir çalışmada da 7 saat içinde meydana geldiği belirtilmiştir (Kohli ve ark., 1974; Sauerhoff ve ark., 1977). Gebe memelilerde herbisitin tek dozunun %17'si plasentaya geçerek embriyoya ulaşabilmektedir (Lindguist, 1971).

2,4-D ve formlarının balıklarda oluşturduğu toksik etki diğer sucul canlılara verdiği etkiden bir hayli yüksektir. Örneğin, alabalık türlerinde LC_{50} konsantrasyonu aralığı 1.0 ile 100 mg/L arasındadır ve çoğunda ani ölümler oluşturmuştur. Kanal yayın balıkları 10 mg/L doza tabi tutulduğunda 48 saat içinde popülasyonun %10'unda ölümler gözlenmiştir (EXTOXNET., 1996; Stevens ve ark., 1991). Pervane balığına (*Mola mola*) 110 mg/L doz uygulandığında yüzme hareketlerinde bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Bazı yavru yengeç türlerinde 85 gün boyunca uygulanan 10 mg/L doz herhangi bir etki oluşturmamıştır. Ergin bireylerinde ise 96 saatlik LC_{50} dozundan 10 mg/L daha fazlası hafif bir toksik etki göstermektedir. Kahverengi

karideslerin 48 saat boyunca 2 mg/L'lik doza maruz bırakılmaları sonucunda ölüm oranında küçük bir artış gözlenmiştir (EXTOXNET., 1996; U.S.Nat., 1995).

Sonuç olarak; 2,4-D'nin gastrointestinal sistemden iyi bir şekilde absorblandığı, bileşiklerinin ise akciğer ve deriden daha kolay absorblanabildiği bildirilmiştir. Sucul canlılarda özellikle balıklarda yüksek toksik etkiye sahip olduğu fakat diğer sucul canlılarda, örneklerden de anlaşılacağı gibi daha az toksik etki yarattığı izlenmektedir. 2,4-D'nin dağılımı ise aşağıda verilmiştir.

Suda çözünürlük oranı yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu yüzden de vücutta dağılımı yüksek oranlarda gerçekleşmektedir. Sucul canlılarda 2,4-D konsantrasyonu uygulamadan hemen sonra genellikle yüksek konsantrasyonlara ulaşmakta ve dağılımı oluşmaktadır (Wang ve ark., 1994). Yılan balığının bulunduğu Prens Edward Adası ve New Brunswick çayırlarında 2,4-D'nin uygulanması sonrası sudaki seyrelmesi 20 günü bulmaktadır (Thomas ve Duffy, 1968). Erne ve arkadaşları (1966b), klorlandırılmış fenoksiasetik asidin hayvanlardaki emülsiyon dağılımı hakkında bilgi vermiştir. Çin'deki dört nehirde yapılan çalışmada, uygulanan herbisitin %80'inin 56 gün sonra da suda bulunduğu gözlemlenmiştir (Wang ve ark., 1994). 2,4-D; direkt uygulanan su kütlelerinde 61 ppm ve yukarısında bulunmasına rağmen göl ve kaynak sularındaki konsantrasyonu 1 ppm den daha düşük değerlerde bulunmuştur. U.S. EPA kriterlerine göre içme sularında 0,1 ppm civarındaki miktarlar müsaade edilebilir sınır olarak ABD'de kabul edilmiştir (U.S. EPA, 1989; Que ve ark., 1981). 2,4-D için Dünya Sağlık Örgütü kabul edilebilir günlük alım miktarı 300 µg/kg/gün'dür. (Kamrin, 1997; Nishioka ve ark, 2001). Altı sekiz saat arasında bir sürede 1 mg/kg doz uygulanan domuzların kan, karaciğer, böbrek ve akciğerlerinde ve sıçanların dalaklarında 2,4-D tespit edilmiştir. Kas ve beyinde ise düşük seviyede gözlenmiştir (EXTOXNET., 1996). Bu maddenin kandaki serum proteinlerine bağlanma rasyosu, dağılımın belirlenmesinde önemli bir faktör olmaktadır (Erne, 1966b). 2,4-D'nin kan ile dokular arasındaki konsantrasyonu ve in vitro ortamda proteinlere bağlanma afiniteleri arasında sıkı bir ilişki söz konusudur (Fang ve ark., 1980). 2,4-D'nin atılımı ise aşağıda verilmiştir.

2,4-D'nin atılımı tüm türlerde idrar yoluyla gerçekleşmektedir. İnsan vücudundaki ortalama yarılanma süresi 13-39 saat arasındadır. 2,4,5-T'nin yarılanma süresi ise 24 saattir. Atılımında alkaliniteyi arttırdığı öne sürülmektedir. Yüksek dozlarda ve ileri zehirlenmelerde yarılanma ömrü de uzamaktadır (Keller ve ark., 1994; Ftiesen ve ark., 1990; Prescott ve ark., 1979). 2,4-D'nin 5 gün sonrasında insan vücudundan tamamının idrarla atıldığı bildirilmiştir (Feldman ve ark., 1974). Çok

yoğun zehirlenmelerde bilinç kaybı yaşanabilir ama toksik maddenin idrarla dışarı atılmasını takip eden 48-96 saat içinde bilinç yerine gelmektedir (Ftiesen ve ark., 1990; Prescott ve ark., 1979; Flanagain ve ark., 1990; Yalçınkaya, 2006).

2.10. 2,4-D İle Yapılmış Toksikolojik Araştırmalar

2,4-D'lerin bir kısım biyokimyasal parametrelerin değişimine neden olduğu, oksidant aktiviteye sahip oldukları, insan eritrositlerinin 250 ve 500 ppm 2,4-D ile muamele edilmesi sonucu, kanda glutatyon ve superoksit dismutaz seviyesinde azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir (Bukowska, 2003). Çömelekoğlu ve ark. (2000) tarafından İçel ili ve çevresi tarım alanlarında çalışan (16,52±6,92 yıl) ve pestisitlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinden (n=40) kan örnekleri alınmış ve bu örneklerden elde edilen eritrositlerde antioksidan savunma sistemi enzimlerinden süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) aktiviteleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Aynı ölçümler pestisidlere doğrudan maruz kalmayan kişilerde de yapılmıştır (n=30). Tarım işçilerinde eritrosit SOD düzeyi kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunurken ($p<0,001$), CAT aktivitesinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p<0,001$).

İnsanlar ile ilgili yapılan çalışmalarda; insanlarda mideye alınmasından sonra oluşan toksik etkiler araştırılmıştır (Schmoldt ve ark., 1977). 2,4-D'nin eritrosit, lökosit ve kırmızı kemik iliği hücrelerinde sayı ve biçim değişikliğine, hemoglobinde ise miktar değişikliğine neden olduğu gözlemlenmiştir (Halliop ve ark., 1980). Bu madde ile insanlar üzerinde yapılan çalışmalar ışığında iki tür kansere yol açtığı belirlenmiştir. Bunlar yumuşak doku sarkoması ve Non-Hodgkin Lenfomalar (NHL)'dır. Non-Hodgkin Lenfomalar (NHL), değişik davranış şekilleri gösteren ve tedaviye yanıtları farklı olan heterojen bir lenfoproliferatif hastalık grubudur. Hodgkin hastalığı gibi NHL'de genellikle lenfoid dokudan köken almaktadır ve diğer organlara yayılabilmektedir. Fenoksiasetik asit içeren herbisitlere maruz kalma ve Non-Hodgkin lenfomanın gelişmesi arasındaki ilişki, İsveç, Yeni Zelanda, Kansas; Washington, Nebraska, Iowa ve Minnesota'da incelenmiştir.

2,4-D'ye kronik olarak maruz kalan işçiler üzerinde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, 2,4-D grubu pestisitlere uzun süreli maruz kalmanın bir kısım organlarda kanser oluşumuna neden olabileceğini ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalar 2,4-D türevi herbisitlerin kullanımı ile yumuşak doku sarkoması oluşumu arasında bir ilişkinin

olduğunu ortaya koymaktadır (Vineis ve ark. 1986; Woods ve Polissar, 1989). Vineis ve ark. (1986) 2,4-D grubu pestisitlerin kullanıldığı bölgelerde pirinç ekimi yapan bayan işçilerde yumuşak doku sarkomasının normale göre daha yüksek olduğunu öne sürmüşlerdir. Zahm ve ark. (1990) 2,4-D türevi ilaçları tarımsal alanlarda uygulayan işçilerde bir lenfoma türü olan Hodgkin olmayan lenfoma oranının normal populasyonlara göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır. Coggon ve ark. (1991) 2,4-D grubu herbisitlere maruz kalan işçilerde değişik kanserlerin meydana geliş riskinin kısmen artış gösterdiğini öne sürmüştür. Lynge (1985) Danimarka'da 2,4-D herbisiti üreten iki fabrikada on yıl ve daha üzeri bir zaman diliminde çalışan işçiler üzerinde yaptığı epidemiyolojik araştırmalarda Malignant lenfoma oranının normal populasyonlara göre daha yüksek olduğu sonucuna ulaşmıştır.

Nishioka ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada; 2,4-D herbisiti çimlere uygulandıktan 1 hafta önce ve sonrasında 11 adet (içinde oturulan) ve 2 adet de boş tutulan evlerin iç yüzeyinde oda zeminini süpürerek (odada, masa üstünde, pencere kenarlarında) numuneler almış ve 2,4-D kalıntılarını ölçmüştür. Ölçüm sonucunda; evin içerisinde 2.5-10 μg partikül boyutunda 2,4-D tespit edilmiştir. 2,4-D uygulamasından sonra evde bulunan genç çocukların beslenme yolu ile masa üzerinden 0,2-30 μg/gün ve odadan 1-10 μg/gün 2,4-D alabileceği tespit edilmiştir. Bu oranın ilk uygulamada 10 kat daha da fazla artabileceği belirtilmiştir.

Avusturalya çiftçilerinde bireysel olarak herbisid sprey kullanımı ile koroner ektazi arasında ilişki kurulmuştur. Herbisidlerde yaygın olarak kullanılan 2,4-D (dichlorophenoxy acetic asit) ve 2,4,5-T (trichlorophenoxy acetic acid) bir asetilkolin esteraz inhibitörüdür. Bu ajanlara uzun süre maruz kalınması koroner intertisyumunda Ach konsantrasyonunu kronik olarak artırmaktadır (Özaydın ve ark., 2007).

Bir diğer çalışmada, canlılarda 2,4-D'lerin testostoeron salgısının azalmasına neden olduğu, buna karşılık testikular dokudan östrojen salgılanmasını, progesteron ve prolaktin salgılarını artırdığı, mestrual siklusta anormalliklere neden olduğu saptanmıştır. Ayrıca erkek ilaç püskürtücülerde (sprayer) sperm sayısının azaldığı, şekillerinde anormalliklerin meydana geldiği gözlenmiştir (Lerda ve Rizzi, 1991). Bir diğer çalışmada bu herbisitleri uygulayan işçilerde prostat kanseri riskinin arttığı gösterilmiştir (Morrison ve ark., 1993). Yapılan çalışmalar güneş ışığının 2,4-D grubunun deriden alınımını artırdığını göstermiş olup (Windheuser ve ark., 1982), fareler üzerinde yapılan bir deneyde bu absorbsiyonun gün ışığında normalin çok üzerinde olduğu saptanmıştır (Brand ve ark., 2002). Kırsal alanda yaşayan çocukların

tarımsal alanlarda bu herbisite maruz kaldıkları bilinmekte olup, çocukların derilerinin daha yumuşak ve nemli olması nedeni ile erişkinlere göre pestisitlerden daha fazla etkilenmelerinin söz konusu olduğu öne sürülmüştür (Fenske, 1997).

2,4-D'nin dermal yoldan verilmesi durumunda sıçanlardaki farmokinetik profilin, oral uygulamadakinden farklı olduğu gösterilmiştir. Dermal uygulamanın ardından 2-8 saat arasında kandaki konsantrasyon sabit bir düzeye ulaşarak hızlı bir düşüş göstermektedir. İnsanlarda 2,4-D ve metabolitleri idrar yoluyla dışarı atılmaktadır. Sağlıklı erkeklere 5 mg/kg dozda süt veya suya karıştırılarak uygulanan 2,4-D'nin absorbsiyonu için t1/2 değeri 3,8 saattir. 2,4-D tuzunun ve esterlerinin *in vivo*'da asidik veya enzimatik hidrolizi sonucu 2,4-D asidi oluşmaktadır. Sıçanlara deri altından 2,4-D'nin butil esterinin enjekte edilmesinin ardından taurin ve glisin konjugatları idrarda belirlenmiştir. 2,4-D esterlerine maruz kalan işçilerin bazılarının idrarında asit tarafından hidrolizlenebilen konjugatlar bulunmuştur (Garabrant ve Philbert, 2002).

Solunum veya ciltten emilim sonucu 2,4-D'ye maruz kalma durumunda gastrointestinal ve periferal nöromasküler semptomlar rapor edilmiştir. Mide bulantısı, kusma, anoreksi, kas zayıflaması, kaslarda acı ve kramp, halsizlik, karın ağrısı, taşikardi gibi bulgular hastalar üzerinde saptanmıştır (Bradberry ve ark., 2000; Güngör, 2007).

Belirtilen nedenlerden dolayı 2,4-D grubu pestisitler bazı ülkelerde standart zehir olarak kabul edilmiş olup, bu pestisitin tüm formülasyonlarının zehir etkisine sahip olmamasına rağmen en azından bir kısmının ve bunların bileşenlerinin zehir etkisine sahip oldukları öne sürülmüştür. Bu pestisitlerde bulunduğu bilinen ve pankreasta neoplastik değişimlere yol açabildiği gösterilen dioksinin (2,3,7, 8-TCDD) 2,4-D grubu pestisitlerde 0,7 µg/kg seviyesinde veya daha az miktarda bulunduğu (U.S. EPA., 1944) belirtilmiştir.

İnsanda 2,4-D grubunun ağız yoluyla alınması durumunda sindiriminin hızlı olduğu, alınan miktarın % 73'ünün uygulamadan yaklaşık 48 saat sonra idrarla dışarı atıldığı (Khanna ve Fang, 1966), deriden absorbsiyonun %5,8 seviyesinde olduğu (Harris ve Solomon, 1992) tespit edilmiştir. 2,4-D grubuna ait pestisidlerin ağız ve deri yoluyla alınması durumunda hafif toksik etkiye sahip oldukları, insanda oral LD_{50} değerinin 400-2000 mg/kg/vücut ağırlığı/gün, deriden alınma durumunda ise LD_{50} dozunun 2000 mg/kg/vücut ağırlığı/gün değeri civarında olduğu gösterilmiştir (Myer, 1981). Sıçanlarda 2,4-D'lerin ağız yoluyla alınımından üç saat sonra kanda, altı saat

sonra ise böbrek, karaciğer, dalak ve akciğerde maksimum seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir (FAO., 1975).

Alexander ve ark.'ı (2007) yapmış olduğu araştırmada; çiftlikte yaşayan 2,4-D herbisitine maruz kalan çiftçi aile bireylerinde 2,4-D asit miktarını araştırarak sistemik doz tahmini yapmıştır. İncelemeye konu olan, çiftlikte yaşayan aileler Minesota ve Güney Carolina da lisanslı uygulayıcılardan seçilmiştir. Çiftlikte yaşayan aile üyelerinden 2,4-D uygulanmadan 1 gün önce ve 2,4-D uygulamasından 3 gün sonra 24 saat aralıklarla idrar örnekleri alınmıştır. Medyan idrar 2,4-D konsantrasyonları, 2,4-D uygulanmasından sonra uygulayıcılar için 2,1 ve 73,1 microg/L'dir. Çocuklar için 1,5 ve 2,9 microg/L ve eşlerde 1,2 microg/L bulunmuştur. Geometrik ortalama sistemik doz (kilogram vücut ağırlığı başına mikrogram), uygulayıcılarda 2,46 microg/L, eşlerde 0,8 microg/L, 4-11 yaş arasındaki çocuklarda 0,32 microg/L, 12 yaş veya daha büyük çocuklarda 0,12 microg/L, bütün çocuklarda 0,22 microg/L olarak bulunmuştur. U.S. EPA.'nın (2002) belirlediği referans doz (RfD) ise 0,01 mg/kg/gün veya 10 µg/kg/gün'dür. Yine sıçanlarda 2 yıl boyunca yapılan biyodeneylerde 1,0 mg/kg/gün dozda zararlı etkisinin gözlenmediği belirtilmiştir. Türkiye'de 2,4-D grubu herbisitlere üretim ve ilaçlamada çalışmaları nedeni ile maruz kalan 28 kişinin idrar analizlerinde ise 0,06-9,51 ppm arasında 2,4-D saptanmıştır (Vural ve Burgaz, 1984).

2,4-D'lerin oral LD_{50} dozunun F344 sıçanlarında 607 (dişi)-726 (erkek) mg/kg/ vücut ağırlığı/gün olduğu, sınır değerlerin yaklaşık erkekler için 536-726 mg/kg/vücut ağırlığı/gün, dişiler için 424-840 mg/kg/vücut ağırlığı/gün olduğu saptanmıştır (Gorzinski ve ark., 1987). Ayrıca sıçanlarda farklı deney modellerinde initiatör (kanser başlatıcı)-promotor (kanser artırıcı) maddeler uygulanarak 2,4-D'lerin kanserojen özelliklerinin bulunup bulunmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla iyi bir kanser başlatıcı olarak bilinen tek doz dinitroetilnitrozamin *(i.p)* sıçanlara enjekte edilmiş ve kanser artırıcı özelliği bilinen bir diğer madde 2-asetil-aminoflorinli bir diyetle hayvanlar iki hafta süresince beslenmiş, daha sonra sıçanlar 28 hafta süresince normal diyetle beslenerek sıçanların karaciğerleri hepatokarsinoma yükü bakımından incelenmişlerdir. Sonuçta; deneyde kullanılan sıçanların diyetlerine karıştırılan 2,4-D miktarının 45 mg/kg/vücut ağırlığı/gün ve daha az olması nedeniyle sıçanların karaciğerlerinde herhangi bir karsinomaya rastlanmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Sıçanların 90 gün süresince 1-300 mg/kg/gün/vücut ağırlığı esasına göre 2,4-D'lerle beslenmeleri durumunda ise 100 mg/kg/gün/vücut ağırlığı ve üzeri dozlarla beslenen sıçanların vücut ağırlıklarında azalma, organ ağırlıklarında değişim, karaciğerinde bir kısım

histopatolojik bulgulara rastlanmıştır (McClintock ve Gollopudi, 1990). Bir diğer deneysel çalışmada ise Jefries ve ark. (1995) iki yıl süresince fareleri 15 ve 45 mg/kg/vücut ağırlığı/gün içeren 2,4-D diyetleri ile beslemişler ve bu farelerin böbrek ve karaciğerlerinde bir kısım lezyonlarının arttığını gözlemlemelerine rağmen herhangi bir karsinogenik yapıya rastlamamışlardır.

Ar ve ark.'ı (2001) yapmış olduğu çalışmada; 2,4- Diklorofenoksiasetik asit dimethilamin tuzu'nun (2,4-D DMA) anne sütünde bulunması halinde çocukların dişlerinin gelişimsel bozukluğa yol açıp açmadığını sıçanlar üzerinde deneysel olarak araştırmışlardır. Gebe sıçanlara günlük 2,4-D DMA'dan; 0 ppm (kontrol grubu A), 25 ppm (B grubu), 50 ppm (C grubu) ve 100 ppm (D grubu) oranlarında verilmiştir. Genç sıçanlarda, kontrol grubu haricindeki diğer gruplarda dişlerde gelişimsel bozukluğa yol açabileceğini göstermiştir.

Sulik ve ark. (2002) doğum öncesi ve doğum sonrası 2,4-D herbisitine maruz kalan sıçanların böbreklerindeki histolojik değişiklikleri incelemiştir. Deneylerde her iki cinsten olmak üzere 18 adet kontrol grubundan ve 42 adet de deney grubundan 60 adet Wistar türü sıçan kullanılmıştır. Kontrol grubu normal su ile deney grubunda bulunan anne sıçanlar ise emzirme, gebelik boyunca ve döllenmeden 2 ay öncesine kadar içme sularına günlük 250 mg/kg oranında 2,4-D asit sodyum tuzu verilerek beslenmiştir. 24 saat, 4 hafta, 6 hafta ve 10 haftalık iken incelenmek üzere öldürülmüşlerdir. Araştırma sonucunda 2,4-D asit sodyum tuzu ile beslenen sıçanların böbrek kanallarında değişiklikler saptanmıştır. Ayrıca, sıçanlarda 2,4-D asit sodyum tuzu böbrek hücrelerine zarar vererek, kılcal damarlarda tıkanıklık ve tübüler mikrofokal kalsifikasyona yol açtığı belirtilmiştir.

Uyanıkgil ve ark. (2009b) yapmış olduğu çalışmada; 2,4-D asitin sıçanlarda böbrek korteksi histolojisi üzerine etkilerini araştırmıştır. 28 gün boyunca sıçanlara oral yoldan 2,4-D asit verilmiştir. Çalışma neticesinde; böbrek cisimciği ve podosit (epitel hücre)'de dejenerasyon, glomerulus içinde vakolizasyon, bazal membran dağılması, doku ödemi, kistik dilatasyon, böbrek cisimciği damarlarında tıkanıklık, böbrek korteksinde histopatolojik dejenerasyonlar tespit edilmiştir.

2,4-D ile yapılan çalışmalarda; 2,4-D'nin fareler, kobaylar, tavşanlarda çeşitli dozların arka arkaya verilmesi durumunda, anoreksiya, ağırlık kaybı, kusma, deride sertleşme, depresyon ve genel bir sinirlilik hali ve adele zayıflığı olduğu tespit edilmiştir (Hayes ve Laws, 1991; Yalçınkaya, 2006).

Bir diğer çalışmada sıçanlar iki yıl süresince 0, 5, 75 ve 150 mg/kg/gün esasına göre 2,4-D içeren diyetlerle beslenmişler ve bu sıçanlardan 75 ve 150 mg/kg/gün'lük dozlarla beslenenlerde besin alınımında ve vücut ağırlıklarında azalma, serumlarında alanin, aspartat miktarı ile aminotransferaz enzimi miktarında artma, karaciğerde, akciğerlerde ve mesenterik yağ bölgelerinde histopatolojik lezyonlar görülmüştür. Bununla birlikte benzeri bir çalışmada, 0, 5, 75 ve 150 mg/g/gün'lük bir dozla iki yıl süresince beslenen sıçanlarda belirgin bir onkojenik farklılaşmanın bulunmadığı belirtilmiştir (Charles ve ark., 1996).

Yapılan bir çalışmada; 2,4-D sıçanlara oral yolla verildiğinde, LC_{50} değerinin 699 mg/kg olduğu, 2,4-D- izopropilinin LC_{50} değerinin 500-805 mg/kg arasında olduğu, 2,4,5-T'nin LC_{50} değerinin ise 3000 mg/kg olduğu bildirilmiştir. 2,4,5-T'nin sentezi sırasında reaksiyon sıcaklığı iyi ayarlanmadığı zaman oluşan 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksin (TCDD)'nin LC_{50} değerinin erkek sıçanlarda 22 mg/kg, dişi sıçanlarda ise 45 mg/kg olduğu tespit edilmiştir. Toksisitenin klorakne, yağ, karbonhidrat ve porfirin metabolizmasında bozukluklar, hiperpigmentasyon, aşırı kıllanma ve sinir sisteminde bozukluklar şeklinde ortaya çıktığı saptanmıştır. 2,4-D ve diğer herbisitlerin vücutla temasının deri, solunum ve sindirim sistemi yoluyla olduğu, bu temaslar sonucu deride, sinir sisteminde ve akciğerlerde iltihaplanmalar, hormon miktarında değişmeler meydana geldiği bildirilmektedir (Hayes ve Laws, 1991; Koca, 1986; Yalçınkaya, 2006). Fukuyama ve ark. (2009) yapmış olduğu çalışmada, pestisitlerin alerjik reaksiyonlara etkisinin olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, 2,4-D asitin solunumla ilgili alerji yapan alerjen bir madde olduğu tespit edilmiştir.

Paulino ve ark. (1996) sıçanlarda 2,4-dichlorophenoxyacetic asit (2,4-D)'in akut, subkronik ve kronik toksisitesini çalışmışlardır. Yapılan çalışmada; hayvanlara 2,4-D oral yol ile akut (600 mg/kg), subkronik (200 ppm –30 gün) ve kronik (200 ppm -180 gün) olarak uygulanmıştır. Akut maruz bırakmadan sonra, hareket aktivitesinde azalma, kaslarda koordinasyon bozukluğu, fonksiyon azalması, kas güçsüzlüğü (arka üyelerde), solunum yetmezliği görülmüştür. Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktaz dehidrogenaz (LDH), alkalen fosfataz (AP), amilaz faaliyetleri ve kreatinin düzeyleri artmıştır. Total protein (TP) ve glukoz düzeyleri azalmış ve hematokrit değerleri artmıştır. Subkronik ve kronik 2,4-D'ye maruz bırakılan sıçanlarda açıkça görülen zehirlenme işaret veya semptomları görülmemiştir. Bununla birlikte subkronik herbisit ile maruz bırakılanlarda AST aktivitesi, albumin ve hematokrit seviyesi yükselmiştir. Kronik doza maruz kalanlarda ise AST, AP VE LDH

değerleri artmış, amilaz ve glukoz seviyeleri düşmüş fakat hematokrit seviyesini değiştirmemiştir. Subkronik veya kronik 2,4-D'ye maruz bırakılmış sıçanlarda makraskopik veya histopatolojik doku bozulmaları kesin bir şekilde gözlenmemişse de, laboratuar sonuçları dozajdan sonra, ilk belirtilerin en başta karaciğer ve kas dokuya zarar verdiğini göstermiştir.

2,4-D grubu pestisitlerin ayrıca sıçanların üreme aktiviteleri üzerinde etkili oldukları bilinmekte olup, 2,4-D'nin 5, 20 ve 80 mg/kg vücut ağırlığı/gün'lük alınımının dişi sıçanlarda vücut ağırlığının azalmasına, böbrek lezyonlarının gelişmesine sebep olduğu gözlenmiştir (Linscombe ve Lick, 1994). Bir diğer çalışmada, hamile Sprague Dawley sıçanlara gavej yöntemiyle mısır yağı karıştırılmış 2,4-D'nin 12.5, 25, 50, 75 ve 88 mg/kg/gün'lük dozları 6-15 gün süreyle uygulanmış olup, sıçanlarda herhangi bir anne ölümüne rastlanılmamasına rağmen hayvanların doğurganlıklarının 50 mg/kg/gün'den daha büyük dozlarla beslenenlerde azaldığı gözlenmiştir. Bir başka çalışmada ise; hamile Fischer 344 sıçanlara mısır yağı ile karıştırılmış 2,4-D pestisiti 8, 25 ve 75 mg/kg/gün esasına göre gavej ile verilmiş, yüksek dozlarda (75 mg/kg/gün) sıçanların vücut ağırlıklarının azaldığı, hayvanların iskelet sisteminde 7. servical ve 14. rudimentari kaburgalarında anatomik değişimlerin olduğu gözlenmiştir (Lochry, 1990). 2,4-D'lerin dermal toksik etkilerinin incelenmesi amacıyla yapılan bir diğer çalışmada ise 2,4-D'lerin 100, 120, ve 1000 mg/kg/gün'lük dozları günlük 6 saat süre ile haftanın 5 günü tavşanlara uygulanmış (toplam 21 gün) ve sonuçta 100 mg/kg/gün ve daha üzeri dozlara maruz kalan tavşanların derilerinde aşırı keratinleşme, akantosis, ödem, ve epidermal hiperplazia'ya rastlanmıştır.

2,4-D'nin sıçanların ovaryum dokusunda dejeneratif değişikliklere neden olduğu görülmüştür. Folikül hücrelerinde atrezi ve yüksek dozlarda ovaryum hasarları oluşmuştur (Biçer, 2005). 2,4-D'nin sıçanların testis dokusu üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada dejeneratif değişiklikler, tunika albuginea kalınlıklarında artan doza bağlı olarak incelmeler gözlemlenmiştir (Özdaş, 2005). Yapılan bir başka çalışmada; oktilfenol ve 17β estrodiyol maddelerine maruz bırakılan lepistes bireylerinin gonadları incelenmiş, bunlarda anne kanalıyla embriyoya geçen ve su yoluyla ergin bireylerin maruz kaldığı toksisitenin ovaryum, testis ve karaciğerde yaptığı hasarlar gözlenmiştir (Kinnberg ve ark., 2002). Nonylphenol ile yapılan başka bir çalışmada bu maddenin erkek gupi bireylerinin testislerinde dişi yumurta oluşumunda önemli işlevi olan vitellogenin adlı proteine olan etkileri incelenmiştir.

Nonylphenol'ün östrojen hormonunu arttırıcı bir etkiye sahip olduğu görülmüştür (Li ve Wang, 2004, Yalçınkaya, 2006).

Amerika'da tarımda kullanılan 2,4-D ve MCPA (4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid)'larında da dahil olduğu herbisitlerin %60'dan fazlasının, hayvanlardaki endokrin ve üreme sistemini bozma potansiyeli olduğu belirtilmiştir (Short ve Colborn, 1999).

Özdaş ve ark. (2006), 2,4-D herbisitinin oral kullanımının sıçan testislerinde oluşturduğu histopatolojik etkilerini incelemiştir. Bu amaçla, yaklaşık 200-250 gr ağırlığında olan Wistar Albino erkek sıçanlar; kontrol, düşük, orta ve yüksek doz olmak üzere her biri 6 sıçan içeren 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu sıçanlara standart pellet yem verilirken düşük, orta ve yüksek doz 2,4-D sırasıyla 20, 40, 80 mg/kg dozda laboratuvar pellet yemlerine emdirilerek 28 gün boyunca oral yolla verilmiştir. Araştırma neticesinde; deney gruplarında dozla doğru orantılı olarak seminifer tübüllerde atrofi, spermatogenik hücre sırasında bozulma ve yüksek doz gruplarında testis hasarları saptanmıştır. Ayrıca, tunika albuginea'da ve seminifer tübül epiteli çapında azalma ve spermatogenik hücrelerin lümene dökülmesine neden olmuştur. Bu sonuçlara göre, 2,4-D testis dokusunda histopatolojik hasara neden olmuştur.

Tavşanlara hamilelik döneminde 2,4-D'nin tuzları ve esterlerinin oral uygulamasının hamileliğin 6-15. günleri arasındaki etkileri incelenmiş olup (Martin, 1992), buna göre annelerde besin tüketiminin azaldığı, ölüm oranının arttığı, teratojenik bir kısım değişimlerin olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte fetüslerde dışardan açıkça gözlenebilen bir gelişim anormalliğine rastlanmamıştır. Ancak yüksek 2,4-D içeren besinlerle beslenen hayvanların iskeletlerinin gelişiminde bir kısım anormallikler gözlenmiştir.

Diğer taraftan, 2,4-D uygulanması sonucu sıçanlarda bir kısım nöropatolojik bulgulara rastlanmış olup, yüksek dozda verilen 2,4-D uygulamalarından sonra sıçanlarda ilk gün yürüme anormallikleri ve koordinasyon bozuklukları görülmesine rağmen bunların sonraki günlerde kaybolduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte uzun süreli (12 ay) 150 mg/kg/gün esasına göre verilen 2,4-D uygulaması sonucu sıçanlarda ön üyelerin kavrama yeteneklerinde azalma şeklinde bir nörolojik etki gözlenmiştir (Anonymous, 1986). 2,4-D ve fenoksi asetik asit'den üretilmiş herbisitlerin kullanımına bağlı olarak Batı Minesota'da insanlarda merkezi sinir sistemi, dolaşım/solunum, ürogenital veya kas ve iskelet anomalileri normalden daha sık görülmeye başlanmıştır (Garry, 1996).

Son yıllarda Hırvatistan'da yapılan çalışmalar, atrazine, malathion, cyanazine ve 2,4-diklorofenoksiasetik asit'in karışımlarının oluşturduğu bileşiklere maruz kalan işçilerde kromozom anomalileri ve kardeş kromatid değişimin frekanslarındaki artışı göstermektedir (Zeljeziç ve Garaj-Vrhovac, 2001; Zeljeziç ve Garaj-Vrhovac, 2002; Garaj-Vrhovac ve Zeljeziç, 2002; Soyöz ve Özçelik, 2003).

Elio (2007) yapmış olduğu çalışmada; kuluçkadan önce tavuk embriyolarını 2,4-D ile muamele etmiştir. Yumurta kabuk zarı içerisine 0, 0,5, 1,2, ve 4 mg 2,4-D enjekte etmiştir. Testlerde saf halde 2,4-D ve ticari formulasyonu %37 olan 2,4-D isooktilester kullanmıştır. Grup başına 22-30 embriyo kullanılarak 4, 7 ve 10 günlükken kardeş kromatid ve hücre döngüsü kinetiği araştırılmıştır. Çalışma neticesinde; 4 mg 2,4-D uygulanan grupta, uygulama yapıldıktan 4 gün sonra küçük dozda ($P < 0,05$) kardeş kromatid değişikliği gözlenmiştir. 2,4-D'ye uzun süre maruz kalmada ise artan oranda kardeş kromatid değişikliği gözlenmiş olup 10 gün boyunca 2 ve 4 mg dozlarda 2,4-D maruz kalmada kontrol grubundan daha yüksekte olduğu belirtilmiştir. 0,5 mg düzeyde 2,4-D'ye maruz kalmada ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır.

Bir diğer çalışmada (Bond ve ark., 1988) 2,4-D'nin üretilmesi, formulasyonu veya paketlenmesi evresinde çalışanların karşı karşıya kaldıkları risk faktörünün saptanması amaçlanmıştır. Çalışma sonucunda, beyin neoplazmasının bu kişilerde normale göre daha fazla olduğunu saptamışlardır. Bununla birlikte Saracci ve ark. (1991) bu herbisitlerin kullanımı ile herhangi bir kanserin artışı arasında bir ilişki olmadığını savunmuşlardır.

Hayvan türlerine göre LD_{50} seviyesinin farklılıklar göstermesine karşın 2,4-D'nin hayvanlar için orta şiddette toksik olduğu söylenebilir (İbrahim ve ark., 1991). Dünya Sağlık Örgütünce memeli hayvanlarda ve kuşlarda 2,4-D'nin teratojenik ve embriyotoksik dozunun 10 ppm olduğu ve öldürücü dozunun ise 100-300 ppm arasında değiştiği bildirilmektedir (WHO., 1984). Örneğin LD_{50} değerleri sıçanlarda ve Kuzey Amerika bıldırcınlarında sırasıyla 764 mg/kg ve 500 mg/kg'dır. Ayrıca 2,4,5-T maddesinin memeliler üzerindeki toksisitesi bulunmuş ve LD_{50} değeri tespit edilmiştir (Fallin ve ark., 1973). Bazı hayvanlar; örneğin köpekler, 2,4-D'ye sıçanlar ve insanlardan daha fazla hassasiyet gösterirler. 2,4-D'ye maruz kalmış çimlerden oluşmuş bölgelerle temas halinde bulunan köpeklerde kötü huylu tümörler oluştuğu bildirilmiştir (İbrahim ve ark., 1991).

Kim ve ark.'ı (1996) ise farelerde fetal beyin üzerinde 2,4-D herbisitinin etkisiyle ilgili bilgiler vermişlerdir. Sıçanların beyinlerindeki dopamin maddesine 2,4-D

maddesinin etkileri de bir başka araştırıcı tarafından incelenmiştir (Bortolozzi ve ark., 2004). *Lepomis macrochirus*'un optomotor davranışı üzerine malathionun etkisi hakkında bilgi vermişlerdir (Richmonds ve Dutta, 1992).

Ferri ve ark. (2007) 2,4-D asitin yeni doğan sıçanların beyin bölgesindeki etkilerini araştırmıştır. Araştırma sonucunda, 2,4-D asitin yeni doğan sıçanların beyin bölgelerinde reaktif oksijen seviyesinde değişiklik ve savunma mekanizmasında enzimatik aktivite ile ilgili faklı tahrifatların meydana geldiğini tespit etmiştir. Orta beyin, striatum ve prefrontal korteks bölgesinde tahrifatların çok dikkat çekici ve benzer eğilimde olduğunu, hipotalamus ve hipokampda çok tahrifat ve zarar gözlenmediğini belirtmişlerdir.

Dünya Sağlık Örgütü; balıklarda 2,4-D'nin teratojenik etki dozunun 1 ppm olduğunu bildirmiştir (WHO., 1984). Amerika Birleşik Devletlerinde 2,4-D'nin kullanıldığı alanlara yakın sularda yaşayan balık ve midyelerde 0,01 ppm-1,00 ppm 2,4-D saptandığı belirtilmiştir (Schultz ve Harman, 1974). Diğer bir çalışmada yakın çevrede 2,4-D kullanılmasıyla ilişkili olarak yüzey sularında 2,4-D maddesine rastlandığı rapor edilmiştir (Osman ve Faust, 1963). *Lepomis macrochirus* -bluegill- ve *Mola mola* -pervane balığı- ile yapılan çalışmada, LD_{50} dozu 263 mg/L'dir. Çok ticari bir tür olan gökkuşağı alabalığı ile yapılan çalışmada ise LD_{50} değeri 377 mg/L bulunmuştur. İstiridye ve deniz tarağıyla ilgili yapılan 2 ay boyunca süren gözlemde ise 3,8 ppm'lik değer bulunmuştur (Thomas ve Duffy, 1968). Balıklarda 2,4-D isooktil ester için verilen LD_{50} dozu gökkuşağı alabalığı için 62-153 mg/L ve lüfer için 5-68 mg/L'dir (IARC., 1977). Amerika'da yapılan çalışmada 2,4-D uygulaması yapılan alanlardaki çalışmalarda mantar ve bitkilerde bu herbisitin kalıntıları bulunmuştur. Ayrıca sucul herbisitlerin kullanımıyla da, balıklar ve kabukluların 2,4-D'ye maruz kaldıkları gözlemlenmiştir (WHO., 1984). Fairchild ve ark. (2009) yapmış oldukları araştırmada; sucul ve karasal kaynaklı istenmeyen otların kontrol altına alınması için kullanılan 2,4-D asitin gökkuşağı alabalığı, *Salvelinus confluentus* ve diğer alabalık türlerinin hayatta kalabilmesi açısından azımsanmayacak büyüklükte risk oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

Bir başka çalışmada radyoaktif işaretli olan 2,4-D ve glyphosate maddelerinin sazan (*C.carpio)* ve *Tilapia mossambica* balıkları üzerine etkisi tespit edilmiştir. Balık ve su sümbüllerinde 2,4-D ve glyphosate'ın birikimi ile ilgili bir araştırma yapılmıştır (Wang ve ark., 1994).

Yalçınkaya (2006); 2,4-D'nin akuatik ekosisteme toksik kirletici olarak karışması sonucu Lepisteslerin, medulla spinaliste oluşturduğu olası tahribatı gözlemlemek için bir araştırma yapmıştır. Çalışmada toplam 80 lepistes kullanılmış olup deney 96 saat süresinde LD_{50} değeri baz alınarak, düşük (D), orta (O) ve yüksek (Y) doz olmak üzere sırasıyla 15 mg/L, 30 mg/L, 45 mg/L olarak denenmiştir (LC_{50}: 30 mg/L). Herbisit konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak omurilikte nöronal kayıplar gözlenmiştir. Hücre içi ödem, nissl granüllerinde doz artışına bağlı olarak bozulmalar gözlenmiştir. Ayrıca, yer yer piknotik hücrelere rastlanmıştır. Devam eden histolojik sonuçlarda gliozis de izlenen diğer histopatolojik bulgular arasındadır.

Hong Kong'da yoğun olarak kullanılan 2,4-D, glyphosate ve paraquat herbisitlerinin yeşil alglerden olan *Scenedesmus quadricauda*'a üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu herbisitlerden paraquat maddesi diğer iki toksik maddeye göre zehirliliği çok daha fazladır. Paraquat maddesinin 2 mg/l ve daha yüksek dozları, glyphosate'ın 20 mg/l ve daha yüksek dozları, 2,4-D maddesinin 200 mg/l ve daha yüksek dozları *Scenedesmus quadricauda*'nın fotosentez yapmasını ve klorofil-a sentezini inhibe ederek gelişimini durdurmaktadır. Burada kullanılan alg tatlı sulardaki herbisit konsantrasyonları için, kontaminasyon derecesini belirleyen iyi bir biyo-indikatör olmaktadır (Wong, 2000; Yalçınkaya, 2006).

Yapılan çalışmalarda ele alınan zehirlenme süreleri değişmekle birlikte, uzun süreli deneylerde oksijen azalması ve metabolik artıklar önemli problemler teşkil ettiğinden akut deneyler genellikle 96 saat veya daha kısa sürelidir (Anonymous, 1971). 2,4-D ile yapılan bir testte *Channa punctatus* 'un mikronukleuslarının genotoksik değerlendirmesinde yüksek, düşük ve orta doz ve kontrol gruplarıyla yapılan çalışmada, 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar göz önünde bulundurulmuştur (Farah ve ark., 2003). Yine benzer zamanlı bir başka çalışmada; 2,4-D ve azinophosmethyl maddelerine maruz bırakılmış sazan balığının, karaciğerindeki marker enzimlerinin değerlendirilmesinde 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar kullanılmıştır (Oruç ve Üner, 2002; Yalçınkaya, 2006).

Gül ve ark.'nın (2005) yapmış olduğu çalışmada; 2.4-D'nin Siraz balıklarındaki (*Capoeta capoeta umbla*, HECKEL, 1843) LC_{50} değerinin araştırılması amaçlanmıştır. Her deneyde 10 balık, kontrol grubu olarak da her seferinde en az 2 balık kullanılmıştır. Denemeler sırasında balığın her bir gram vücut ağırlığına 1 litre su hesaplanarak akvaryumlar hazırlanmıştır. Akvaryumlara sırasıyla ppm olarak hesaplanmış 2.4-D değerleri (25 ppm/L, 50 ppm/L, 75 ppm/L, 100 ppm/L, 125 ppm/L, 150 ppm/L) en küçüğünden başlanılarak konulmuştur. Bu deneylerde, 25 ppm'de hiçbir balığın

ölmediği, 50 ppm'de 3, 75 ppm'de 4, 80 ppm'de 6 ve 100-125 ppm ve 150 ppm'de ise tüm balıkların öldüğü gözlenmiştir. LC_{50} matematiksel olarak LD_{50} formülü yardımıyla hesaplanmıştır. Sonuçta, 2.4-D'nin Siraz balıklarındaki LC_{50} değeri 82,2759 g olarak bulunmuştur.

Uyanıkgil ve ark. (2009a) 2,4-D asitin, lepistes türü balıkların medulla spinalis üzerindeki etkisini incelemiştir. Balıklara 15, 30, 45 mg L(-1), oranlarında 2,4-D asit verilerek davranış değişiklikleri gözlenmiştir. Araştırma sonucunda; balıkların genel aktivitelerinde azalma olduğu, gruplaştıkları, soluk almada zorlandıkları, ani dönme ve sıçrama yaptıkları, denge ve renk kaybına uğradıkları, sinir hücresi hasarları meydana geldiği, hücre içi ödem oluştuğu, nissl granüllerinde deformasyona yol açtığı ve sonuç olarak lepistes'ler için 2,4-D asitin oldukça nörotoksik olduğu tespit edilmiştir.

Poecilia reticulata ile yapılan bir çalışmada; 2,4-D maddesinin akut toksik etkisi ve davranış değişimlerine etkisi incelenmiştir. Biyodeneyde balıklarda hareketlerde yavaşlama, gruplaşmalar, havalandırma etrafında kümeleşmeler, akvaryum tabanına yavaşça inip çıkmalar gözlemlenmiştir. Bu deneyde *Poecilia reticulata* bireyleri için elde edilen istatistiki bulgular probit analizi yöntemiyle değerlendirilmiş ve *Poecilia Reticulata*'da 96 saatlik LC_{50} değeri 30 ppm olarak saptanmıştır. Bu doz da balıkların %50'sinde 96 saat sonunda ölüm gözlemlenmiştir. Yüksek dozlarda ise balıklarda düzensiz yüzme, denge kaybı, ani hareketlenmeler, havalandırma etrafında kümeleşmeler görülmüştür (Koca, 2001; Yalçınkaya, 2006). Yalçınkaya'nın (2006) yapmış olduğu çalışmada da *Poecilia reticulata* ile yaptığı deneyde 2,4-D'nin düşük, orta ve yüksek dozlarına maruz bırakılan balıklarda baş aşağı ve dikey yüzme, ani sıçrama hareketi, denge bozuklukları, yüzeye toplanarak hava almaya çalışma ve renk açılması gözlemlenmiştir.

Sularda genellikle 0,1 mg/lt'den daha az 2,4-D bulunur. Ancak 2,4-D'nin sıklıkla kullanıldığı yerlerde 2 mg/lt düzeyine erişebilir. Sulardaki 2,4-D derişimi 2 mg/lt olarak kabul edilirse, 60 kg'lık bir kişi her gün 2 lt su içerse, alınan 2,4-D'nin %100'ü absorbe olur. On gün süreyle kullanım yapılan alanlarda, 2,4-D'nin alınımı genel populasyonda 0,07 mg/lt olmaktadır (U.S. Veterans Administration Departmant of Medicine and Surgery, 1981; Gül ve ark, 2005).

Böbrekler ile ilgili bir çalışmada; 2,4-D maddesinin 96 saat akut dozu baz alınarak *Tinca tinca* bireylerinde oluşturduğu patolojik süreç izlenmiştir. 1-2-5-8-12 günlük zehirlenme periyotlarından sonra balıklar incelenmiştir. Bulgular; böbrek dokusunda küçülme ve bozulmalar, boşaltım sistemini meydana getiren hücrelerde

değişimler oluştuğunu göstermiştir (Gomez ve ark., 1999). Finlandiya'da yapılan çalışmada sıçan, fare, hintdomuzu, Suriye hamster'ı, tavşan ve tavuklarla yapılan toksikoloji deneyinde 2,4-diklorofenoksiasetik asit, 2-metil-4-klorofenoksiasetik asit (MCPA)'in toksik dozlarıyla yapılan deneyde, sıçanlarda 2,4-D ve MCPA'nın farelerin beyindeki kan damarlarında hasarlanmalara yol açtığı saptanmıştır. Ayrıca 2,4-D maddesi farelerin spinal cord bölgesindeki kan serumunun dolaşımının hareket gücünün kısıtlanmasına sebep olmuştur. Tüm bunların aksine sıçanlarda 2,4,5-triklorofenoksiasetik asitin beyin damarlarında neredeyse hiç hasar oluşturmadığı gözlemlenmiştir. Hiçbir klorofenoksiasetik asit türevi hint domuzu, tavşan ve tavuklarda beyin damarlarında hasarlanmaya yol açmamıştır (Elo ve ark., 1988; Yalçınkaya, 2006).

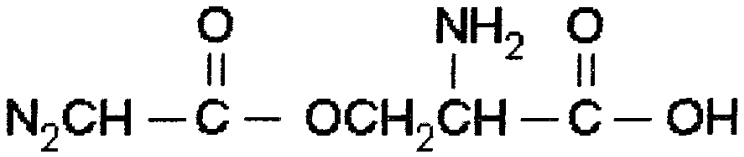
Kronik 2,4-D'ye maruz kalma ile ilgili sağlık çalışmalarının sonuçları tutarsızlık göstermektedir (Bukowska, 2003; Burns ve ark., 2001; Figgs ve ark., 2000; Garabrant ve Philbert 2002; Garry ve ark., 2001; Zahm ve ark., 1990), bu durumun sebebinin ise, büyük ölçüde 2,4-D'ye maruz kalma karakterizasyonuyla ilgisi olabilir (Alexander ve ark., 2007).

2.11. Azaserin-Sıçan Modeli

Azaserin (o-diazoacetyl-L-serin) *Streptomyces* kültürlerinden izole edilebilen bir antimetabolitdir. Ames'in *Salmonella typhimerium* testine göre mutajenik bir özelliğe sahip bir kimyasal olup, ilk olarak 1975 yılında kullanılmıştır (Longnecker ve Curpey, 1975). Şekil 2.7'de açık formülü ve ürün kodu gösterilmiştir. Azaserin memeli hücrelerinde pirodoksala bağlı bir enzim sistemi ile aktif hale getirilmekte olup, bu madde ile muamele edilmiş hücrelerde N-7-karboksimetilguaninin formasyonu ile DNA'da mutasyona neden olduğu gösterilmiştir (Zurlo, 1982).

Longnecker ve Curphey (1975) azaserini ilk defa kullanarak bugün iyi bilinen azaserin-sıçan modelini geliştirmişlerdir. Ayrıca bir kısım hidrolipidemik ilaçların, (nafenopin gibi) (Reddy ve Rao, 1977) ve klofibrat (Svoboda ve Azarnof, 1979) ve N-(N-methil-N-nitrozokarbamil)-L-ornitine (Longnecker ve ark., 1979) ile neoplastik değişimler meydana getirilmiştir. Çeşitli araştırmacılar tarafından pankreas kanserinin etkenlerinin ortaya çıkarılması amacıyla Lognecker ve Curphey (1975) tarafından ilk defa uygulanan azaserin-sıçan modeli doktora ve sonrası araştırmalarda da başarı ile kullanılmış olup, araştırma sonuçları uluslararası bir kısım dergilerde yayınlanmıştır (Watanapa ve ark., 1992, 1993; Öztaş, 2000; Yıldız, 2004; Yıldız ve ark., 2006, 2008).

Yapmış olduğumuz bu çalışmada da Longnecker ve Curphey (1975) tarafından uygulanan protokol kullanılmıştır.



Product Number: Sigma A4142
Product Name: Azaserine

Şekil 2.7. Azaserin'in açık formülü ve ürün kodu (Yıldız, 2004)

Erkek sıçanların pankreaslarında dişilere göre daha fazla neoplastik değişim gözlenmiş olup, testesteronun neoplastik değişimleri uyardığı, östrojenin ise inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Lhoste ve ark., 1987). Neoplastik değişim sonucu pankreasta hiperplastik fokuslar, fokal hiperplaziya, hiperplastik nodüller, atipik asinar hücre fokusları (AAHF) gözlenmiştir. Bunun için yapmış olduğumuz çalışmada da Wistar Albino türü erkek sıçanlar kullanılmıştır.

Erken evrelerde (4 haftalık) sıçanların deri altına (i.p.) belirli oranlarda ve tekrarlanan dozlarda azaserin enjeksiyonu'nun sıçanların ekzokrin pankreaslarındaki asinar hücrelerinde neoplastik değişimlere sebep olabileceği gösterilmiştir (Longnecker ve Curphey, 1975). Longnecker ve Curphey (1975) erken dönemde sıçanların ekzokrin pankreaslarının, azaserinin karsinojenik etkilerine oldukça duyarlı olduğunu göstermişlerdir. Aynı araştırmacılar tarafından geliştirilen deneysel protokole göre 10-60 mg/kh'lık azaserinin bir veya birden fazla deri altına enjeksiyonunun asinar hücrelerde, atipik asinar hücre fokusları (AAHF), nodülleri, adenomaları ve adenokarsinomaları meydana getirebileceği gösterilmiştir.

Azaresin ile ekzokrin pankreasta meydana getirilen neoplastik yapıların farklı histolojik özellikler gösterdikleri ve çoğunluğunun karaciğere, lenf nodüllerine ve akciğerlere yayıldıkları (metastaz) saptanmıştır (Longnecker ve ark., 1981).

2.12. Sıçan Pankreas ve Karaciğerinin Histolojik Yapısı

2.12.1. Pankreas

2.12.1.1. Normal yapı

Sıçan pankreası, diğer türlerde olduğu gibi abdominal boşluk içinde; doudeunumun mezenterik dokusu içerisinde bir miktar jejenumda (çoğunlukla omentumda) kraniodorsal olarak yerleşmiş olup, pankreasın sağ lobu duodeunum girintisi içerisine doğru uzanmış halde bulunur. Sol lob ise midenin arka (kuyruk) kısmının dorsal yüzeyi boyunca, dalağa dik ve ona yakın (juktapozisyon) olarak uzanır. Pankreasın rengi açık soluk pembe olup sınırları açık bir şekilde görülebilir ve çevresindeki adipoz dokudan, mat ve biraz daha koyu olma özelliği ile ayırt edilir. Pankreas tarafından salınan enzimler, proteinlerin, karbonhidratların ve yağların sindiriminde görevli olup, tripsin, kimotripsin, karboksipeptidaz ve elestaz gibi proteolitik enzimlerin yanında karbonhidratların sindirimi ile ilgili olarak amilaz salgılarlar (Junqueira ve ark, 1998).

2.12.1.2. Pankreas kanserinin histolojik gelişimi

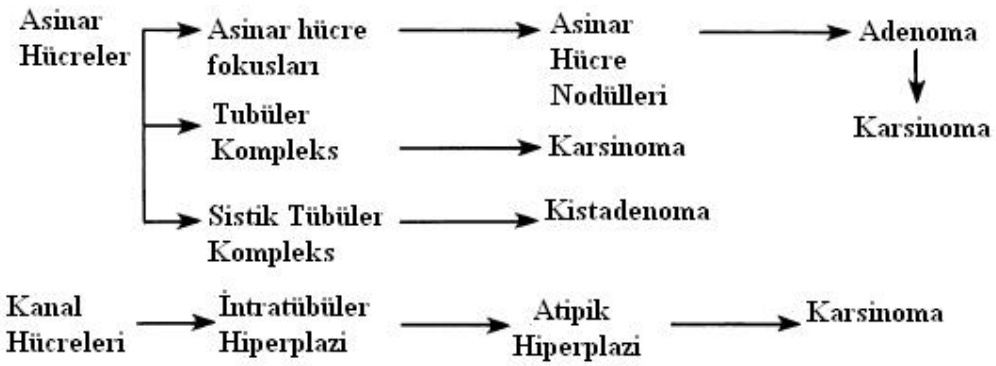
Pankreas karsinoması, 1836'da Mondiere'nin bu hastalığın bütün özelliklerini ilk defa tanımlaması ile klinik bir olgu olarak bilinmeye başlanmıştır. Ewing (1919) ise insan ekzokrin pankreatik karsinomalarının büyük bir çoğunluğunun pankreatik kanallardan meydana geldiğini, çok az bir kısmının ise asinar hücrelerden geliştiğini öne sürmüştür (Cubilla ve Fitzgerald, 1975).

Cubilla ve Fitzgerald (1975), bütün insan ekzokrin pankreas kanserlerinin en az %90'ının, kanalsı (ductual) elementlerden gelişen adeno-karsinomalar olduğunu öne sürmüşlerdir. Pour ve Salmasi (1979) insanda kanal hücrelerinin pankreatik adenokarsinomalara yol açtığını ve bu değişikliklerin daha önce meydana gelmiş olan pankreatik kanal sisteminin uç bölgelerindeki eozinofilik ve musinus metaplazitik yapılarla ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Anatomik bakımdan pankreas hücrelerinin %80'den fazlasının asinar hücrelerden meydana gelmesi nedeniyle asinar hücrelerin, pankreatik tümörlerin gelişimindeki rolleri uzun yıllardır tartışma konusu olmuştur. Kanal hücrelerinin,

pankreasın %10'nu civarındaki bir oranı oluşturması bir kısım şüphelerin oluşmasına yol açmaktadır (Scarpelli ve ark., 1991). Pankreas kanserinin gelişiminde, asinar hücrelerin etkisinin bulunduğuna dair bir kısım kanıtlar mevcut olup pankreasta asinar-duktal hücre karışımı bir kısım tümörlerin gözlemlenmesi, karsinom hücrelerine dönüşen asıl doku elemanının kaynağı konusunda şüphelerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu nedenle asinar hücrelerin değişime uğraması sonucu böyle bir durumun ortaya çıkmış olabileceği öne sürülmüştür (Parsa ve ark., 1985).

Pankreatik karsinogenesiz çalışmaları için birkaç hayvan modeli geliştirilmiş olup azaserin-sıçan modeli, asinar hücre değişimlerinin gözlenmesi ve pankreas kanserinin orijininin belirlenmesi bakımında iyi bir model olarak görülmektedir. Bu model yardımıyla sıçan ekzokrin pankreasında çok sayıda atipik asinar hücre fokusu üretmek mümkündür. Bu amaçla Longnecker ve Curphey (1975) tarafından geliştirilen i.p. azaserin enjeksiyonu protokolünün kullanılması yeterli görünmektedir. Şekil 2.8'de pankreas kanserinin oluşum süreci ile ilgili hücresel değişimler gösterilmektedir.



Şekil 2.8. Ekzokrin pankreas kanserinin oluşum mekanizmaları (Longnecker, 1984).

2.12.1.3. Pankreatik asinar hücrelerde gözlenen neoplastik değişimler

Asinar hücrelerin pankreatik karsinomaya dönüşüm süreçlerindeki olası morfolojik aşamalar araştırılmış olup genel özellikleri aşağıda özetlenmiştir.

2.12.1.4. Erken asinar hücre değişimleri

Pankreatik asinar hücrelerin fokal (odaksal) değişimleri (AAHF.); çap, hacim karakteristiği ve histolojik görünüş ve boyanma özelliklerine göre bazofilik atipik asinar hücre fokusları veya asidofilik atipik asinar hücre fokusları olarak sınıflandırılırlar.

Bunlar farklı çoğalma kapasitelerine sahip, fenotipik açıdan farklı kümelerdir. Ekzokrin pankreasın asidofilik AAHF.'ları, bazofilik AAHF.'larından farklı olarak, farklı asinar hücre kümelerinden gelişir (Rao ve ark., 1982). Longnecker (1984)'e göre lezyonların %1'inden daha az bir kısımı asidofilik fokus olarak gelişir ve fokal asinar hücre hiperplasia'sı bütün yaşam süresini kapsayan çalışmalarda adenokarsinomaya dönüşecek şekilde gelişebilir.

2.12.1.5. Bazofilik atipikal asinar hücre fokusları

Rao ve ark. (1982) bazofilik fokusların (odakların) çoğalma kapasitelerinin normal asinar hücrelerdeki gibi olduğunu ve bu fokusların, muhtemelen asidofilik lezyonlardan farklı olarak, asinar tümörlerin öncüsü olmadıklarını belirtmiştir. Hemotoksilen ve eosin boyalı histolojik kesitlerde bu fokusların, sitoplazmalarının artan bazofilik özellikleri nedeni ile çevre hücrelerden farklı küçük bir hipertrofik hücre grubu olarak ayırt edilirler. Boyanma özellikleri nedeni ile zimojen granüllerin içeriğinin azalmış olduğu ve granüllü endoplazmik retikulumda bir artış olduğu görülür. Hücreler büyümüş bir bazal nükleus ile bir nükleolus içerirler ve şekilleri hafifçe düzensiz olabilir (Longnecker ve Millar, 1990). Ancak bu fokusların erken dönemle atipik asinar hücre fokuslarına (AAHF.) dönüştükleri ve ileri evrelerde sayılarının gittikçe azaldığı öne sürülmüştür. Bu nedenle pankreatik kanser oluşumu bakımından önemli görülmektedir (Rao ve ark., 1982).

2.12.1.6. Asidofilik atipikal asinar hücre fokusları

Asidofilik AAHF.'ler, pankreasta azaserin uygulamasından bir ay sonra kadar gözlenebilir ve bu lezyonların çoğunluğu, zimojen açısından zengin bir stoplazma ile oval şekilli, normalden biraz daha büyük, çekirdekçiği belirgin bir bazal nükleusa sahip hücrelerden meydana gelirler. Nuklear pleomorfizm ve mitoz oranı, bu fokusların ayırt edici bir diğer karakteristik özelliği olup, bu fokuslardaki hücreler normal parenkimal hücrelerden daha küçük olup (Morgan ve ark., 1986) hücre sayısındaki artışa bağlı olarak, AAHF.'ları etraflarındaki parankimayı hafifçe sıkıştırabilirler. Azaserin enjekte edilen sıçanların pankreaslarında asidofilik AAHF.'lerin bazofillere göre daha fazla geliştiği ve sayısal oranlarının çok daha fazla olduğu görülmüştür (Uçman, 2005).

2.12.1.7. Asinar hücre adenoması

Asinar hücre adenomaları genellikle küresel yada oval, düzgün, belirgin sınırları olan, kolay ayırt edilebilen asinar hücre kitleleri olup, kendilerini çevreleyen parenkimayı hafifçe sıkıştırırlar. İçlerindeki hücreler sıklıkla, az büyümüş, çıkıntılı bir glandular yapı gösterir ve çoğunlukla apikal (uç kısım) stoplazmada, zimojen granüllerinde bir artış görülür. Bazal konumlu çekirdek normal büyüklükte veya hafif artmış ve polimorfik bir yapı gösteren, nüklear yoğunlaşmalar ve pleomorfizm, mitoz oranında artış, nükleoluslarda piknosoz ve karyoreksize sıklıkla rastlanılır (Longnecker ve Millar, 1990). Çapı 3-7 mm'ye ulaşan ve yüksek düzeyde farklılaşma kapasitesine sahip olan bazı atipik hücre nodülleri (AAHN), etraflarındaki pankreas dokusunu sıkıştıracak derecede büyümeleri ve/veya kapsül meydana getirmeleri halinde Longnecker (1987) tarafından adenomalar olarak sınıflandırılmışlardır (Longnecker ve Millar, 1990). Bazofilik hücre fokusları, nodülleri ve adenomaları, sürekli büyüme ve gelişme özelliği gösterirler. Ancak çok azının karsinomaya dönüşme potansiyeline sahip olduğu deneysel olarak gösterilmiştir (Longnecker, 1987).

2.12.1.8. Asinar hücre karsinoması

7 mm'den daha büyük tümörler genellikle fazla değişime uğramış bir dysplasia gösteren histolojik yapılar olup, asinar hücre adenokarsinoması, kolayca ayırt edilebileceği gibi, farklı formlarda da olabilirler. Çevresindeki pankreatik yada mezentrik dokuya invazyon yapabilen ve bölgesel yada diğer organlara metastatik yayılımı gösterirler. Adenokarsinoma teşhisine olanak sağlayan diğer özellikler ise belirgin hücresel ve nüklear polimorfizm, aynı tümör içindeki farklı büyüme alanları olarak bilinir. Fibrüz kapsüle sahip adenoma benzeri lezyonlar anaplastik bir yapı gösteriyorsa, bunlar lokal karsinoma veya karsinoma *in situ* olarak sınıflandırılırlar (Woutersen ve ark., 1991).

2.12.1.9. Kanalsı (duct-like) lezyonlar

Azaserin uygulanan sıçanların asinar dokularında, kanal benzeri (duct-like) hücreler tarafından bölmelere ayrılan bir kısım lezyon görülebilir. Bu lezyonlar, asinar doku içindeki kanalsı oluşumlar meydana getirirler ve çok sayıda dar lümenli yapıya

sahip bu kanallarda asinar hücre kökenli kübidal veya prizmatik epitelyum ile çevrili halde bulunurlar. Epitel çoğunlukla normal bezlere göre hiperplastik bir görünüşe sahip olup, bu lezyonlar tipik olarak 1 mm'den küçük çaptadırlar (Longenecker ve Millar, 1990).

Bir diğer lezyon tipi ise, zimojen granüllerini kaybetmiş kübik veya silindirik epitel hücrelerinden meydana gelmiş tubular duktual kompleksleri olup, bu lezyonlar gerek asidofilik AAHF.'den gerekse sistik duktual komplekslerden daha az sayıda gözlenirler (Longnecker, 1984). Ultrastrüktural çalışmalar, tubular duktual komplekslerdeki hücrelerin stoplazmalarının az sayıda zimojen granül içerdiğini göstermiştir (Bockman ve ark., 1978). Bu lezyonlar tipik olarak, 1 mm'den daha az bir çapa sahiptirler ve yalnızca bir lobül içerirler. İlk defa Dimethylbenzanthracene (DMBA) ile meydana getirilmiş pankreatik neoplasia modelinde bu lezyonlar gözlenmişlerdir (Dissin ve ark., 1975).

2.12.1.10. Kendiliğinden (spontan) gelişen tümörler

Herhangi bir muamele yapılmamış sıçanlarda ekzokrin orijinli karsinomalara nadir rastlanmakta olup (Eustis ve Boorman, 1985), spontan neoplastik değişimlerin görülme sıklığının yaşa bağlı olarak artış gösterdiği bilinmektedir (Boorman ve ark., 1987; Yıldız, 2004).

2.12.2. Karaciğer

2.12.2.1. Normal yapı

Karaciğer sindirim kanalından emilen besinlerin işlendiği ve vücudun diğer kısımları tarafından kullanılmak üzere depolandığı bir organ olup, sindirim sistemi ile kan arasında bir geçiş bölgesidir. Sıçanlarda karaciğer; mediyan lob ve sağ lateral lob, sol lateral lob ve kaudal lob olmak üzere dört lobtan oluşmuştur. Mediyan lob, longitudinal fisürle, sağ merkez ve sol merkez olarak 2'ye bölünür. Sağ merkez lob, sağ lateral lob tarafından sarılmıştır. Sol lateral lob, büyük bir lobtur ve hemen sol merkez lobun arkasında uzanır. Kaudal lob, transvers fisürle yarıklaşıp, küçük omentum ve mide kıvrımı arasında uzanan iki küçük lobtan meydana gelir (Göksu, 2004).

Karaciğer hücrelerinde glikojen oranı yüksek olup, elektron mikroskopunda düz endoplazmik retikulumların kümeler oluşturduğu, glikojenin günlük ritme ve beslenmeye bağlı olarak değiştiği bilinmektedir. Bol miktarda mitokondri ve yağ damlacığı içerirler (Junqueira ve ark., 1998).

2.12.2.2. Karaciğerde rastlanan atipik hücre fokusları

Bir kısım kimyasal maddelerin uygulanmasından sonra sıçan karaciğerlerinde poligonal hepatositlerin meydana getirdiği asidofilik özellikte fokusların görülmesi mümkündür. Bu hücrelerin kuvvetli şekilde glikojen depoladıkları tahmin edilmektedir (Hirota ve Yokoyama, 1985). Bu fokusların çevrelerinde bulunabilecek parankimal bölgeleri ayırt etmek çoğunlukla zordur. Genişlemiş hepatositler asidofilik boyanma özelliği ile çevrelerini kuşatan diğer hücrelerden kolayca ayırt edilebilirler. Bu hücrelerde glikojen partiküllerinin stoplazmanın önemli bir kısmını kapladığı ve bazı durumlarda atofajik kofulların bunlara eşlik ettikleri gözlenir. Hücrelerin nükleusları çoğunlukla küçük ve yoğun olarak görülür. Ayrıca elektron mikroskopi çalışmaları agranüler endoplazmik retikulumların glikojenlerin yakın bölgelerinde yoğunlaştıklarını ortaya koymaktadır (Bannasch, 1968). Histokimyasal ve mikrobiyokimyasal çalışmalar bazı enzimlerin azaldığını, diğer bir kısım enzimlerin ise aktivitelerinde artış olduğunu ortaya koymaktadır (Moore ve Kitagawa, 1986). Hepatokarsiogenezisde yağ toplanması diğer bir özellik olup, glikojen depolanmasına bazı durumlarda yağ toplanması da eşlik edebilir. Yağ toplanmasının glikojen depolanmasından sonra geliştiği ve hepatositlerde neoplastik değişimin habercisi olarak kabul edildiği bilinmektedir (Bannasch, 1968). Asidofilik fokusların yanında bazofilik boyanma özelliğine sahip hücre gruplarının da olduğu bilinmekte olup, bu fokuslar çoğunlukla hepatoselüler karsinomanın ön evresi olarak kabul edilir. Polimorfik özellikteki hücreler ve belirgin boyanma özelliğine sahip nükleuslar karekteristik olarak gözlenebilir. Hücrelerin stoplazmasında asidofilik hücrelerin aksine glikojen az olup, ribozom oranının yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalar; asidofilik ve bazofilik özelliğe sahip fokuslarda bulunan hepatositlerde glukoz-6-fosfat aktivitesinin normal olabileceğini, ancak glukoz -6-fosfat dehidrojenaz aktivitesinin büyük oranda artmış olabileceğini ortaya koymaktadır (Klimek ve ark., 1984). Ayrıca asidofilik hücrelerde gliseraldehit-fosfat dehidrojenaz aktivitesinin yüksek olduğu öne sürülmüştür (Hacker ve ark., 1982).

3. MATERYAL VE METOT

Bu araştırmada; ülkemizde tarım alanlarında yoğun olarak kullanılan 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisiti ile içerisinde 2,4-D asitin de bulunduğu pestisit üreten bir fabrikadan alınan komposit ham atık suyun (ekosisteme arıtılmadan verilmesi durumunda) Wistar Albino ırkı erkek sıçanların pankreas ve karaciğerlerinde ekotoksik ve/veya kanserojenik etkisi araştırılmıştır. Ayrıca, azaserin-sıçan modeli ile sıçan ekzokrin pankreaslarında ve karaciğerlerinde deneysel olarak neoplastik değişim meydana getirilerek bu değişimler üzerinde 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin, neoplastik yapıların gelişimi üzerindeki muhtemel etkileri de histolojik teknikler yardımıyla araştırılmıştır. 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin uygulandığı tarım alanından alınan bitki ve toprak örneklerindeki kalıntı oranları da tespit edilmiştir.

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan deney hayvanları

Araştırmada; ağırlıkları 22-30 g arasında değişen 14 günlük 56 adet Wistar Albino türü erkek sıçan, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden satın alınarak kullanılmıştır.

Deneylere başlamadan önce Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi, 'Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 25.06.2009 tarih ve 2009/39 karar sayısı ile etik kurul izni alınmıştır. Deneysel çalışmalar, deney hayvanları etik kurul yönergesine bağlı kalınarak yürütülmüştür.

3.1.2. Bitki, toprak ve endüstriyel atık su örnekleri

Araştırmada 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin bitki ve toprak örneklerindeki kalıntı oranları tespit edilmiştir. Bunun için Konya İli Çumra İlçesinde 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin uygulandığı tarladan alınan buğday ve toprak örneklerinde kalıntı analizi yaptırılmıştır. Çalışmada kullanılan endüstriyel ham atık su örneği ise Konya İlinde

faaliyet gösteren pestisit üreten fabrikadan 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilesterin üretim aşaması sonrasında alınmıştır.

3.1.3. Kimyasallar ve cihazlar

Çalışmada kullanılan çözelti ve kimyasallar; 2,4-D asit dimetilamin tuzu, 2,4-D asit isooktilester, fabrika ham atık suyu, azaserin, formaldehit, etil alkol, ksilen, aseton, parafin pastil (56-58 C^0), parafin (46-48 C^0), hematoksilen, eosin, kanada balsamı, HCL, ketamin, eter ve amonyak'dır. Doku takibinde kullanılan alkol serilerinin hazırlanması Alkolmetre kullanılarak yapılmıştır. Dokuların bloklandırılmasında; Nüve marka etüv cihazı ve inkübatör, parafin dispensır cihazı, KMK marka sıcak plaka cihazı, Kunz insturments CP-4 marka soğuk plaka cihazı, paslanmaz çelik kalıp, doku takip kasetleri ve parafin halkası kullanılmıştır. Hazırlanan bloklar İndesit marka buzdolabında +4 $C^{0'}$de saklanmıştır. Bloklardan kesit alma işleminde ise Thermo scientific shandon finesse 325 marka mikrotom cihazı, benmari ve elmas uçlu cam kalem kullanılmıştır. Preparat incelemelerinde, Olympus BX51 araştırma mikroskobu ile birlikte Olympus DP12 fotoğraf makinesi ve uygulama yazılımı olarak Olympus V.01.03 kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Deney hayvanlarına uygulanan azaserin-sıçan yöntemi

Wistar Albino ırkı erkek sıçanların pankreas ve karaciğer hücrelerinde deneysel olarak meydana getirilen neoplastik değişimlerin incelenmesi amacıyla Longnecker ve Curphey (1975) tarafından geliştirilen azaserin-sıçan modeli kullanılmıştır.

Erken dönemde Wistar Albino türü erkek sıçanlara uygulanan azaserinin kanser oluşturma etkisinin daha yüksek olduğu bilinmektedir. Ayrıca erkek sıçanların pankreaslarında, dişilere göre daha fazla neoplastik değişim gözlenmiş olup, testesteronun neoplastik değişimleri uyardığı, östrojenin ise inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Lhoste ve ark., 1987). Bu nedenle bu araştırmada, 14 günlük Wistar Albino türü erkek sıçanlar kullanılmıştır. Wistar Albino türü erkek sıçanlar ile yapılan araştırmanın deney protokolü aşağıda verilmiştir.

Grup 1 (Normal kontrol grubu, n=8): Azaserinle muamele edilmemiş ve herhangi bir şekilde 2,4-D asit dimetilamin tuzu, 2,4-D asit isooktilester ve fabrika ham atık suyu içermeyen normal diyetle beslenen kontrol grubu;

Grup 2 (Azaserin enjekte edilmiş kontrol grubu, n=8): Azaserin enjekte edilmiş, ancak herhangi bir şekilde 2,4-D asit dimetilamin tuzu ile 2,4-D asit isooktilester ve fabrika ham atık suyu içermeyen normal diyetle beslenen kontrol grubu;

Grup 3 (2,4-D asit dimetilamin tuzu deney grubu, n=8): Azaserin enjekte edilmemiş, 200 mg/kg/gün oranında 2,4-D asit dimetilamin tuzu içeren diyetle beslenen deney grubu;

Grup 4 (Azaserin+2,4-D asit dimetilamin tuzu deney grubu, n=8): Azaserin enjekte edilmiş, 200 mg/kg/gün oranında 2,4-D asit dimetilamin tuzu içeren diyetle beslenen deney grubu;

Grup 5 (2,4-D asit isooktilester deney gurubu, n=8): Azaserin enjekte edilmemiş, 200 mg/kg/gün oranında 2,4-D asit isooktilester içeren diyetle beslenen deney grubu;

Grup 6 (Azaserin+2,4-D asit isooktilester deney grubu, n=8): Azaserin enjekte edilmiş, 200 mg/kg/gün oranında 2,4-D asit isooktilester içeren diyetle beslenen deney grubu;

Grup 7 (Pestisit endüstrisi ham atık suyu deney grubu, n=8): Pestisit endüstrisinden alınan komposit numuneleri (2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester de) içeren 200 mg/kg/gün oranında diyetle beslenen deney grubu.

Grup 2, Grup 4 ve Grup 6 deney grubunda bulunan iki haftalık sıçanların; pankreas ve karaciğer hücrelerinde karsinogenesizin oluşumu için, 0,3 ml enjektabl suda çözünmüş azaserin 30 mg/kg/vucüt ağırlığında enjekte edilmiştir. Enjeksiyon; birbirini takip eden üç hafta boyunca, haftada tek doz olmak üzere karın boşluğundan (intra peritonal) yapılmıştır. Son enjeksiyondan bir hafta sonra sıçanlar, her grup için yukarıda belirtildiği gibi hazırlanan; normal standart diyet (Purina), 200 mg/kg/gün 2,4-D asit dimetilamin tuzu, 2,4-D asit isooktilester ve pestisit endüstrisi komposit ham atık suyu içerecek şekilde hazırlanan diyet ve su ile *ad libitum* olarak beslenmiştir. Azaserin uygulaması ve sıçanların beslenmesi Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinde yapılmış olup toplam 5 ayda tamamlanmıştır. Laboratuar çalışmaları ise 6 ayda tamamlanmıştır. Ortalama 24°C oda sıcaklığında özel sıçan kafesleri içerisinde en çok 4'erli gruplar halinde tutulan hayvanlara, düzenli biyolojik ritimlerinin sağlanması amacıyla 12 saat yapay ışık ve 12 saat karanlık uygulanmıştır. Önlerinde daima gruplarına uygun yem ve su bulundurulmuştur.

2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester ve pestisit endüstrisi komposit ham atık suyunun, sıçanların karaciğer ve pankreaslarında nasıl bir ekotoksisite ve/veya karsinojenik etki göstereceği araştırılmıştır. Deneysel olarak sıçan pankreas ve karaciğerinde neoplastik değişimler başlatabilme yeteneğine sahip olduğu bilinen azaserinin, sıçanlara intraperitonal (i.p). olarak enjekte edilmesi ile deneysel olarak meydana getirilecek neoplastik yapıların (fokuslar), 2,4-D asit dimetilamin tuzu ve 2,4-D asit isooktilesterin etkisi ile uzun sürede nasıl bir toksisite (histopatolojik değişim) göstereceği de araştırılmıştır.

3.2.2. Doku örneklerinin alınması ve değerlendirilmesi

5 aylık deney süresi boyunca sıçanların sağlıklı oldukları gözlemlenmiştir. Deney süresince deney protokolünde belirtildiği şekilde beslenen sıçanlara, deney sonunda Ketamin (60 mg/kg) ve eter gibi anestejik ajanlar uygulanarak anestezi altına alınmıştır. Anestezi sonrası servikal dislokasyonla sakrifiye edilmiştir. Deney süreleri sonunda yapılan otopside, sadece 2,4-D asit isooktilester herbisitinin uygulandığı gruptaki sıçanların pankreaslarında siyah bir tabaka gözlenmiştir, diğer grupların pankreas ve karaciğerlerinde makroskobik olarak göze çarpan herhangi bir değişim görülmemiştir. Tüm gruplarda bulunan sıçanların karaciğer ve pankreasları bir bütün olarak abdominal diseksiyon ile çıkarılmıştır. Emici bir kağıt üzerine yayılan pankreasların ve karaciğerlerin suyu alındıktan sonra sıçanların her birinin pankreasları ve karaciğerleri ayrı ayrı tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Pankreaslar ve karaciğerler %10'luk formol içerisinde 24 saat süreyle tutularak tespit edilmiştir. Sıçanların karaciğer ve pankreaslarında atipik hücre fokuslarının (AHF) mikroskobik tayini ve kantitatif miktar değerlendirmesi için önce genel doku takibi uygulanmıştır. Genel doku takibinden sonra dokular sert parafinde bloklandırılmış ve hazırlanan bloklardan rotary mikrotom (Thermo Scientific, Shandon Fınesse 325) ile 5 µm kalınlığında alınan kesitlere hematoxylen ve eozin boyası uygulanmıştır. Hazırlanan preparatlar, Olympus marka BX 51 model araştırma mikroskobu ile incelenmiş ve Olympus marka DP12 model fotoğraf makinesi ile gerekli görülen bölgelerin fotoğrafları çekilmiştir. Uygulama yazılımı olarak Olympus V.01.03 kullanılmıştır.

3.2.3. Doku tespiti (Fiksasyon)

Sıçanlardan alınan pankreas ve karaciğerler doku takip kasetlerine alınmıştır. Pankreasların ve karaciğerlerin, doku ve hücre elemanlarının canlıdakine en yakın seviyede bozulmadan saklanması için %10'luk formol içerisinde tutularak tespit işlemi uygulanmıştır.

3.2.4. Dokuların yıkanması

Pankreas ve karaciğerler fikzasyon işleminden sonra; tespit edilen doku parçalarından, tespit solüsyonunu uzaklaştırmak amacıyla 24 saat boyunca akar su (çeşme suyu) altında yıkama işlemine tâbi tutulmuştur.

3.2.5. Sudan kurtarma (Dehidrasyon)

Tespit edilmiş ve yıkanmış dokuları sudan arındırmak amacıyla; pankreas ve karaciğer dokuları, dehidratanlardan olan etil alkol kullanılarak, aşağıda belirtildiği şekilde alkol serilerinden geçirilmiştir.

%70'lik Alkol'de-1 saat,

%80'lik Alkol'de-1 saat,

%96'lık Alkol'de-1 saat bekletilmiştir.

3.2.6. Şeffaflandırma

Alkol serilerinden geçirilerek dehidre edilmiş doku parçaları, şeffaflandırıcı madde (ksilen) ile muamele edilerek, dehidratant (etil alkol) ajanların dokudan uzaklaştırılması ve parafinizasyona uygun ortam hazırlanması sağlanmıştır. Ksilen, dokulara aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

Ksilen I'de-30 dakika,

Ksilen II'de-30 dakika,

Ksilen III'de-30 dakika bekletilmiştir.

3.2.7. Bloklama (Parafinizasyon)

Pankreas ve karaciğer dokularından ince kesit alabilmek amacıyla dokular parafine gömülmüştür. Parafin yönteminde erime noktasına göre yumuşak parafin (46-48 ^{0}C'de erir) ve sert parafin (56-58^{0}C'de erir) olmak üzere iki çeşit parafin, dört ayrı seri halinde uygulanmıştır.

%50 Yumuşak parafin + %50 Ksilen-Etüvde 48 ^{0}C'de 15 dakika,

Yumuşak parafin-Etüvde 48 ^{0}C'de 2 saat,

Sert parafin- Etüvde 48 ^{0}C'de 4 saat bekletilmiştir.

Etüvden çıkarılan dokular, paslanmaz çelik küvetler içerisinde, parafin dispensırda eritilen sert parafine gömülmüştür. Daha sonra çelik küvetler soğuk plaka üzerine alınarak parafinin donması sağlanmıştır.

3.2.8. Parafin kesitlerinin hazırlanması

Hazırlanan parafin bloklardan, mikrotom cihazı ile 5 µm kalınlığında parafin şeritlerden oluşan doku kesitleri alınmıştır. Alınan şeritler, açılarak düzgün hale gelmesi için, ince uçlu fırçalar yardımı ile 50 ^{0}C'deki su banyosuna bırakılmıştır. Daha sonra açılan parafin şeritler su banyosundan Lam'a alınmıştır.

3.2.9. Deparafinizasyon

Kesitlerin boyanabilmesi amacıyla, dokulardan parafin uzaklaştırılmıştır. Bunun için sepetlere dizilmiş Lam'lara aşağıda belirtildiği şekilde deparafinizasyon işlemi uygulanmıştır.

İçerisinde Lam'ların bulunduğu sepetler-Etüvde 80^{0}C'de 1 saat,

Sıcak Ksilen I'de-15 dakika,

Sıcak Ksilen II'de-15 dakika,

Sıcak Ksilen III'de-15 dakika,

%70'lik Alkol'de-10 dakika,

%80'lik Alkol'de-10 dakika,

%96'lık Alkol'de-10 dakika bekletilmiş ve çeşme suyunda 1 dakika yıkanmıştır. Bütün bu işlemlerden sonra doku kesitleri boyanmaya hazır hale getirilmiştir.

3.2.10. Boyama

Çeşme suyunda yıkama yapıldıktan sonra sepetlerde bulunan Lam'lara Hematoksilen-Eosin boyama aşağıda belirtildiği şekilde uygulanmıştır.

Hematoksilen'de 3.5 dakika bekletilmiş ve çeşme suyunda 4 dakika yıkanmıştır,

Asit alkolde 10 saniye bekletilmiş ve çeşme suyunda 4 dakika yıkanmıştır,

Amonyaklı suda 10 saniye bekletilmiş ve çeşme suyunda 2 dakika yıkanmıştır,

Eosin'de 30 saniye bekletilmiş ve çeşme suyunda 1.5 dakika yıkanmıştır,

%70'lik Alkol'de-1 dakika,

%80'lik Alkol'de-1 dakika,

%96'lık Alkol'de-1 dakika ve Ksilende 5 dakika bekletilmiştir.

3.2.11. Boyanmış preparatların kapatılması

Ksilen banyosundan sonra Lam'lar dışarı alınmıştır. Lam'larda bulunan kesitlerin üzerindeki ksilen kurumadan küçük bir damla Kanada balsamı damlatılarak temiz olan lameller kapatılmıştır. Boyanmış ve kapatılmış preparatlar gruplarına göre etiketlendirilerek değerlendirilmeye alınmıştır.

3.2.12. Bitki ve toprakda kalıntı analizi ile endüstriyel atık su analizi

Konya İli Çumra İlçesinde 2,4-D asit (D-amin tuzu) ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin uygulandığı tarladan alınan örneklerin kalıntı analizleri; HP Agilent 6890N model Gaz kromatografisinde (GC), EPA 8151A (U.S.EPA, 1996) (2 kg komposit toprak örnekleri) ve Standart Hollanda Metodu (Netherland, 1996) (2 kg komposit buğday örnekleri) ile yapılmıştır. Toprak'dan alınan komposit numunede uygulama sonrası, uygulamadan 7, 14 ve 21 gün sonra ki kalıntı miktarları tespit edilmiştir. Komposit buğday örnekleri için ise uygulama sonrası, uygulamadan 7 gün sonra, 14 gün sonra ve 21 gün sonraki kalıntı miktarları tespit edilmiştir.

Toprak kalıntı analizinde 50 g homojen numune 500 ml'lik erlenmayere alınmıştır. Konsantre HCl ilave edilerek 15 dakika karıştırılmış ve ph 2'ye ayarlanmıştır. 20 ml aseton ilave edilerek 20 dakika otomatik çalkalayıcıda yüksek devirde çalkalanmıştır. Daha sonra 80 ml dietileter eklenerek tekrar 20 dakika boyunca otomatik çalkalayıcıda yüksek devirde çalkalanmıştır. 2. kez 20 ml aseton ve 80 ml

dietileter eklenerek 10 dakika otomatik çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Daha sonra Whatman No:1 filtre kağıdından süzülmüştür. Süzüntü 5 gram sodyum sülfattan geçirilerek yaklaşık 5 ml kalıncaya dek 60 ^{0}C 'de evapore edilmiştir. Buğday kalıntı analizinde, ekstraksiyon solventi olarak diklormetan ve aseton kullanılmıştır. Ekstraksiyon için önce homojen hale getirilmiş 25 gram buğday örneği tartılarak 250 ml'lik erlenmayere alınmıştır. Numuneye 30 ml diklormetan, 30 ml aseton eklenilmiştir. 2 saat otomatik çalkalayıcıda yüksek devirde çalkalanmıştır. Daha sonra Whatman No:4 filtre kağıdından süzülmüştür. Süzüntü 10 gram sodyum sülfattan geçirilerek yaklaşık 5 ml kalıncaya dek 45 ^{0}C 'de evapore edilmiştir. Numunelerin enjeksiyonu otosampler kullanılarak yapılmıştır (Enjeksiyon bloğu 270^{0}C'dir). Bu çalışmada kullanılan pestisit standartları 10 µg/g'lık hazır çözeltiler halinde Dr. Ehrenstorfer firmasından alınarak kullanılmıştır. Pestisit standartları, 1 µg/g olarak dilüe edildikten sonra Gaz kromotografisine verilmiştir.

2,4-D'lerin üretim aşaması sonrasında alınan fabrika ham atık suyunda; Fosfat analizi Standart Method 4500P-E:2005'e göre, Toplam Azot analizi TS 8337 ISO 11261/1996'ya göre, Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ) analizi Standart Method 5220B:2005'e göre, Toplam Pestisit Tayini analizi ise ISO 10382/2002 standartına göre yaptırılmıştır.

3.2.13. İstatistiksel analiz

Verilerin değerlendirilmesinde SPSS 16.0 istatistik paket programı kullanılmış olup, ortalama ve standart sapmalar verilerek özetlenmiştir. One-Sample Kolmogorov-Smirnov testi ile verilerin normal dağılım gösterdiği belirlenmiştir. Gruplar arasındaki farklılığın tespitinde ise One Way ANOVA testi kullanılmıştır. Bu çalışmada, hata düzeyi 0,05 olarak alınmıştır. Atipik hücre fokuslarının özelliklerinin (mm^2'ye düşen AHF, mm^3'e düşen AHF, ortalama fokus çapı, ortalama fokus hacmi ve AHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı) saptanması amacıyla matematiksel bir formül uygulanmıştır (PTSDC; Planar To Spatial Data Converter by Anthony FLAKS).

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

4.1. Uzun Süreli Hayvan Deneylerinden Elde Edilen Bulgular

4.1.1. Vücut ağırlıkları

Araştırmaya kontrol grubu (Grup 1) olarak katılan deneklere ilişkin vücut ağırlığı 305,50±47,138 g olarak, Azeserin-kontrol grubuna (Grup 2) ilişkin vücut ağırlığı 327,00±32,357 g olarak, 2,4-D asit D-amin tuzu grubuna (Grup 3) ilişkin vücut ağırlığı 294,14±47,217 g olarak, Azeserin+2,4-D asit D-amin tuzu grubuna (Grup 4) ilişkin vücut ağırlığı 267,00±42,289 g olarak, 2,4-D asit isooktilester grubuna (Grup 5) ilişkin vücut ağırlığı 261,71±51,503 g olarak, Azeserin+2,4-D asit isooktilester grubuna (Grup 6) ilişkin vücut ağırlığı 283,71±61,018 g olarak ve fabrika ham atık suyu grubuna (Grup 7) ilişkin vücut ağırlığı 276,00±66,513 g olarak tespit edilmiştir. Grupların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında (Şekil 4.1); fark görüldüğü fakat gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Vucüt ağırlıkları ile pankreas ve karaciğer ağırlıklarına ait verilere ilişkin detaylar Çizelge 4.1. ve Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir.

4.1.2. Karaciğer ağırlıkları

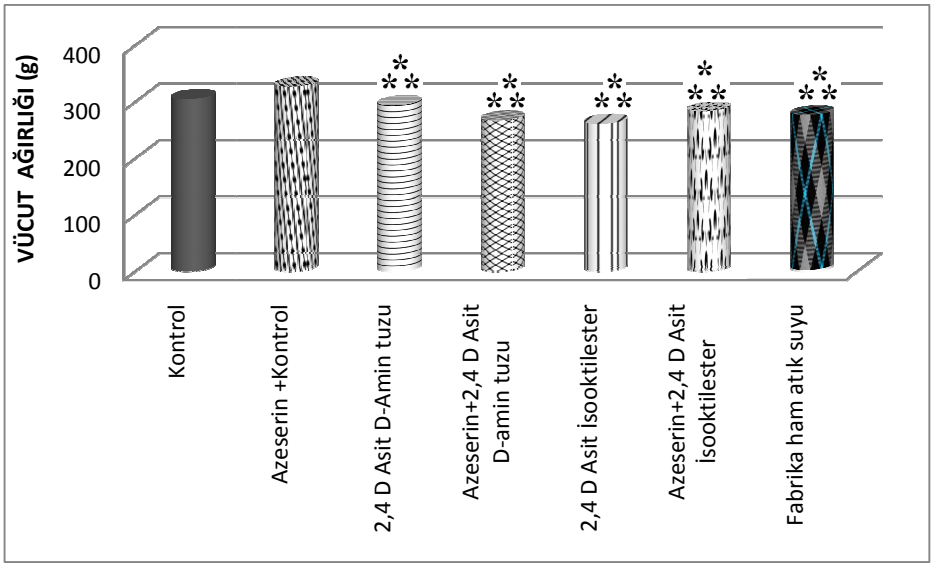
Çizelge 4.1. incelendiğinde, araştırmaya kontrol grubu (Grup 1) olarak katılan deneklere ilişkin karaciğer ağırlığı 9,753±1,292 g olarak, Azeserin-kontrol grubuna (Grup 2) ilişkin karaciğer ağırlığı 10,596±1,743 g olarak, 2,4-D asit D-amin tuzu grubuna (Grup 3) ilişkin karaciğer ağırlığı 8,714±1,506 g olarak, Azeserin+2,4-D asit D-amin tuzu grubuna (Grup 4) ilişkin karaciğer ağırlığı 8,298±1,985 g olarak, 2,4-D asit isooktilester grubuna (Grup 5) ilişkin karaciğer ağırlığı 7,644±1,414 g olarak, Azeserin+2,4-D asit isooktilester grubuna (Grup 6) ilişkin karaciğer ağırlığı 8,466±2,446 g olarak ve fabrika ham atık suyu grubuna (Grup 7) ilişkin karaciğer ağırlığı 8,320±2,652 g olarak tespit edilmiştir. Grupların karaciğer ağırlıkları karşılaştırıldığında (Şekil 4.2); fark görüldüğü fakat gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$).

Çizelge 4.1. Deney gruplarına ait sıçanların ortalama vücut ağırlıkları ile pankreas ve karaciğer ağırlıkları (Ortalama ± Standart Sapma) $p<0,05$

GRUPLAR	AĞIRLIKLAR		
	Vücut Ağırlıkları (g)	**Pankreas Ağırlıkları (g)**	**Karaciğer Ağırlıkları (g)**
Grup 1 Kontrol	305,50 ±47,138	1,524 ± 0,348	9,753 ± 1,292
Grup 2 Azaserin Kontrol	327,0 ±32,357	1,677 ± 0,369	10,596 ± 1,743
Grup 3 2,4-D Asit D-Amin tuzu	294,14 ±47,217	1,393 ±0,290	8,714 ± 1,506
Grup 4 Azaserin 2,4-D Asit D-Amin tuzu	267,0 ±42,289	1,440 ± 0,405	8,298 ± 1,985
Grup 5 2,4-D Asit İsooktilester	261,71 ± 51,503	1,321± 0,323	7,644 ± 1,414
Grup 6 Azaserin 2,4-D Asit İsooktilester	283,71 ±61,018	1,413± 0,538	8,466 ± 2,446
Grup 7 Fabrika ham atık suyu	276,0 ±66,513	1,467 ± 0,668	8,320 ± 2,652

Çizelge 4.2. Araştırmaya katılan deneklere ilişkin vücut ağırlığı, karaciğer ve pankreas ağırlıklarının gruplar bakımından karşılaştırılması.

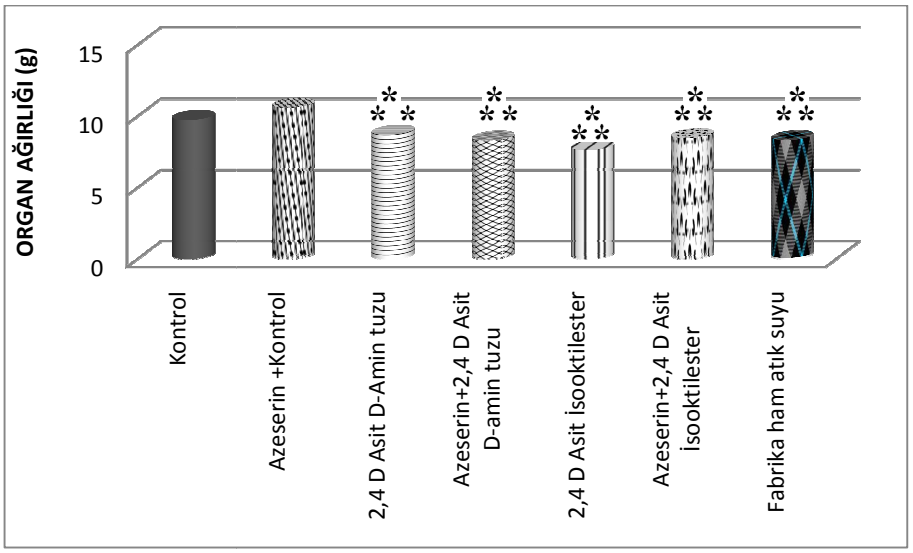
		Kareler toplamı	Ortalama kare	F	P
Vücut ağırlığı	Gruplar arası	21959,388	3659,898	1,411	0,233
Karaciğer	Gruplar arası	42,978	7,163	1,962	0,093
Pankreas	Gruplar arası	0,546	0,091	0,476	0,822



Şekil 4.1. Deney hayvanları vücut ağırlıkları p< 0,05

* Kontrol grubundan farklı değer

** Azaserin kontrol grubundan farklı değer



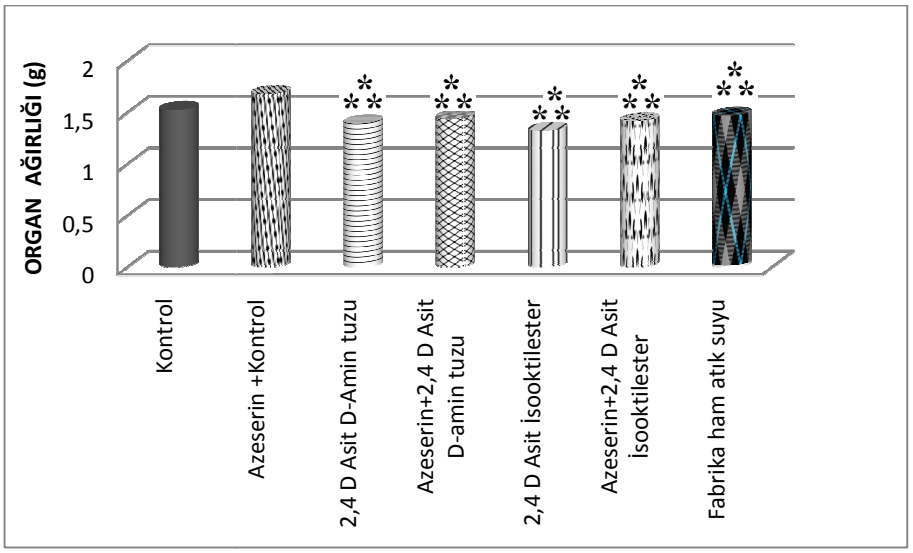
Şekil 4.2. Deney hayvanları karaciğer ağırlıkları p< 0,05

* Kontrol grubundan farklı değer

** Azaserin kontrol grubundan farklı değer

4.1.3. Pankreas ağırlıkları

Yukarıda verilen Çizelge 4.1' incelendiğinde; araştırmaya kontrol grubu (Grup 1) olarak katılan deneklere ilişkin pankreas ağırlığı 1,524±0,348 g olarak, Azeserin+kontrol grubuna (Grup 2) ilişkin pankreas ağırlığı 1,677±0,369 g olarak, 2,4-D asit D-amin tuzu grubuna (Grup 3) ilişkin pankreas ağırlığı 1,393±0,290 g olarak, Azeserin+2,4-D asit D-amin tuzu grubuna (Grup 4) ilişkin pankreas ağırlığı 1,440±0,405 g olarak, 2,4-D asit isooktilester (Grup 5) grubuna ilişkin pankreas ağırlığı 1,321±0,323 g olarak, Azeserin+2,4-D asit isooktilester grubuna (Grup 6) ilişkin pankreas ağırlığı 1,413±0,538 g olarak ve fabrika ham atık suyu grubuna (Grup 7) ilişkin pankreas ağırlığı 1,467±0,668 g olarak tespit edilmiştir. Grupların pankreas ağırlıkları karşılaştırıldığında (Şekil 4.3); fark görüldüğü fakat gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir (P>0,05).



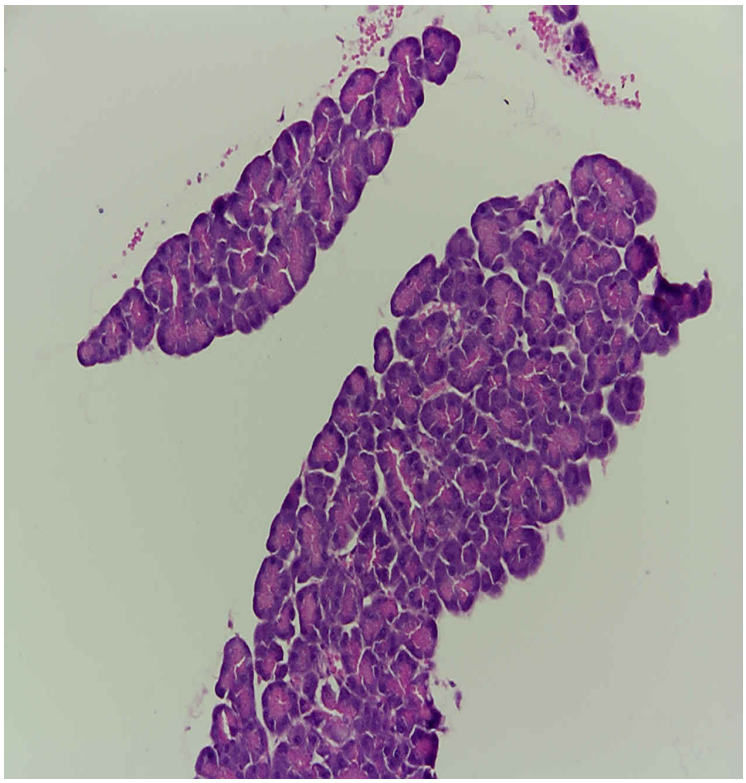
Şekil 4.3. Deney hayvanları pankreas ağırlıkları p< 0,05

* Kontrol grubundan farklı değer

** Azaserin kontrol grubundan farklı değer

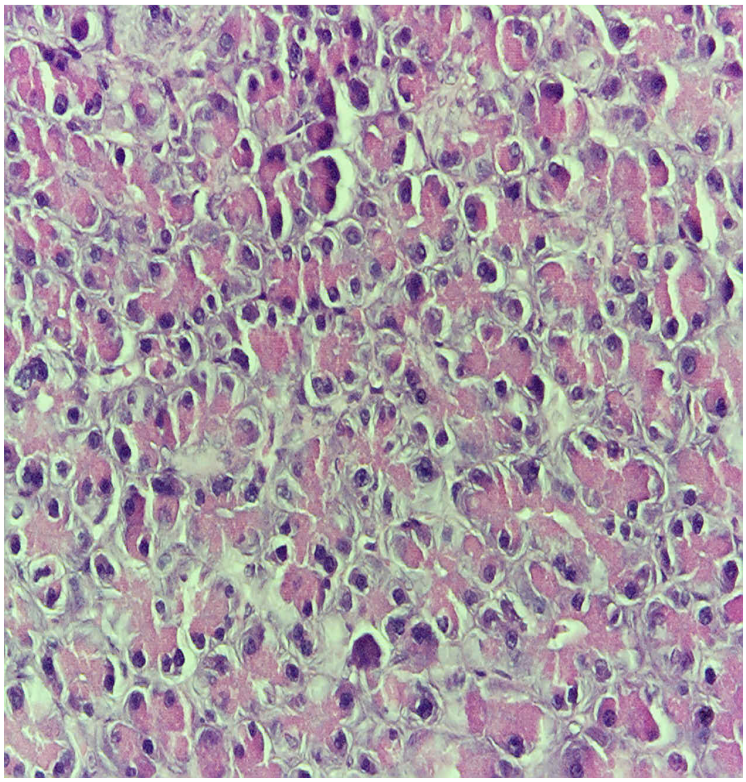
4.1.4. Sıçan pankreaslarının histopatolojik ve kantitatif analizleri

Kontrol grubuna (Grup 1) ait normal sıçan pankreasının, ışık mikroskobunda çekilmiş fotoğrafı Şekil 4.4'de verilmiştir. Salgı bezi özelliğinde bulunan pankreasın, ekzokrin bölümünün yer yer loblarla bölünmüş olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.4. Herhangi bir herbisit ve azaserin ile muamele edilmemiş normal kontrol grubu sıçanlarına ait pankreasın genel görünümü (10X10).

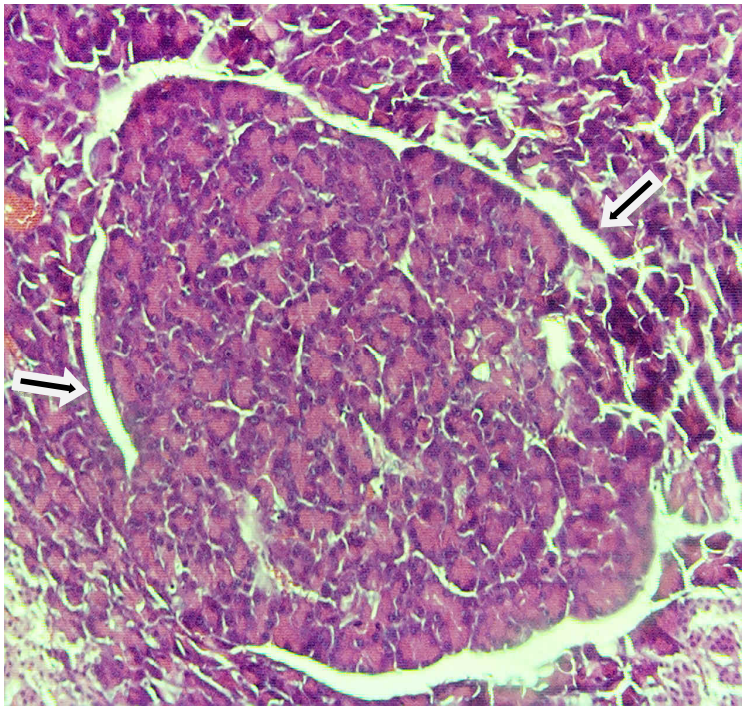
Asinar hücrelerden meydana geldiği bilinen pankreasın, bu salgı hücrelerinden kanalcık ve kanallar vasıtasıyla salgılarını boşalttıkları bilinmektedir. Bu asinar hücrelerin stoplazmalarında bol miktarda bulunan zimojen granüllerinin varlığından dolayı; stoplazmaları eozinofilik boyanma özelliği gösterirken, nukleus'un (çekirdek) bulunduğu kenar kısımlarının ise bazofilik boyanma özelliği gösterdiği gözlenmiştir. Yapılan incelemelerde, yuvarlak bir nukleus (çekirdek) ile belirgin kromatin ve nükleoluslu (çekirdekçik) asinar hücrelerinin bazal bölgesinde konumlandıkları görülmüştür (Şekil 4.5).



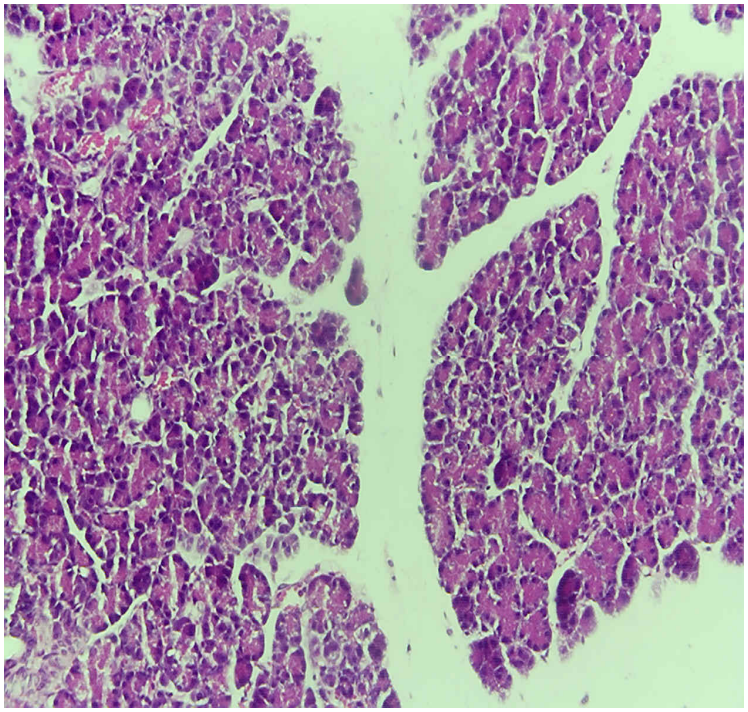
Şekil 4.5. Herhangi bir herbisit ve azaserin ile muamele edilmemiş normal kontrol grubu sıçanlarına ait pankreas hücresinin görünümü (10X20).

Endokrin özelliğe sahip Langerhans Adacıklarının düzgün biçimde boyanmış olduğu ve herhangi bir histolojik bozulmanın olmadığı gözlenmiştir. Kontrol grubu sıçanlarının pankreaslarında herhangi bir şekilde Atipik Asinar Hücre Fokuslarına (AAHF), atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır.

3 hafta boyunca 30 mg/kg vücut ağırlığı azaserin uygulanmış Azaserin kontrol (Grup 2) grubu sıçanların pankreasları incelendiğinde; azaserin uygulaması sonucunda AAHF'lerin oluştuğu ve fenotipik olarak çevrelerindeki normal parankimi oluşturan asinar hücrelerinden belirgin bir şekilde ayrıldıkları (ok) görülmüştür (Şekil 4.6). Fakat bu gruba ait sıçanların pankreaslarında, atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır. Sıçanlarda görülen atipik asinar hücre fokuslarının yapısı belirli bir bağ dokusu ile sınırlandırılmamıştır. Asinar hücrelerin lob yapısında belirgin bozulmalar gözlenmiş olup, sitoplazmada ve zimojen granül miktarında materyal kayıplarının meydana geldiği gözlenmiştir (Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). Azaserin kontrol grubunda meydana gelen AAHF'lerin kantitatif yükleri Çizelge 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.6. Azaserin kontrol grubu sıçanlarına ait belirgin sınırlara sahip olan asidofilik özellikte AAHF'u görünümü (oklar) (10X20).



Şekil 4.7. Azaserin kontrol grubu sıçanlarına ait normal asinar hücreleri ve azaserin uygulaması sonucu doku hasarı meydana gelmiş lob yapıları (10X20).

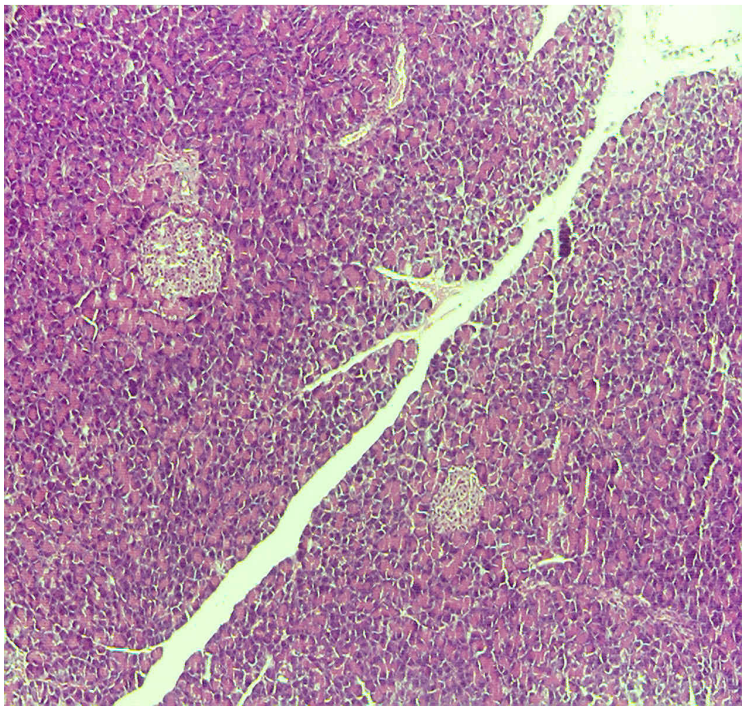
Deney gruplarına ait sıçanların pankreaslarında meydana gelmiş AAHF'lerin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri Çizelge 4.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Deney gruplarına ait sıçanların pankreaslarında meydana gelmiş AAHF'lerin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri (Ortalama ± Standart Sapma) $p<0,05$

GRUPLAR	mm^2'ye düşen AAHF alanı	mm^3'e düşen AAHF hacmi	AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranı	Ortalama fokus çapları (mm)	Ortalama fokus hacmi (mm^3)
Grup 1 **Kontrol**	0	0	0	0	0
Grup 2 **Azaserin Kontrol**	* 0,158 ± 0,038	* 0,961 ± 0,134	* 0,147 ± 0,035	* 0,132 ± 0,002	* 0,0012 ± 0,0001
Grup 3 **2,4-D Asit D-Amin tuzu**	* 0,140 ± 0,021	* 0,711 ± 0,127	* 0,128 ± 0,032	* 0,100 ± 0,003	* 0,0009 ±0,0001
Grup 4 **Azaserin 2,4-D Asit D-Amin tuzu**	** 0,187 ± 0,040	** 1,137 ± 0,162	** 0,172 ± 0,014	** 0,161 ± 0,004	** 0,0014 ±0,0002
Grup 5 **2,4-D Asit İsooktilester**	* 0,146 ± 0,044	* 0,889 ± 0,133	* 0,135 ± 0,038	* 0,126 ± 0,002	* 0,0011 ±0,0002
Grup 6 **Azaserin 2,4-D Asit İsooktilester**	** 0,182 ± 0,052	** 1,107 ± 0,209	** 0,168 ± 0,045	** 0,157 ± 0,001	** 0,0014 ±0,0001
Grup 7 **Fabrika ham atık suyu**	* 0,149 ± 0,050	* 0,906 ± 0,142	* 0,137 ± 0,069	* 0,128 ± 0,004	* 0,0011 ±0,0006

* Kontrol grubuna göre farklı değer

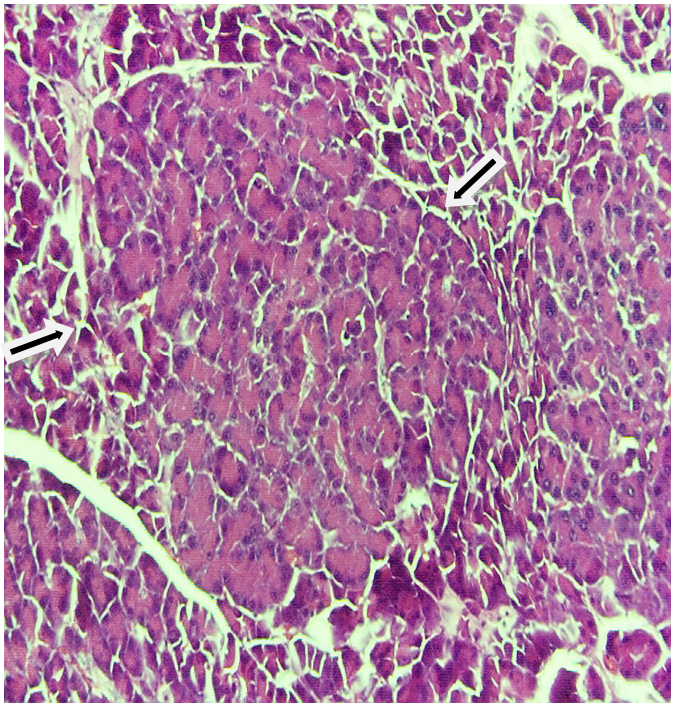
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



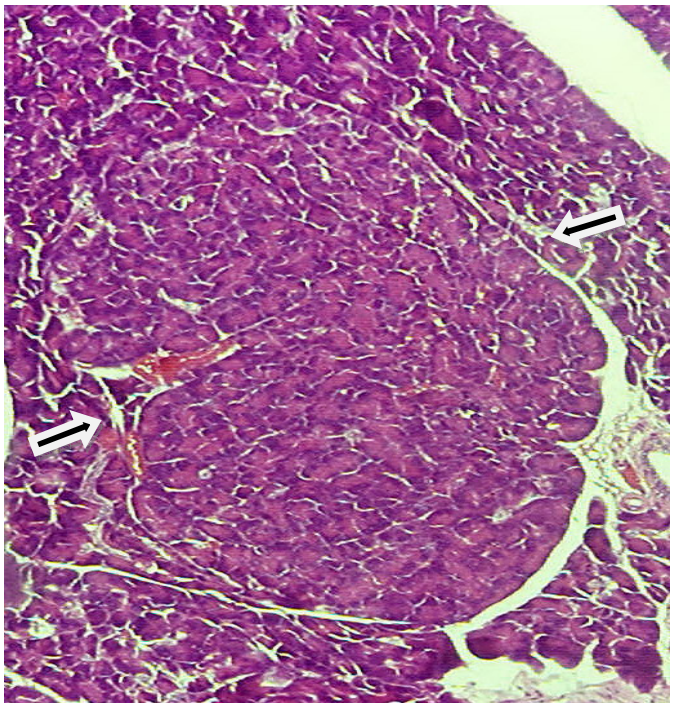
Şekil 4.8. Azaserin kontrol grubu sıçanlarına ait asinar hücrelerinde oluşan ve lob yapısında meydana gelen belirgin bozulmalar (10X20).

2,4-D asit D-amin tuzu (Grup 3) grubuna ait sıçan pankreasının, ışık mikroskobunda çekilmiş fotoğrafı Şekil 4.9'da verilmiştir. 2,4-D asit D-amin tuzu grubu sıçanların pankreasları incelendiğinde; AAHF'lerin meydana geldiği görülmüş olup kantitatif yükleri Çizelge 4.3'de verilmiştir. Bu grupta bulunan sıçanlarda, atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır. Meydana gelen AAHF'lerin hipertrofik özelliğe sahip oldukları, sitoplazmalarında bulundurdukları zimojen granül içeriklerinin daha yoğun olduğu ve artmış asidofilik özellikleri sayesinde daha koyu boyandıkları gözlenmiştir (Şekil 4.9).

3 hafta boyunca 30 mg/kg vücut ağırlığı azaserin uygulanmış Azaserin+2,4-D asit D-amin tuzu (Grup 4) grubuna ait sıçan pankreasının, ışık mikroskobunda çekilmiş fotoğrafı Şekil 4.10'da verilmiştir. Azaserin+2,4-D asit D- amin tuzu grubu sıçanların pankreasları incelendiğinde; AAHF'lerin meydana geldiği görülmüş olup kantitatif parametreleri Çizelge 4.3'de verilmiştir. Bu grupta bulunan sıçanların pankreaslarında, atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır.



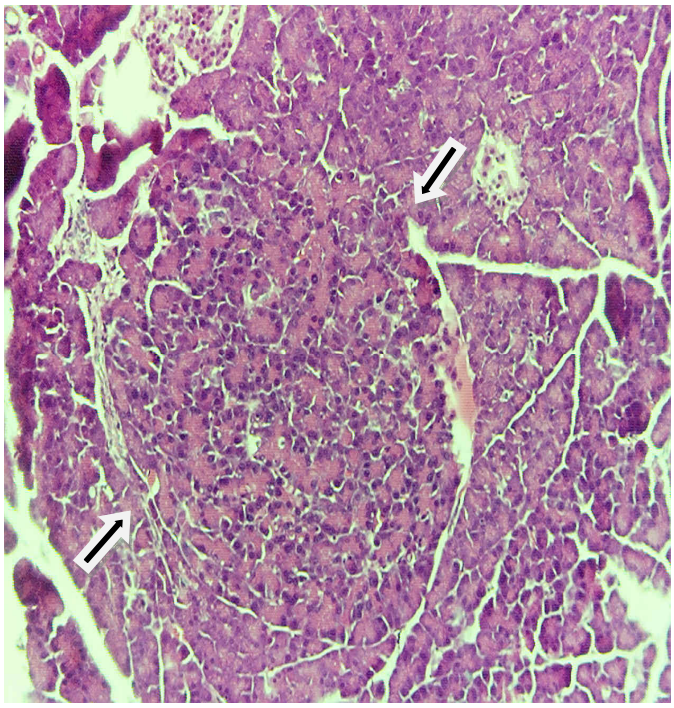
Şekil 4.9. 2,4 D asit dimetil amin tuzu grubu sıçanlarına ait belirgin sınırlara sahip olan asidofilik özellikte AAHF'u görünümü (oklar) (10X20).



Şekil 4.10. Azaserin uygulanmış 2,4 D asit dimetil amin tuzu grubu sıçanlarına ait asidofilik özellikte AAHF'u görünümü (oklar) (10X20).

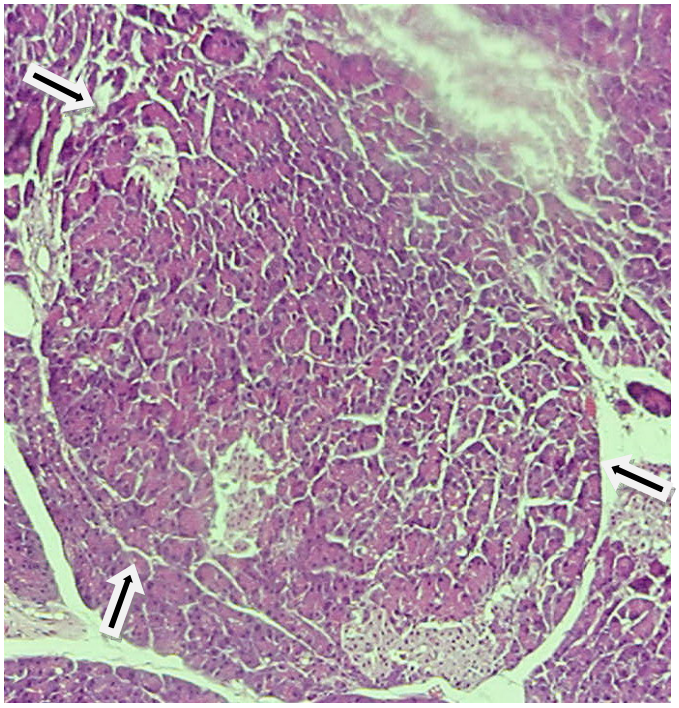
2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 5) sıçanların pankreasları incelendiğinde; AAHF'lerin meydana geldiği görülmüştür. Hipertrofik özelliğe sahip AAHF'lerin, sitoplazmalarında bulundurdukları zimojen granül içeriklerinin daha yoğun olduğu ve artmış asidofilik özellikleri sayesinde daha koyu boyandıkları gözlenmiştir (Şekil 4.11).

3 hafta boyunca 30 mg/kg vucüt ağırlığı azaserin uygulanmış, Azaserin+2,4-D asit isooktilester (Grup 6) grubuna ait sıçanların pankreasları incelendiğinde; AAHF'lerin meydana geldiği görülmüştür (Şekil 4.12). 2,4-D asit isooktilester (Grup 5) ve Azaserin+2,4-D asit isooktilester (Grup 6) grubuna ait sıçan pankreaslarında atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır. Her iki gruba ait meydana gelen AAHF'lerin kantitatif parametreleri Çizelge 4.3'de verilmiştir.

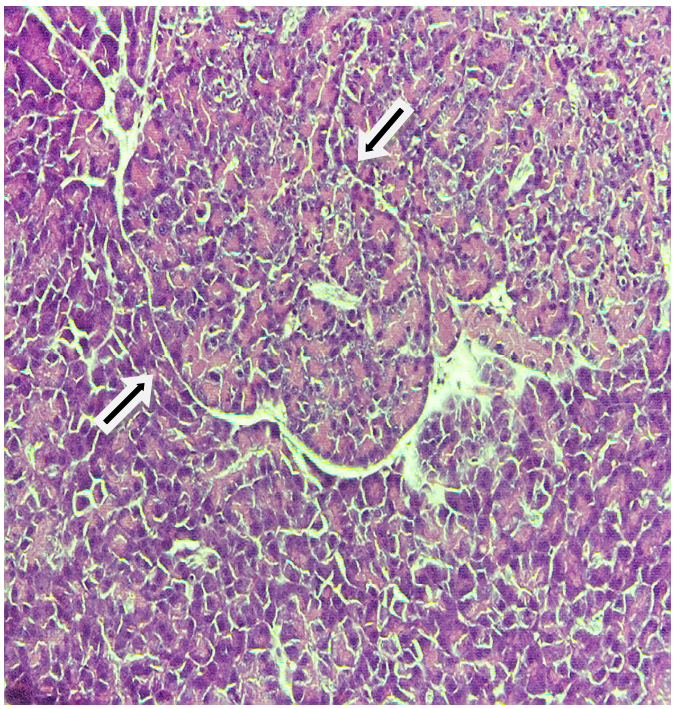


Şekil 4.11. 2,4 D asit isooktilester grubu sıçanlarına ait belirgin sınırlara sahip olan asidofilik özellikte AAHF'u görünümü (oklar) (10X20).

Fabrika ham atık suyu grubu (Grup 7) sıçanlarının pankreasları incelendiğinde; AAHF'lerin meydana geldiği görülmüş olup, bu grupta da atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. Azaserin uygulanmış 2,4-D asit isooktilester grubu sıçanlarına ait belirgin sınırlara sahip olan asidofilik özellikte AAHF'nin görünümü (oklar) (10X20).

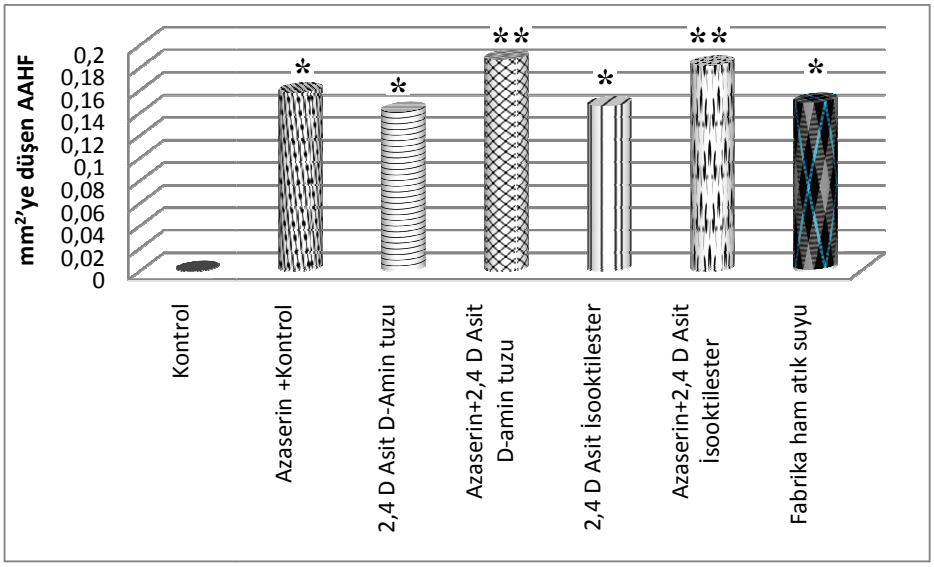


Şekil 4.13. Fabrika ham atık suyu grubu sıçanlarına ait belirgin sınırlara sahip olan asidofilik özellikte AAHF'nin görünümü (oklar) (10X20).

2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 3) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında, kontrol grubunda AAHF' lerin oluşmadığı, 2,4-D Asit D-amin tuzu verilen grupta (Grup 3) ise AAHF' lerin oluştuğu gözlenmiştir. Azaserin +2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 4) ile Azaserin kontrol grubunun (Grup 2) karşılaştırılması sonucunda, tüm kantitatif parametrelerde AAHF yükünün anlamlı olacak şekilde arttığı görülmüştür. Dolayısıyla da 2,4-D asit D-amin tuzunun sıçan pankreasında AAHF'lerin oluşumuna neden olduğu ve azaserin kullanılarak deneysel olarak oluşturulmuş AAHF'lerin fokus çapını, fokus hacmini, mm^2 ve $mm^{3'}$e düşen AAHF'leri arttırdığı muhtemel görünmektedir (Şekil 4.14- Şekil 4.18).

2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 5) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında, kontrol grubunda AAHF'lerin oluşmadığı, diyetlerine 2,4-D asit isooktilester (Grup 5) verilen grupta ise AAHF'lerin oluştuğu gözlenmiştir. Azaserin +2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 6) ile Azaserin kontrol grubunun (Grup 2) karşılaştırılması sonucunda, tüm kantitatif parametrelerde AAHF yükünün anlamlı olacak şekilde arttığı görülmüştür. Bu bakımdan, 2,4-D asit isooktilesterin sıçan pankreasında AAHF'lerin oluşumuna neden olduğu ve azaserin kullanılarak deneysel olarak oluşturulmuş AAHF'lerin fokus çapını, fokus hacmini, mm^2 ve $mm^{3'}$e düşen AAHF'leri arttırdığı muhtemel görünmektedir.

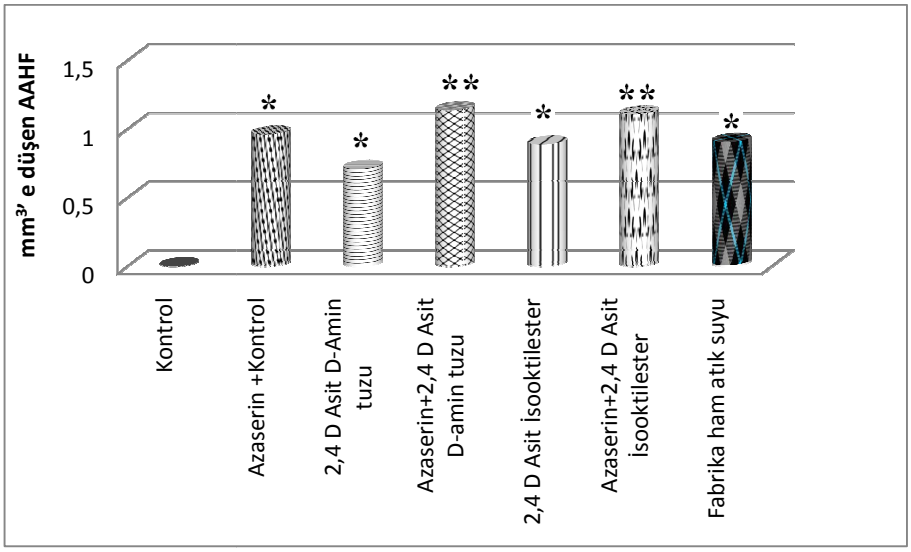
Komposit fabrika ham atık suyu grubu (Grup 7) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında, kontrol grubunda AAHF'lerin oluşmadığı, diyetlerine komposit fabrika ham atık suyu verilen grupta (Grup 7) ise AAHF' lerin oluştuğu gözlenmiştir. Fabrika ham atık suyu uygulanmış gruplarda (Grup 7) bulunan sıçanların pankreaslarında oluşan atipik asinar hücre fokuslarının, 2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 3) ve 2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 5) sıçanlarının AAHF yükü ile karşılaştırıldığında; fabrika ham atık suyu (Grup 7) uygulanmış gruplarda bulunan sıçanların pankreaslarında tüm kantitatif parametrelerde AAHF yükünün anlamlı olacak şekilde arttığı görülmüştür. Bu bakımdan, fabrika ham atık suyunun doğaya arıtılmadan verilmesi durumunda sıçan pankreasında AAHF'lerin oluşumuna neden olduğu muhtemel görünmektedir (Şekil 4.14- Şekil 4.18).



Şekil 4.14. Pankreasta mm^2'ye düşen AAHF'lerin gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

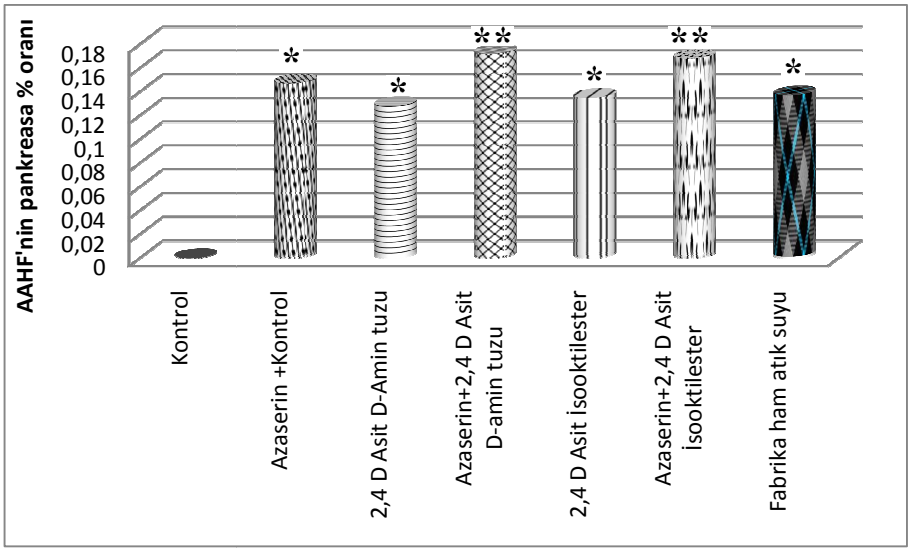
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.15. Pankreasta mm^3'e düşen AAHF'lerin gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

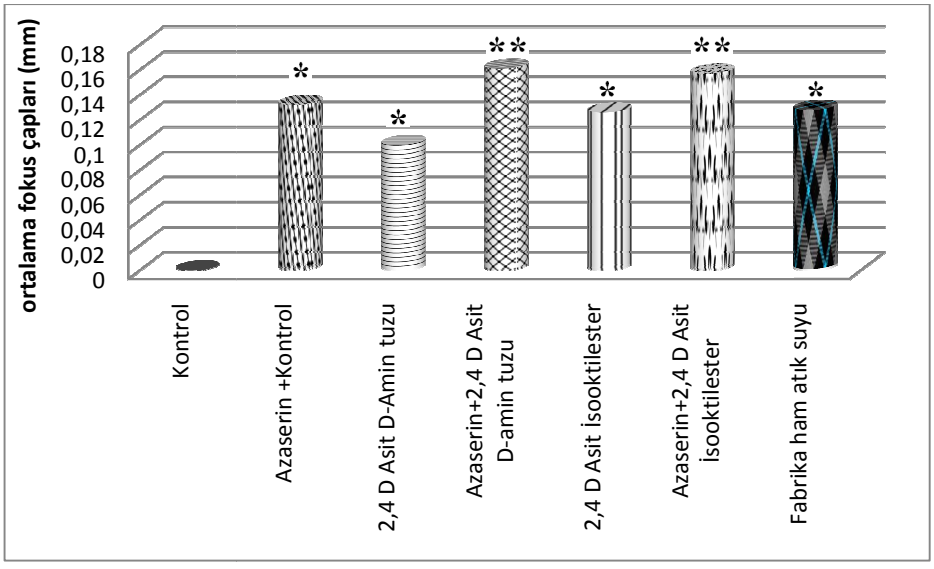
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.16. AAHF büyüklüğünün tüm pankreas büyüklüğüne % oranının gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

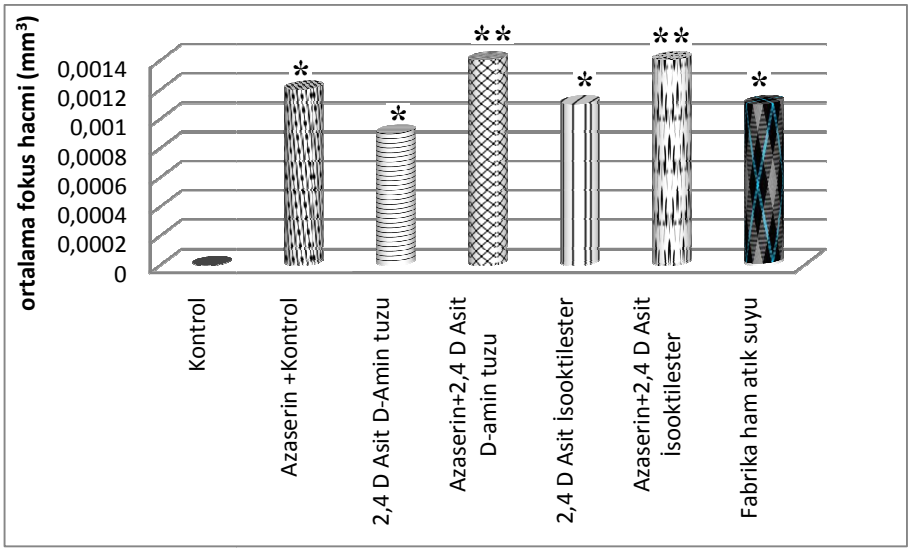
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.17. Ortalama fokus çaplarının (mm) gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



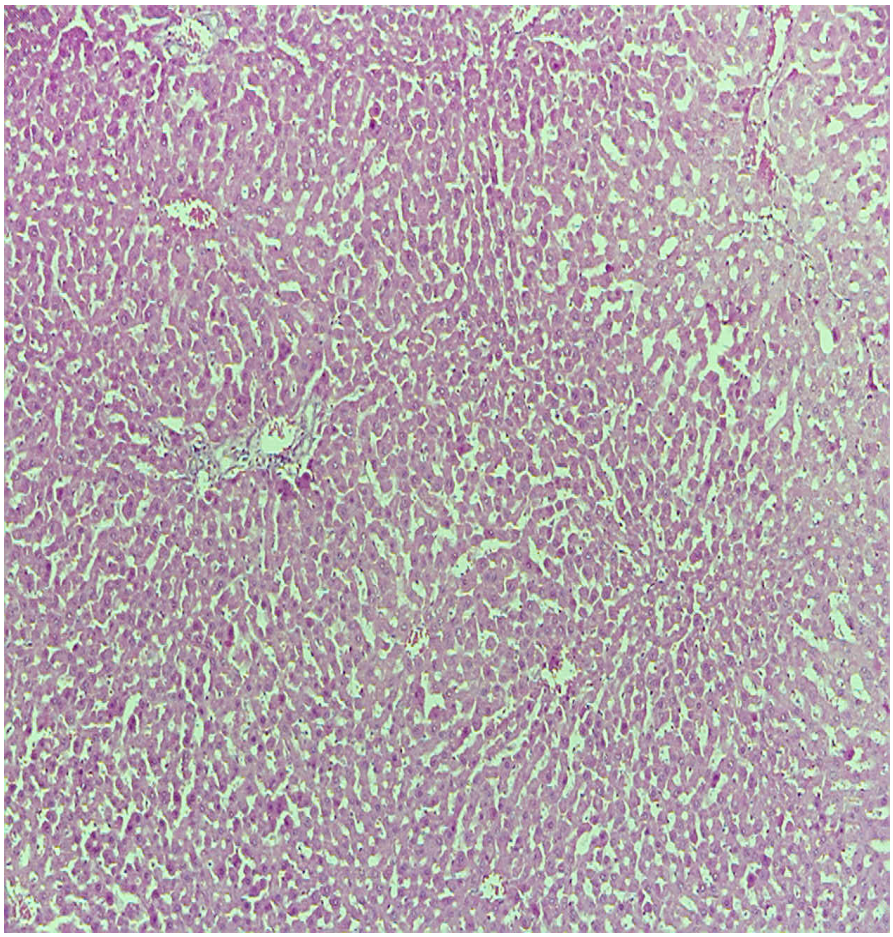
Şekil 4.18. Ortalama fokus hacimlerinin (mm^3) gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer

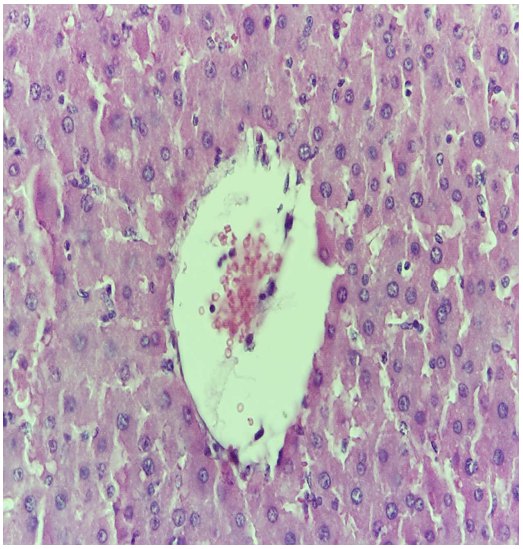
4.1.5. Sıçan karaciğerlerinin histopatolojik ve kantitatif analizleri

Kontrol grubuna (Grup 1) ait normal sıçan karaciğerinin, ışık mikroskobunda çekilmiş fotoğrafı Şekil 4.19 ve 4.20'de verilmiştir. Karaciğeri meydana getiren hepatositlerin gruplar halinde ışınsal bir dizilim gösterdiği ve lobuller oluşturdukları, bu lobüllerin periferden merkeze doğru dağılım gösterdikleri görülmüştür (Şekil 4.19).



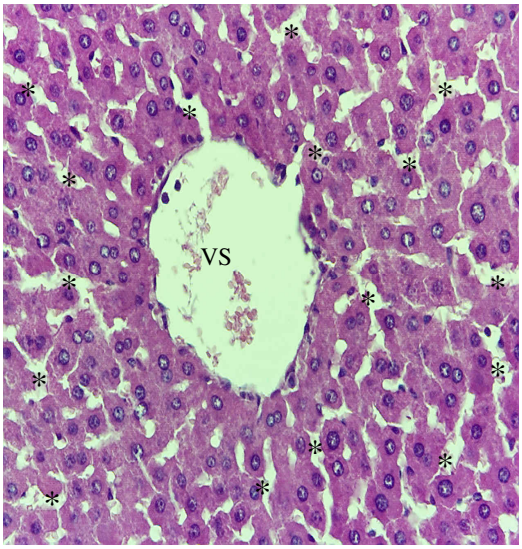
Şekil 4.19. Herhangi bir herbisit ve azaserin ile muamele edilmemiş kontrol grubu sıçanlarına ait normal karaciğer hücrelerinin görünümü (10X10).

Karaciğer hücrelerinde, çekirdeklerin genellikle birden fazla olduğu (poliploid) gözlenmiştir. Stoplazmalarında bulunan glikojen nedeni ile hücrelerin pembe renge boyandığı, yer yer bazofilik boyanma özelliğinin olduğu görülmüştür (Şekil 4.20).

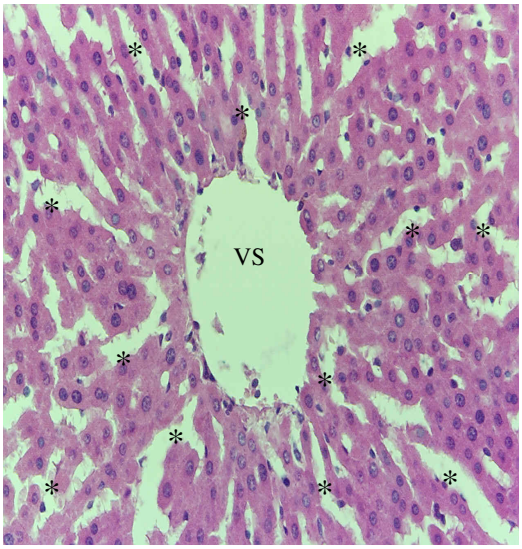


Şekil 4.20. Herhangi bir herbisit ve azaserin ile muamele edilmemiş kontrol grubu sıçanlarına ait normal karaciğer hücrelerinin görünümü (10X40).

Kontrol grubu (Grup 1) olarak alınan ve normal diyetle beslenen sıçanlara ait karaciğer kesitlerinde, bu organa özgü histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır. 2,4-D asit D-amin tuzu (Grup 3) ve Azaserin+2,4-D asit D-amin tuzu (Grup 4) ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğerde, vena sentralise (VS) yakın sinüzoidlerde genişleme (*) ve bazı çekirdek yapıları normal izlenmekle beraber bazıları heterokromatikleşme göstermektedir (Şekil 4.21 ve Şekil 4.22).

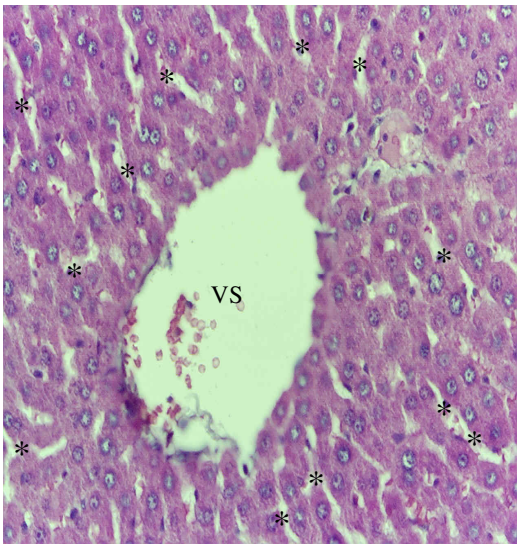


Şekil 4.21. 2,4-D asit D-amin tuzu ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğer hücrelerinin görünümü (10X40).

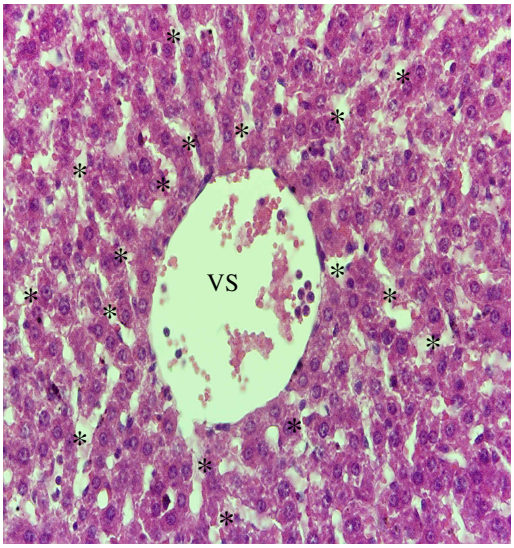


Şekil 4.22. Azaserin+2,4-D asit D-amin tuzu ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğer hücrelerinin görünümü (10X40).

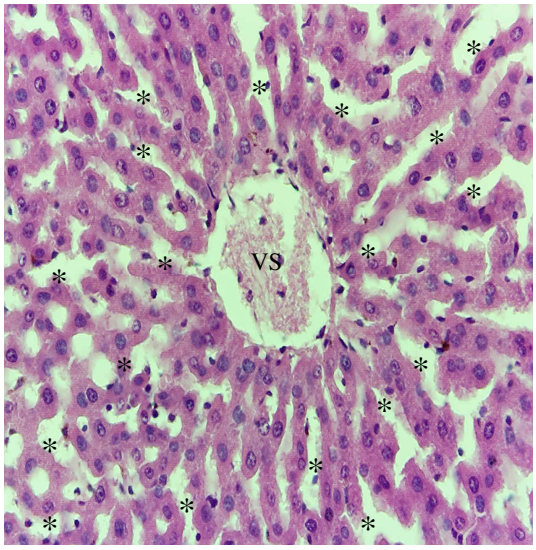
2,4-D asit isooktilester (Grup 5) ve Azaserin+2,4-D asit isooktilester (Grup 6) ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğerde, vena sentralise yakın sinüzoidlerde genişleme (*) görülmüştür (Şekil 4.23 ve Şekil 4.24). Fabrika ham atık suyu ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğerde vena sentralise yakın sinüzoidlerde genişleme (*) diğer gruplara oranla daha fazla görülmüştür (Şekil 4.25).



Şekil 4.23. 2,4-D asit isooktilester ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğer hücrelerinin görünümü (10X40).

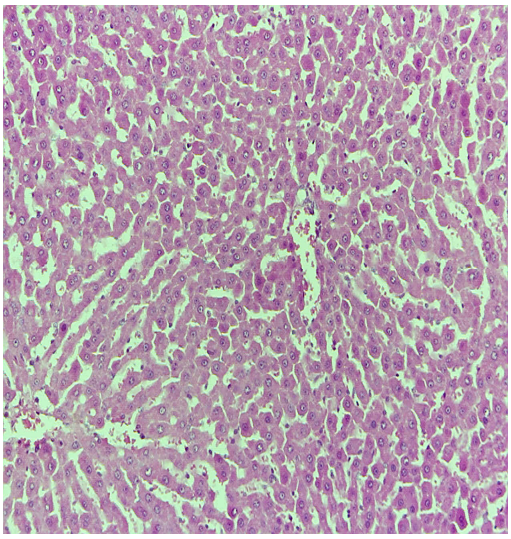


Şekil 4.24. Azaserin+ 2,4-D asit isooktilester ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğer hücrelerinin görünümü (10X40).

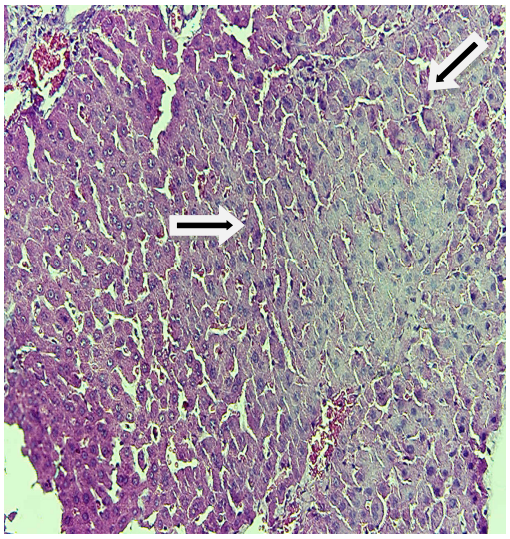


Şekil 4.25. Fabrika ham atık suyu ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğer hücrelerinin görünümü (10X40).

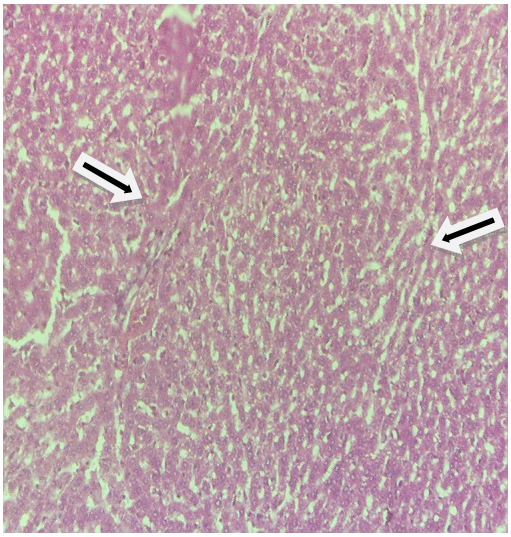
Kontrol grubu (Grup 1) hariç tüm gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7'de) bulunan sıçanların karaciğerlerinde atipik hücre fokuslarının (AHF) meydana geldiği görülmüş olup, herhangi bir şekilde atipik hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır. Bu gruplara ait sıçanların karaciğer hücrelerinin görünümü Şekil 4.26-Şekil 4.33'de verilmiş olup, tüm gruplara ait fokusların kantitatif yükleri Çizelge 4.4'de verilmiştir.



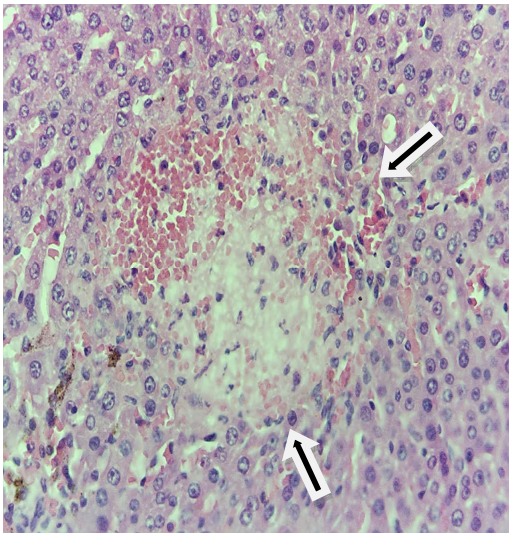
Şekil 4.26. Herhangi bir herbisit ve azaserin ile muamele edilmemiş kontrol grubu sıçanlarına ait normal karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).



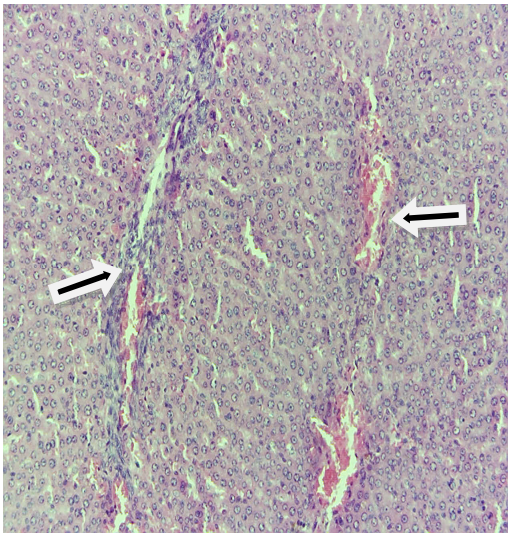
Şekil 4.27. Azaserin ile muamele edilmiş sıçanların karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).



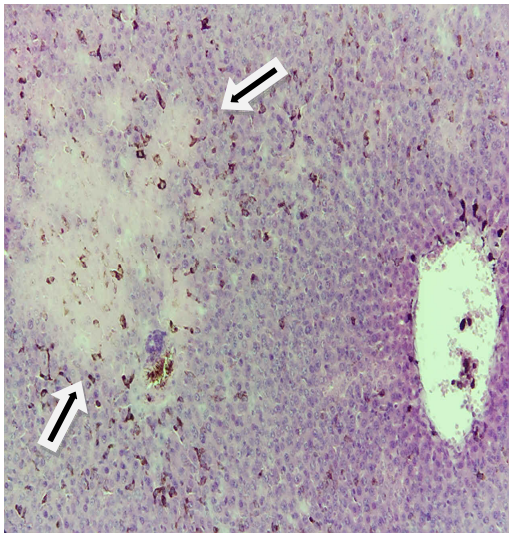
Şekil 4.28. 2,4-D asit D-amin tuzu ile muamele edilmiş sıçanların karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).



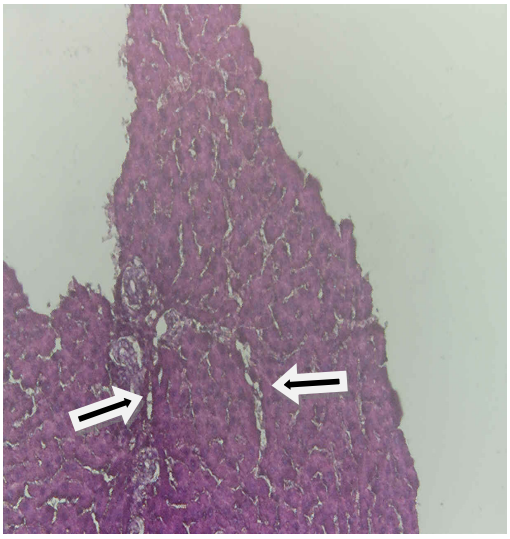
Şekil 4.29. Azaserin+2,4-D asit D-amin tuzu ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).



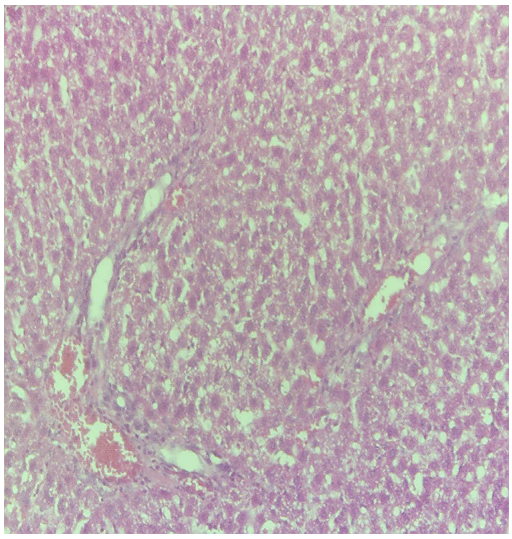
Şekil 4.30. 2,4-D asit isooktilester ile muamele edilmiş sıçanların karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).



Şekil 4.31. Azaserin+2,4-D asit isooktilester ile muamele edilmiş sıçanların karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).



Şekil 4.32. Fabrika ham atık suyu ile muamele edilmiş sıçanların karaciğerler hücrelerinin görünümü (10X20).



Şekil 4.33. Fabrika ham atık suyu ile muamele edilmiş sıçanların karaciğer hücrelerinin görünümü (10X20).

Çizelge 4.4. Deney gruplarına ait sıçanların karaciğerlerinde meydana gelmiş AHF'lerin karşılaştırılması amacıyla tüm gruplara ait kantitatif fokus değerleri (Ortalama ± Standart Sapma) $p<0,05$

GRUPLAR	mm^2'ye düşen AHF alanı	mm^3'e düşen AHF hacmi	AHF büyüklüğünün tüm karaciğer büyüklüğüne % oranı	Ortalama fokus çapları (mm)	Ortalama fokus hacmi (mm^3)
Grup 1 **Kontrol**	0	0	0	0	0
Grup 2 **Azaserin Kontrol**	* 0,250±0,045	* 1,520±0,128	* 0,210±0,019	* 0,236±0,008	* 0,034±0,004
Grup 3 **2,4-D Asit D-Amin tuzu**	* 0,200±0,017	* 1,216±0,052	* 0,190±0,005	* 0,185±0,006	* 0,028±0,006
Grup 4 **Azaserin 2,4-D Asit D-Amin tuzu**	** 0,278±0,058	** 1,691±0,130	** 0,224±0,012	** 0,241±0,004	** 0,035±0,008
Grup 5 **2,4-D Asit İsooktilester**	* 0,210±0,024	* 1,365±0,068	* 0,185±0,008	* 0,193±0,010	* 0,024±0,009
Grup 6 **Azaserin 2,4-D Asit İsooktilester**	** 0,265±0,064	** 1,723±0,028	** 0,215±0,006	** 0,239±0,005	** 0,034±0,007
Grup 7 **Fabrika ham atık suyu**	* 0,255±0,072	* 1,530±0,053	* 0,210±0,010	* 0,218±0,009	* 0,031±0,005

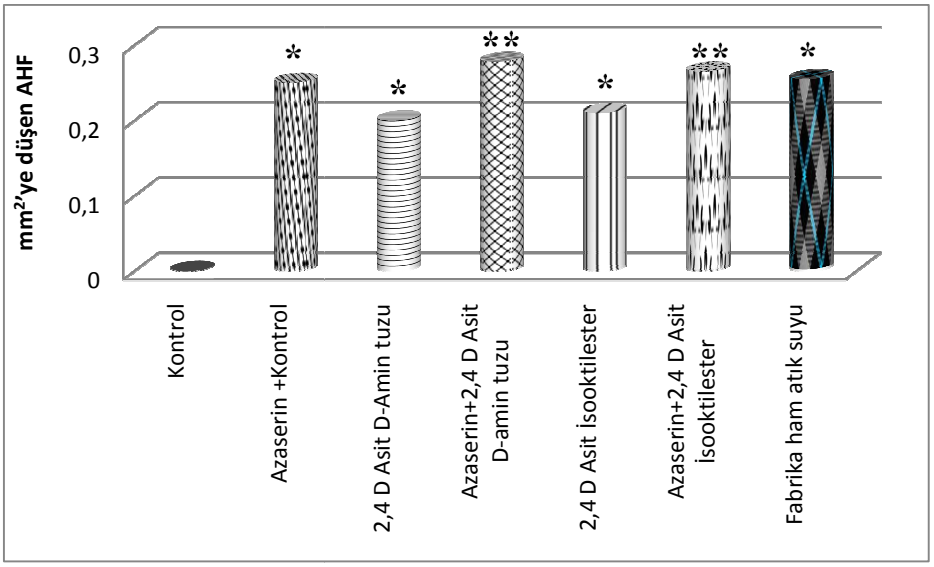
* Kontrol grubuna göre farklı değer

** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer

2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 3) ile kontrol grubu (Grup 1) sıçanlarının karaciğerleri karşılaştırıldığında, normal diyet ile beslenen kontrol grubu sıçanlarının karaciğerlerinde AHF'lerin oluşmadığı, diyetlerine 2,4-D asit D-amin tuzu (Grup 3) verilen grupta ise AHF' lerin oluştuğu gözlenmiştir. Azaserin +2,4 D Asit D-amin tuzu grubu (Grup 4) ile Azaserin kontrol grubunun (Grup 2) karşılaştırılması sonucunda, Grup 4'de tüm kantitatif parametrelerde AHF yükünün anlamlı olacak şekilde arttığı görülmüştür (Şekil 4.34-Şekil 4.38). Bu nedenle; 2,4 D Asit D-amin tuzu'nun sıçan karaciğerlerinde AHF'lerin oluşumuna neden olduğu ve azaserin kullanılarak deneysel olarak oluşturulmuş AHF'lerin fokus çapını, fokus hacmini, mm^2 ve mm^3'e düşen AHF'leri arttırdığı muhtemel görünmektedir.

Kontrol grubu (Grup 1) ile 2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 5) karşılaştırıldığında, kontrol grubunda AHF'lerin oluşmadığı, diyetlerine 2,4-D asit isooktilester (Grup 5) verilen grupta ise AHF'lerin oluştuğu gözlenmiştir. Azaserin +2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 6) ile Azaserin kontrol grubunun (Grup 2) karşılaştırılması sonucunda, Azaserin +2,4-D asit isooktilester grubunda tüm kantitatif parametrelerde AHF yükünün anlamlı olacak şekilde arttığı görülmüştür (Çizelge 4.4). Bu bakımdan, 2,4-D asit isooktilester'in sıçan karaciğerinde AHF'lerin oluşumuna neden olduğu ve azaserin kullanılarak deneysel olarak oluşturulmuş AHF'lerin fokus çapını, fokus hacmini, mm^2 ve $mm^{3'}$e düşen AHF'leri arttırdığı muhtemel görünmektedir.

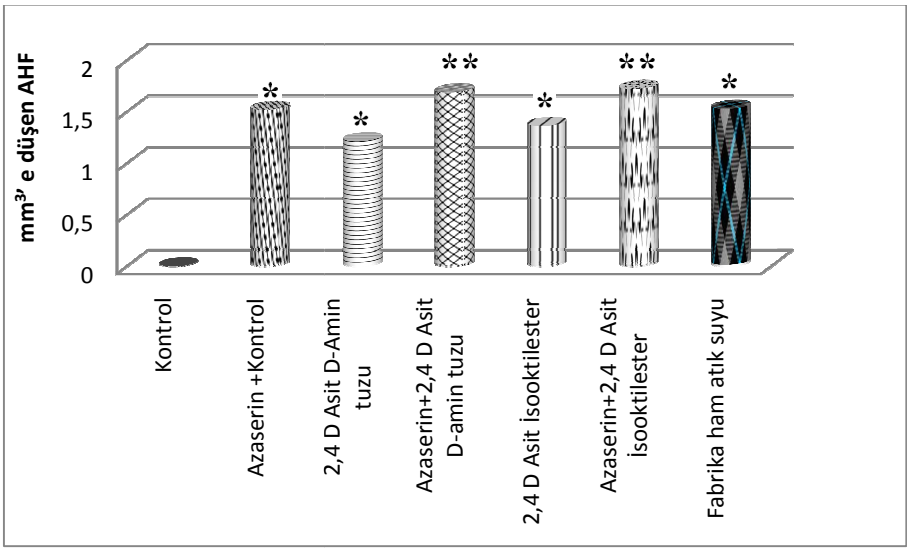
Komposit fabrika ham atık suyu grubu (Grup 7) ile kontrol grubu (Grup 1) karşılaştırıldığında, kontrol grubunda AHF'lerin oluşmadığı, diyetlerine komposit fabrika ham atık suyu verilen grupta (Grup 7) ise AHF'lerin oluştuğu gözlenmiştir. Fabrika ham atık suyu uygulanmış gruplarda (Grup 7) bulunan sıçanların karaciğerlerinde oluşan atipik hücre fokuslarının, 2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 3) ve 2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 5) sıçanlarının AHF yükü ile karşılaştırıldığında; fabrika ham atık suyu (Grup 7) uygulanmış gruplarda bulunan sıçanların karaciğerlerinde tüm kantitatif parametrelerde AHF yükünün arttığı görülmüştür. Bu bakımdan, fabrika ham atık suyunun doğaya arıtılmadan verilmesi durumunda sıçan karaciğerlerinde AHF'lerin oluşumuna neden olduğu muhtemel görünmektedir (Şekil 4.34-Şekil 4.38).



Şekil 4.34. Karaciğerde mm^{2}'ye düşen AHF'lerin gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

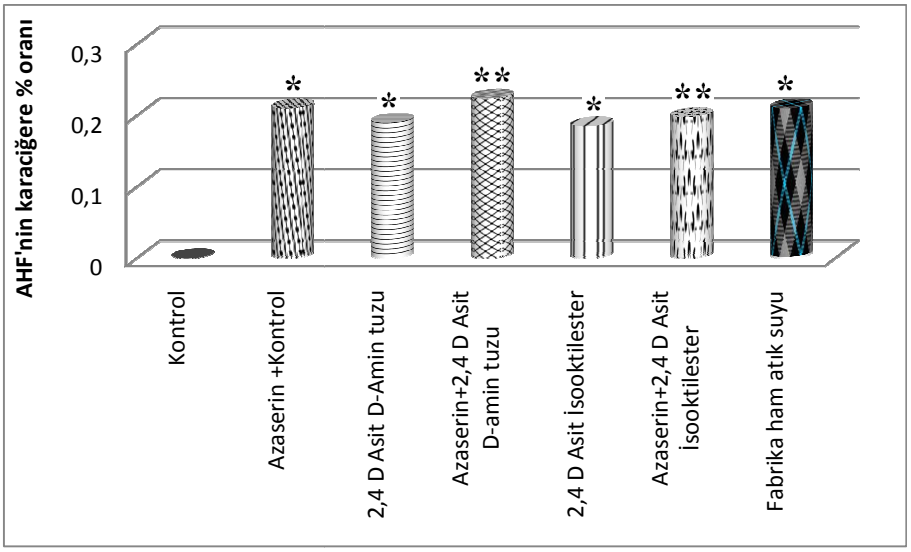
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.35. Karaciğerde mm^{3}'e düşen AHF'lerin gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

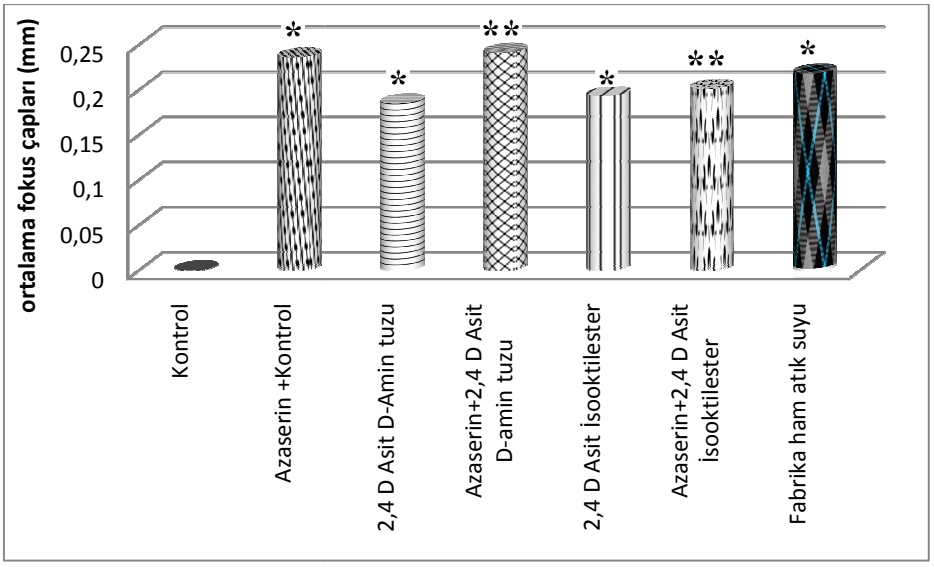
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.36. AHF büyüklüğünün tüm karaciğer büyüklüğüne % oranının gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

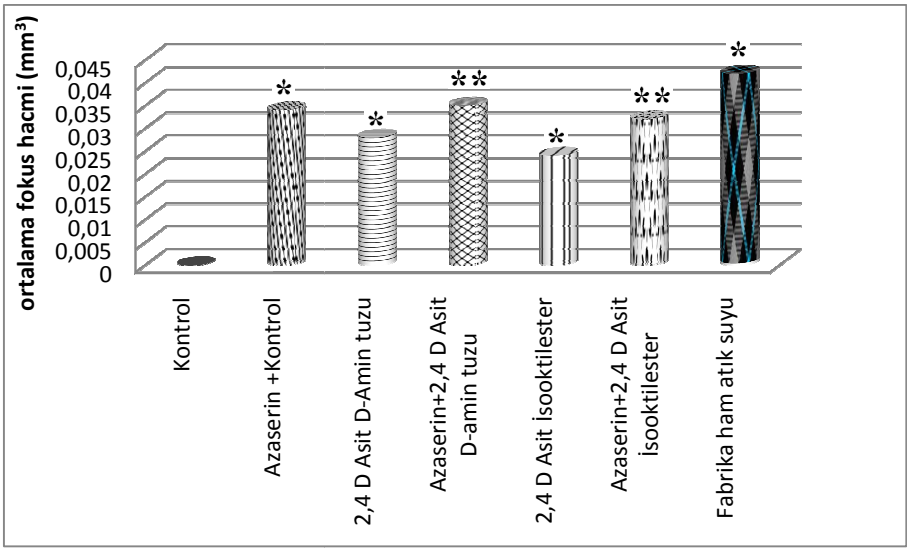
** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.37. Karaciğerde ortalama fokus çaplarının (mm) gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer



Şekil 4.38. Karaciğerde ortalama fokus hacimlerinin (mm^3) gruplara göre karşılaştırılması.

* Kontrol grubuna göre farklı değer

** Hem Azaserin kontrol hem de kontrol grubuna göre farklı değer

4.2. Bitki Ve Toprakda Kalıntı Analizi İle Endüstriyel Atık Su Analizi Bulguları

Konya İli Çumra İlçesinde 2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitlerinin uygulandığı tarladan alınan toprak ve buğday örneklerine ait kalıntı analizi sonuçları Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.5. 2,4-D asit' in topraktaki kalıntı miktarları

Herbisit adı	Uygulama sonrası µg/g	7 gün sonra µg/g	14 gün sonra µg/g	21 gün sonra µg/g
2,4-D asit D-amin tuzu	0,870	0,540	0,152	0,072
2,4-D asit isooktilester	0,653	0,390	0,134	0,060

Çizelge 4.6. 2,4-D asit' in buğdaydaki kalıntı miktarları

Herbisit adı	Uygulama sonrası mg/kg	7 gün sonra mg/kg	14 gün sonra mg/kg	21 gün sonra mg/kg
2,4-D asit D-amin tuzu	0,35	0,16	0,19	0,08
2,4-D asit isooktilester	0,26	0,12	0,15	0,06

US. EPA (2010) tarafından 2,4-D'lerin toprakta bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limiti 0,05 ppm olarak belirlenmiştir. Birleşmiş Milletler Gıda Tarım Teşkilatı ve Dünya Sağlık Teşkilatı ortak komisyonu tarafından bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı limiti arpa, buğday ve çavdarda 0,5 mg/kg'dır (FAO, 2010). Yapılan kalıntı analizi neticesinde; hem toprakta hemde buğdaydaki kalıntı miktarının, kabul edilebilir maksimum kalıntı miktarından fazla olduğu belirlenmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise 2,4-D'lerin toprakta 2,6-36,3 µg/kg oranlarında, buğdayda ise uygulamadan 7 gün sonra 0,273 ppm düzeyinde bulunduğu belirlenmiştir (Bierl, 1984; Wilson, 1997). Boivin ve ark.'ı (2005) tarafından ise 2,4-D'lerin topraktaki total kalıntı miktarlarının 30 ila 60 gün arasında azaldığı belirtilmiştir.

Grup 7'de bulunan sıçanlara uygulanan pestisit endüstrisi ham atık suyunun analizi neticesinde; fosfat miktarının 6,3 mg/l, Toplam Azot miktarının 35 mg/l, Kimyasal Oksijen İhtiyacının 980 mg/l, 2,4-D asit amin tuzu miktarının 225 mg/l, 2,4-D asit isooktilester miktarının 212 mg/l, Toplam Pestisit miktarının 566 mg/l olduğu belirlenmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2'de görüldüğü üzere, araştırmaya katılan kontrol grubu (Grup 1), Azeserin-kontrol grubu (Grup 2), 2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 3), Azeserin+2,4-D asit D-amin tuzu grubu (Grup 4), 2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 5), Azeserin+2,4-D asit isooktilester grubu (Grup 6) ve fabrika ham atık suyu grubuna (Grup 7) ilişkin vücut ağırlıkları, karaciğer ve pankreas ağırlıkları karşılaştırıldığında; gruplar arasında vücut, karaciğer ve pankreas ağırlıklarında fark görüldüğü fakat gruplar bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir ($P>0,05$). Tayeb ve ark.'nın (2010) yapmış olduğu araştırmada; 2,4-D asit 15, 75 ve 150 mg/kg dozlarda oral gavaj ile 4 hafta boyunca sıçanlara uygulanmıştır. 2,4-D asit uygulanan sıçanların, kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda; vücut ağırlığının azaldığı, karaciğer ağırlığında 4 haftadan sonra artış görüldüğü tespit edilmiştir. Yapmış olduğumuz araştırmada elde edilen vücut ağırlıkları ile ilgili veriler (Şekil 4.1.), Tayeb ve ark'nın (2010) çalışması ile paralellik göstermektedir. Yapılan bir diğer çalışmada, Ateş ve ark'ı (2009) 2,4-D asiti 20 mg/kg/gün, 40 mg/kg/gün ve 80 mg/kg/gün dozlarında oral gavaj ile 28 gün boyunca sıçanlara uygulamıştır. Çalışma sonucunda; 40 mg/kg/gün ve 80 mg/kg/gün dozları uygulanan gruplarda vücut ağırlığında düşüş olduğu ve gruplar arasında sıçanların karaciğer ağırlıkları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirtilmiştir. Bu çalışmada bulunan sonuçlar da yapmış olduğumuz araştırma çalışması ile paralellik göstermektedir.

2,4-D asit isooktilesterinde içerisinde bulunduğu 2,4-D grubu pestisitlerin deneysel olarak canlılarda teratojenik, nörotoksik, imminolojik, sitotoksik ve hepatotoksik bir kısım etkilerinin olabileceği gösterilmiştir (Barrenow ve ark., 2000; Rosso ve ark., 2000; Venkov ve ark., 2000; Charles ve ark., 2001; Madrigal-Bujaidar ve ark., 2001; Osaki ve ark., 2001). 2,4-D'nin kanser riski ile ilgili olarak farklı uluslar arası kurumlar farklı görüşler bildirmektedirler. 8 Ağustos 2007 yılında Çevre Koruma Ajansı (U.S.EPA), elde edilen mevcut veri sonuçlarının 2,4-D'ye maruz kalan insanlarda kansere neden olmadığını belirten bir karar yayınlamıştır (U.S.EPA., 2007) Ancak, Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC) ise bunun tam tersi bir kararı yayınlayarak, 2,4-D'lerin insanlarda muhtemel bir kansere neden olan karsinojen bir madde olduğunu bildirmiştir (IARC, 1987b). Düzenlenen bir panelde 2,4-D'lerin karsinojenitelerini izleyen 13 bilim adamının ise kendi aralarında fikir ayrılıklarına

düştükleri, bir kısım bilim adamı bu herbisitlerin karsinojenik olmadığını savunurken, çoğunluğun baskın görüşünün insanlarda karsinojenik olabileceği belirtilmiştir (İbrahim, 1991).

Longnecker ve Webb (1980) multiple fokal nodular asinar hücre dysplasialarının, kontrol gruplarına kıyasla pankreatik kanser hastalarının pankreaslarında daha yaygın olduğunu göstermişlerdir. Bu araştırmacılar, sıçanlarda azaserin ile meydana getirilmiş lezyonlar ile insanlarda görülen bu dysplastik asinar hücre odakları (fokusları) arasında histolojik bir kısım benzerlikler rapor etmiştir. Bu nedenle asinar hücrelerde meydana gelen neoplastik değişimler insanda görülen adenokarsinomların orjini bakımından önem taşımaktadır (Yıldız, 2010). Longnecker (1984) yapmış olduğu araştırmada; mevcut asinar hücrelerin asinar hücre fokuslarına dönüştüğünde, asinar hücre fokuslarının da zamanla, asinar hücre nodüllerine, adenomaya ve karsinomaya dönüşeceğini bildirmiştir. Bundan dolayı yapmış olduğumuz çalışmada 2,4-D'lerin atipik hücre fokuslarını oluşturup oluşturmadığı ve kantitatif yükleri incelenmiştir.

Çalışma sonucunda; 2,4 D asit D-amin tuzu, 2,4-D asit isooktilester ve fabrika ham atık suyu uygulanmamış kontrol grubu (Grup 1) sıçanlarının, pankreaslarında atipik asinar hücre fokusları ile herhangi bir nodül veya tümöre rastlanılmamıştır. 200 mg/kg/gün oranında 2,4- D asit D-amin tuzu (Grup 3), 2,4- D asit isooktilester (Grup 5) ve fabrika ham atık suyu (Grup 7) uygulanmış gruplarda bulunan sıçanların pankreaslarında ise atipik asinar hücre fokuslarına rastlanmıştır. Ancak sıçanlarda atipik asinar hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır.

Azaserin kontrol grubu sıçanlarının pankreasları (Grup 2) ile Azaserin+ 2,4-D asit D-amin tuzu (Grup 4) ve Azaserin+2,4-D asit isooktilester (Grup 6) uygulanmış sıçan gruplarının pankreasları AAHF yükü bakımından karşılaştırıldığında; 2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilesterin, Azaserin kontrol grubu (Grup 2) sıçanlarına oranla fokus hacmi, çapı ile mm^2 ve $mm^{3'}$e düşen AAHF'leri arttırdığı tespit edilmiştir. Fabrika ham atık suyu (Grup 7) uygulanmış gruplarda bulunan sıçanların pankreaslarında ise fokus hacmi, çapı ile mm^2 ve $mm^{3'}$e düşen AAHF'ler diğer gruplara oranla (Grup3 ve Grup 5'e göre) daha fazla çıkmıştır. Bu sonucun, hem 2,4-D asit isooktilesterin hemde 2,4-D asit D-amin tuzunun imalatı sırasında fabrika ham atık suyunun alınması sebebiyle içerisinde her iki pestisitin bulunduğundan kaynaklandığı muhtemel görünmektedir.

Pankreasta gözlenen AAHF'lerin zimojen granülleri bakımından zengin bir stoplazmaya sahip oldukları, çekirdeklerinin çoğunlukla oval veya yuvarlak oldukları ve bazal bölgede bulundukları, kısmi olarak çekirdeklerinde pleomorfizmin görüldüğü belirlenmiştir. Çoğunlukla etraflarında bulunan asinar hücreler tarafından sarılmış, belirgin bir fokus olarak gözlenmişlerdir. AAHF'lerin bu yapısı daha önce azaserin uygulanarak yapılan farklı çalışmalardaki AAHF'lerin histolojik yapıları ile uyumlu bulunmuştur (Öztaş, 2000; Yıldız, 2004; Yıldız, 2010).

Diyetlerine 2,4-D asit (2,4 D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester) uygulanmamış kontrol grubu sıçanlarının karaciğerleri incelendiğinde, bu organa özgü histolojik yapılar dışında herhangi bir bulguya rastlanılmamıştır. Diyetlerine 200 mg/kg/gün 2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester ile fabrika ham atık suyu uygulanan grupların karaciğerlerinin histolojik incelenmesi sonucunda; karaciğerde özellikle santral ven periferinde lokalize hepatositlerde daha belirgin olmak üzere parankimde hidropik dejenerasyonlar görülmüştür. Nakbi ve ark.'ı (2010) yapmış olduğu araştırmada; 2,4-D (5 mg/kg/gün gavaj) ile beslenen sıçanlarda, karaciğer hasarı görüldüğünü, karaciğer antioksidant enzim aktivitelerinde azalma olduğunu, karaciğer lipid peroksidasyonu ile alkalen fosfataz ve transminaz seviyelerinde artma olduğunu bildirmiştir. Yapmış olduğumuz araştırmada görülen karaciğerde gözlenen dejenerasyonlar Nakbi ve ark.'nın (2010) yapmış olduğu araştırma ile paralellik göstermektedir.

2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester ile fabrika ham atık suyu uygulanan grupların karaciğerlerinde, sinüzoidlerde dilatasyon ve Kupffer hücre proliferasyonu gözlenmiştir. Fabrika ham atık suyu ile muamele edilmiş sıçanlara ait karaciğerde vena sentralise yakın sinüzoidlerde genişleme diğer gruplara oranla daha fazla görülmüştür. Bunun muhtemel nedeninin, fabrika ham atık suyunun içerisinde hem 2,4-D asit D-amin tuzu hemde 2,4-D asit isooktilesterin bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. 2,4-D asit D-amin tuzu, 2,4-D asit isooktilester ile fabrika ham atık suyu uygulanan sıçanların karaciğerlerinde gözlenen, sinüzoidlerdeki dilatasyon ile ilgili bulgular Ateş ve ark.'nın (2009) 2,4-D'lerle yapmış olduğu araştırma sonuçları ile paralellik göstermektedir. Kontrol grubu (Grup 1) dışında kalan grupların tamamında (Grup 2, Grup 3, Grup 4, Grup 5, Grup 6 ve Grup 7'de) bulunan sıçanların karaciğerlerinde AHF'lerin meydana geldiği görülmüştür. Kontrol grubu da dahil olmak üzere tüm gruplarda bulunan sıçanların karaciğerlerinde herhangi bir şekilde atipik hücre adenoması veya adenokarsinomasına rastlanmamıştır.

Mountassif ve ark'ı (2008) ise yapmış olduğu çalışmada, 2,4-D (1,5 ve 3 mg/kg/gün) ile 4 hafta beslenen Jerboalarda (*Jaculus orientalis),* karaciğer enzim aktivitelerinde ve lipid peroksidasyon enzim aktivitesinde hasarlar meydana geldiğini bildirmiştir. Ayrıca, karaciğerde hepatosit hiperplazi meydana geldiğini, testiste seminifer tübüllerde nekroz, beyinde ise çok çekirdekli hücrelerin normalden büyük oluşumlar meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Yapmış olduğumuz araştırma sonucunda, 200 mg/kg/gün 2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester ile fabrika ham atık suyu içeren diyetle beslenen sıçanlarda; neoplastik değişime uğramış hücre gruplarının görülmesi, bu pestisitlerin kanser başlatıcı (initiator) olabileceği ihtimalini muhtemel göstermektedir. Andreotti ve ark.'ı (2009) yapmış oldukları çalışmada, pestisit uygulayıcıları ve eşlerinin pankreas kanserine yakalanma riskini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda; 64 pestisit uygulayıcısının ve 29 adet de eşlerde olmak üzere toplamda 93 kişinin pankreas kanserine yakalandığını bildirmişlerdir. Uzun yıllar 2,4-D ile etkileşimi olan bireylerde, yumuşak doku sarkomalarının ortaya çıktığı, kanserleşme oranının; mide, pankreas, akciğer, deri ve idrar kesesi gibi organlarda yüksek olduğu bildirilmiştir (Sarma ve Jacobs, 1982; Olsson ve Brabdt, 1981; Axelson ve ark., 1980; Hogstedt ve Westerilund, 1980). Yapılan bir diğer çalışmada da, Hodgkin rahatsızlığına sahip 60 hastayı, 109 Non-Hodgkin hastasını ve 338 tane de genel populasyondan seçilen kontrol grubu karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak; 2,4-D'ye maruz kalanlarda kansere yakalanma riski olduğu rapor edilmiştir (Hardell, 1981; Yalçınkaya, 2006). Sulik ve ark. (1998) yapmış olduğu çalışmada; sıçanlara içme suyu ile günlük 250 mg/kg 2,4-D asit sodyum tuzu vermiştir. 24 saat, 4 hafta, 6 hafta ve 10 hafta sonra sıçanlar öldürülerek incelemeye alınmıştır. Araştırma sonucunda, 2,4-D'ye maruz kalan sıçanlarda subakut zehirlenmelerin görüldüğü, hepatoksiteye neden olduğu, karaciğerlerinde histokimyasal ve histolojik değişikliklerin gözlendiği bu değişikliklerin özellikle yeni doğan sıçanlarda daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca hamilelerin özellikle hamilelik dönemlerinde 2,4-D ile herhangi bir temastan kaçınması gerektiği önerilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada ise 100 ve 150 mg/kg/vücut ağırlığı/gün esasına göre 2,4-D ile beslenen sıçanların karaciğerlerinde gözlenen histopatolojik değişimlerin bu maddenin kanserojen özelliğine bağlı olabileceği öne sürülmüştür (Gorzinski ve ark., 1987).

Yapılan tüm epidemiyolojik ve analitik çalışmalar, 2,4-D grubu pestisitlerin kanserojen etkileri ile ilgili kesin bir sonuç ortaya koymaktan uzak görünmektedir (Sierra Club of Canada, 2005). Elde edilen sonuçların yorumlanması zor olup, elde

edilen bulguların 2,4-D grubu pestisitlerin genotoksik etkiye sahip olmadığını göstermesine rağmen, elde edilen diğer deneysel bulgular 2,4-D grubunun insanlar için muhtemelen kanserojen olduğunu ortaya koymaktadır. Bulguların çelişkili olmasına rağmen Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı, 2,4-D grubu herbisitlerin tolere edilebilir sınırlar içinde de olsa kanser oluşumuna neden olabileceğini belirtmekte olup (IARC., 1987a), epidemiyolojik çalışmalar bunu doğrular niteliktedir. Harvard Halk Sağlığı Okulu'nda yapılan bir panelde (1990), 2,4-D kullanımı ile Hodgkin olmayan lenfoma ve diğer bir kısım kanser türleri arasında bir bağlantının olabileceği, bu nedenle 2,4-D'lerin kanserojen olarak kabul edilmesi gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Munro ve ark. (1992) vaka kontrol çalışmalarına dayanarak 2,4-D'lerin kullanımı ile kanser oluşumu arasında zayıfda olsa bir ilişkinin varlığını kabul etmek gerektiğini savunmuştur.

Günümüzde ise bu tarz endişelerden dolayı 2,4-D'lerin çimler ve bahçelerde kullanılmasını İsveç (Anonim, 2010a), Danimarka, Norveç, Kuveyt gibi ülkeler ile Kanada'nın Québec eyaletinde (Anonim, 2009a) ve Ontario eyaletinde yasaklanmasına karar verilmiştir (Anonim, 2009b). Orta Amerika'da bulunan Belize'de ise 2,4-D'lerin kullanımına sınırlama getirilmiştir. Kanada, 20 Eylül 2009 yılında Pestisit Yönetimi Düzenleme Kurumu (PMRA) ile yerleşim yerlerinde kullanılan 2,4-D'lerin kayıt altına alınarak, önlem olarak da nörotoksik çalışmaların yapılması kararını almıştır (Anonim, 2010b). Dünya Sağlık Teşkilatı ve Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu tarafından oluşturulan pestisit kategorilerinde (Çizelge 2.8), 2,4-D'ler çok özel amaçlar için izin verilebilecek pestisit grubunda yer almıştır.

Diğer ülkelerde durum böyle iken, ülkemizde ise üreticiler 2,4-D' ve diğer pestisitleri, istediği miktarda satın alarak, istediği oranda kullanabilmektedir. Bilinçsiz pestisit kullanımının tarım ürünlerinde hasat sonrası tolere edilebilir sınırların çok üstünde pestisit kalıntısı içerdiği, bunun da bir kısım sağlık sorunlarına yol açması nedeni ile üreticilerin zaman zaman zor durumda kaldıkları bilinmektedir. Tarım ürünlerinde kullanılan ilaçların üretim evresinden, tüketicilerin kullanımına kadar olan aşamada titizlikle takip edilmesi gerekmektedir (Kalıpcı ve ark, 2010). Ülkemizde de 2,4-D asit D-amin tuzu ve 2,4-D asit isooktilester herbisitleri ile bu tarz ekotoksik olabilecek pestisitlerin kullanılmasının yasaklanması ve/veya birtakım sınırlandırmaların getirilmesi gerekmektedir. Yapmış olduğumuz bu çalışmada, pestisit endüstrisinden alınan ham atık suyun arıtılmadan ekosisteme verilmesi durumunda, sıçan pankreas ve karaciğerinde birtakım ekotoksik etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Bundan dolayı bu tür endüstrilerin atık su arıtma tesisi kurmadan veya kurulu olanların

çalıştırılmadan faaliyet göstermesi engellenmeli ve ilgili kurumlar tarafından denetim sayısı arttırılmalıdır.

Birleşmiş Milletler Gıda Tarım Teşkilatı ve Dünya Sağlık Teşkilatı ortak komisyonu (Codex Alimentarius Commission), 2,4-D için bazı gıdalarda bulunabilecek en yüksek düzey ile ilgili sınırlamalar getirmişlerdir. Buna göre arpa, buğday ve çavdarda 0,5 mg/kg, turunçgillerde 2 mg/kg, et, süt ve yumurtada 0,05 mg/kg ve otlarda 0,5 mg/kg seviyesine kadar 2,4-D kalıntı düzeyine izin verilmiştir. Almanya ve diğer Avrupa ülkeleri ise kendi standartlarında bu miktarları buğday ve diğer hububat için 0,1 mg/kg, taze meyve ve sebze için 0,2 mg/kg olarak belirlemişlerdir (Gilsbach ve Thier, 1982; Ebing ve ark., 1985; Meemken ve ark., 1987). 2,4-D için Dünya Sağlık Örgütü kabul edilebilir günlük 2,4-D alım miktarı 300 µg/kg/gün olarak belirlenmiştir (Kamrin ve ark., 1997; Nishioka ve ark, 2001).

2,4-D'lerin ülkemizde kullanımı ile ilgili olarak, Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı tarafından 07.08.1964 tarihinden itibaren imaline; 17.05.1971 tarihinden itibaren ithaline izin verilmiştir (Dönmez, 2010). Ülkemizde 5 firma tarafından 7.375 ton/yıl 2,4-D isooktilester aktif maddesi ve 2 firma tarafından da pestisit ara maddesi olarak kullanılmak üzere 4000 ton/yıl 2,4-D asit üretilmektedir (Anonim, 2001a). 2,4-D asitin 1999-2002 yılları arasında ülkemizde kullanım miktarlarının ortalaması alındığında, yıllara göre herbisit tüketimindeki paylarının %42,68 olduğu (Delen ve ark., 2005), 2006-2008 yılları arasındaki tüketim paylarının %28,9 olduğu tespit edilmiştir (Delen ve ark., 2010). 2,4-D'lerin kalıntı limitlerine Türkiye'de süt ve süt ürünlerinde, üzüm, şekerpancarında 0,02 mg/ kg-1; hububatta 0,2 mg/ kg-1; çeltik ve mısırda 0,05 mg/ kg-1'e kadar izin verilmiştir (Dönmez, 2010). Araştırmamızda yapılan kalıntı analizi neticesinde buğdaydaki kalıntı miktarı; gerek ülkemizde gerekse de Birleşmiş Milletler Gıda Tarım Teşkilatı ve Dünya Sağlık Teşkilatı ortak komisyonu ile Avrupa ülkelerinde izin verilen kalıntı miktarından fazla çıkmıştır. Ayrıca, toprakta yapılan kalıntı analizi sonuçları değerlendirildiğinde, U.S. EPA'nın belirlediği 0,05 ppm değerinin aşıldığı belirlenmiştir. Dönmez (2010) yapmış olduğu araştırmada, ülkemizde domates ve patlıcanda verimi arttırmak için, kullanılmasına izin verilmediği halde kullanılmaya devam edilen 2,4-D'nin, domates, patlıcan ve çilekteki kalıntı miktarlarını araştırmıştır. Çalışma sonucunda; domatesde 2 mg/kg, patlıcanda 5 mg/kg ve çilekte 7,2 mg/kg kalıntı miktarı olduğunu tespit etmiştir. Oysaki FAO (2000) tarafından izin verilen maksimum kalıntı miktarları patlıcan için 0,5 mg/kg, çilek için 1 mg/kg ve domateste ise kullanımı yasak olduğundan hiç kalıntı olmaması gerekmektedir.

Üreticiler yeterli bilince sahip olmadığından ve kullandıkları ilaçların dozlarının yetersiz olacağını düşünüp ürünlerini kaybetme korkusu ile gereğinden fazla ilaç kullanmaktadırlar. Yapılan araştırmalarda, Çukurova bölgesinde çiftçilerin sadece % 1,82'sinin, Mersin yöresinde % 16,23'ünün, Konya yöresinde ise % 8,62'sinin ilaç etiketi üzerinde önerilen doza uydukları belirlenmiştir (Üremiş ve ark.,1996; Zeren ve Kumbur, 1998; İnan ve Boyraz, 2002). İnan ve Boyraz (2003)'ın yapmış oldukları araştırmada ise; bayilere göre Konya yöresindeki üreticilerin % 53,1'nin ilaçların etkinliği konusunda şüphelerinin olduğunu, Yiğit'in (2001) yapmış olduğu araştırmada ise, Antalya yöresindeki çiftçilerin %53'ünün ilaçların etkisizliği ile ilgili olarak bayilere şikayette bulundukları bildirilmiştir. Bu durumdan dolayı gerek çevreye daha fazla ilaç yayılmakta ve gerekse de ürünlerde fazla miktarda pestisit kalıntısı kalarak çevre ve insan sağlığı tehlikeye girmektedir.

Gerek üreticiler ve gerekse de ilaç bayileri; ilaç dozu, kullanım zamanı ve ürün toplama zamanı hakkında bilgilendirilmelidirler. İnan ve Boyraz (2002); Konya yöresinde çiftçilerin % 44,2' sinin kendi tecrübelerine göre, %24,2'sinin ilaç bayilerinin önerilerine göre, %20'sinin çevresindeki üreticilere sorarak, %11,6'sının teknik teşkilata danışarak ilaçlama zamanını belirlediklerini bildirmişlerdir. Kadıoğlu (2003), yapmış olduğu bir araştırmada, ilaçlamaya karar vermede teknik elemanlardan yararlanmanın %58,74, kendi kendine kararın %29,14, ilaç bayi önerisinin %6,20, diğer çiftçilerden faydalanmanın %5,81 oranında olduğunu bildirmektedir. Üreticiler kullandıkları pestisitlerin kanserojenik ve/veya ekotoksikolojik etkileri hakkında bilgilendirilerek, pestisitleri rastgele kullanmalarının önüne geçilmesi sağlanmalıdır.

Ayrıca üreticilerin, boş ilaç ambalajlarının çevre ve insan sağlığına verebileceği zararlar hakkında bilgi sahibi olmaları da sağlanmalıdır. Örneğin, Zeren ve Kumbur (1998) İçel İlinde yaptıkları araştırmada; ilaçlamadan sonra üreticilerin %45,29'unun boş ambalajları rasgele attığını, %38,48'inin yaktıklarını, %16,23'ünün ise toprağa gömdüklerini bildirmişlerdir. Kadıoğlu (2003) Tokat İlinde yaptığı bir araştırmada; kullanılan ilaç ambalajlarının %42 oranında rastgele atıldığını, %30 oranında yakıldığını, %26 oranında toprağa gömüldüğünü tespit etmişlerdir. Üremiş ve ark. (1996) Çukurova Bölgesinde yaptıkları bir çalışmada; ilaçlama sonrasında ilaçların boş ambalajlarını, üreticilerin %73,18'inin rasgele attığını, %17,28'inin yaktığını, %5,45'inin toprağa gömdüğünü, %4,09'unun ise yıkayıp kullandığını saptamışlardır. İnan ve Boyraz (2002) ise Konya İlinde yaptıkları bir çalışmada; üreticilerin % 34,3'ünün boş ambalajları tarlada bıraktığını, %23'ünün temizleyip başka amaçlar için

kullandığını, %20'sinin toprağa gömdüğünü, %15,7'sinin yaktığını, %7'sinin ise çöpe attıklarını saptamışlardır. Boyraz ve ark.'nın (2005) Isparta İli Eğirdir İlçesinde yaptığı araştırmada ise; üreticilerin %35'inin ilaç kutularını çöpe attığını, %29'unun tarlada bıraktığını, %26'sının yaktığını, %9'nun da toprağa gömdüğünü tespit etmiştir.

İlaçlama yapılacağı gün, havanın rüzgârlı olup olmadığı dikkate alınmalıdır. Hava rüzgârlı ise kesinlikle ilaçlama yapılmamalıdır. Pestisitlerle ilaçlama yapılmadan önce ilaçlama aletlerinde ve hortumda delik, sızıntı veya kaçak olup olmadığı öncelikle kontrol edilmelidir. İlaçlama; günlük kullandığımız kıyafetlerle yapılmamalı, maske, eldiven ve gözlük kullanılmalıdır. İlaçların hazırlanması ve uygulanması sırasında çevrede bulunan insan ve hayvanlar ortamdan uzaklaştırılmalıdır. İlacın hazırlanması ve uygulanması aşamasında herhangi bir şekilde vücudumuza pestisit bulaşır ise bol sabunlu su ile yıkanmalıdır. İlaçlama sırasında veya sonrasında baş dönmesi, kusma, solunum sıkıntısı, terleme, tükrük veya gözyaşı artışı gibi zehirlenme belirtileri görüldüğü takdirde hemen doktora başvurulmalıdır. İlaçlama bittikten sonra, pestisitlerin boş ambalaj kapları çevreye atılmamalı, kullanılan malzeme ve kaplar sabunlu su ile yıkanmalıdır. Gereken azami dikkat gösterildiği taktirde pestisitlerin çevreye ve canlılara bulaşma riski minimum seviyeye indirgenmiş olunacaktır.

Diğer pestisitler'de olduğu gibi 2,4-D asitin hava, toprak ve suya karışarak, doğrudan veya dolaylı olarak çevreye, dolaylı olarak ekosisteme bir takım toksik etkilerinin olduğu bilinmektedir. 2,4-D'nin özellikle, tatlı su balıkları, algler ve diğer sucul organizmalar ile düşük oranda deniz organizmaları için de zehir etkisine sahip olduğu yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. Buna göre 2,4-D'nin herbisit olarak kullanılmasının ekosistem için son derece zararlı olduğunu söylemek mümkündür. Bu nedenle, 2,4-D asitin bilinçsizce kullanımına bağlı olarak ortaya çıkabilecek ekolojik risk faktörleri bakımından kamuoyunun bilinçlendirilmesi son derece önem taşımaktadır. Ülkemizdeki kullanımı ile ilgili yeni düzenlemelerin getirilmesi de zorunlu görülmektedir.

Türkiye'de yıllara göre ölüm nedenlerine bakıldığında, 2000 yılında 23,681 kişinin, 2003 yılında ise 23,775 kişinin kanser nedeniyle öldüğü belirlenmiştir (DİE, 2005). En sık görülen ölüm sebepleri arasında kanser %15'e yükselmiş ve %38 ile birinci sırada yer alan kalp ve damar hastalıklarından sonra en yaygın ölüm nedeni olduğu belirlenmiştir (Şengelen, 2002). 2009 yılında sadece ABD'de kanser nedeniyle 562,340 kişinin öldüğü ve 1,479,350 adet yeni kanser vakası oluştuğu tahmin edilmektedir (Jemal ve ark., 2009). Yapılan bir diğer çalışmada ise, dünyada her yıl 11

milyon, Türkiye'de ise 150 bin kişinin kansere yakalandığı bildirilmiş olup 2020 yılında ise bu sayının yaklaşık %50 oranında artış göstereceği tahmin edilmektedir (Anonim, 2006c). Batı dünyasında pankreas kanseri en fazla ölüme sebebiyet veren beşinci kanser türü (Perugini, 2000), karaciğer kanseri ise en fazla ölüme sebebiyet veren üçüncü kanser türü olarak yer almaktadır (Boyle ve Levin, 2008). Ülkemizde kullanılan pestisitlerin ve diğer kimyasalların karaciğer ve pankreas kanseri ile ilişkisinin detaylı olarak ortaya konulması için benzeri çalışmaların yapılarak, konunun daha detaylı aydınlatılması gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Anonymous, 1971, Standart methods for the examination of water and wastewater, *APHA, AWWA,WPCF,* Washington DC.

Anonymous, 1986, Industry task force on 2,4-D research data, Combinated toxicity and oncogenicity studies in rats-2,4-dichlorophenoxy acetic acid, *Project No: 2184-103*, Hazleton Laboratuaries America, Isc.

Anonymous, 1995, The dogs of war, Rachel's environmental health and criteria weekyl, No: 435.

Anonim, 1991, Türkiye'nin Çevre Sorunları, *Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayınları*, Kavaklıdere, Ankara.

Anonim, 1995, Türkiye'nin Çevre Sorunları, *Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayınları*, Kavaklıdere, Ankara.

Anonim, 2001a, T.C. Devlet Planlama Teşkilatı, Sekizinci beşyıllık kalkınma planı: Kimya sanayi özel ihtisas komisyonu raporu, Tarım ilaçları alt komisyon raporu, *DPT: 2591, ÖİK: 603*, ISBN 975.19, Ankara, 2737-4.

Anonim, 2001b, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2000 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2002, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2001 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2003, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2002 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2004, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2003 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2005, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2004 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2006a, Çevre ve Orman Bakanlığı, Http://www.cedgm.gov.tr/cevreatlasi/tarim pdf, [Ziyaret Tarihi: 6 Haziran 2010].

Anonim, 2006b, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2005 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2006c, Kanser yükü 2006 raporu, *Türk Kanser Araştırma Kurumu*, Hacettepe Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü ve Ankara Ticaret Odası.

Anonim, 2007, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Konya İl Müdürlüğü 2006 Yılı Verileri, Konya.

Anonim, 2009a, http://www.mddep.gouv.qc.ca/pesticides/permis-en/code-gestion-en/espacevert.htm, [Ziyaret Tarihi: 19 Aralık 2009].

Anonim, 2009b, http://www.ene.gov.on.ca/en/news/2009/030401.php, [Ziyaret Tarihi: 25 Aralık 2009].

Anonim, 2010a, http://sv.wikipedia.org/wiki/2,4-diklorfenoxiättiksyra, [Ziyaret Tarihi: 15 Ekim 2010].

Anonim, 2010b, http://dsp-psd.pwgsc.gc.ca/collection_2007/pmra-arla/H113-18-2007-6E.pdf, [Ziyaret Tarihi: 15 Ekim 2010].

Andreotti, G., Freeman, L.E.B., Hou, L., Coble, J., Rusiecki, J., Hoppin, J.A., Silverman, D.T., Alavanja , M.C.R., 2009, Agricultural pesticide use and pancreatic cancer risk in the agricultural health study cohort, *International Journal of Cancer*, 124 (10), 2495–2500.

Ateş, U., Uyanıkgil, Y., Baka, M., Özdaş, E., Biçer, S., Ergen, G., 2009, Subacute effect of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on rat liver tissue: histochemical and immunohistochemical study, *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 31 (5), 354-62.

Alpöz, A.R., Tosun, N., Eronat, C., Delen, N., Şen, B.H., 2001, Effects of 2,4 dichlorophenoxy acetic acid dimethyl amine salt o dental hand tissue formation in rats, *Environmental International,* 27, 137 – 142.

Alexander, B.H., Mandel, J.S., Baker, B.A., Burns, C.J., Bartels, M.J., Acquavella, J.F., Gustin, C., 2007, Biomonitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid exposure and dose in farm families, *Environ Health Perspect,* 115, 370–376.

Ar, A., Tosun, N., Eronat, C., Delen, N., Şen, B.H., 2001, Effects of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid dimethyl amine salt on dental hard tissue formation in rats, *Environ Int.,* 26 (3), 137-42.

Arnold., E.K., et al., 1989, Pharmacokinetics of chlorinated phenoxy acid herbicides, *Veterinary Human Toxicology*, 31 (2), 121-5.

Akhabuhaya, J., 2000, Multistakeholder colloboration for reduced exposure to pesticides in developing countries: recommendations to sıda with particular reference to Costarica, Tanzania and Vietnam, Kemi National Chemicals Inspectorate, Sweden, http://www.chem.unep.ch, [Ziyaret Tarihi:30 Eylül 2009].

Akman, Y., Ketenoğlu, O., Kurt, L., Evren, H. , Düzenli, S., 2000, Çevre Kirliliği (Çevre Biyolojisi), *Palme Yayıncılık,* No:166, Ankara, 137-167.

Axelson, O., Sundell, L., Andersson, K., Edling, C., Hogstedt, C., Kling, H., 1980, Herbicide exposure and tumor mortalitiyt:an update epidemiological ınvestigation on swedish railroad workers, *Scand. J. Work. Environ. Health*, 6, 73-79.

Barrenow, D.E., Hamburg, A.W., Puvanesarajah, V., Guo, M., 2000, Metabolism of 2,4-dic oncogenicityhlorophenoxyacetic acid in laying hens and lactation goats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 49 (1), 156-163.

Bannasch, P., 1968, The cytoplasm of hepatocytes during carcinogenesis light and electron microscopic investigations of the nitrosomorpholine-intoxicated rat liver, *Rec. Res. Cancer Res.*, 19, 1-100.

Bond, G.G., Wetterstroem, N.H., Roush, G.J., McLaren, E.A., Lipps, R.E., Cook, R.R., 1988, Cause spesific mortality among employees engaged in the manufacture, formulation, or packing of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and related salts, *Br. J. Ind. Med.,* 45, pp. 98.

Bockman, D.E., Black, O.J.R., Mills, L.R., Webster, P.D., 1978, Origin of tubular complexes developing during induction of pancreatic adenocarcinoma by 7,12-dimethylbenz (a) anthracene, *Am.J. Pathol.*, 90, 645-658.

Boorman, G.A., Banas, D.A., Eustis, S.L., Haseman, J.K., 1987, Proliferative exocrine pancreatic lesions in rats, The effect of sample size on the incidence of lesions, *Toxicol. Pathol.*, 15, 451-456.

Boivin, A., Amellal, S., Schiavon, M., Van Genuchten, M.T.H., 2005, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils, *Environmental Pollution*, 138, 92-99.

Brand, R.M., Spalding, M., Mueller, C., 2002, Sunsecreens can increase dermal penetration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, *J. Toxil. Clin Toxicol.*, 40 (7), 827-832.

Bukowska, B, 2003, Effects of 2,4-D and its metabolite 2,4-Dichlorophenol on antioxidant enzymes and level of glutathione in human erythrocytes, *Comp. Biochem. Physiol C Toxicol Pharmacol,*135 (4), 435–441.

Burns, C.J., Beard, K.K., Cartmill, J.B., 2001, Mortality in chemical workers potentially exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) 1945-94: an update, *Occup. Environ. Med.,* 58 (1), 24–30.

Bradberry, S.M., Watt, E., B., Proudfoot, A.T., Vale, J.A., 2000, Mechanisms of toxicity clinical features and management of acute chlorophenoxy herbicide poisoning: a rewiev, *Clinical Toxicology,* 38 (2), 111-122.

Biçer, S., 2005, Bir herbisit olan 2,4-D'nin sıçanlarda ovaryum dokusu üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir.

Bierl, W., Kaa, W., Thomas, W.,1984, Spatial and temporal concentration gradients of PAH (fluoranthene, benzo (a) pyrene), γ-BHC and 2,4-D in samples of soil, soil water and ground water in an agricultural research area, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry,* 319 (2),172-179.

Bortolozzi, A.A, Evangelista De Duffard, A.M, Duffard, R.O., Antonelli, M.C., 2004, Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid exposure on dopamine D2-like receptors in rat brain, *Neurotoxicol Teratol*, 26 (4), 599-605.

Boyraz, N., Kaymak, S., Yiğit, F., 2005, Eğirdir ilçesi elma üreticilerinin kimyasal savaşım uygulamalarının genel değerlendirilmesi, *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi,* 19 (36), 37-51.

Boyle, P., Levin, B., 2008, *WHO, World Cancer Report*, Lyon, Fransa: International Agency for Research on Cancer, 1-105.

Blair, A., 2002, Pesticides, Occuppational studies section, *National Cancer Institue*, Bedhesta.

Coggon, D., Pannett, B., Winter, P., 1991, Mortality and incidence of cancer at four factories making phenoxy herbicites, *Br. J. Ind. Med.,* 48, 173-178.

Charles, I.M., Cunny, H.C., Wilson, J.S., Bus, I.S., 1996, Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid amine and esters in rats, *Fundamental & Applied Toxicol.,* 33, 161-165.

Charles, J.M., Hanley, J.R., Wilson, T.R., Van Ravezwaay, B., Bus, J.S., 2001, Developmental toxicity studies in rats and rabbits on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and its forms, *Toxicological Sciences,* 60 (1), 121-131.

Cubilla, A.L., Fitzgerald, P.J., 1975, Morphological patterns of primary nonendocrine human pancreas carcinoma, *Cancer Res.,* 35, 2234-2248.

Cuci, Y., 2005, Güneş ışığı, sıcaklık ve mikroorganizmaların bazı pestisitler üzerine etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Elazığ, 1-143.

Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı, B., Arpacı, A., 2000, Pestisidlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz aktiviteleri, *Turk J. Biol,.* 24, 483–488.

Dağ, S.S., Aykaç, V.T., Gündüz, A., Kantarcı, M., Şişman, N., 2000, Pesticide industry in Turkey and its future, *V. Technique Congress of Turkish Agricultural Engineering*., Volume 2. (in Turkish), Ankara.

Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A., 2005, Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalış sorunları, TMMOB. Ziraat Mühendisleri Odası, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi*, Cilt-2, 629-648.

Delen, D., Kınay, P., Yıldız, F., Yıldız, M., Altınok, H.H., Uçkun, Z., 2010, Türkiye tarımında kimyasal savaşımın durumu ve entegre savaşım olanakları, *Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi,* 609-625.

Devlet İstatistik Enstitüsü, 2005, Türkiye İstatistik Yıllığı 2004, *DİE Yayınları*, Ankara.

Donald, D.B., Syrgiannis, J., Hunter, F., Weiss, G., 1999, Agricultural pesticides threaten the ecological ıntegrity of northern prairie wetlands, *Sci. Total Environ.,* 23 (2-3), 173-81.

Dönmez, M., 2010, Özdek ve yöntemler, *Cine-Tarım Dergisi*, http://www.cinetarim.com.tr/dergi/arsiv30/ozdek.htm, [Ziyaret Tarihi: 27 Eylül 2010].

Dissin, J., Mills, L.R., Mains, D.L, Black, O., Webster, P.D., 1975, Experimental induction of pancreatic adenocarcinoma in rats, *J. Nat. Cancer Ins.,* 55, 857-864.

Eustis, S.L., Boorman, G.A., 1985, Proliferative lesions of the exocrine pancreas: relationship to corn oil gavage in the national toxicology program, *J.Nat.Cancer Inst.,* 75, 1067-1073.

Ewing, J., 1919, Neoplastic Diseases, Philedelphia:W.B.Saunders Co.

Ewing, J., 1940, Neoplastic Diseases, Philadelphia & London: W.B. Saunders Co.

Ecevit, O., Mennan, H., Aksoy, H.M., Akça, İ., 1999, Tarımsal mücadele ilaçları ve çevreye olan etkileri. *O.M.Ü. Ziraat Fak. Ders Kitabı*, Samsun, No:32.

EXTOXNET., 1996, *Extension Toxicology Network*, Pesticide Information Profiles.

Erne, K., 1966a, Distribution and eleminationof chlorinated phenoxyacetic acid in animals, *Acta Vet Scand.,*7, 240-256.

Erne, K., 1966b, Determination of phenoxy acetic herbicide residues in biological materials, *Acta Vet. Scand.*, 7, 240-256.

Elo, H.A., Hervonen, H., Ylitalo, P., 1988, Comperative study on cerebrovascular ınjuries by three chlorophenoxyacetic acids (2,4-D, 2,4,5-T and MCPA), *Comp. Biochem. Physol C.*, 90 (1), 65-8.

Elio, A., 2007, Cytogenetic effects of short- and long-term exposure of chick embryos to the phenoxyherbicide 2,4-D, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 48 (6), 462-466.

Ebing, W., Richtarsky, G., Boek, K., Eichner, M., Kypke-Hutter, K., Fetterroll, B., Oberdieck, R., Gilsbach, W., Thi Hanh, N., Mann, W., Specht, W., Stuve, T., Wabbels, H., 1985, Zur Rückstandanalytik von Phenoxyalkansaure-Herbiciden in setreidekönern, *Lebensm.Chem., Gerichtl.Chem.,* 39, 126-130.

Fang, S.C., Lindstrom, F.T., 1980, In vitro binding of 14c-labeled acidic compounds to serum albumin and their tissue distribution in the rat, *J. Pharmocokinetics Biopharmaceutics,* 8 (6), 583-597.

Fallin, E., Montgomery, M.L., Freed, V.H., 1973, The metabolism and distribution of 2,4,5-T in female rats, *Toxicol. and Applied Pharm.,* 24, 555-563.

Farah, M.A., Ateeq, B., Ali, M.N., Ahmad, W., 2003, Evaluation of genotoxicity of pcp and 2,4-D by micronucleus test in freshwater fish C*hanna punctatus*, *Ecotox. And Environ. Sa.*, 54, 25-29.

FAO., 1975, Food and Agriculture Organization, Evaluations of some pesticides in food. *WHO. Pesticide Residues Series No 5*, World Health Organization, Genova.

FAO., 2010, Report of The Codex Committee on Pesticide Residues, Appendıx VI: codex maximum residue lımıts for pesticides recommended for revocation, http://www.fao.org/docrep/meeting/005/x7616e/x7616e0n.htm#TopOfPage, [Ziyaret Tarihi: 24 Ekim 2010].

Fitzhugh, O.G., Nelson, A.A., 1947, Chronic oral toxicity of DDT, *J.Pharmacol. Exp. Therap,* 89, 18-30.

Fairchild, J.F., Feltz, K.P., Allert, A.L., Sappington, L.C., Nelson, K.J., Valle, J.A., 2009, An ecological risk assessment of the exposure and effects of 2,4-D acid to rainbow trout (Onchorhyncus mykiss), *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 01-23.

Fukuyama, T., Tajima, Y., Ueda, H., Hayashi, K., Shutoh, Y.I., Harada, T., Kosaka, T., 2009, Allergic reaction ınduced by dermal and/or respiratory exposure to low-dose phenoxyacetic acid, *Organophosphorus and Carbamate Pesticides, Toxicology,* 05-23.

Ferri, A., Duffard, R., Evangelista de Duffard, A.M., 2007, Selective oxidative stress in brain areas of neonate rats exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid through mother's milk, *Drug And Chemical Toxicology*, 1525-6014, 30 (1), 17- 30.

Feldman, R.J., Maibach, H.I., 1974, Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man, *Toxicol Appl. Pharmacol*, 28, 126-3.

Fenske, R.A., 1997, Pesticide exposure assesment of worker and their families, *Occup. Med.*, 12, 221-37.

Ftiesen, E.G., Jones, G.R., Vaughan, D., 1990, Clinical presentation and management of acute 2,4-D oral ingestion, *Drug Saf.*, 5 (2), 155-90.

Flanagan, R.J., Meredith, T.J., Ruprah, M., 1990, Alkaline diuresis for acute poisoning with chlorophenoxy herbicidesand ioxynil, *Lancet*, 335, 454-8.

Figgs, L.W., Holland, N.T., Rothmann, N., Zahm, S.H., Tarone, R.E., Hill, R., et al., 2000, Increased lymphocyte replicative ındex following 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide exposure, *Cancer Causes Control*, 11 (4), 373–380.

Garabrant, D.H., Philbert, M.A., 2002, Rewiev of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) epidemiology and toxicology, *Critical Rewievs in Toxicology,* 32 (4), 233-257.

Garry, V.F., Schreinemachers, D., Harkins, M.E., Griffith, J., 1996, Pesticide appliers, biocides, and birth defects in rural Minnesota, *Environ. Health Perspect*, 104, 394–399.

Garry, V.F., Tarone, R.E., Kirsch, I.R., Abdallah, J.M., Lombardi, D.P., Long, L.K., et al., 2001, Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption, *Environ Health Perspect*, 109, 495–500.

Garaj-Vrhovac, V., Zeljezic, D., 2002, Assessment of genome damage in a population of croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis micronucleus assay and comet assay, *J. Appl Toxicol*, 22, 249-255.

Gezer, F.G., 2006, Tarım ilaçlarının zararlı etkilerinin iyon değiştiricilerle giderilmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Sakarya, 1-68.

Gilsbach, W., Theier, H.P., 1982, Beitrage zur rückstandanalyse von Chlorphenoxycarbonsaure-Herbiciden in weizenmehl, *Z.Lebens.Uniters. Forsch.*, 175, 327-332.

Griffin, J.L, 2005, Herbicide/soil interactions, http://www.lsuagcenter.com/ MCMS/ RelatedFiles/%7BC5E3E644-A39F-4A5F-9B39-066D5C915E12%7D/ Griffin. WeedCourse.Chapter4.2005.pdf, [Ziyaret Tarihi: 15 Şubat 2009].

Grmek, M.D., 1975, La paleopathologie des tumours osseuses malignes, Proposition d'une classification a l'usage I'osteo-archelogie, revue des examples publies et presentation de deux cas inedits, *Hist. Sci. Med.*, 9, 21-50.

Güngör, B., 2007, 2,4-diklorofenoksiasetik asitin (2,4-D) immobilize *Pseudomonas putida* ile biyokimyasal yıkımının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* İzmir, 1-80.

Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997, Pestisitler, T.C. Sağlık Bakanlığı, *Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No:52*, Ankara, 1-173.

Gül, S., Nur, G., Kaya, T.Ö., 2005, 2.4-D'nin siraz balığındaki (*Capoeta capoeta umbla*, heckel, 1843) LC_{50} değeri, *Su Kirliliği ve Çevresel Kalite, Ulusal Su Günleri,* 28-30 Eylül, Trabzon.

Gürcan, T., 2001, Tarımsal ilaç kalıntıları ve önemi, *Dünya Gıda Dergisi*, Mayıs, 67-72.

Gorzinski, S.J., Kociba., R.J., Campbell, R.A., Smith, F.A., Nolan, R. J., Eisenbrandt, D.L., 1987, Acute, pharmacokinetic, and subchronic toxicological studies of 2,4-dichlrophenoxyacetic acid, *Fundam. Appl. Toxicol.*, 9, 423.

Gomez, L., Soler, S., Martinez, A., Gazquez, E., Duran, V., 1999, 2,4-D Treatment in tench (*Tinca tinca L.*): pathological processes on the excretory kidney, *Bull Environ. Contam. Toxicol.*, 62, 600-607.

Göksu, A.Y., 2004, Sıçanlara gebeliklerinin ilk yarısında uygulanan Trimetobenzamid'in postnatal dönemde yavru sıçanların karaciğeri üzerine etkisinin ışık mikroskobunda incelenmesi, Uzmanlık Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, sayfa 17.

Göktürk, F.A., 2007. Pestisit endüstrisi atıksularının fenton prosesi ile arıtımı, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Konya, 1-80.

Harris S.A., Solomon K.R., 1992, Human exposure to 2,4-D following controlled activities on recently sprayed turf, *Journal of Environmental Sciences and Health B* 27, 9-22.

Hacker, H.J., Moore, M.A., Mayer, D., Bannasch, P., 1982, Correlative histochemistry of some enzymes of carbohydraye metabolism in preneoplastic and neoplastic lesions in the rat liver, *Carcinogenesis,* 3, 1265-1272.

Hardell, L., 1981, Kelation of soft tissue sarkoma, maiignant lymphoma andcancer to phenoxy acids, chlorophenols and other agents, *Stand. J. Work. Envirn. Health*, 7, 119-130.

Hardell, L., Erikson, M., 1999, A case-control study on non-hodgkin lymphoma and exposure to pesticides, *Cancer,* 85, 1353-1360.

Harvard School of Public Health, 1990, The weight of evidence on the human carcinogicity of 2,4, *Report on workshop, Boston, MA, USA*, Program on Risk Analysis and Enviromental Health.

Halliop, J., Tochman, A., Latalski, M., 1980, Ultrastructural investigations and myeloperoxidase determinations in rat neutrophils in acute poisoning with 2,4-D, *Acta Haematol. Pol.*, 11 (4), 249-257.

Hager, A., 2007, Herbicide formulations and calculations: active ıngredient or acid equivalent?, *The Pest Management and Crop Development Bulletin*, Issue No :7, Article 3, May 11.

Hayes, W.J., Laws, E.R., 1991, Handbook of Pesticide Toxicology, Volume 3 Classes of Pesticides, 1318-1320.

Hamzaoğlu, O., Özcan U, 2005, Türkiye sağlık istatistikleri 2006, *Türk Tabipleri Birliği Yayınları,* Ankara, 59 s.

Hechto, S.S., Hoffmann, D., 1988, Tobacco-spesific nitrosamines, an ipotant group of carcinogens ın tobacco and tobacco smoke, *Carcinogenesis,* 9 (6), 875-884.

Hektaş, 1995, Tarım İlaçları ve Zirai Mücadele Rehberi.

Hill, E.V., Carlisle, H., 1947, Toxicity of 2,4-D for experimental animals, *J. Ind. Hyg. Toxicol*, 29 (2), 85-95.

Hirota, N., Yokoyama, T., 1985, Comparative study of abnormality in glycogen storing capacity and other histochemical phenotypic changes incarcinogen-induced hepatocellular preneoplastic lesions in rat, *Acto Pathol. Jpn.*, 35, 1163-1179.

Hogstedt, C., Westerilund, B., 1980, Cohort studies of cause of death of forest workers with and without exposure to phenoxy preparations, *Lökartidninger*, 77 (19), 1828-1831.

IARC. (International Agency for Researc on Cancer), 1977, Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemical to man. *International Agency for Research on Cancer Vol. 41,* Lyon, France.

IARC. (International Agency for Researc on Cancer), 1983, Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. Some fumigants, the herbicites 2,4-D and 2,4,5 T, chlorinated dibenzodioxins and miscellaneous indstrial chemicals, *International Agency for Research on Cancer Vol.15*, Lyon, France.

IARC. (International Agency for Researc on Cancer), 1987a, Genetic and related effects: an updating of selected, *IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Human. Hum. Suppl.*, 6, 233.

IARC. (International Agency for Researc on Cancer), 1987b, Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans: An updating of IARC Monographs, *WHO, volumes 1 to 42,* Supplement 7, Lyon, France.

IARC. (International Agency for Researc on Cancer), 1990, Cancer: occurrence, causes and control, Lyon,: *IARC Scientiific Publications*, 100, 1-352.

Innes, J.R., Ulland, B.M., Valerio, M.G., Petrucelli, L., et al., 1969, Bioassay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: a preliiminary note, *J. Natl. Cancer Inst.,* 42, 1101-14.

İbrahim, M.A., G.G., Bond, T.A., Burke, P., Cole, F.N., Dost, P.E., Enterline, M., Gough, R.S., Greenberg, W.E., Halperin, E., McConell, I.C., Munrun, A., Sweendberg, S.H., Zahm, J.D., Graham, 1991, Weight of the evidence on the human carcinogencitiy of 2,4- D, *Environ. Health. Perspect.*, 96, 213-222.

İnan, H., Boyraz., N., 2002, Konya çiftçisinin tarım ilacı kullanımının genel olarak değerlendirilmesi, *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi,* 16 (30), 88-101.

İnan, H., Boyraz, N., 2003, Konya ilindeki zirai ilaç bayilerinin bazı yönlerden değerlendirilmesi, *S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (32), 86-97.

İzmirli, M., Altın, S., Dernek, B.O., Ünsal, M., 2007, SSK. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Onkoloji Merkezi'nin 1999-2004 yılları kanser istatistikleri, *Türk Onkoloji Dergisi,* 22 (4), 172-182.

Jemal, A., Siegel, R., Ward E.M., 2009, Cancer Facts & Figures, *American Cancer Society,* Annual Publication, Atlanta, Georgia.

Jefries, T.K., Yano, B.L., Orman, J.R., Battjies, J.E., 1995, 2,4-D chronic/oncogenicity studies in Fischer 344 rats. *Unpublished Report No. K-002372-064 from The Dow Chemical Company,* Midland, MI, USA. Submitted to WHO by Industry Task Force II on 2,4-D Research Data, Washington DC, USA.

Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O., 1998, Temel Histoloji, *Barış Kitabevi*, Appleton &Lange, İstanbul.

Karaer, F., Gürlük, S., 2003, Gelişmekte olan ülkelerde tarım-çevre-ekonomi etkileşimi, *Doğuş Üniversitesi Dergisi*, 4 (2), 197-206.

Kadıoğlu, İ., 2003, Tokat ilinde üreticilerin zirai mücadele etkinlikleri üzerinde bir araştırma, *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (1), 7-15 .

Kalıpcı, E., Öztaş, H., Özdemir, C., 2010, Commonly used pesticides in Konya endorheic basin and tempering their detrimental effects, *Fourth International Conference on Water Observation and Information System for Decision Support BALWOIS,* Proceeding Book (Full Text CD), Ohrid-Macedonia, 1-7.

Kamrin, M.A., 1997, Pesticide profiles: Toxicity, environmental impacts, and fate. Boca Raton, *FL:Lewis Publishers*.

Keller, T., Skopp, G., Wu, M., 1994, Fatal overdose of 2,4- diclorophenoxyacetic acid (2,4-D), *Forensic Sci. Int.*, 65, 13-8.

Kohli, J.D., Khana, R.N., Gupta, B.N., Dhar, M.M., Tandon, J.S., Sırcar, K.P., 1974, Absorption and excretion of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in man, *Xenobiotica*, 4 (2), 97-100.

Klimek, F., Mayer, D., Bannsch, P., 1984, Biochemical microanalysis of glycogen content and glicose-6-phosphate dehydrogenase activity in focal lesions of rat liver induced by N-nitrosomorpholine, *Carcinogenesis*, 5, 265-268.

Khanna, S., Fang, S.G., 1966, Metabolism of C-14 labeled 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in rats, *J. Agric. Food Chem.*, 14, 500.

Koca, S., 1986, 2,4-D'nin Schistocerca gregaria forskal erkeklerinde kiazma frekansına ve meiotik bölünmeye etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *C.Ü. Fen Bil. Enst.*, Sivas.

Koca, M., 2001, 2,4-Diklorofenoksiasetik asit herbisidinin lepistes (*Poecilia reticulata* P.,1859) üzerindeki akut toksik etkisinin araştırılması ve davranış değişimlerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enst.,* Ankara.

Kolankaya, D., Akay, M.T., 2000, Türkiye'de pestisit kullanımı ve çevresel etkileri, *Standart Ekonomik ve Teknik Dergisi*, 462 (39), 87-94.

Kinnberg, K., Korsgaard, B.., Bjerregaard, P., 2002, Effects of octylphenol and 17 β-estradiol on the gonads of guppies (*Poecilia reticulata*) exposed as adults via the water or as embryos via the mother, *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 134, 45-55.

Kim, C.S., Binienda, Z., Sandberg, J.A., 1996, Construction of a physiologically based pharmacokinetic model for 2,4-D (2,4-Diclorophenoxyacetic acid) dosimetry in the developing rabbit brain, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 136 (2), 250-259.

Kwan, C.Y., Chu, W., 2004, A study of the reaction mechanisms of the degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by oxalate-mediated photooxidation, *Water Research*, 38, 4213-4221.

Khalil, A.B., 2003, Isolation and characterization of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading organisms from soil in Jordan valley, *Biotechnology,* 2 (2), 73-85.

Langman, M., Boyle, P., 1998, Chemoprevention of colorectal cancer, *Gut.*, 43 (4), 578-585.

Lerda, D., Rizzi, R., 1991, Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-D, *Mutation Research*, 262, 47-50.

Li, M.H, Wang, Z.R., 2004, Effect of nonylphenol on plasma vitellogenin of male adult guppies (*Poecilia reticulata*), *Wiley InterScience*, DOI 10.1002/tox.20077.

Lindguist, N.G., Ulberg, S., 1971, Distribution of the herbicides 2,4,5-T and 2,4-D in pregnanat mice, Accumulation in the yolk sac ephitelium, *Experientia*, 27, 1439-1441.

Littorin, M., 1994, Dioxins in blood from sweedish phenoxy herbicide workers in*, Lancet*, 344 (8922), 611-612.

Linscombe, V.A., Lick, S.J., 1994, Evatuation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid isopropylamine salt in the Chinese hamster ovary cell/hydroxanthine-guanine phosporibosyl transferase (CHO/HGPRT) forward mutation assey. *Unpublished Report No. M-004725-017 from The Dow Chemical Co.,* Midland, MI, USA. Submitted to WHO by industry task force II on 2,4-D research data, Indianapolis, IN, USA.

Longnecker, D.S., Curphey, T.J., 1975, Adenokarsinoma of the pancreas in azaserine-rat-treated rats, *Cancer Res.*, 35, 2249-2258.

Longnecker, D.S, Curphey, T.J., French, J.I., Lılja, H.S., 1979, Response of the Syrian golden hamster to a nitrosourea amino acid carcinogen, *Cancer Lett.*, 8, 163-168.

Longnecker, D.S, Webb, J.N., 1980, Dysplastic acinar cell foci in human pancreas, *Hum. Pathol,* 11, 86-87.

Longnecker, D.S, Roebeck, B.D., Yager, J.D., Lılja, H.S., Siegmund, B., 1981, Pancreatic carcinoma in azaserin-treated rats: Induction, classification and dietary modulation of incidence, *Cancer,* 47, 1562-1572.

Longnecker, D.S., 1984, Lesions induced in rodent pancreas by azaserine and other pancreatic carcinogens, *Environ. Health Perspect.*, 56, 245-251.

Longnecker, D.S., 1987, The azaserine-induced model of pancreatic carcinogenesis in rats, In Experimental pancreatic carcinogenesis.Eds. D.G. Scarpelli, J.K. Reddy and D.S. Longnecker, Boca, Raton, Florida: *CPR Press*, 117-130.

Longnecker, D.S, Millar, P.M., 1990, Pathology of tumours in laboratory animals. Tumours of the rat, Tumours of the pancreas, *IARC. Sci. Publ.*, 241-257.

Lochry, E.A., 1990, Developmental toxicity study of 2,4-D dimethylamine salt (2,4-D-DMA) adminstered orally via gavega to Crl:CD BR VAF/Plus presumed pregnat rats, *Unpublished Report. No:320-001 from Argus research Laboratuaries*, Perkasie, PA, USA. Submitted to WHO by the industry task force II on 2,4-D research data, Indianapolis, Indiana, USA.

Lhoste, E.F., Roebeck, B.D., Johnsen, T.B., Longnecker, D.S., 1987, Effect of castration and hormone replacement on azaserine-induced pancreatic carcinogenesis in male and female Fischer rats, *Carcinogenesis*, 8, 699-703.

Lynge, E., 1985, A follow-up study cancer incidence among workers in manufacture of phenoxy herbicites in Denmark, *Br. J. Cancer*, 52, 259-270.

Madrigal-Bujaidar, E., Hernandez-Ceruelos, A., Chamorro, G., 2001, Induction of sister chromatid exchanges by 2,4-dichlrophenoxyacetic asid in somatic and germ cells of mice exposed in vivo, *Food Chem. Toxicol.*, 39 (9), 941-6.

Martin, T., 1992, Developmental toxicity (embryo-fetal toxicity and teratogenic porential) studies of 2,4-D 2-ethylexyl ester (2,4-D isooctyl ester) administered orally via stomach tube to New Zelan white rabbits, *Unpublished Report No. 320-006 from Argus Research Laboratuaries,* Hosham, PA, USA. Submitted to WHO by Industry Task Force II on 2,4-D Research data, Indianapolis, Indiana, USA.

Meemken, H.A., Rudolph, R., Fürst, P., 1987, Nachweis un Bestimmung von Chlorphenoxycarbonsauren durch Kapillar G/C MS, *D.Lebens.-Rundschau*, 83 (8), 239-245.

Morrison, H., et al., 1993, Farming and prostate cancer mortality, *American Journal of Epidemiology*, 137 (30), 270-280.

Munro, I.C., Carlo, G.L., Orr, J., Sund, K.Gç., Wilson, R.M. et al., 1992, A comprehensive, integrated review and evaluation of the scientific evidence relating to the safety of herbicides 2,4-D, *J. Am. Coll. Toxicol.*, 11, 559-664.

McClintock, M.L., Gollopudi, B.B., 1990, Evalurion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid butaxyetly ester (2,4-D BEE) in rat hepatocyte unscheduled DNA synthesis assey, *Unpublished report No:TXT:K-007722-013 from The Dow Chemical Company*, freeport, TX, USA. Submitted to WHO by industry task force II on 2,4-D Research data, Indianapolis, IN, USA.

Myer, J.R., 1981, 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, isooctyl ester tecnical. Determination of acute oral LD_{50} in Fischer 344 rats. *Unpublished Report No. 490-002 from International research and Development Corporation,* Matawan, MI, USA. Submitted to WHO by Industry Task Force II on 2,4-D Research Data, Indianapolis, Indiana, USA.

Moodie, 1923, Palaepathology, *Urbana; Univ.III.press.*

Morgan, R.G., Schaeffer, B.K., Longnecker, D.S., 1986, Size and number of nuclei differ in normal and neoplastic asinar cells from rat pancreas, *Pancreas*, 1, 37-43.

Moore, M., Kitagawa, T., 1986, Hepatocarcinogenesis in rat; the effect of the promoters and carcinogenesis in vivo and in vitro, *Int. Rev. Cytol.*, 101, 125-173.

Mountassif, D., Kabine, M., Mounchid, K., Mounaji, K., Latruffe, N., El Kebbaj, M.S., 2008, Biochemical and histological alterations of cellular metabolism from jerboa (Jaculus orientalis) by 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid: Effects on D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase, *Pestic Biochem Phys*, 90 (2), 87-96.

Nakbi, A., Tayeb, W., Grissa, A., Issaoui, M., Dabbou, S., Chargui, I., Ellouz, M., Miled, A., Hammami, M., 2010, Effects of olive oil and its fractions on oxidative stress and the liver's fatty acid composition in 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid-treated rats, *Nutrition & Metabolism,*7 (80), doi:10.1186/1743-7075-7-80.

Netherlands, 1996, Part I II III, Analytical methods for pesticide residues in food stuffs, 6. Edition, General inspectorate for health protection, Ministry of Public Health, Welfare and Supports, The Netherlands Published.

Nowell, P.C., 1976, The clonal evaluation of tumour cell populations, *Sci.*, 194, 23-28.

Nishioka, M.G., Lewis, R.G., Brinkman, M.C., Burkholder, H.M., Hines, C.E., Menkedick, J.R., 2001, Distribution of 2,4-D in air and on surfaces inside residences after lawn applications: comparing exposure estimates from various media for young children, *Environ Health Perspect*, 109, 1185–1191.

Osaki, K., Mahler, J.F., Hasemann, J.K., Moonmaw, C.R., Nicolette, M.L., Nyska, A., 2001, Unique renal tubule changes induced in rats and mice by peroxisome proliferator 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and WY-1643, *Toxicologic Pathology*, 29 (4), 440-450.

Oruç, E.Ö., Üner, N., 2002, Marker enzyme assesment in the liver of *Cyprinus carpio* (L.) exposed to 2,4-D and azinphosmethyl, *Biochem Molecular Toxicol.*, 16, 4.

Osman, M.A., Faust, S.D., 1963, Determination of 2,4-D in surface waters, *Jour. AWWA*, 639-646.

Olsson, H., Brabdt, L., 1981, Non-hodgkin's lymphoma of the skisn and occupational exposure the herbicides, *Lancet,* 579.

Que Hee, S.S., Sutherland, R.G., 1981, The phenoxyalcanoic herbicides, Vol1:chemistry, analyses and environmental pollution, *CRC Pres, Inc, Boca Raton*, Florida, pp. 319.

Öztürk, S., 1990, Tarım İlaçları, *Hasad Yayıncılık*, İstanbul.

Öztürk, S., 1997, Tarım ilaçları. 2. Baskı, *Ak Basımevi, İstanbul*, 127-132.

Özdaş, E., 2005, Bir herbisit olan 2,4-D (Diklorofenoksiasetik asit)'nin sıçanlarda testis dokusu üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* İzmir.

Özdaş, E., Ateş, U., Uyanıkgil, Y., Baka, M., Yavaşoğlu, A., Biçer, S., Ergen, G., 2006, Bir herbisit olan 2,4-D (diklorofenoksiasetik asit)' in sıçanlarda testis dokusu üzerine etkisi, *Ege Tıp Dergisi*, 45 (3), 169 -174.

Özbayrak, Ö., 2004, Doğal zeolitlerin pestisit gideriminde kullanılabilirliğinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İzmir, 1-27.

Özcan, S., 2003, Konya atıksuyunda organoklorlu pestisitlerin (ocps) araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Konya, 1-59.

Öden, T., 1962, Zirai mücadele ilaçları kimyevi fiziki biyolojik ve diğer özellikleri, *Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enst.Yay.,* No : 2.

Öncüer, C., 1991, Tarımsal zararlılarla savaş yöntemleri ve ilaçları, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü*, Bornova-İzmir.

Öztaş, H., 2000, The effect of TCDD [2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)], on the early stage of pancreatic carcinogenesis induced by azaserine in rat pancreas, *Tr. Journal of Medical Sciences*, 30, 29-34.

Özaydın, M., Kahraman, H., Varol, E., Aslan, S.M., Doğan, A., Altınbaş, A., 2007, Herbisidlere maruz kalma ile koroner arter ektazisi arasındaki ilişki, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 14 (3), 13-16.

Palmeira, C.M., Monero, A.J., Maeira, V.M.C., 1994, Interactions of herbicites 2,4-D and dinoseb with liver mitochondrial bioenergetics, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 127, 50-57.

Paulino, C.A., Guerra J.L., Oliveira, G.H., Palermo-Neto, J., 1996, Acute, subchronic and chronic 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) intoxication in rats, *Oct.*; 38 (5), 348-52.

Parsa, I., Longnecker, D.S., Scarpelli, D.G, Pour, P., Reddy, J.K., Lefkowitz, M., 1985, Ductual metaplasia of human exocrine pankreas and its association with carcinoma, *Cancer Res.*, 45, 1285-1290.

Prescott, LF, Park, J., Darrien, I., 1979, Treatment of severe 2,4-D and mecoprop intoxication with alkaline diuresis, *Bri Journal of Clinical Pharmocology*, 7, 111-116.

PMRA., 2005, Electronic labels: Search and evaluation (ELSE), Http://eddenet.pmra-arla.gc.ca/4.0/4.01.asp., [Ziyaret Tarihi: 8 Temmuz 2009].

Pour, P.M., Salmasi, S.Z., 1979, Ductular origin of pancreatic cancer and its multiplicity in maan comparable of experimentally induced tumors, *A preliminary Study. Cancer Lett.*, 6, 89-97.

Perugini, R.A., McDade, T.P., Vittimberga, J., Duffy, A.J., Callery, M.P., 2000, Sodium salicylate inhibits proliferation and induces gl cell cycle arrest in human pancreatic cancer cell lines, *Journal of Gastrointestinal Surgery*, 4, 24-33.

Ramazzini, B., 1713, De Morbis Artificum (Disease of Workers), *Univ. Of Chicago Press,* Chicago.

Reddy, J.K., Rao, M.S., 1977, Malignant tumors in rats fed nafenopin, a hepatic peroxisome proliferator, *J. Natl. Cancer Inst. Dec.*, 59 (6), 1645-50.

Richmonds, C., Dutta, H.M., 1992, Effect of malathion on the optomotor behavior of bluegill sunfish, *Lepomis macrochirus, Comp. Biochem. Physiol.*, 102 (3), 523-526.

Rigoni-Stern., 1842, Fatti statistici relativi alle malattic cancerose, *Giorn. Prog. Patol. Terap.*, 2, 507-517.

Rous, P., Kidd, J.G., 1941, Conditional neoplasms and subthreshould neoplastic states, a study of the tar tumours of rabbits, *J. Exp. Med.*, 73, 365-389.

Rosso, S.B., Caceres, A.O., Duffard, A.M. de., Quroga, S., 2000, 2,4-Dchlorophenoxyacetic acid disrupts the cytoskeleton and disorganizes the golgi apparatus of cultered neurons, *Toxicological Sciences*, 56 (1), 133-140.

Rao, M.S., Upton, M.P., Subbarao, V., Scarpelli, D.G., 1982, Two populations of cells with differing proliferative capacities in atypical acinar cell foci induced by 4-hydroxyaminoquinoline-1-oxide in the rat pancreas, *Lab. Invest.*, 46, 527-534.

Rao, W.S., 1999, Principles of Weed Science 2. edition, *Science Pub Inc.,* ISBN157808069X.

Saracci, R., Kogevinas, M., Bertazzi, P.A., Bueno de Mesquita, B.H., et al., 1991, Cancer mortality in workers exposed to chlorophenoxy herbicites and chlorophenols, *Lancet*, 338, 1027-1032.

Sarıgül, T., 2006, Triflumizol pestisitinin diferansiyel puls polarografisi ile tayini, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Ankara, 1-76.

Soyöz, M., Özçelik, N., 2003, Zirai mücadelede kullanılan pestisitlerin sitogenetik etkileri, *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10 (1), 6- 9.

Shimkin, M.B., 1977, As memory serves-an informal history of the National Cancer Institue, 1937-57, *J.Nat.Cancer Inst.*, 59, 559-600.

Sauerhoff, M.W., et al., 1977, The fate of 2,4-D following oral administration to man, *Toxicol.*, 8, 3-11.

Stevens, J.T., Sumner, D.D., 1991, Herbicides, In Handbook of Pesticide Toxicology, Hayes, W.J., Jr. and Laws, E.R., Jr., *Eds. Academic Pres*, New York, NY, 7-2.

Sarma, P.K., Jacobs, J., 1982, Thoracic soft tissues sarcoma in Vietnam vaterans exposed to agent orange, *New Eng. J. Med.*, 306, 1109.

Şengelen M, 2002, Türkiye'de kanser istatistikleri, Kanser Epidemiyolojisi Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 1-65.

Shankar, M.V., Anandan, S., Venkatachalam, N., Araindoo, B., Murugesan, V., 2006, Fine route for an efficient removal of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by zeolite-supported TiO_2, *Chemosphere*, 63, 1014-1021.

Short, P., Colborn, T., 1999, Pesticide use in the U.S. and policy implications: a focus on herbicides, *Toxicol. Ind. Health*, 15, 240–275.

Schmoldt, A., Iwesen, S., Schlüter, W., 1977, Massive ingestion the herbicide MCPA, *Clinical Toxicol,* 35 (4), 405-408.

Scarpelli, D.G., Rao, M.S., Reddy, J.K., 1991, Are acinar cells involved in the pathogenesis of ductual cycle adenocarcinoma of the pancreas?, *Canc. Cells*, 3 (7), 275-277.

Schultz, D.P., Harman, P.D., 1974, Residue of 2,4-D in pond waters, mud and fish, *Restic Monit. J.*, 8 (3), 173-179.

Sota-Grabinska, E., Wisniowska, E., Kalka, J., 2003, Toxicity of selected synthetic auxines-2,4-D, MCPA derivatives to broadleaved and cereal plants, *Crop Protection*, 22, 355-360.

Svoboda, D.J., Azarnof, D.L., 1979, Tumors in male rats fed ethyl chlorophenoxyisobutyrate, aa hypolipidemic drug, *Cancer Res.*, 39, 3419-3428.

Sierra Clup of Canada, 2005, Overviev of Toxic effects of 2,4-D. Sierra Clup of Canada (2005). Overviev of Toxic effects of 2,4-D. Available:http:www.sierraclub.ca/national/programs/health…/2-4-D [Ziyaret Tarihi: 27 July, 2010].

Sulik, M., Piłat-Marcinkiewicz, B., Sulik, A., Barwijuk-Machała, M., Sulkowska, M., Baltaziak, M., Klepacka, J., 1998, Fetotoxic effect of 2,4- dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rats, *Rocz. Akad. Med. Bialymst.*, 43, 298-308.

Sulik, M., Sulik, A., Barwijuk-Machala, M., Pilat-Marcinkiewicz, B., 2002, Fetotoxic action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). III. Morphological changes in rat kidneys, *Rocz. Akad. Med. Bialymst.*, 47, 175-85.

Thomas, M.L.H., Duffy, J.R., 1968, Butoxyethanol ester of 2,4-D in the control of eel grass (*Zostera marina L.)* and its effects on oysters (*Crassostrea viginica Gmelin*) and other benthos, *Proc. Northeast. Weed Control. Conf.*, 22, 186.

Tepe, I, 1997, Türkiye'de tarım ve tarım dışı alanlarda sorun olan yabancı otlar ve mücadeleleri, *Yüzüncü Yıl Ün.,Yay No:32*, s.16.

Thiersch, C., 1865, Der epithelialkrebs namelichder haunt mit atlas, Leipzig.

Tannock, I., Hill, R.P., 1992, The basic science of oncology, Second edition, *Toronto, Canada,* 7-119.

Taşkaya, B., 2004, Tarım ve Çevre, *Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü- Bakış*, Sayı: 5, Ankara, s. 1-8.

Tayeb, W., Nakbi, A., Trabelsi, M., Attia, N., Miled, A., Hammami, M., 2010, Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rats to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide Désormone lourd, *J. Hazard. Mater.,* 180 (1-3), 225-233.

Turabi, M.S., 2004, Türkiye' de tarımsal ilaç tescil ve ruhsat sistemi, *Tarımsal İlaçlar ve Organik Tarım Konferansı, KTMMOB Ziraat Mühendisliği Odası,* Lefkoşe, KKTC.

Tatlı, Ö., 2006, Ege bölgesine özgü bazı yaş meyve, sebze ve kurutulmuş gıda ürünlerinde pestisit kalıntı düzeylerinin tespiti, Yüksek Lisans Tezi, *Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Adana, 1-121.

Tomatis, L., 1976, The IARC program on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 271 (1), 396-409.

Toros, S., Maden, S., 1991, Tarımsal savaşım yöntem ve ilaçları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yay. No: 1222,* Ankara, Ders Kitabı No: 352.

U.S. National Library of Medicine, 1995, *Hazardous Substabnce Databank*, Bethesda, MD,7-8.

U.S. EPA., 1944, Enviromental Protection Agency, An SAB Report: Assesment of potential 2,4-D carcinogenesity. Review of the epidemiological and other data on potential carcinogenecity of 2,4-D by SAB/SAP Joint Committee *(EPA-SAB-EHE-94-005),* Washington, D.C., USA.

U.S. EPA., 1989, Environmental Protection Agency, Information about pesticide use and report on the pesticide market.

U.S. EPA, 1996, Chlorinated herbicides by Gc using methylation or pentafluorobenzylation Derivatization, http://www.epa.gov/osw/hazard/ test methods/sw846/pdfs/8151a.pdf, [Ziyaret Tarihi: 20 Nisan 2000].

U.S. EPA., 2002, Environmental Protection Agency, Ground water and drinking water. Washington, DC:U.S. *Environmental Protection Agency*. Available: http://www.epa.gov/safewater /standards.html [Accessed: 7 August 2002].

U.S. EPA., 2005, 2,4-D Red Facts, EPA-738-F-05-002, http://www.epa.gov/oppsrrd1 /REDs/factsheets/24d_fs.htm, [Ziyaret Tarihi: 24 Ekim 2010].

U.S. EPA., 2007, Federal Register: 2,4-D, 2,4-DP, and 2,4-DB; Decision Not to Initiate Special Review.

U.S. EPA., 2010, Other EPA Methodh Reporting Limits-EMA Pesticide Residue Analysis, http://www.emalab.com/epa_mrl1.htm, [Ziyaret Tarihi: 24 Ekim 2010].

U.S. Veterans Administration Departmant of Medicine and Surgery, 1981, Review of literature on herbicide, including phenoxy herbicides and associated dioxins. *Volume 1*. Washington DC, US Veterans Administration, 379.

Uçman, S., 2005, Antakya'da yaygın olarak kullanılan parathion-methyl pestisitinin karaciğer hücreleri üzerine olan muhtemel neoplastik etkileri üzerine bir araştırma, Yüksek Lisans Tezi, *Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Hatay, 1-51.

Uyanikgil, Y., Yalçinkaya, M., Ateş, U., Baka, M., Karakişi, H., 2009a, Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid formulation on medulla spinalis of Poecilia reticulata: a histopathological study, *Chemosphere*, 2009-07-04.

Uyanikgil, Y., Ateş, U. Baka, M., Biçer, S. Oztaş, E., Ergen, G., 2009b, Immunohistochemical and histopathological evaluation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced changes in rat kidney cortex, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2009-03-10.

Üremiş, İ., Karaat, Ş., Gönen, O., Canıhoş, E., Kütük, H., Ekmekçi, U., Çetin, V., Aytaş, M., ve Kadıoğlu, İ., 1996, Çukurova bölgesinde zirai ilaç kullanımının genel değerlendirmesi. *II. Ulusal Zirai Mücadele İlaçları Sempozyumu,* 18-20Kasım 1996, Ankara, 73-79.

Venkov, P., Topashka-Ancheva, M., Georgieva, M., Alexieva, V, Karanov, E., 2000, Genotoxic effect of substituded phenoxyacetic acid, *Arch Toxicol.*, 74, 560-566.

Vineis, P., Terracini, B., Ciccone, G., Cignetti, A., Colombo, E., et al., 1986, Phenoxy herbicites and soft tissue sarcomas in female rice weeders, a population-based case-referent study, *Scand. J. Work Environ. Health*, 13, 9-17.

Vainio, H., Magee, P., Mc Gregor, D., Mc Michael, A.J., 1992, Mechanismis of Carcinogenesis In Risk Identification. Lyon.

Virchow, R., 1858, Die Cellularpathologie, Berlin.

Vural, N., Burgaz, S., 1984, A gas chromatographic method for determination of 2,4-D residues in urine after occupational exposure, *Bull.Environ. Contam. Toxicol.*, 33, 518-524.

Vural, N., 2005, Toksikoloji, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları No:73*, 381.

Vroumsia, T., Steiman, R., Seigle-Murandi, F., Benoit-guyod, J.L., 2005, Groupe pour l'Etude du Devenir des Xenobiotiques dans l'Environnement (GEDEXE), Fungal bioconversion of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and 2,4-dichlorophenol (2,4-DCP), *Chemosphere*, 60, 1471-1480.

Walters, J., 1999, California Department of Pesticide regulation, www.cdpr.ca.gov., [Ziyaret Tarihi: 12 Aralık 2010].

Ware, G.W., 1994, The Pesticide Book, 4 th edition, *Thomsan Publication*, California, 386.

Wang, Y.S., Jaw, C.G., Chen, Y.L., 1994, Accumulation of 2,4-D and glyphosate in fish and water hyacint, *Water Air Soil Pollut.*,74, 397-403.

Watanapa, P., Flaks, B., Öztaş, H., Deprez, P.H., Calam, J., Williamson, R.C.N., 1992, Enhancing effect of partial gastrectomy on pancreatic carcinogenesis, *Brit. J. Cancer*, 65, 383-387.

Watanapa, P., Flaks, B., Öztaş, H., Deprez, P.H., Calam, J. and Williamson, R.C.N., 1993, Inhibitory effect of a cholecystokinin antagonist on pancreatic carcinogenesis after pancreatobiliary diversion, *Brit. J. Cancer*, 67, 663-667.

Westing, A.H., 1979, Ecological effects of military defoliation on the forests of South Vietnam, *Bioscance*, 21, 893-898.

WHO., 1984, 2,4-D Geneva, World health organisation, *Environ. Health Criteria Series,* No:29.

Wolff, J., 1907, Die lehre von der Krebskrankheit von den altesten Zeiten bis zur Gegenvwart, *Jena Germany*, pp.3.

Woods, J.S. and Polissar, L., 1989, Non-Hodgkin's lymphoma among phenoxy herbicide-exposed farm workers in western Washington State, *Chemosphere*, 18, 401-406.

Wong., P.K., 2000, Effects of 2,4-D, glyphosate and paraquat on growth, phottosynthesis and chlorophyll-a synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb 614, *Chemosphere*, 4, 1177-182.

Windheuser, J.J., Halsam, J.L., Caldwell, L., Shaffer, R.D., 1982, The use of N,N-dietyl-m-toluamide to enhange dermal and transdermal delivery, *Pharm. Sci.*, 71, 1211-1213.

Wilson, R.D., Geronimo, j., Armbruster, J.A., 1997, 2,4-D Dissipation in field soils after applications of 2,4-D Dimethylamine salt and 2,4-D 2-ethylhexyl ester, *Environmental Toxicology and Chemistry,* 16 (6), 1239-1246.

Woutersen, R.A., Van Garderen-Hoetmer, A., Lamers, C.B.H.W., Scherer, E., 1991, Early indicators of exocrine pancreas carcinogenesis produced by non-genotoxic agents, *Mutat.Res.,* 248, 291-302.

Yalçınkaya, M., 2006, Bir herbisit olan 2,4-D (Diklorofenoksiasetik Asit)'İn *Poecilia Reticulata* P.,1859'da medulla spinalis üzerine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* İzmir, 1-97.

Yönten, V., 2006, Bitkisel hormonlardan 2, 4-D amin ve böcek öldürücülerden 2, 2-dikloro vinil fosfat (dichlorvos)'ın orjinal, yüzeyi HNO_3 ve Na_2CO_3 ile değiştirilmiş bentonit üzerine adsorbsiyonlarının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Van, 1-56.

Yıldız, H., 2004, Azaserin enjekte edilmiş sıçan (rat) ekzokrin pankreas asinar hücrelerinde meydana getirilen neoplastik değişimler üzerinde aspirinin (asetilsalisilik asit) inhibisyon etkileri üzerine araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi, *Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Hatay, 1-46.

Yıldız, D., Dalkılıç, S., Yıldız, H., Öztaş, H., 2006, Change in free- and protein bound-SH levels in rat tissues exposed to parathion methyl, *Toxicology Mechanism and Methods*, 16 (8), 347-352.

Yıldız, H., , Koc, A., Öztaş, H. Yıldız, D., 2008, Inhibitory effects of aspirine azaserine initiated pancreatic carcinogenesis in rat, *Indian Vet. J.,* 85, 187-190.

Yıldız, H., 2010, Azaserin-sıçan modelinde aspirinin, ekzokrin pankreas asinar hücreleri üzerindeki etkisinin ve serbest –SH ile proteine bağlı –SHdeğerlerinin araştırılması, Doktora Tezi, *Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,* Hatay, 1-82.

Yiğit, F., 2001, Antalya ilinde zirai ilaç bayilerinin genel durumları ve çiftçi ile olan ilişkilerinin araştırılması, *Tük-Koop Ekin,*5 (15), 90-96.

Zahm, S.H., Weisenburger, D.D., Babbitt, P.A., Saal, R.C., Vaught, J.B., Cantor, K.P., et al., 1990, A case-control study of non- Hodgkin's lymphoma and the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in eastern Nebraska, *Epidemiology,* 1 (5), 349–356.

Zeren, O., Yaşarbaş, M., 1989, Tarımsal ilaçların insanlar üzerindeki etkileri. *2. Ulusal Ergonomi Kongresi,* Milli Produktivite Merkezi Yayınları, 379, 268-277.

Zeren, O., Kumbur, H., 1998, İçel ilinde tarımsal ilaç pazarlama, kullanım tekniği ve etkinliği üzerine araştırmalar, *Türk- Koop Ekin,* 2 (5), 62-68.

Zeljezic, D., Garaj-Vrhovac, V., 2001, Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (Comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides, *Mutagenesis,* 16, 359-363.

Zeljezic, D., Garaj-Vrhovac, V., 2002, Sister chromatid exchange and proliferative rate index in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides, *Chemosphere*, 46, 295-303.

Zychlinkski, L, Zolnierowich, S., 1990, Comparison of uncopling activities of chlorophenoxy herbicides in rat liver mitochondria, *Toxicol. Lett.,* 52, 25-34.

Zurlo, J., Curphey, T.J., Hiley, R., Longnecker, D.S., 1982, Identification of 7-carboxymethylguanine in DNA from pancreatic acinar cells exposed to azaserine, *Cancer Res.*, 42, 1286-1288.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Erkan KALIPCI
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Konya-15.12.1976
Telefon : 0505-5813196
Faks : 0332-3238220
e-mail : erkankalipci@selcuk.edu.tr

EĞİTİM

Derece		Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	:	Konya Gazi Lisesi, Meram, Konya	1993
Üniversite	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2000
Yüksek Lisans	:	Selçuk Üniversitesi, Selçuklu, Konya	2007

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2001-2003	Çevre Bakanlığı Giresun İl Müdürlüğü	Biyolog
2003-2006	Çevre ve Orman Bakanlığı Giresun İl Müdürlüğü	Biyolog
2006	Çevre ve Orman Bakanlığı Konya İl Müdürlüğü	Biyolog
2006	Selçuk Üniversitesi Biyoloji Eğitimi A.B.D.	Uzman

UZMANLIK ALANI

Çevre Biyolojisi ve Ekoloji, Ekotoksikoloji, Çevre Eğitimi

YABANCI DİLLER

İngilizce

YAYINLAR

Kalıpcı, E., Dursun, Ş., 2008, 'Giresun ve Trabzon İl Merkezlerinin Trafik Kaynaklı Gürültü Kirliliklerinin Karşılaştırılması', Blacksea International Environmental Symposium BIES'08, Proceeding Book, Page number:544-552, Giresun-TURKEY (Yüksek Lisans Tezinden yapılmıştır).

Kalıpcı, E., Dursun, Ş., 2009, 'Presentation of Giresun city traffic noise pollution map via geographical information system', Journal of Applied Sciences, 9 (3):479-487, ISSN1812-5654 (Yüksek Lisans Tezinden yapılmıştır).