

**2,4-D (2,4-DİKLOROFENOKSİ) ASETİK ASİT VE TÜREVLERİ İLE
BİSFENOL-A (BİS-A) VE FOSFİNOTRİSİN (PPT)'İN SU PİRELERİ
Daphnia magna (Straus, 1820) (Cladocera, Crustacea) ÜZERİNE AKUT
TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

Güldane ÇINAR PEKTAŞ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE BİLİMLERİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EYLÜL 2011
ANKARA**

Güldane ÇINAR PEKTAŞ tarafından hazırlanan “2,4-D (2,4-DİKLOROFENOKSİ) ASETİK ASİT VE TÜREVLERİ İLE BİSFENOL-A (BİS-A) VE FOSFİNOTRİSİN (PPT)’İN SU PİRELERİ *Daphnia magna* (Straus, 1820) (Cladocera, Crustacea) ÜZERİNE AKUT TOKSİK ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ” adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Feriha YILDIRIM

.....

Tez Danışmanı, Çevre Bilimleri Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Çevre Bilimleri Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Beril AKIN SALMAN

.....

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, G.Ü.

Yrd. Doç. Dr. Feriha YILDIRIM

.....

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, G.Ü.

Doç. Dr. Mahmut SELVİ

.....

Çevre Bilimleri Anabilim Dalı, G.Ü.

Tarih: 27/09/2011

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Güldane ÇINAR PEKTAŞ

**2,4-D (2,4-DİKLOROFENOKSİ) ASETİK ASİT VE TÜREVLERİ İLE
BİSFENOL-A (BİS-A) VE FOSFİNOTRİSİN (PPT)'İN SU PİRELERİ *Daphnia
magna* (Straus, 1820) (Cladocera, Crustacea) ÜZERİNE AKUT TOKSİK
ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Güldane ÇINAR PEKTAŞ

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Eylül, 2011

ÖZET

Bitkide büyüme düzenleyicilerden 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D) ve türevlerinden 2,4-D Isooktilester (2,4-D Ester) ve 2,4-D Dimetilamin (2,4-D Amin) iyi bilinen yapay oksinlerdendir. Bu maddeler seçici herbisit (yabancı ot öldürücü) etkisi göstermektedir.

Fosfinotrisin (PPT) ise bakteri, bitki ve hayvan hücrelerinde glutamin sentaz enzimlerini inhibe ettiğinden herbisit olarak kullanılmaktadır. Bisfenol-A (BPA) plastik üretiminde kullanılan karsinojen bir maddedir.

Bu çalışmada, 2,4-D ve türevleri ile Fosfinotrisin ve Bisfenol-A'nın akuatik ekosisteme karıştığında *Daphnia magna* (Straus,1820) (*Cladocera, Crustacea*) üzerine nasıl etki edeceğini araştırmak için 24 saatlik EC50 değerlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ön denemeler sonunda her bir kaptaki hareketli *D. magna* bireyleri sayılmış, ortamın hafifçe karıştırılmasını takiben ölü bireyler dikkate alınarak, hareketsizlik yüzdesine; %0 - %100 karşılık gelen derişimler belirlenmiştir. Kontrol gruplarıda kullanılarak bu kimyasalların 24 saatlik EC50 değeri periyodik olarak belirlenmiştir.

Kullanılan bu maddelerin 24 saatlik EC50 değerleri sırasıyla; *D. magna* bireylerinde probit analiz yöntemine göre 2,4-D için; 462,3 mg/l (346,36–636,42), 2,4-D Ester için; 2,4 mg/l (0,69–4,10), 2,4-D Amin için; 199,3 mg/l (146,94–266,095), BPA için; 6,682 mg/l (5,872–7,446), PPT için; 65,78 mg/l (33,872–444,371) bulunmuştur.

Ayrıca Behrens-Karber yöntemi ile 24 saatlik EC50 değerleri 2,4-D 694,72 mg/l, 2,4-D Ester 7,7 mg/l, 2,4-D Amin 423,5 mg/l, BPA için; 7,7 mg/l, PPT için; 94,71 mg/l olarak saptanmıştır. Bu maddelerin konsantrasyondaki farklılıklara göre *D. magna* bireylerinin davranışlarında su yüzeyinde kalma, parçalanmalar ve ölüm gibi önemli değişiklikler gözlenmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.032

Anahtar Kelimeler : 2,4-D (2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit), 2,4-D ester (2,4-D Isooktilester), 2,4-D Amin (2,4-Dimetilamin tuzu), BPA (Bisfenol-A) ve PPT (Fosfinotrisin), *Daphnia magna* (Su Piresi), Akut toksisite, EC50, Probit Analiz Yöntemi, Behrens-Karber Yöntemi

Sayfa Sayısı : 81

**2,4-D (2,4-DICHLOROPHENOXY) ACETIC ACID AND DERIVATIVES
WITH BISPHENOL-A (BIS-A) AND PHOSPHINOTRICIN (PPT) THE
WATER FLEA *Daphnia magna* (Straus, 1820) (Cladocera, Crustacea) ON THE
TOXIC EFFECTS OF ACUTE DETERMINATION
(M.Sc of Thesis)**

Güldane ÇINAR PEKTAŞ

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY
September, 2011**

ABSTRACT

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, which is classified as an auxin that regulates growth in plants, and its types 2,4-D Isooktilester (2,4-D Ester) and 2,4-D Dimetilamin (2,4-D Amin) are artificial auxins. They function as selective herbicide.

Phosphinotricin (PPT), on the other hand, inhibits glutamin sentaz enzymes in bacteria, plant and animal cells. Bisfenol-A (BIS-A) is a carcinogen and is used in the production of plastic.

This study aimed to determine the 24-hour EC50 values in order to find out the effects of 2,4-D and varieties and other chemicals, which are used in agricultural and industrial fields and enter the aquatic ecosystems, on *Daphnia magna* (Straus, 1820) (Cladocera, Crustacea). After the pre trials, the active *D. magna* individuals in each pot were counted and the medium was slightly mixed. The dead ones were taken into consideration and the concentrations in the %0 - %100 mobility range were determined. The 24 hour EC50 values were determined periodically with using control groups.

The 24- h EC₅₀ value of 2,4-D on *D. magna* was found to be 462.3mg/l (346.36–636.42), 2,4-D ester 2,4mg/l (0.69–4.10), 2,4-D amine 199.3mg/l (146.94–266.095), BIS-A 6.68mg/l (5.872–7.446), PPT 65.78mg/l (33.872–444.371) according to Probit Analysis.

Besides, the 24- h EC₅₀ values obtained using Behrens Karber are results were obtained close to Probit Analysis.

Science Code : 203.1.032

Key Words : 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) , 2,4-D Isooctylester (2,4-D Ester), 2,4-Dimethylamine (2,4-D Amine), Bisphenol-a (Bis-a), Phosphinotricin (PPT), *Daphnia magna* (Water Flea), Acute toxicity, EC₅₀, The method of Probit Analysis, The method of Behrens Karber.

Pages Number : 81

TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarım boyunca benden desteğini, zamanını, fikrini ve yardımlarını esirgemeyen sevgili danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Feriha YILDIRIM' a en içten sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, çalışmalarım boyunca bu konudaki geniş bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bana zaman ayıran, laboratuvar yeri ve malzemeleri konusunda büyük destek vererek deneylerimi yürütmemi sağlayan Orta Doğu Teknik Üniversitesi Biyoloji Bilimleri Limnoloji Laboratuvarı sorumlusu Prof. Dr. Meryem BEKLİOĞLU YERLİ ve onun bilim uzmanı ve doktora öğrencilerine sonsuz teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Araştırmamın her aşamasında yanımda olan benden ilgi ve desteğini esirgemeyen aileme ve eşime teşekkürlerimi sunarım.

GÜLDANE ÇINAR PEKTAŞ

ANKARA, 2011

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜRLER.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. 2,4-D VE TÜREVLERİ İLE BPA VE PPT İLE İLGİLİ YAPILAN ARAŞTIRMALAR VE ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Herbisitler.....	4
2.2. 2,4-D klorofenoksi asetik asitler ve türevleri.....	5
2.2.1. 2,4-Diklorofenoksi asetik asit (2,4-d) absorpsiyonu, dağılımı, atılımı.....	8
2.2.2. 2,4-Diklorofenoksi asetik asit (2,4-d) toksisitesi, belirti ve bulguları, çevresel döngüsü.....	10
2.2.3. 2,4-Diklorofenoksi asetik asit (2,4-d) ile yapılmış toksik çalışmalar.....	13
2.3. Bisfenol-a (bpa)’nın genel, fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	17
2.4. Fosfinotrisin(ppt)’in fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	21
2.5. Su piresi (<i>daphnia magna</i>)	25
2.5.1. <i>Daphnia magna</i> ’nın taksonomisi.....	25
2.5.2. <i>Daphnia magna</i> ’nın biyolojisi ve yetiştirilme ortamı.....	26
2.5.3. <i>D. magna</i> ’nın morfoloji ve fizyolojisi.....	27

Sayfa

2.5.4. <i>D.magna</i> 'nın sucul sistemler için ekolojik önemi.....	31
3. MATERYAL VE METOD.....	34
3.1. Materyal.....	34
3.1.1. Deneme yeri.....	34
3.1.2. <i>D. magna</i> 'ların üretiminde ve deneylerde kullanılan gereçler.....	34
3.1.3. Deney ortamı.....	34
3.1.4. Deney suyu.....	38
3.1.5. Oksijen, sıcaklık ve ph ölçümü.....	38
3.1.6. Toksik madde materyalleri ve stok çözeltinin hazırlanması.....	39
3.2. Metod.....	39
3.2.1. <i>Daphnia magna</i> 'nın deneye hazırlanması.....	39
3.2.2. Herbisit ve kimyasal madde konsantrasyonu.....	40
3.2.3. Deney hayvanlarının sayısı.....	40
3.2.4. Kontrol grubu.....	41
3.2.5. Deney süresi ve gözlemler.....	41
3.2.6. Deney ortamının görüntülenmesi.....	41
3.2.7. EC50 tayini metodu.....	43
4. DENEY SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ.....	45
5. BULGULAR.....	46
5.1. Biyodeneye ait sonuçlar.....	46
6. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	63
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	68
EKLER.....	77

Sayfa

EK 1. Toksikolojik Genel Tanımlar.....	78
ÖZGEÇMİŞ.....	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

cm	Santimetre
C	Konsantrasyon (Derişim)
°C	Santigrat Derece
EC	Elektriksel iletkenlik
g	Gram
Kg	Kilogram
l	Litre
mg	Miligram
mm	Milimetre
μ	Mikron
μm	Mikrometre
μg	Mikrogram
ppm	Milyonda bir kısım
%	Yüzde

Kısaltmalar

Açıklama

BPA (BPA)	Bisfenol-a
DNA	Deoribonükleik asit
ETOH	Etilalkol
EC50	Ortalama Etkili Konsantrasyon
EPA	Çevre Koruma Ajansı (Enviromental Protection Agency)

et al

Ve diğerleri

Kısaltmalar**Açıklama****FAO**Birleşmiş Milletler Gıda Ve Tarım Örgütü
(Food and Agriculture Organisation)**GD**

Genetiği Değiştirilmiş

GDO

Genetiği Değiştirilmiş Organizma

Hb

Hemoglobülin

H₂O

Su

LC50

Ortalama Öldürücü Konsantrasyon

LD100

Deney Canlısını Öldüren Doz

LD50

Canlıların Yarisını Öldüren Doz

MCPA

4-Kloro-2- Metil Fenoksiasetik Asit

NHL

Non-Hodgkin Lenfoma

NOEC

Gözlemlenmemiş Etki Derişimi

ODTÜ

Orta Doğu Teknik Üniversitesi

OECD

Guideline For Testing of Chemicals

PPT

Fosfinotrisin

PCB

Pentaklorofenol

WHO(World Health Organisation) Dünya Sağlık
Örgütü**UNEP**

Birleşmiş Milletler Çevre Programı

vd

Ve diğerleri

2,4-D

2,4-Diklorofenoksi asetik asit

2,4-D ester

2,4-D Asit İsooktilester

2,4-D amin

2,4-D Amin tuzu

2,4,5-T

2,4,5,-Triklorofenoksi Asetik Asit

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Bisphenol-A'nın Fenol ve Asetondan Kondensasyonu.....	17
Şekil 2.2. Bisfenol A'nın Biyodegradasyon Mekanizması.....	18
Şekil 2.3. Biyoteknolojik Yöntemlerle Böceklerle Dayanıklılık Genlerinin Bitkilere Aktarılması.....	22
Şekil 2.4. <i>Daphnia</i> 'nın (Cladocera) A) Genel Yapısı B) Epifium.....	28
Şekil 2.5. <i>Daphnia magna</i> 'da Anten Yapısı.....	29
Şekil 2.6. <i>Daphnia magna</i> 'da Dişinin Sistemik Görünüşü.....	29
Şekil 2.7. Su Piresinin (<i>D. magna</i>) Sırtındaki Yumurtaları.....	30
Şekil 3.1. Deney Ortamı (ODTÜ Limnoloji Laboratuvarı).....	35
Şekil 3.2. <i>D. magna</i> Üretimi Yapılan Beher ve Akvaryumlar.....	36
Şekil 3.3. <i>Scenedesmus obliquus</i> Kültürleri (ODTÜ-Limnoloji Laboratuvarları).....	37
Şekil 3.4. <i>Daphnia magna</i> 'nın 2,4-D ve Türevleri Verilmeden Önceki Hali.....	42
Şekil 3.5. <i>Daphnia magna</i> 'da ilk 2,4-D Verildikten Sonraki Durumu.....	42
Şekil 3.6. <i>Daphnia magna</i> 'nın 2,4-D Verildikten Sonraki Hali ve Dokularında Birikimi.....	43
Şekil 5.1. <i>D. magna</i> Bireylerinde 2,4-D için Hesaplanan Probit Değerleri ve Regresyon Grafiği.....	50
Şekil 5.2. <i>D. magna</i> Bireylerinde 2,4-D Ester için Hesaplanan Probit Değerleri ve Regresyon Grafiği.....	53
Şekil 5.3. <i>D. magna</i> Bireylerinde 2,4-D Amin Tuzu için Hesaplanan Probit Değerleri ve Regresyon Grafiği.....	56
Şekil 5.4. <i>D. magna</i> Bireylerinde BPA için Hesaplanan Probit Değerleri ve Regresyon Grafiği.....	59
Şekil 5.5. <i>D. magna</i> Bireylerinde PPT için Hesaplanan Probit Değerleri ve Regresyon Grafiği.....	62

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. 2,4-D'nin Farklı Formlarının Genel Özellikleri.....	6
Çizelge 2.2. Çeşitli Türden Canlılarda 2,4-D Maddesinin Oluşturduğu Toksik Etkiler.....	11
Çizelge 2.3. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri.....	17
Çizelge 3.1. <i>Scenedesmus obliquus</i> Kültür Ortamının Hazırlanması.....	37
Çizelge 4.1. Behrens-Karber Yönteminin Formülünün Açıklaması.....	45
Çizelge 5.1. <i>D. magna</i> 'da Denemelerden Önce Deney Suyundaki Sıcaklık, EC, pH ve Oksijen Değerleri.....	47
Çizelge 5.2. 2,4-D'nin Farklı Konsantrasyonlarında, <i>D.magna</i> Bireylerindeki 24 Saat İçerisindeki Ölüm Oranları Arasındaki İlişkileri.....	48
Çizelge 5.3. 2,4-D'nin <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saatlik Akut Toksik Etkisi.....	48
Çizelge 5.4. Behrens - Karber Yönteminin 2,4-D için Tabloda Hesaplanmış Hali.....	49
Çizelge 5.5. 2,4-D Ester'in Farklı Konsantrasyonlarında, <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 saat İçerisindeki Ölüm Oranları Arasındaki İlişkileri.....	51
Çizelge 5.6. 2,4-D Ester'in <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saatlik Akut Etkisi.....	52
Çizelge 5.7. Behrens- Karber Yönteminin 2,4-D Ester İçin Tabloda Hesaplanmış Hali.....	52
Çizelge 5.8. 2,4-D Amin Tuzunun Farklı Konsantrasyonlarında, <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saat İçerisindeki Ölüm Oranları Arasındaki İlişkileri.....	54
Çizelge 5.9. 2,4-D Amin tuzu'nun <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saatlik Akut Toksik Etkisi.....	54
Çizelge 5.10. Behrens- Karber Yönteminin 2,4-D Amin Tuzu için Tabloda Hesaplanmış Hali.....	55

Sayfa

Çizelge 5.11. BPA'nın Farklı Konsantrasyonlarında, <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saat İçerisindeki Ölüm Oranları Arasındaki İlişkileri.....	57
Çizelge 5.12. BPA'nın <i>D.magna</i> Bireylerindeki 24 Saatlik Akut Toksik Etkisi.....	58
Çizelge 5.13. Behrens- Karber Yönteminin BPA için Tabloda Hesaplanmış Hali.....	58
Çizelge 5.14. PPT'nin Farklı Konsantrasyonlarında, <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saat İçerisindeki Ölüm Oranları Arasındaki İlişkileri.....	60
Çizelge 5.15. PPT'nin <i>D. magna</i> Bireylerindeki 24 Saatlik Akut Toksik Etkisi.....	61
Çizelge 5.16. Behrens- Karber Yönteminin PPT için Tabloda Hesaplanmış Hali.....	61

1. GİRİŞ

Plansız şehirleşmenin en büyük problemlerinden biri de endüstriyel ve tarımsal faaliyetlerin yerleşim alanları içinde kalmasıdır. Bu faaliyetlerden kaynaklanan kirleticilerin düzensiz ve kontrolsüz kullanımlarının yanı sıra arıtmadan sonra ve denetlenmeyen kötü arıtmalar sonucu atık su kanallarına verilmesidir. Atık sularındaki istenmeyen elementler, kimyasallar ya da bileşikler bu ortamda yaşayan canlılar açısından ve besin zincirine geçiş nedeniyle insan sağlığı açısından da büyük önem taşımakta ve tehdit oluşturmaktadır [Gomez ve ark., 2001].

Tarımsal kirlilikten kaynaklanan atıkların büyük çoğunluğunu pestisitler oluşturmaktadır. Günümüzde birçok herbisit ve insektisit yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Dünya çapında süregelen toksikolojik çalışmalar ışığında, bu maddelerin yerine çevreye daha az zarar veren alternatif maddelerin araştırılmasına hızlı bir biçimde devam edilmektedir [Gomez ve ark., 2001].

Kimya endüstrisinin hızla gelişimi sonucunda gerek günlük yaşantımızda, gerekse tarımda ve endüstride birçok kimyasal madde kullanılmaktadır. Bu kimyasal maddeler, bugünkü çağdaş yaşamın vazgeçilmez gereksinimleridir; fakat bu maddelerin faydalarının yanında, çeşitli nedenlerle gerek doğrudan maruz kalma, gerekse kullanımları sonucu çevreye yayılarak çevre kirliliği (insanlara ve tüm ekosisteme) üzerinde olumsuz etkileri olduğu görülmüştür. Ekosistemin bütün öğeleri birbiriyle ilişkili olduğundan; tarımda kullanılan zirai ilaçlar su ve toprak başta olmak üzere bütün abiyotik ortamı kirletirler [Polat, 1999].

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre Dünya nüfusunun %80'i hala geleneksel yollarla elde edilen bitkisel kökenli kimyasal ilaçlara güvenmektedir [Sanlı, 1995]. Ama günümüzde büyük bir kısmı sentetik olmak üzere 80,000'in üzerinde kimyasal madde çeşitli amaçlar için kullanılmaktadır. Bugün insanlar kimyasal maddelerin oluşturduğu bir okyanus içinde yaşamaktadır. Bu kimyasalların başlıcaları; ilaç aktif maddesi, kozmetik, gıda katkı maddesi ve tarım ilacıdır [WHO, 1990].

Artan nüfusun da etkisiyle tarımda istenmeyen bitki ve hayvan türlerinin kontrol edilme gerekliliği doğmuştur. Bitki ve hayvan türlerini kontrol etmek için üretilen kimyasallar genel olarak “pestisit” ya da “biyosit” olarak isimlendirilmiştir. Bu kimyasallar hedef organizmaya bağlı olarak insektisitler, herbisitler ve fungusitler gibi gruplara ayrılmışlardır. Bunların dışında moluskusitler, nematisitler ve rodentisitler gibi küçük gruplar da mevcuttur. Tarımda pestisit kullanımına diğer önemli bir katkıyı da “bitki büyüme düzenleyicileri” yapmıştır. Pestisitlerin tarihine ve gelişimine kısaca bakılacak olursa 19. yüzyılın sonuna değin mekanik ve insan gücüyle zararlı kontrolünün baskın olduğu görülür. Yabani ot kontrolü demir veya bakır sülfat, hatta sülfürik asit gibi basit inorganik bileşiklerin kullanımı ile başlamıştır. Bu bileşiklerin yeterli seçicilikte olmamaları nedeniyle esas olarak bitki örtüsünün tamamına uygulanmışlardır [Buchel, 1977].

Bir herbisit olan 2,4-Diklorofenoksiasetik asit (2,4-D), 2,4-D Dimetilamin (amin tuzu) ve 2,4-D Isooktilester (ester)'leri; potansiyel toksisitesi olan ve Türkiye’de tarım alanlarında yaygın olarak kullanılan bileşiklerdir [Vural, 1996].

Bu herbisitler artan nüfusu besleyebilmek için tarımda verimi arttırmada kullanılmaktadır. Bu ilaçlar yağmurlarla, göl ve akarsulara karışmakta, planktonlar aracılığıyla balıklarda birikim yapmakta ve besin zinciri yolu ile insanlara kadar ulaşmaktadır [Çolak ve ark.,1989].

PPT (Fosfinotrisin) bakteri, bitki ve hayvan hücrelerinde glutamin sentaz enzimlerini inhibe etmektedir. Bu nedenle etkili bir herbisit olarak kullanılmaktadır. BPA (Bisfenol-A) ise; plastik ve pvc sanayinde çok fazla kullanılan polikarbonatın saf maddesidir. Bu iki madde için yapılmış çalışmalar yeterli miktarda değildir. BPA yurt dışında kullanımı yasaklanmasına rağmen ülkemizde halen yaygın olarak kullanılmaktadır. Sanayi ve tarım atığı olarak bu maddelerinde sucul ortama girmesi kaçınılmazdır.

Herhangi bir maddenin alıcı su ortamındaki ve beslenme zincirindeki canlılar için tehlikeli olup olmadığına;

- Memeli hayvanlar için akut-oral toksisitesi,
- Bakteriler için akut-oral toksisite,
- Balıklar için akut toksisite,
- Omurgasız canlılar için akut toksisite,
- Biyolojik ayrışılabilirlik,

testleri yapıldıktan sonra karar verilebilir [Ardalı, 1990].

Temel olarak kimyasal maddelerin risk oluşturabilirliğinin ortaya konması için balık, alg gibi canlıların üzerinde yapılan akut toksisite biyodeneyleleri baz alınır. Cladocera, Rotifera, Bacteria ve diğer gruplar kullanılarak yapılan su testleri kayda değer testlerdir. Bunun sebebi balıkların temel besin kaynağı olduğundan, bu canlılardaki herhangi bir toksik birikmenin balıklardan insanlara kadar besin zincirinde ilerlemesidir [Castano ve ark., 1996].

2,4-D maddesiyle Cladocera ve diğer canlılarla yapılan çalışmalar, ülkemizde sınırlı olup genel olarak balıkların davranış değişikliklerinin araştırılması ve EC50 değerlerinin tespiti için yapılmış nihayetinde bu noktada sınırlı kalmıştır. Yaptığımız bu tez çalışmasında, temel olarak 2,4-D, 2,4-D Ester, 2,4-D Amin, PPT ve BPA maddelerinin *Daphnia magna* bireylerinde meydana getirdiği olası zararlar gözlemlenmiştir. 24 saatlik LD50 değerleri baz alınarak, akut toksisite denemeleri sonucunda *D. magna*'da oluşan muhtemel dejenerasyonlar ışık mikroskobu altında değerlendirilmiş ve zararları saptanmıştır. Probit Analiz Yöntemi kullanılarak her bir madde için ayrı ayrı EC50 değerleri tespit edilmiştir. Dolayısıyla besin zincirinin son halkası olan balıkların, bu organizmaları tüketmesiyle birlikte bu herbisit ve kimyasalların insanlara etkisi konusunda yapılan çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

2. 2,4-D VE TÜREVLERİ, BPA VE PPT İLE İLGİLİ YAPILAN ARAŞTIRMALAR VE ÇALIŞMALAR

2.1. Herbisitler

İstenmeyen bitkiler ve yabancı otları yok etmek için kullanılan zirai ilaçlara herbisit denir. Bunlar bitkilerde etkilerine göre “*non-selektif herbisitler*” (seçici olmayan, yani bütün bitki türlerini etkileyenler)” ve “*selektif herbisitler*”(seçici olan, yani sadece belirli bir bitki türü için toksik özellik taşıyanlar) olmak üzere ikiye ayrılırlar.

Herbisitler bitkilerde etki yeri ve kullanma şekillerine göre üç gruba ayrılır: “*kontakt herbisitler*” (bitki yaprak ve gövdesi ile temasta bitkiye zarar verenler; örneğin bipiridil grubu), “*sistemik herbisitler*” (bitkinin vasküler sisteminde yayılarak bitkiye zarar verenler ki bunlar bitkinin yaprak ve köküyle temasta olduğundan çok çabuk olarak bitkinin damarları tarafından absorbe edilirler; örneğin klorofenoksiasetik asit türevleri) ve “*bitkinin kök sistemini veya çimlenen tohumlarını etkileyen herbisitler*” (toprağa karıştırılıp, istenmeyen bitki tohumlarını yok edenler, örneğin *pentaklorofenol-PCB*), (Vural, 1996).

Ayrıca herbisitler etkileme tarzlarına göre ise; “*solunumu inhibe edenler*”, “*bitki büyümesini inhibe edenler*”, “*fotosentezi inhibe edenler*”, “*biyolojik işlevleri inhibe edenler*” olmak üzere dört sınıfa ayrılırlar. İnhibe edilen bu biyolojik işlevler; hücre bölünmesi, nükleik asit sentezi, aminoasit sentezi, karotenoid sentezi ve lipid sentezidir.

Bitki büyümesini inhibe eden herbisitler, bitki büyümesini etkileyen hormonlar üzerinde etkili olarak hormon dengesini bozarlar. Bu herbisitler, fenoksiasetik asitler ve benzoik asitler olmak üzere ikiye ayrılırlar [Ecevit ve ark., 1999].

2.2 2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit (2,4-D) ve Türevleri

İlk kez 1940'lı yılların ortalarında kullanılan ve klorofenoksiasetik grubundan olan 2,4-D, 2,4,5-T ve MCPA, o dönemde tarım ürünlerini arttırmak için kullanılan en yaygın herbisitlerdendi. Mekoprop ve Dikloroprop gibi klorofenoksi propiyonik asit türevlerinin kullanılması ise 1950-1960'lı yıllarda yaygınlaştı [IARC, 1977].

Bugün en fazla kullanılan herbisit grubu içinde fenoksiasetik, propiyonik ve butirik asit bileşikleri vardır. Bu grubun iki ana maddesi, 2,4-D ve 2,4,5-T'dir [Uluköy, 1992]. 2,4-Diklorofenoksiasetik asit biyolojik açıdan ksenobiyotiktir [Yelkovan, A., 1995; Hayes ve ark., 1991]. Bunlar inorganik tuzlara göre ucuz olmaları, uygulanmalarının kolay olması ve düşük su hacminde kullanılabilmeleri nedeniyle büyük avantaj oluştururlar.

2,4-D'nin kimyasal yapısı ve genel özellikleri şöyle özetlenebilir:

Ampirik Formülü: 2,4-Diklorofenoksiasetik asit

Ticari Standart: Asgari %98 Saflıkta

Mali Tarzı: Monokloroasetik asit'in sodyum tuzu ile 2,4-diklorofenol'un reaksiyonu ile elde edilir.

Molekül Ağırlığı: 221,04 mg/l

Çözünme Kabiliyeti: Alkol, eter ve alkalilerde çözünür. Az miktarda suda da çözünebilir. Petrol yağlarında çözünmez.

Dayanıklılığı: Normal depolama şartlar altında bozulmaz, higroskopik değildir.

Fiziki Durumu: Kristal toz

Renk: Beyaz

Koku: Hafif Fenolik

Erime Noktası: 138°C

Çürütme Etkisi: Metalleri Çürütür

Kullanıldığı Bitkiler: Geniş yapraklı otlar (Sarıot, Gökbaş, Yemlik, Zühre Tarağı vs.).

Güvenlik: Tozları teneffüs etmemeli ve deri ile temas etmemelidir.

Topraktaki birikimi: Çeşitli şartlara bağlı olarak 3–4 haftadan 3–4 aya kadar toprakta kalır.

Depolama ve nakliyat: Gübre, tohum, insektisit ve fungusitlerle birlikte muhafaza edilmemelidir (Öden, 1962; Hektaş, 1995).

Beyaz pudra halinde olan 2,4-D asit haliyle genellikle ticari olarak kullanılmaz, onun yerine amin ve daha da çok ester tuzları tercih edilir (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 absorpsiyon nedeni ile yüksek tutulması gerekir. Hem amin hem de ester formu geniş yapraklı yabancı otlara etkilidir ancak, ester formu uçucudur. Bu sebeple karışık tarım yapılan alanlarda kullanımı tercih edilmez [Ecevit ve ark., 1999].

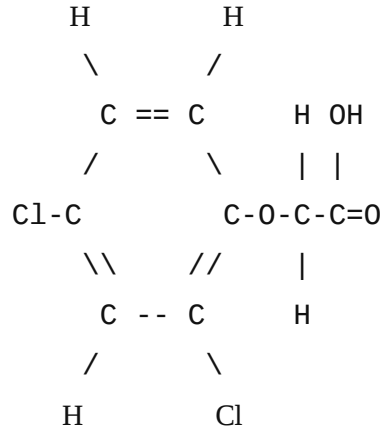
Genellikle 2,4-D esterleri emülsiyon formundadır. Sucul solüsyonları ise tuzlar halindedir. Emülsiyonlaştırılabilir derişikler ve ıslatabilen tuzlardır. En geniş ürünleri aminler, dimetil tuzlarıdır [Hayes ve ark., 1991]. 2,4-D'nin ve farklı formlarının genel özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. 2,4-D'nin farklı formlarının genel özellikleri [Koca., 2001].

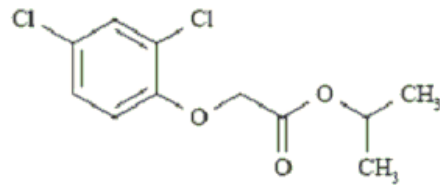
2,4-D Formu	Sudaki Çözünürlüğü	Yağdaki Çözünürlüğü	Su ile Karıştırıldığındaki Görünümü	Buharlaşabilmesi
2,4-D Asiti, saf	Çözünmez	Çözünmez	Süt gibi (sütümsü)	Tehlikeli değil
Amin Tuzu	Çözünür	Genelde Çözünmez	Temiz	Tehlikeli değil
Sodyum Tuzu	Orta Çözünürlük	Çözünmez	Temiz	Tehlikeli değil
Esterler buharlaşabilen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

2,4-D ve türevlerinin açık kimyasal formülleri aşağıda verilmiştir [Hektaş,1995]:

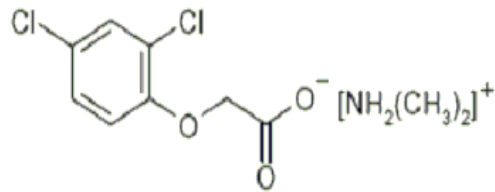
2,4-Diklorofenoksi Asetik Asit (2,4-D)



2,4-D Isooktil Ester (2,4-D Ester)



2,4-Dimetilamin (Amin tuzu)



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

2.2.1. 2,4-D'nin absorpsiyonu, dağılımı ve atılımı

Bazı klorofenoksi asitler, tuzları ve esterleri; deride, gözlerde, solunumda ve gastrointestinal yapıda tahrişlere sebep olur.

a) Absorpsiyonu

2,4-D gastrointestinal bölge tarafından iyi bir şekilde absorbe edilmektedir. Bu bileşiklerin akciğerler tarafından absorblanması daha düşük seviyededir. Deriden absorpsiyonu ise minimum miktarlarda olur [Arnold ve ark., 1989]. 2,4-D'nin Akciğer ve deriden bileşikleri absorblanabilir [EXTOXNET, 1996]. Klorofenoksi bileşiklerinin yağ yapılarında 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 gözlenir. Aradan 24 saat geçtiğinde ise dokularda ilaca rastlanmaz. Sadece altı gün daha eser miktarda hayvanların laktaz asidinde gözlenebilir. 2,4-D sıçanlarda ve domuzlarda doğrudan plasentaya geçer. Sıçanların uterus, plasenta, fetus ve amniyonik sıvılarında %20 oranında, tavukların yumurtalarında ise düşük seviyelerde 2,4-D maddesi tespit edilmiştir. [EXTOXNET., 1996; U.S.Nat., 1995].

2,4-D çoğu türde oral doz uygulamasından sonraki 8 saat içinde yüksek plazma konsantrasyonuna ulaşmaktadır [Erne, 1966]. 2,4-D'nin 5 mg/kg vücut ağırlık dozunun verildiği insanlarda absorpsiyonu tam ve hızlıdır. Plazmanın yüksek seviyesi bir çalışmada 4 saatten sonra oluşurken, benzer bir çalışmada da 7 saat içinde meydana geldiği belirtilmiştir [Kohli ve ark., 1974; Sauerhoff ve ark., 1977]. Gebe memelilerde herbisit tek dozunun %17'si plasentaya geçerek embriyoya ulaşabilmektedir [Lindquist, 1971].

2,4-D ve formlarının balıklarda oluşturduğu toksik etki diğer sucul canlılara verdiği etkiden bir hayli yüksektir. Örneğin, alabalık türlerinde LC50 konsantrasyonu aralığı 1,0 mg/l ile 100 mg/l arasındadır ve çoğunda ani ölümler oluşturmuştur. Yayın balıkları 10 mg/l doza tabi tutulduğunda 48 saat içinde popülasyonun %10'unda ölüm gözlenmiştir [EXTOXNET., 1996; Stevens ve ark., 1991]. Pervane balığı (*Mola mola*)'na 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 oluşturmamış iken, ergin bireylerinde 96 saatlik LC50 dozundan 10 mg/l daha fazlası hafif bir toksik etki göstermiştir. 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 emilebildiği, bileşiklerinin ise akciğer ve deriden daha kolay nüfuz edebildiği bildirilmiştir. Sucul canlılarda özellikle balıklarda yüksek toksik etkiye sahip olduğu fakat diğer sucul canlılarda, örneklerden de anlaşılacağı gibi daha az toksik etki yarattığı izlenmektedir.

b) Dağılımı

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 dağılmaktadır [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 ark., 1968].

Erne ve arkadaşları (1966) klorlandırılmış fenoksiasetik asidin hayvanlardaki emülsiyonu dağılımı hakkında bilgi vermiştir. Wang ve ark., (1994), Çin'deki dört nehirde yapılan çalışmada uygulanan herbisitinin % 80'inin 56 gün sonra da suda bulunduğunu gözlemlemiştir.

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 [Que ve ark., 1981]. EPA kriterlerine göre içme sularında 0,1 ppm civarındaki miktarlar müsaade edilebilir sınır olarak ABD'de kabul edilmiştir [EPA., 1998].

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 miktarı 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].

c) Atılımı

2,4-D'nin atılımı tüm türlerde idrar yoluyla gerçekleşmektedir. İnsan vücudundaki ortalama yarılanma süresi 13–39 saat arasındadır. 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 [Flanagan ve ark., 1990].

2.2.2. 2,4-d'nin toksisitesi, belirti ve bulguları, çevresel döngüsü

a) Etkileri ve Toksisitesi

2,4-D'nin yüksek dozlarının deney hayvanlarına verilmesi sonucu anoreksiya, diyare, kilo kaybı, ağız ve yutakta ülserleşmeler, karaciğer, böbrek ve santral sinir sisteminde

hasarlar oluşmuştur. Bazı türlerde miyotoni (kas koordinasyonsuzluğu ve sertlik) gelişmiş ve miyelin kılıfının hasar görmesiyle birlikte omurgada eğrilikler belirmiştir. Bazı canlılarda oluşturduğu toksik etkiler Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Çeşitli türden canlılarda 2,4-D maddesinin oluşturduğu toksik etkiler [yalçınkaya., 2006].

Organizma Grupları İçin Oluşturduğu Toksik Etkiler	
Hedef Organizmalar	Etki Gösterdiği Noktalar
Amfibiler	Davranış bozukluğu, zehirlenme, ölüm.
Annelida	Ölüm.
Sucul Bitkiler	Birikim, davranış ve gelişim bozuklukları, hasarlar, ölüm, fizyolojik değişim, bir araya toplanma.
Cnidaria	Büyüme anomalileri.
Crustacea	Davranış ve gelişim bozukluğu, zehirlenme, ölüm, fizyoloji ve üreme.
Echinoderm	Üreme anomalisi.
Balıklar	Birikim, davranış bozukluğu, biyokimyasal, hücresel, gelişimsel bozulma, enzim aktivitesi, fizyoloji, üreme, büyüme, histoloji, zehirlenme, morfolojik yapılarda değişim, ölüm.
Mantarlar	Popülasyonda bozukluklar.
Böcekler	Gelişimsel ve genetik bozulma, bir araya toplanma, ölüm.
Sucul Bentik Organizmalar	Ölüm.
Kabuklular	Birikim, davranış ve gelişim hasarları, fizyolojik anomali, bir araya toplanma, ölüm.
Fitoplanktonlar	Birikim, davranış, biyokimyasal, hücresel, gelişim, büyüme, histoloji, morfoloji, fizyoloji, üreme durumlarında anomaliler. Zehirlenme, ölüm.
Bitkiler	Büyüme anomalileri.
Zooplanktonlar	Birikim, ürkeklik. Biyokimyasal, gelişimsel ve üreme bozuklukları. Zehirlenme, bir araya toplanma, ölüm

İnsanlarda klorofenoksi asidin yüksek miktarlarda yutulması metabolizmada asidosis (kanda asitlenme) oluşturur. Bunun sonuçları elektrokardiyografide değişimler, miyotoni, kas zafiyeti, kaslara oksijen taşıyan eritrositlerin idrarda görülmesi

(myoglobinurina), kan serumunda kreatin fosfokinaz yükselmesi hareketlerinde hasarlar meydana getirmesidir. Klorofenoksiasetik asitlerin oksidatif fosforilasyonu zayıftır ve insan vücudunda ateşlenmelere yol açabilirler [Prescott ve ark., 1979].

Özdaş ve ark., (2005), 2,4-D'nin sıçan testis dokusu üzerine etkisini araştırmış ve 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 dökülmesi gibi histopatolojik etkileri olduğu belirlenmiştir.

Yalçinkaya (2006), 2,4-D'nin *Poecilia reticulata* (lepidistes balığı)'da medulla spinallis üzerine etkisini araştırmış, herbisit konsantrasyonlarındaki artışa paralel olarak omurilikte nöronal kayıplar, hücre içi ödem, nissl granüllerinde doz artışına bağlı olarak bozulmalar gözlemlemiştir. Ayrıca, yer yer piknotik hücrelere rastlamıştır. Devam eden histolojik sonuçlarda gliosis de izlenen diğer histopatolojik bulgular arasına girmiştir.

b) Belirtiler ve Bulgular

Klorofenoksi bileşikleri kısmen de olsa deriyi tahriş eder ve hücre zarında salgı oluşturur. Zerrelerin solunmasıyla öksürük, göğüs ve solunum borusunda yanma oluşturur. Uzun süre solunduğunda baş dönmesi oluşturur. 2,4-D'nin geniş yapraklı bitkilerin içine daha iyi işlemesi ve tahriş etmesi için; içine yardımcı kimyasallar da atılmaktadır. Klorofenoksi bileşiklerinin sistematik toksisite oluşturulmasıyla ilgili başlıca belirtisi iştah kaybıdır. Öldürücü sonuçları gözlenen birçok raporda böbreklerde bozulma, asidite, elektrolit dengesizliği ve sonucunda oluşan organ bozukluklarıdır [Keller ve ark., 1994; Flanagan ve ark., 1990].

Ayrıca nefesin kötü kokulu olduğuna dair notlar vardır. Zehirlenmenin göze çarpan (nadiren yaşamı tehdit eden) bir özelliği de vücut sıcaklığında ve solunum hızında bir

miktar artış meydana getirmesidir. Hastalık oluştuktan sonra kaslarda zayıflama ve merkezi sinir sisteminde bozukluklar ortaya çıkar [Flanagan ve ark., 1990].

Ayrıca, klorofenoksi bileşikleri metabolizmada kayda değer değişimler meydana getirir. Kandaki asidin yükselmesi pH'ın düşmesine ve bikarbonatın artmasına yol açar. Kaslarda tahriş olursa genelde kanda kreatin fosfokinaz yükselir ve kaslardaki globin yıkıma uğrar. İdrarda zehirli maddenin varlığı üre, nitrojen ve serum kreatininin yükselmesiyle belirlenir. Böbreklerdeki bozulmanın rapor edildiği durumlarda kanda yüksek potasyum ve düşük kalsiyum oranları da bu durumu desteklemekte ve kardiyovasküler yetmezlik ve mortalite oluşmaktadır [Keller ve ark., 1994; Kancir ve ark., 1988]. Ayrıca, lökositlerde biyokimyasal değişimler ve karaciğer hücrelerinde tahrişlere neden olmakta, ani zehirlenmelerin ardından kas koordinasyonsuzluğu ve kas zafiyeti gelişebilmektedir [Prescott ve ark., 1979]. Taşikardi ve düşük tansiyonda gözlenip rapor edilen bilgiler arasındadır [Ftiesen ve ark., 1990; Flanagan ve ark., 1990].

c) Çevresel Döngü

2,4-D bitkilere kök ve yaprakları sayesinde alınır, bunu takiben floem sayesinde yukarılara taşınır [EPA., 1989]. 2,4-D uygulandıktan sonra 2 ila 4 hafta boyunca toprakta kalır. Yer altı sularına karışma potansiyelleri yüksektir. Akarsu ve göllere toprağa tutunmaları sonucu erozyonla ulaşırlar [Ecevit ve ark., 1999].

2.2.3. 2,4-D ile yapılmış toksikolojik çalışmalar

Kuşlar ve Memeliler

Hayvan türlerine göre LD50 seviyesinin farklılıklar göstermesine karşın 2,4-D'nin hayvanlar için orta şiddette toksik olduğu söylenebilir [İbrahim ve ark., 1991]. Dünya Sağlık Örgütüncü 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 LD50 değerleri sıçanlarda ve Kuzey Amerika bıldırcınlarında sırasıyla 764 mg/kg ve 500 mg/kg'dır. [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]. LD50 değerleri fare için 375 mg/kg, sıçan için 666 mg/kg, tavşan için 800 mg/kg, civciv için 541 mg/kg vücut ağırlığı olarak bulunmuştur [Hill ve ark., 1947].

İnsanlar Üzerinde Yapılan Çalışmalar

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 olmaktadır [Halliop ve ark., 1980]. Bu madde ile insanlar üzerinde yapılan çalışmalar ışığında iki tür kansere yol açtığı belirlenmiştir.

a) Yumuşak Doku Sarkomları (Tümörleri) : Uzun yıllar 2,4-D ile etkileşimi olan bireylerde, yumuşak doku sarkomalarının (tümörlerinin) ortaya çıktığı, kanserleşme oranının mide, pankreas, akciğer, deri ve idrar kesesi gibi organlarda yüksek olduğu bildirilmiştir [Sarma ve ark., 1982; Olson ve ark., 1981; Axelson ve ark., 1980; Hogstedt ve ark., 1980].

b) Non-Hodgkin Lenfomalar (NHL): NHL, değişik davranış şekilleri gösteren ve tedaviye yanıtları farklı olan heterojen bir lenfoproliferatif hastalık grubudur. Hodgkin Hastalığı gibi NHL de genellikle lenfoid dokudan köken alır ve diğer organlara yayılabilir. Fenoksiasetik asit içeren herbisitlere maruz kalma ve Non-Hodgkin Lenfomanın gelişmesi arasındaki ilişki, İsveç, Yeni Zelanda, Kansas; Washington, Nebraska, Iowa ve Minnesota'da incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada,

Hodgkin rahatsızlığına sahip 60 hastayı, 109 Non-Hodgkin hastasını ve 338 tane de genel popülasyondan seçtiği kontrol grubunu karşılaştırmıştır. Anket yapılarak 2,4-D'ye maruz kalanlar belirlenmiştir. Sonuç olarak 2,4-D'ye maruz kalanlarda da kansere yakalanma riski olduğu rapor edilmiştir [Hardell., 1981].

Sucul Canlılar Üzerinde Yapılan Toksikite Çalışmaları

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 sulara yaşayan balık ve midyelerde 0,01 ppm–1,00 ppm 2,4-D saptandığı belirtilmiştir [Schultz ve ark., 1974]. Diğer bir çalışmada yakın çevrede 2,4-D kullanılmasıyla ilişkili olarak yüzey sularında 2,4-D maddesine rastlandığı rapor edilmiştir [Osman ve ark., 1963]. *Lepomis macrochirus* (mavi solungaç) ve *Mola mola* (pervane balığı) ile yapılan çalışmada LD50 dozu 263 mg/l'dir. *Oncorhynchus mykiss* (gökkuşuğu alabalığı) ile yapılan çalışmada ise LD50 değeri 377 mg/l bulunmuştur. *Ostrea edulis* (istiridye) ve *Paeloris* (deniz tarağı) ile ilgili 2 ay boyunca süren çalışmada ise 3,8 ppm'lik değer bulunmuştur [Thomas ve ark., 1968].

Balıklarda 2,4-D isooktil ester için verilen LD50 dozu gökkuşuğu 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 herbisit kalıntıları bulunmuştur. Ayrıca sucul herbisitlerin kullanımıyla da, balıklar ve kabukluların 2,4-D'ye maruz kaldıkları gözlemlenmiştir [WHO., 1984]. Seçilmiş sekiz pestisit ile yapılmış bir çalışmada, bu pestisitlerin yılan balığı (*Anguilla anguilla*) üzerindeki karşılaştırmalı akut toksisiteyi incelenmiştir [Ferrando ve ark., 1991].

Ticari olarak satılan üç herbisit yine ticari değeri olan *Carassius auratus* ve *Oncorhynchus mykiss* balıkları üzerine toksik etkileri incelenmiştir [Anton ve ark., 1994]. Bir başka çalışmada radyoaktif işaretli olan 2,4-D ve glyphosate maddelerinin

Sazan (*C. carpio*) ve Tilapia (*T. 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].

Yaşlı lepişteslerde tiroid tümörleri incelenmiştir, oluşan etkiler not edilmiştir [Woodhead, 1979]. Böbrekler ile ilgili bir çalışmada 2,4-D maddesinin 96 saat akut dozu baz alınarak Kadife balığı (*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 olduğu gözlenmiştir [Gomez., ve ark., 1999].

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].

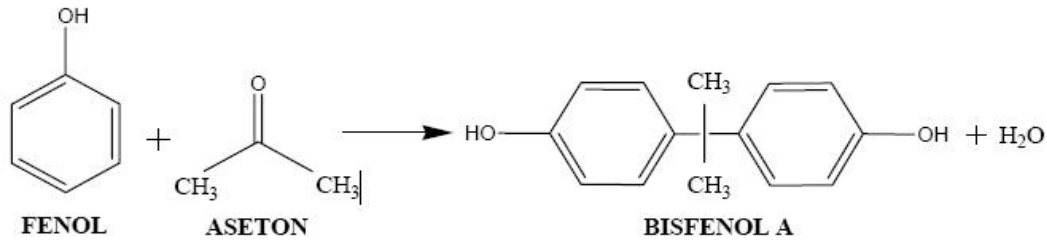
PCP ve 2,4-D toksik maddeleriyle yapılan bir testte *Channa punctatus*'un mikro nükleuslarının genotoksik değerlendirmesinde yüksek, düşük ve orta doz ve kontrol gruplarıyla yapılan çalışmada 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar göz önünde bulundurulmuştur [Farah, ve ark., 2003]. Yine benzer zamanlı bir başka çalışmada 2,4-D ve azinophosmethyl maddelerine maruz bırakılmış sazan balığının; karaciğerindeki marker enzimlerinin değerlendirilmesinde 48, 72 ve 96 saatlik periyotlar kullanılmıştır [Oruç ve ark., 2002].

Alexander et al. (1983), 2,4-D Ester ile *Daphnia* türleri üzerinde yaptığı akut toksik çalışmalarda LC50 değerlerinin çok düşük miktarlarda oldukça toksik olduğunu tespit etmiştir. Aynı zamanda 2,4-D amin tuzu ile hem kronik hem de akut deneyler yapmıştır. Yine McCarty (1977), *Daphnia* üzerinde 2,4-D ester ile yaptığı 48 saatlik akut toksisite çalışmasında 48 saatlik LC50 değerinin düşük miktarlarda yeterince toksik olduğunu tespit etmiştir.

2.3. Bisfenol-a (BPA)'nın Genel, Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

2,2-bis (4-hidroksifenil) propan, genel olarak Bisfenol A (BIS-A veya BPA) adı ile bilinmektedir. İki mol fenolün bir mol aseton ile düşük pH'da ve yüksek sıcaklıkta kondensasyonu ile elde edilmektedir. BPA'nın fenol ve asetonu, kondensasyonu Şekil 2.1'de verilmiştir. Genelde üretilen BPA %99-99.8 saflıkta olmaktadır [Prokop ve ark., 2004].

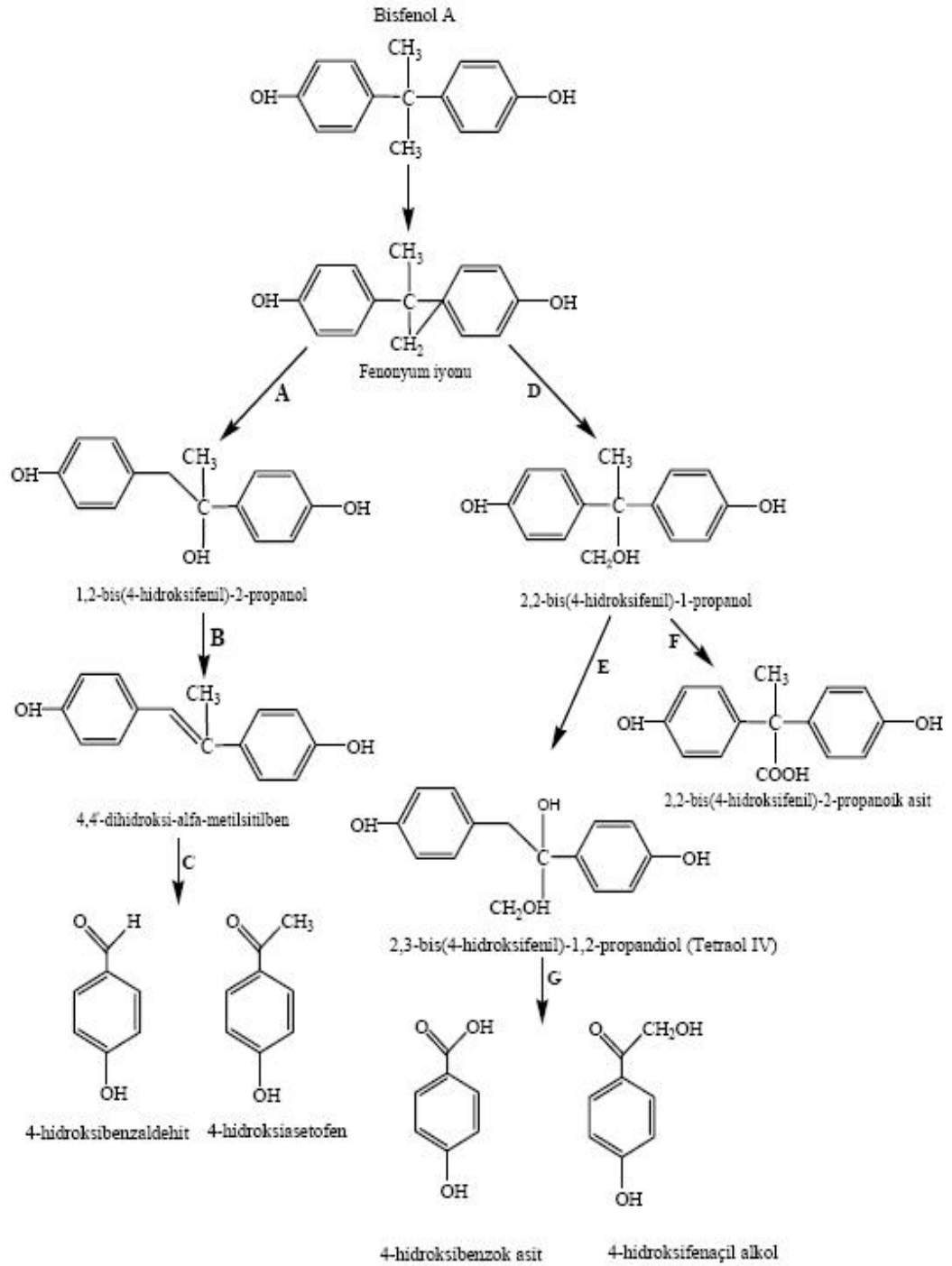
BPA katı, fenolik kokulu, krem-beyaz renkte, kristal yapıdadır. 25°C'deki yoğunluğu 1.1–1.2 gL⁻¹'dir. Etanol, aseton ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi çözücülerde iyi çözünmektedir. Sudaki çözünürlüğü 25°C'de 120 mg/l'dir [Johnson ve Harvey, 2002; Kosky ve Guggenheim, 1991].



Şekil 2.1. Bisphenol-A'nın fenol ve asetonu kondensasyonu

Çizelge 2.3. Bisfenol A'nın genel özellikleri [ECB, 2003]

Genel Özellikleri	
Genel adı	Bisfenol A
IUPAC adlandırması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Yapısal formülü	(CH ₃) ₂ C - (C ₆ H ₄ -OH) ₂
Moleküler ağırlığı	228.9 g/mol
Erime sıcaklığı	153–156°C
Kaynama sıcaklığı	220°C (0.5 kPa)
Alevlenme sıcaklığı	270°C
Uçuculuğu	193°C (1 atm basınçta)
Log Kow	3.32
Log Pow	3.32
Sudaki çözünürlüğü	(25°C) 120 mg/l



Şekil 2.2. Bisfenol a'nın biyodegradasyon mekanizması [Spivack ve ark., 1994].

(A) Bisfenol A hidroksilaz B, (B) 1,2-bis(4hidroksifenil)-2-propanol redüktaz, (C) 4,4'-dihidroksi-alfametil-stilben oksijenaz, (D) Bisfenol A hidroksilaz A, (E) 2,2-bis(4-hidroksifenil)-2-propanol hidroksilaz, (F) 2,2-bis(4-hidroksifenil)-2-propanol oksidaz, (G) 2,3-bis(4-hidroksifenil)-1,2-propandiol oksijenaz

BPA, endokrin yıkıcı bir kimyasal olup aynı zamanda karsinojen bir organik bileşendir. Çoğunlukla diyet yiyeceklerde ve plastikte bulunan bu maddenin erkeklerde düşük sayıda ve kalitesiz sperm üretimine, kadınlarda da göğüs kanserine yol açtığı bilinmektedir. Aynı zamanda polikarbonat'ın hammaddesidir. Polikarbonatlar; şeffaf, parlak, kolay kolay kırılmaz, ışık geçirgenliği cama yakın, ısı ve yük altındaki deformasyonu düşük bir malzemedir, plastik ve PVC üretim sanayinde kullanılmaktadır [Gülnaz, 2006].

Bu maddenin sanayide kullanılması sonucunda, atıklarının bırakılmasıyla nedeniyle; kanalizasyonlara, topraktan emilim ile yeraltı sularına karışarak sucul sistemlere girmesi kaçınılmazdır. Tatlısu ekosistemlerinin önemi ise küresel iklim değişimine bağlı olarak her geçen gün daha da artmaktadır.

BPA'nın çevresel konsantrasyonu hakkında yapılan çalışmalarda yüzey sularında BPA konsantrasyonlarının farklılıklar gösterdiği belirtilmektedir. Çevredeki konsantrasyonu hakkında yapılan çalışmalarda, yüzey sularında BPA konsantrasyonlarının farklılıklar gösterdiği belirtilmektedir [Johnson, 2002].

Gülnaz (2006)'ın araştırmasında BPA'nın mikrobiyal fizyoloji üzerine etkisi, *Chlorella vulgaris* ve *Aeromonas hydrophyla* ile biyodegradasyonu, biyodegradasyondan sonra endokrin yıkıcı özelliğinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Sonuç olarak; BPA'nın östrojenik aktivitesinin, *Aeromonas hydrophyla* ve *Chlorella vulgaris* ile biyolojik muamele sonucunda azaldığını bulmuştur. Bu organizmalar atık su ve yüzey sularında bol bulunan organizmalardır.

Fujita (2002), BPA'nın *D.magna*'da mutajenik ve östrojenik aktiviteye karşı toksisitesini akut toksisite yönünden incelenmiştir. BPA'nın 48 saatlik EC50 10 mg/l olarak *D.magna* üzerinde orta derecede toksik olduğu tespit edilmiştir. Hiçbir mutajenite gözlenmezken zayıf derecedede olsa östrojenik aktivitesi olduğu gözlemlenmiştir.

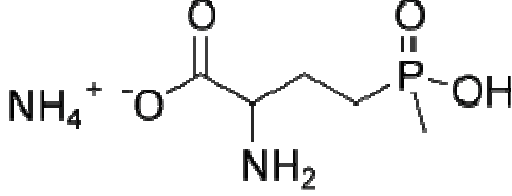
Rider ve ark., (2005), BPA'nın *D. magna*'da endokrin mekanizmasına etki edip etmediğini çalışmıştır. BPA ya maruz kalan *D. magna*'larda embriyonik gelişimin ve ergenlikten yumurtlama dönemine geçişin uzadığı ortaya çıkmıştır. Bunun sonucunda BPA'nın bariz bir EDC (endokrin bozucu kimyasal) olduğu, aynı zamanda da üreme üzerinde de etkisi olduğu gösterilmiştir.

Park ve Choi (2007), İnsan hela hücrelerinde *invivo* sistemi kullanılarak, çeşitli kirleticilerin genotoksik/sitotoksik etkileri tespit edilmiştir. Bu kirleticilerden BPA'nın hela hücrelerinde büyük oranda genotoksik ve sitotoksik bozukluğuna neden olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda BPA'nın *D.magna*'da genotoksik etkiye bakıldığında DNA zincirindeki kırılmaların dozlar çoğaldıkça arttığı, sonuçta onarılamaz hasarlar bıraktığı anlaşılmıştır.

Park ve Choi (2009), BPA ve nonifenol'a maruz bıraktıkları *D.magna*'da genotoksik etkileri araştırmışlardır. BPA'ya maruz bırakıldıklarında *D.magna*'ların DNA bütünlüğünün bozulduğunu ve negatif dizilimli DNA'lar oluştuğunu gözlemlemişlerdir. Bu türlerdeki hasarlı DNA diziliminin yararlı bilgiler sağlayacağı düşünülmektedir.

Ha ve Choi (2009), *D.magna*'nın hemoglobin (hb) gen ekspresyonuna çevre kirleticilerinden BPA'nın etkilerini araştırmışlardır. BPA'ya maruz kalan *D.magna*'nın hb gen ekspresyonunun arttığı, hatta nonifenol gibi diğer tehlikeli kimyasallara oranla 2 kat daha fazla etkili olduğunu göstermişlerdir. Hb gen ekspresyonundaki normalden kat kat daha fazla olan bu artış *D.magna* üremesinde bir azalma meydana getirdiğini açıklamışlardır. Aynı zamanda hb'deki bu değişim ekotoksitenin izlenmesi için biyolojik belirteç olabilir.

2.4. Fosfinotrisin(PPT)'in Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri



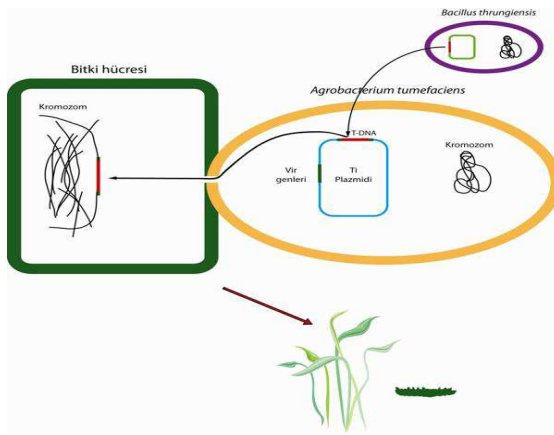
Fosfinotrisin, yada kısaca PPT [phosphinothricin; DL-homoalanin-4-yl (methyl) phosphinic acid] geniş spektrumlu, kontakt etkiye bulunan bir herbisittir. Tarım zararlısı bitkilere karşı, bitki öldürücü olarak geniş alanlarda kullanılmaktadır.

Streptomyces mantarlarının 2 türünden izole edilen doğal bir mikrobiyal toksin olan PPT'den "glufosinat amonyum" denilen bir amonyum tuzu elde edilir. PPT ismiyle özdeşleşmiş olan Glufosinat amonyum, fosfor ihtiva eden bir amino asit olup "glutamine sentetaz" enzimin aktivitesini inhibe eder (engeller). Bu enzim, amonyak detoksifikasyonu için ve "glutamin" amino asitinin üretimi için gereklidir. Glufosinat uygulanması, bitki dokularındaki amonyak seviyesini artırır ve glutamin miktarını azaltır. Böylece fotosentez durur ve bitki birkaç gün içinde ölür. Bu özelliği nedeniyle herbisit olarak kullanılmaktadır. [Çelik, 2002; Riley ve ark., 2001].

İnsanlar bir yandan tarım alanlarını sarabilen istenmedik yabani otlara karşı 'herbisitler' kullanmakta, öte yandan bu herbisitlerin yetiştirmek istedikleri bitkileri de etkilemesini önlemeye çalışmaktadırlar. Herbisitlere dayanıklı bitkilerin elde edilmesine yönelik çok değişik stratejiler geliştirilmiş olmasına rağmen, en fazla uygulama alanı bulunan yöntem herbisit toksik etkisini ortadan kaldıran bir genin, kültürü yapılan bitkilere aktarılmasıdır (biyoteknolojik yöntem). Örneğin, *bar* geninin *Streptomyces hygroscopicus* bakterilerinden izole edilerek (kopyalanarak) kültür bitkilerine aktarılması sonucunda geniş spektrumlu PPT herbisitine karşı tam dayanıklı çeşitler (GDO) geliştirilmiştir.

Bu bitkilerin üretiminin yapıldığı alanlarda böcek ve yabancı ot zararının engellenmesinden dolayı % 20 oranında bir verim artışı gözlemlenmektedir.

Adana'da Tarım ve Köy işleri Bakanlığı tarafından yapılan denemelerde böceklere dayanıklı (Bt) GD mısır çeşitlerinin üretilmesiyle 2. üründe verim geleneksel çeşitlerine göre % 30 daha fazla olmuştur. Aynı şekilde çok geniş alanlarda (7,6 milyon ha) GD pamuk üretimi yapan Hindistan'da böcek zararının en aza indirilmesi sonucunda verimde önemli artışlar olduğu bildirilmektedir. [Özcan, 2002].



Şekil 2.3. Biyoteknolojik yöntemlerle böceklere dayanıklılık genlerinin bitkilere aktarılması [www.tutev.org.tr]

PTT'nin potansiyel tehlikeleri:

Ancak, verim artışı sağladığı iddia edilen GDO'lu ürünlerin yaygınlaşması insanları yeni sorunlarla karşı karşıya getirmiştir. Çünkü, PPT kimyasalının genetik değiştirilmiş organizmaların ve bitkilerin (GDO) elde edilmesi işlemi sırasında kullanımı çok artmış ve bir “kimyasal atık” olarak (kanalizasyon atıklarıyla) ortama bol miktarda verilmeye başlanmıştır. Ayrıca buna ilave olarak, herbisit olarak da kullanımı devam ettiğinden, tarım alanlarından sulama ve yağmur sularıyla karışarak sucul sistemlerde birikmekte (toprak bakterileri tarafından sadece çok az miktarı metabolize edilebilmekte) ve birçok ekolojik soruna neden olmaktadır [OECD, 1994; RSPB, 1997; Riley, 2001].

Yakın zamanlara kadar, bazı kurumların yaptırdığı araştırmalar glufosinatın (PPT) “tüketiciler, kullanıcılar ve çevre için güvenli olduğu” “içme suyunu tehdit etmeyeceği” “insektisit gibi zararlı tarımsal girdilerin kullanım miktarını azaltacağı için tam tersine fayda sağlayacağı” yönündeydi [Behrendt ve Matthies, 1990; Watkins, 1995; Agrow, 1996]. Ancak ilerleyen yıllarda yapılan birçok bağımsız araştırma bulguları göstermektedir ki bu kimyasal madde bu kadar masum değildir ve hem çeşitli canlılar için hem de ekosistemler için potansiyel tehlikeler taşımaktadır.

Hayvan sinir hücrelerinde nörotoksik etkileri: Bitkilerde “glutamine sentetaz” enziminin çalışmasını durduran glufosinat, hayvanlarda da benzer enzimleri inhibe edebilir. Çünkü kimyasal yapısı, merkezi sinir sisteminin tipik uyarıcı (stimüle edici) maddelerinden biri olan “glutamata” çok benzer. Beyni yanıltarak, onun yerine geçer. Böylece beyindeki sinir hücreleri ölmeye başlar [Fujii, 1997].

Memelilerde, hem glufosinat hem de onun surfektantı (aktif yüzey bileşeni) olan AES (sodium polyoxyethylene alkylether sulphata, ki bu madde şampuan ve deterjanlarda geniş bir kullanım alanına sahiptir) sindirim sisteminde hızla absorbe edilir. Laboratuvar şartlarında deneye alınan hayvanlarda glufosinatın emilerek sinir sistemini etkilemesi ve bunun nörotoksisitik kanıtları gözlenmiştir [Cox, 1996].

İnsanda PPT’nin Akut ve Kronik Toksik Etkileri: Glufosinatın ‘Basta’ adlı ticari formülasyonunun çok fazla miktarda sindirim sistemine karışmasının insanlarda ölüme sebebiyet verdiği (Japonya’da Basta zehirlenmesi nedeniyle bir yılda 10–20 kurban) kaydedilmiştir. [MAFF., 1991]. İnsanlarda bu formülasyonun yüksek dozlarının sebep olduğu toksik etkiler olarak; merkezi sinir sistemi harabiyeti, bilinç bozukluğu, konvülsiyon (katılaşma), yüksek ateş ve solunum bozukluğu görülmüştür. Surfektanların da işe katılımıyla dolaşım bozukluğu sonucu ölüm olabilir [Koyama ve ark., 1994].

Sub-lethal dozlarda kullanımının, (in vitro ve in vivo ortamlarda) memeli embriyolarının gelişimlerinde anormalliklere neden olduğu [Watanabe, 1997; Watanabe ve ark., 1996] tesbit edilmiştir (teratojenik etki). Düşük dozlarda glufosinat yavru sıçanlarda merkezi sinir sistemi gelişimini etkileyen nörotoksik bir etki oluşturmuştur. Yavru sıçanlar 7 gün boyunca 1 mg/kg/gün şeklinde kimyasala maruz bırakıldıklarında beyinlerindeki glutamate reseptörlerinin cevapları değişime uğramıştır [Fujii ve ark., 1996]. Metaboliti olan MPPA-3'de, glufosinat gibi bir nörotoksindir [U.S. EPA., 1988].

Besinlerde kalıntı: Bir çalışmaya göre, özellikle hasad öncesi kurutucu olarak kullanıldığında besinlerde kalıntı oluşturduğu, en yüksek kalıntı seviyesinin kurutulmuş bezelye, fasulye, buğday, arpa, keten tohumu, patatesten bulunduğu, sütte metaboliti MPPA-3'ün bulunduğu belirlenmiştir [MAFF., 1991].

İçme suyunda kalıntı: Her ne kadar bazı araştırmalar (kurumsal), glufosinatın yer altı sularına ulaşmayacağını bildirirlerde, son yıllarda yenilenen çalışmalar sonucunda kimyasalın suda çözünürlüğünün çok yüksek olduğu, ekosistemlerde kalıcılığının fazla olduğu ve hareketli olduğu ve bazı şartlarda yer altı sularını kontamine ettiği tesbit edilmiştir [Pesticides Trust, 1997; MAFF., 1991] .

Toprak ve sudaki kalıcılığı: Glufosinat ammonium US EPA'ya göre “kalıcı” ve “hareketli”dir. Yıkımı genellikle mikrobiyal aktiviteyle olur. Yarılanma ömrü, bazı çalışmalar göre 3 ila 42 gün aralığında olup, bazı çalışmalara göre ise 70 güne kadar çıkmaktadır. En kısa yarılanma süresi balçık ve yüksek miktarda organik madde ihtiva eden topraklarda olmaktadır [İsmail ve ark., 1994] .

Toprak mikroorganizmalarına etkileri: Yine bazı araştırmalar topraktaki yaygın bakterilere bu kimyasalın zararlı olmadığını bildirmesine karşın [Watkins, 1995; Agrow, 1996], PPT doğal bir mikrobiyal toksin olup, topraktaki bakteri ve fungus popülasyonlarını belirgin şekilde azaltmaktadır [Bartsch ve ark., 1989; Quinn, 1993; Ahmet, 1995] .

Aquatik hayvanlar üzerindeki toksik etkileri: Aquatik canlılardan deniz tarağı ve istiridye larvaları, *Daphnia* ve bazı tatalısu balık türleri üzerinde toksik etkilidir. Örneğin, balıklar, 320–1000 mg/l arasındaki aktif maddeye tabi tutulduklarında, LC50 değerleri 12,3–79 mg/l arasında bulunmuştur [Cox, 1996].

Besleyici element döngüleri üzerindeki etkileri: PPT, nitrojen fikse eden toprak bakterilerine toksik olduğundan (örneğin *Rhizobium melilot* bu konuda çok hassasdır), nodulasyonu azaltır. Bu nedenle topraktaki nitrat miktarını da azalttığı tesbit edilmiştir [Kriete ve ark., 1996; Ahmet ve ark., 1995].

Ekosistem üzerindeki etkileri: Başka bir tehlike de PPT-dirençli ürünlerin yoğun ticareti nedeniyle, gelecek birkaç yıl içinde glufosinat kullanımının dramatik şekilde artacak olmasıdır. Bu ise yabani bitkilere ve tohumlara gen akışı sağlayarak “herbisid dirençli” ürünler oluşabilir ve herbisit kullanımında miktar ve yoğunluk artışına neden olabilir. Yine benzer nedenle tarım alanlarındaki GDO’lu türlerden, doğal ekosistemlerdeki yabani populasyonlara gen kaçışı gerçekleşebilir. Böylece, yabancı genetik materyal doğal bitki komünitelerinin yapısını etkileyebilir. Yoğun PPT’li herbisit kullanımı tarımsal alandaki biyoçeşitliliğini azaltabilir [OECD, 1994; Gray, 1998; RSPB, 1997; Riley, 2001].

2.5. Su Piresi (*Daphnia magna*)

2.5.1. *Daphnia magna*’nın taksonomisi

Alem:	Animalia
Şube:	Arthropoda
Alt Şube:	Crustacea
Sınıf:	Branchiopoda
Takım:	Cladocera
Familya:	Daphniidae
Tür:	<i>Daphnia magna</i> (otto Fredrich Müler, 1785), [Straus., 1820]

2.5.2. *Daphnia magna*'nın biyolojisi ve yetiştirilme ortamı

Su içerisindeki zıplama benzeri hareketi nedeniyle “su piresi” olarak bilinen *Daphnia magna* bir tatlı su kabuklusu (Crustacea) olup, ıstakoz ve karideslerin saydam ve cüce akrabalarıdır. Latince isimleri *Daphnia* (Defne) olan bu hayvanların boyları 1 ila 5 mm arasında değişir. Su pireleri aslında çevrede sıkça rastlanan bir tür olup, dünyanın her tarafında, havuzlardan büyük göllere kadar her türlü su birikintisinde yaşarlar, mikroskobik havyan ve yosunları yiyerek beslenirler [Somel ve ark., 2011].

Bu familyanın en önemli üyelerinden olan ve vücutları protein ve esansiyel yağ asitleri bakımından zengin olan *D. magna* doğal ortamlarda tatlı su balıklarının en önemli besin kaynağını oluşturur (%95 oranında). Üstelik balık yetiştiricileri tarafından da canlı besin kaynağı olarak da kullanılmaktadır. Pek çok akvaryum balığı türüne canlı besin olarak *D. magna* verildiğinde çok iyi sonuçlar alındığı bilinmektedir. Özellikle *Cyprinidae*, *Esoxidae*, *Percidae* familyaları larva dönemini izleyen aktif yavru dönemlerinde canlı yeme gereksinim duymaktadırlar [Cirik ve Gökpınar, 1993].

D. magna organik maddelerin dekompoze olduğu su birikintilerinde, havuzlarda, göletlerde ve bataklık bölgelerde çok yüksek konsantrasyonlarda oluşabilir. Özellikle belli periyotlarda büyüme koşullarının optimale döndüğü geçici sularda bol olarak bulunur [Cirik ve Gökpınar, 1993].

Hem bitkisel hem de hayvansal detritus, *Daphnia*'nın üreme ve büyüme hızını artırıcı rol oynar. *Daphnia* sp. besin değeri yaşına ve besin tipine göre değişir. Ancak ortalama olarak kuru ağırlığının %50'sini protein oluşturur. Ergin bireylerin içerdiği yağ miktarı juvenillerdeki yağ miktarından daha yüksektir [Cirik ve Gökpınar, 1993].

D. magna besin olarak bakteri, maya, mikroalg (tek hücreli alg ve 2–3 hücreden oluşan mavi-yeşil alg kolonileri), göllerin dibini zenginleştiren ayrışmış maddeleri, çözünmüş organik materyalleri kullanırlar. Bu nedenle *D. magna* populasyonları

bakteri ve maya hücreleri veya mikro alg hücrelerinin yeterli olduğu ortamda büyük bir hızla büyür [Dewey and Parker, 1964].

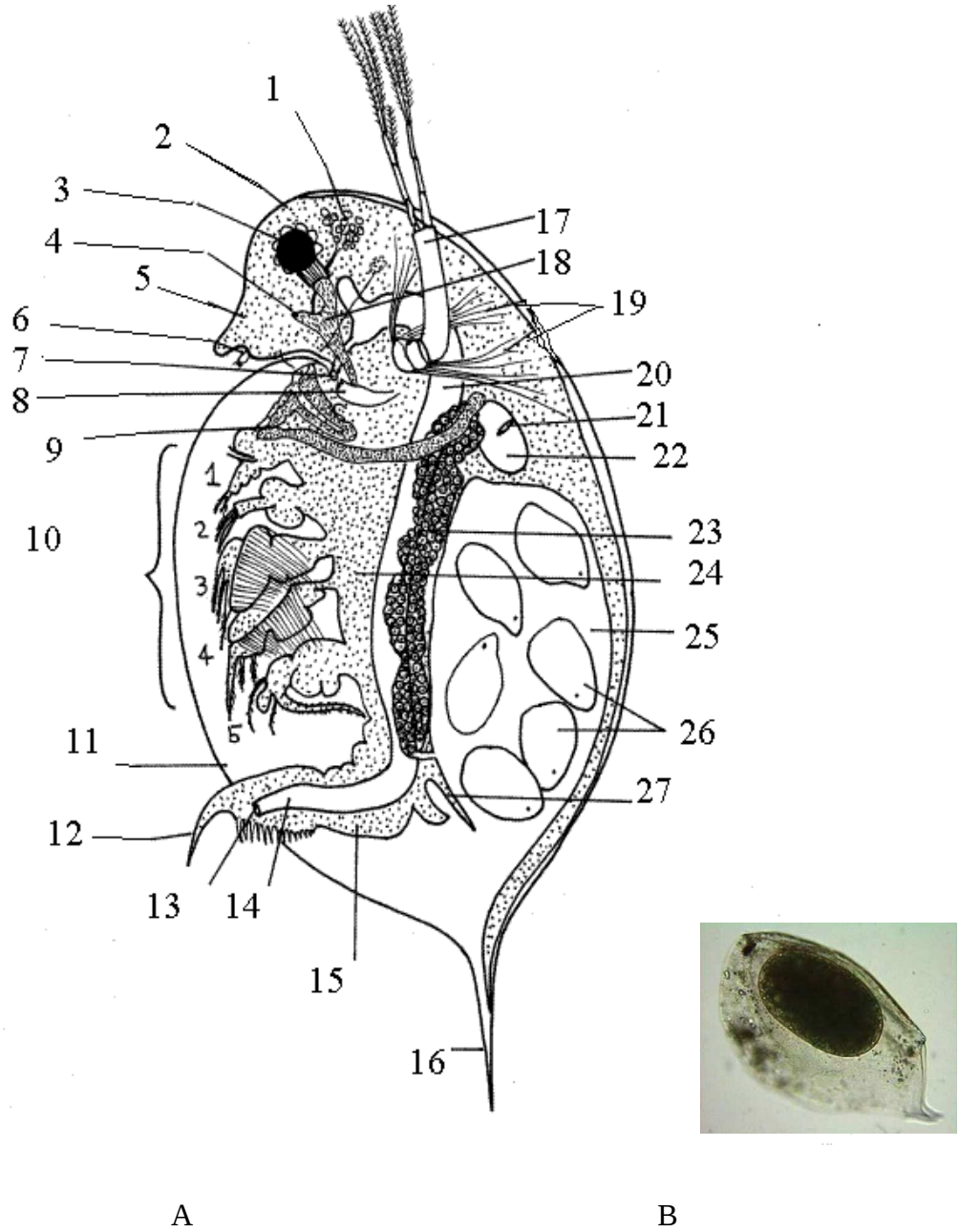
Gürbüz ve Önalın (1996), *D. magna* üzerine farklı kültür ortamlarının etkilerini incelemiştir. Denemesinde 6 farklı besin ortamı kullanmıştır. Deneme süresince sıcaklık 18 – 22 °C olarak ölçülmüştür. 21 günlük deneme sonunda ortamlar arasında en fazla artış ortalama % 42,866 ile fitoplankton karışımı, balık gübresi ve alabalık larva yeminden oluşan ortamda görülmüştür.

Çiltas (1994), *D. magna*'nın yaşama oranı ve süresi üzerine ışık, sıcaklık ve buna bağlı olarak oksijen miktarının çok önemli etkiye sahip olduklarını bildirmiştir. *D. magna*'lar günlük ve yıllık sıcaklık değişimlerine karşı oldukça toleranslıdır. En uygun gelişme sıcaklıkları 18 – 20 °C veya 20 – 24°C'dir [Bircan ve Aras, 1992]. Su piresi ile ilgili yapılan bir çalışmada su sıcaklığının 13°C olduğu bir ortamda üremenin düşük olduğu, 25°C sıcaklıkta verimin düşük aynı zamanda ölüm oranının yüksek olduğu, su sıcaklığının 19°C olduğu ortamlarda üremenin optimum düzeye ulaştığı bulunmuştur [Çiltas, 1994].

D. magna'nın 18 – 22 °C'de 16 saat ışık ve 8 saat karanlıkta, pH 6–8,0 ve organik madde miktarı 15–40 mg O₂/l değerinde olan tatlı su ortamında üretiminin çok rahat yapıldığı belirtilmektedir [Bircan ve Aras, 1992].

2.5.3. *D. magna*'nın morfoloji ve fizyolojisi

Daphnia magna genellikle tatlı sularda yaşayan 0,2 – 3 mm boyunda olan küçük ve ilkel Crustaceae' lerdir. Alpbaz ve ark. (1992), su pirelerinin vücutları baş dışında kalmak üzere bir kabuk (karapaks) ile örtülüdür. Kitin bölge arkaya doğru uzanır ve ventralden (karın kısmından) vücudun kalan kısmını örter. Kabuk sırt tarafında midye kabuğu gibi birleşmiş, karın kısmında ise açıktır. Arka kısmında genellikle mevsime göre uzayıp kısalabilen kuyruk şeklinde ve üzeri dişli bir çıkıntı (spin) vardır (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. *Daphnia magna*'nın (Cladocera) a) genel yapısı b) epifium

1. nükal organ, 2. baş, 3. bileşik göz, 4. nauplius göz, 5. rostrum, 6. maksillar bez, 7. ağız, 8. mandibul, 9. dış anten, 10. toraks bacakları, 11. karapaks, 12. postabdominal tırnak, 13. anüs, 14. rektum, 15. abdomen (karın), 16. kaudal spin, 17. ikincil anten, 18. beyin, 19. anten uzantıları, 20. bağırsak, 21. ostiyum, 22. kalp, 23. ovaryum, 24. toraks, 25. kuluçka kesesi, 26. embriyo, 27. abdominal çıkıntı [www.webs.lander.edu].

Daphnia sp.'nin vücudu 5 extremiteli baş ve bir gövdeden oluşmuştur. Birinci çift seksüel dimorfizm gösteren çubuk şeklinde antenlerdir. İkinci çift esas olarak hareket organeli olan antenlerdir (Şekil 2.5). Kalan üç çift ise besin alma işleminde kullanılır [Cirik ve Gökpınar, 1993]. *Daphnia* sp. dış kabuğunu periyodik olarak değiştirir [Ivleva, 1969].

D. magna üreme seksüel ve aseksüel fazları içerir. Yüksek yoğunlukta bulundukları pek çok ortamda popülasyonu aseksüel üreme fazındaki dişilerin oluşturduğu gözlenmiştir. Optimal koşullarda *D. magna* her 2,5 – 3 günde bir yeni yumurtlama dönemine girdiği belirtilmektedir. Bir dişi yaşamı boyunca 25 yeni yumurtlama dönemine girebilmektedir [Ivleva, 1969] (Şekil 2.6)



Şekil 2.5. *Daphnia magna*'da anten yapısı



Şekil 2.6. *Daphnia magna*'da dişinin sistematik görünüşü

Alpbaz vd. (1992), *D. magna* genellikle parteogenetik yolla ürer. Dişi bireylerde orta bağırsağın iki yanında yer alan bir çift ovaryum bulunur. Yumurtalar vücudun dorsali ile karapaks arasındaki geniş boşlukta gelişirler (Şekil 2.7). Ovaryum içerisinde dörtlü gruplar oluştururlar. Bunlardan sadece bir tanesi verimli olur. Diğerleri gelişme için besin ortamı oluştururlar. Bu yumurtalara yaz yumurtası denir. Ufak ve ince kabukludurlar. Bu yumurtalar döllenmeden gelişir.



Şekil 2.7. Su piresinin (*D. magna*) sırtındaki yumurtaları [www.rsc.org].

Lavens and Sorgeloos (1996) yaptıkları çalışmalarda populasyon artışının bir sonucu olarak besin azlığı veya su sıcaklığının 20°C nin altına düştüğü durumlarda (çok uzun 20 saat ya da çok kısa 4 saat) ortamda erkek bireyler görülür. Bu erkekler bir veya iki gonopora sahiptir ki bu gonoporlar kopulasyon organı olarak görev alır. Çiftleşme sonucunda oluşan yumurtalar büyük ve etrafları koruyucu membran ile örtülüdür. Bu yumurtalara *epifium* adı verilir. Böyle bir yapı kötü ortam koşullarına karşı direnç sağlar. Ortam koşulları normale döndüğünde yumurtalarda partenogenetik yolla üreyen dişiler meydana gelir.

Daphnia'lar güçlü ikinci antenleriyle yüzerler. Hareketleri çoğunlukla düşey olarak inip çıkma şeklindedir. Pek azında düzenli bir yüzme vardır. Bazıları anten kollarıyla su filmine asılırlar. Su içinde her türlü hareketi sağlayan bu antenler, hayvan hızla aşağı doğru inerken yanlardan arkaya doğru uzanır. Yavaş yavaş yukarı çıktığında ise açılarak bir kavisle vücuda yaklaşır. Hayvan kendini yukarı çekmek için antenleri bir kürek gibi kullanır. Genel olarak yüzme tipi bu antenlerin büyüklüğüne,

uzunluğuna, seta sayısına ve anten kaslarının büyüklüğüne bağlıdır [Edmondson, 1995]

2.5.4. *D.magna*'nın sucul ekosistemler için ekolojik önemi

Göl, gölet ve havuzlarda yaşayabilen Cladoceranlar ve özellikle de *D. magna* başta olmak üzere *Daphnia* türleri besin zincirinde önemli bir bağlantı oluşturur: Balıklar *Daphnia* türleri üzerinden beslenir, onlar ise fitoplanktonlarla [Sarma ve ark., 2005]. Bu nedenle tatlısulardaki besin ağında, birincil üreticilerden daha yüksek trofik seviyelere enerji transferinde önemli bir rol oynarlar [Dodson and Frey, 2001; Dumont and Negrea, 2002].

Bu nedenle daphnidler, sadece yaşam sürelerine ait parametreleri anlamak için değil, aynı zamanda farklı besin, predasyon ve sıcaklık şartları altındaki durumları karşılaştırmak için de oldukça iyi bir 'model organizma' olarak hizmet ederler [Gliwicz, 2003].

Şu özellikler *Daphnia*'yı bir model organizma olarak çok uygun kılar:

- *Daphnia* türleri coğrafik olarak geniş bir dağılıma ve dünya ölçeğinde geniş bir yayılıma sahiptir. Bu nedenle dağılım (dispersal) ve filocoğrafya çalışmaları için ilginç bir canlıdır.
- Hızlı ve direk gelişimle ürerler (örneğin bir larval dönemleri yoktur). Bu nedenle kısa zamanda büyük populasyonlar oluşturulabilir ve bu populasyonlar çevresel değişimlere çok hızlı cevap verirler.
- Kùltürlerini yapmak kolaydır.
- Oldukça saydamdırlar, bu nedenle içteki organların işlevleri dışardan görünebilir, böylece morfolojik ve fizyolojik çalışmalar için genellikle uygun bir denektir.
- Gelişen yumurtalarını bir kuluçka kesesinde taşır; böylece yaşam döngüsünü ve populasyon dinamiği parametrelerini kolayca hesaplama fırsatı oluşur.

- Küçük (milimetrik boyda) olmalarına rağmen yine de ele gelir bir büyüklükleri (el ile çalışma imkanı) vardır. Böylece mikrokoz m ve mezokoz m deneyleri için uygundurlar.
- Çoğunlukla partenogenetik olarak ürerler. Uzun dönemli laboratuvar çalışmalarında klonları oluşturulabilir. Populasyon genetiği çalışmalarında, bu klonlarla seleksiyon birimleri çalışmaları yürütmek mümkündür.
- Döngüsel partenojendirler; örneğin bazı şartlar altında seksüel üreyebilirler. Seksüel üremenin ürünleri, dayanıklı bir efipium içinde sarmalanmış dormant (gelişimi bir süreliğine durmuş) yumurtalardır. Böylece, hem zor koşullara yıllarca dayanıklı, hem de iyi bir dağılım ajanı olarak fonksiyon görebilecek haldedirler. Tüm bunlar aseksüel ve seksüel üremenin neticelerini çalışmaya izin verir.
- Akuatik besin ağında merkezi bir pozisyonu işgal ederler (birincil üreticileri tüketerek ve predatörler tarafından tüketilerek); böylece, trofik seviyelerdeki etkileşimleri çalışmak mümkün olur. Birçok gölde, Daphnialar nicel olarak son derece önemlidirler ve “anahtar tür“ olarak rol oynarlar.
- Bu merkezi pozisyon, “bir besin ağı içindeki çoklu ilişkilere adaptasyonları” çalışma konusunda onları ideal denekler yapar.
- Çeşitli seviyelerdeki matematik modellemeler için uygundurlar; fizyolojileri, populasyon dinamikleri ve ekosistem etkileri çok iyi çalışılabilir.
- Fenotipik ve genotipik değişkenlikleri ve filogenileri çok iyi tanımlanmıştır. [Lampert, 2006].
- Güçlü otlama kapasitelerini kullanarak *Daphnia* bireyleri fitoplanktonlar üzerinde beslenerek, sadece su berraklığını arttırmakla kalmaz, aynı zamanda fitoplanktonların büyümelerini de kontrol altında tutarlar. [Schriver ve ark., 1995; Jeppesen ve ark., 1999; Scheffer, 1999]. Onların bu güçlü otlama kapasitesinin bir sonucu olarak, su berraklığı artar ve bu birçok sucul canlı çok önemli sığınaklar teşkil eden makrofitlerin (örneğin sazların) büyümesi için fırsat yaratır.
- *Daphnia* su berraklığının korunmasında çok önemli bir role sahiptir ve bu durum, göl ekosistemlerinin biyoçeşitliliğinin korunması sonucunu doğurur. [Edmondson and Litt, 1982]. Bu nedenle, *Daphnia* populasyonlarını etkileyebilecek faktörler, su berraklığı ve sucul çevredeki çeşitlilik üzerinde de direkt olarak etkili olacaktır.

Daphnia, tatlısu sistemlerinin “ekolojik risk değerlendirmesinde” yardımcı olabilecek bir “biyomarker” olarak kullanılabilir [Somel ve ark., 2011].

40 yıl boyunca parazitlerle birlikte evrim

Son yıllarda su pireleri kullanılarak yapılan en çarpıcı araştırmalardan biri, su pirelerinin ve onların içinde üreyen bir tür parazitin birlikte evrimlerini (eş-evrimlerini) belgeleyen bir çalışmadır [İnternet 4; www.nature.com]. Bu çalışmada araştırmacılar, bir gölün farklı yıllara ait katmanlarını kazarak, ‘uykuya yatmış’ (diyapoz) su piresi yumurtaları ve parazitler çıkartmış ve bunlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda, farklı dönemlere ait su pirelerinin, önceki ve sonraki dönemlere ait parazitlerden nasıl etkilendiğini incelemişlerdir.

Sonuçlar, su piresi popülasyonunda parazitlere karşı birkaç yıl içinde dahi direnç evrilebildiğini gösterdi. Örneğin 1980’e ait parazitler 1980 yılının pirelerini hasta ederken, 1982’nin su pirelerini etkileyememekteydi. Buna karşın parazitler de nesiller boyu evrilerek su pirelerini hasta edecek yeni özellikler geliştirmişlerdi. 39 yıllık bir kesitte parazit ile konağın ‘karşılıklı mücadelesi’ durmaksızın devam etmiştir [İnternet 5; www.evrimaliskanlari.org].

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deneme yeri

Bu çalışma Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Biyoloji Bölümü Limnoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

3.1.2. *D. magna*’ların üretiminde ve deneylerde kullanılan gereçler

- *D. magna* bireylerinden toksik maddenin her bir konsantrasyonu için 10 ila 20 arası birey kullanılmıştır
- Deneysel akvaryum (deneylerde kullanılan akvaryumların hacmi 10 ve 60 litredir).
- Deneysel beher (1 l, 500 ml ve 100 ml’lik)
- Işık mikroskobu.
- Leica - M Stereo Mikroskop - M216” ya bağlı “DFC280” fotoğraf makinesi
- Pastör pipet
- Mikro pipetler
- Karbonlu su filtresi
- pH ve Oksijen Ölçer
- Karıştırıcı – Evye

3.1.3. Deney ortamı

Deney ortamı OECD’nin “akut toksisite” deneyleri için istediği kriterlere uygun olarak hazırlanmıştır [OECD, 1984].



Şekil 3.1. Deney ortamı (ODTÜ limnoloji laboratuvarı)

Laboratuvar ortamının hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan *D. magna* örnekleri doğal yetiştirme ortamı olan Eymir gölünden izole edilip ODTÜ laboratuvarlarına getirilmiştir. Bu laboratuvarlarda *Daphnia* ve onları beslenmek için kullanılan alg kültürlerini yetiştirmek için, "Arçelik 4040S Inverter split klima" sistemi içeren iklim odası bulunmaktadır. Bu klima ile, sıcaklık 22 ± 1 ° C de stabilize edilmiştir. Ana aydınlatma sistemine bağlı olarak 8 saat karanlık 16 saat ışık aydınlatma koşullarının sağlanabildiği özel aydınlatma donanımları içermektedir.

Laboratuvar iklim koşulları sağlandıktan sonra *D. magna*'ların içerisinde yetiştirileceği su ortamı hazırlanmıştır. Bu su ortamı akvaryum içerisine çeşme suyundan filtrelerle süzülerek konmuştur. Sürekli olarak sudaki oksijen miktarını arttırmak ve hava akımını sağlamak amacıyla hava pompaları bu akvaryumlarda çalıştırılmıştır. *D. magna* kültür şartları ISO-6341 prosedürüne uygun olarak hazırlanmıştır [ISO, 1999].

Kültür ortamının hazırlanması

Getirilen *D. magna* bireyleri deneyin başlangıcından önce uygun laboratuvar koşulları sağlandıktan sonra akvaryum ve 11'lik beherler içerisinde (Şekil 3.2) beher başına yaklaşık 100 birey olacak şekilde 5 nesil boyunca üretimi yapılmıştır. Her yumurtlama döneminde yumurtalı bireyler ayrılarak yeni kültürler oluşturulmuş ve üretimi yapılmıştır. Düzenli olarak beher ve akvaryum temizliği yapılmış ve bireylere laboratuvar ortamında üretilmiş özel alg kültürleri ve vitamin verilmiştir.



Şekil 3.2. *Daphnia magna* üretimi yapılan beher ve akvaryumlar

Besin maddesinin hazırlanması

Daphnia kültürleri saf ve canlı *Scenedesmus obliquus* ile beslenmiştir. (Saf kültür: Göttingen Üniversitesi, Alg Kültür Merkezi). *S. obliquus* kültür ortamı hazırlanması için gerekli işlemler Çizelge 3.1 'de gösterilmiştir. Katı alg kültürleri kültür ortamı içine 15 g agar eklenerek hazırlanmıştır. Alg kültürleri özel aydınlatma sistemi ile 8 saat karanlık 16 saat ışık aydınlatma koşullarının sağlanabildiği, sıcaklığın $22 \pm 1^\circ \text{C}$ de stabilize edildiği iklim odasına yetiştirilmiştir.

Alg kültürleri çökmelerini engellemek amacıyla sürekli olarak manyetik karıştırıcı ile karıştırılan (Şekil 3.3) evye üzerinde konumlandırılmıştır.



Şekil 3.3. *Scenedesmus obliquus* kültürleri (ODTÜ-limnoloji laboratuvarları)

Çizelge 3.1. *Scenedesmus obliquus* kültür ortamının hazırlanması

Protoaz Pepton Ortamı		
940ml lik distile su içerisine, 1,0 g Protoaz pepton elenerek, aşağıdaki çözülmüş maddeler eklenerek karıştırılır.		
mL	Stock solution	g/400 mL Dh ₂ O
10	NaNO ₃	10,0
10	CaCl ₂ · 2H ₂ O	1,0
10	MgSO ₄ · 7H ₂ O	3,0
10	K ₂ HPO ₄	3,0
10	KH ₂ PO ₄	7,0
10	NaCl	1,0

S. obliquus besin kültürü hazırlandıktan sonra *Daphnia*'lar 1 l'lik beher başına her gün için 2 ml yeşil yem verilerek beslenmiştir. Aynı zamanda besine ek olarak haftada 1 kez olmak üzere 1 l'lik beher başına 2 ml sıvı B12 vitamini ve yine haftada 2 kez olmak üzere 70 gr mayanın 100 ml'lik suda çözülmesiyle hazırlanmış, 2 ml yaş maya çözeltisi verilmiştir. Verilen besin değerleri günlük takipler sonucunda hayvan davranışları, üreme ve hayvan devamlılığını en iyi şekilde arttıracak kendi belirlediğimiz miktarlardır.

3.1.4. Deney suyu

Deney suyu olarak 65 l'lik akvaryum içerisinde sürekli olarak hava pompasıyla havalandırılmış, 22 ± 1 °C laboratuvar sıcaklığında dinlendirilmiş, oksijen bakımından zengin, hem klor hem de mikro filtrelerden arıtılmış şehir suyu kullanılmıştır.

3.1.5. Oksijen, sıcaklık ve pH ölçümü

Biyodeney süresince bütün akvaryumlardaki suyun çözünmüş oksijen içeriği taşınabilir Wissenschaftlich Technische Werkstätten (WTW) marka oksijen ölçer ile ölçülmüştür. Biyodeney süresi laboratuvar sıcaklığı ölçülmüş ve “Arçelik 4040S Inverter split klima” ile sıcaklığın 22 ± 1 °C de olması sağlanmış, ayrıca zaman zaman civalı termometre ile de sıcaklık değerleri kontrol edilmiştir. Her bir akvaryumun pH değerini yerinde ölçmek için WTW marka 0,1 pH birimine duyarlı pH metre kullanılmıştır.

Sıcaklık, pH ve oksijen yoğunluğu hayvan üretimini etkilediği için değerler deney boyunca hayvanların en verimli üretim gerçekleştirdiği aralıklarda sabitlenmiştir. *D.manga* bireyleri pH ortamı asidik olan sularda yaşayamamaktadır. pH ne kadar nötre yakın ya da bazik ise üretim o derece artmıştır. Yaptığımız denemeler sonucunda en verimli sıcaklığın 22 ± 1 °C de pH'ın ise 7–9 arasında olduğu anlaşılmıştır.

Oksijen ölçümü yapıldığında oksijenin bolluğu yine üremeyi pozitif etkilemiştir. Oksijenin azalması ve karbondioksit oranının artması hayvan üremesini olumsuz etkilemiş yaptığımız gözlemler sonucunda ortamda epifiumların oluştuğu tespit edilmiştir. Bu yüzden oksijen oranı ölçülerek en verimli aralıkta tutulmuştur.

3.1.6. Toksik madde materyalleri ve stok çözeltilerin hazırlanması

Biyodeneyde toksik madde olarak 2,4-D ve türevleri ile PPT ve BİS-A maddelerinin kaynak araştırmaları sonucunda belirlenen ve ön akut çalışmaları yapılarak hesaplanan dozlarını kullanmak için her birinden ayrı ayrı stok çözeltiler oluşturulmuştur. Stok çözeltileri hazırlamak için çözücü olarak alkol (% 50' lik), su ve aseton kullanılmıştır. Çözücünün kullanılmadığı deneylerden toksik maddeler suda çözünmüş ticari formülasyon halinde kullanılmıştır.

2,4-D'nin saf hali %50'lik alkolde çözünerek, 2,4-D ester için Ester'H 480 gr/l ve 2,4-D amin için Hektafermin 500 gr/l olan, suda çözünmüş ticari formülasyonları kullanılmıştır. PPT'nin saf hali suda ve BPA'nın saf hali ise asetonunda çözülerek kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. *Daphnia magna*'nın deneye hazırlanması

Deney süresince OECD'in *Daphnia sp.* için uygun bulduğu kriterlere uyulmuştur ve bu deneylerde "statik akut deney" yöntemi uygulanmıştır [OECD Guideline For Testing of Chemicals, 1984].

Deneyde kullanılan *D. magna* deneye başlamadan önce havalandırılmış, dinlendirilmiş ve kloru giderilmiş şehir suyu bulunan 10 l'lik akvaryumlara ve 1 l'lik beherlere konulmuştur. Populasyon yoğunluğuda üremeyi etkilediğinden deney hayvanlarının sayısı en verimli üremenin olacağı, yoğunluğun uygun olduğu koşullar günlük takipler sonucu gözlemlenerek tarafımızdan belirlenmiştir. 1 l'lik beher başına en fazla 100 hayvan konularak, 5 nesil boyunca laboratuvar ortamına uyum sağlaması için partenogenezis ile üretimi gerçekleştirilerek bir alışma dönemine tabi tutulmuştur. Bu dönemde *D. magna*'lara laboratuvar ortamında üretilmiş *S. obliquus* beher başına belli miktarlarda verilerek beslenmiştir.

Deneyin başlangıcından önce yumurtalı bireyler ayrı beherlere alınmış, deneylerde en fazla 24 saatlik yavru bireyler (neonat) kullanılmıştır. Deney boyunca besin verilmemiştir. Deneye başlama tarihinden önceki 1 hafta içinde hayvanların hastalanma ya da ölüm oranının %5'ten fazla olmamasına dikkat edilmiştir. Ölüm oranının biraz artması çalışılan en küçük toksik dozda problem yaratabileceğinden kabul görebilecek en uygun oran seçilmiştir [Moriarity, 1988]. Deneylerde kullanılan her bir kimyasal madde için ayrı ayrı deney konsantrasyonları oluşturulmuştur.

3.2.2. Herbisit ve kimyasal madde konsantrasyonu

Hem literatürden hem de kendi yaptığımız ön denemelerden faydalanılarak toksik madde konsantrasyonu belirlenmiştir. Akut deney standartlarına uyularak, 100 ml'lik deneylere uygun beherlerde 25 ml'lik deney suyu kullanılmış ve her bir beher başına önceden hazırlanmış olan stok çözeltilerden, gerekli olan toksik madde konsantrasyonu makro ve mikro pipetler kullanılarak deney kurulmuştur. Her bir konsantrasyon 25 ml'lik deney çözeltisi için hazırlanmıştır. Deneyler boyunca kimyasal maddelerin her bir konsantrasyonu için ayrı ayrı 5 adet, içerisinde 25 ml'lik deney çözeltisi bulunan 100 ml'lik beherler kullanılmıştır.

Çalışmalarımızda kontrol grupları ile birlikte 2,4-D, 2,4-D Ester ve 2,4-D Amin ile BPA ve PPT grupları planlanmıştır. Deney gruplarında 24, 48, 72 saatlik periyotlarda kimyasala maruz kaldıktan sonra her 24 saatte bir yapılan gözlemde ölü bireylerin sayımı yapılarak, 48 ve 72 saat süreler sonunda deney sonlandırılmış ve hayatta kalanlarla ölen bireylerin sayısı tespit edilmiştir.

3.2.3. Deney hayvanlarının sayısı

Akut deneylerde kullanılan beherler, her biri içerisinde 25 ml'lik deney solüsyonu bulunan 100 ml lik deney beherleridir. Her bir madde konsantrasyonu için ayrı ayrı 5 adet beher kullanılığundan, toplam doz miktarına bağlı olarak deney başına 25 ila 35 adet 100 ml'lik deney beherleri kullanılmıştır. Kimyasal maddelerin her bir

konsantrasyonu için her bir beher içerisinde beher başına 5 hayvan konularak 4 ila 5 tekerrürlü olarak deneyler yürütülmüştür. Deneyler boyunca toplam 250 – 750 arası deney hayvanı kullanılmıştır [Anonymous, 1971].

3.2.4. Kontrol grubu

Biyodeneylerde deneyin yapıldığı şekil ve şartlarla birlikte yürütülen kontrol deneyi yapılmıştır. Kontrol grubunda *D. magna* bireyleri aynı şartlar sağlanarak 100 ml'lik beherlerde 25 ml'lik deney suyu içerisinde tutulmuş herhangi bir kimyasal madde ilave edilmemiştir. Denenen maddeleri çözmek için kullanılan alkol miktarıyla aynı miktarda alkol içeren kontrol grupları da kurulmuş, deney boyunca aynı şekilde devam ettirilmiştir. Biyodeney süresince kontrol grubunun ölüm oranlarının %5'i geçmemesine ve %95'inin sıhhatli görünümde olmasına özen gösterilmiştir [Anonymous, 1971].

3.2.5. Deney süresi ve gözlemler

Bütün deneyler *D. magna* bireylerinin hayatta kalmasına bağlı olarak 24 saat ile 72 saat arası sürmüştür. 72 saati geçen deneyler sonlandırılmıştır. Her deneyde 24 saatlik periyotlarla ölü bireyler sayılarak tespit edilmiştir.

3.2.6. Deney ortamının görüntülenmesi

Deneye başlamadan önce sağlıklı durumdaki *D. magna*'ları ve 2,4-D toksik maddesi verildikten sonra *D. magna*'nın durumundaki değişiklikleri görmek amacıyla "Leica M Stereo Mikroskop - M216" ya bağlı "DFC280 kamera sistemi" ile fotoğraflar çekilmiştir.



Şekil 3.4. *Daphnia magna*'nın 2,4-D ve türevleri verilmeden önceki hali



Şekil 3.5. *Daphnia magna*'da ilk 2,4-D verildikten sonraki durumu



Şekil 3.6. *Daphnia magna*'nın 2,4-D verildikten sonraki hali ve dokularında birikimi

3.2.7 EC50 tayini metodu

Bu çalışmada 2,4-D, 2,4-D Ester, 2,4-D Amin, BPA ve PPT'nin *D. magna* üzerindeki akut toksik etkisini tespit etmek için EC50 tayin metodu kullanılmıştır. EC50 tayini metodu ile belli bir zaman dilimi içerisinde toksik madde içeren bir ortamda bulunan canlıların %50'sinde denge kaybı, felç, anormallikler veya vücut bozuklukları gibi etki meydana getiren madde miktarı bulunmaya çalışılır [Anonim, 1999].

Hareketsizlik yüzdesi, her bir derişim olarak kullanılan *D. magna*'nın toplam sayısına bağlı olarak 24 saatlik deneyin sonunda hesaplanmıştır. Finney'in Probit Analizi Yöntemiyle 24 saatlik EC50 belirlenmiştir [Düzgüneş ve Düzgüneş, 1958]. Bu deneyde farklı derişimlerde hareketsizleşen *D.magna*'nın derişim aralığı % 10 ile % 90 arasında hareketsizlik meydana getiren en az 5 derişim olarak belirlendi.

Hareketsiz *D. magna*'ların sayılmasından sonra, tüm bireylerin hareketsiz olduğu en küçük derişimli çözelti bulunan deney kabında çözünmüş oksijen derişimi ölçülmüştür. Veriler, 24 h- EC50'yi hesaplamak için yetersiz olduğunda, %100 hareketsizliğe karşılık gelen en büyük derişim ve % 0 – 100 hareketsizliğe karşılık gelen en küçük derişim belirlenebilir.

4. DENEY SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Araştırma sonuçlarının değerlendirilmesi Finney'in Probit Analiz yöntemi kullanılarak yapılmıştır [Düzgüneş ve Düzgüneş, 1958].

Ayrıca 2,4-D, 2,4-D Ester, 2,4-D Amin tuzu, BPA ve PPT denemelerinden elde edilen bulgular Behrens Karber yöntemine göre de aşağıdaki formülle hesaplanmıştır [Klassen, 1991].

$$LD_{50} = LD_{100} - (\sum ab / n)$$

Çizelge 4.1. Behrens Karber yönteminin formülünün açıklaması

Formüldeki Simgeler	Açıklaması
LD100	Deney canlısını öldüren doz
LD50	Canlıların yarısını öldüren doz
A	Birbirini izleyen iki doz arasındaki fark
B	Birbirini izleyen iki dozdan ileri gelen ölümlerin aritmetik ortalaması
n	Her gruptaki canlının sayısını göstermektedir.

Behrens Karber yöntemiyle elde edilen kabaca sonuç, ince hesaplamalar gerektiren Finney'in Probit Analiz Yöntemi sonucu bulunan değerler ile karşılaştırılmıştır.

5. BULGULAR

5.1. Biyodeneye Ait Sonuçlar

Akut toksisite metodu ile aynı türden deney organizmalarına deney maddesinin verilerek veya değişik konsantrasyonlardaki deney maddesi ortamına belirli bir süre maruz bırakılarak deney maddesinin etkisi tespit edilir.

Zehirlilik parametresi, su kirliliği çalışmalarında kullanılması gereken en önemli parametrelerin başında gelmektedir. Bu parametre ile genel anlamda sulardaki biyotanın yaşam süreçlerini engelleyen ya da tümü ile ortadan kaldıran kirletici unsurların, etki derecelerinin gösterge niteliğinde bir ölçüm yöntemi kullanmak suretiyle ortaya konması amaçlanmaktadır [Kahvecioğlu ve ark., 2006].

2,4-D, 2,4-D Ester, 2,4-D Amin tuzu, BPA ve PPT'nin 24 saatlik EC50 değerleri, probit analiz metodu kullanılarak statik biyodeney sistemi uygulanarak, yaşı 24 saatten küçük *D. magna* bireyleri üzerinde sırasıyla 2,4-D için; 462,3 mg/l, 2,4-D Ester için; 2,4 mg/l ve 2,4-D Amin için; 199,3 mg/l bulunmuştur (Çizelge 5.3, Çizelge 5.6, ve Çizelge 5.9). BPA için 6.68 mg/l, PPT için 65,78 mg/l bulunmuştur (Çizelge 5.12, Çizelge 5.15). EC50 değerinin aynı zamanda Behrens-Karber yöntemi de kullanılarak kabaca karşılaştırılması yapılmıştır.

Kontrol grubundaki su pireleriyle, değişik 2,4-D ve türevlerinin konsantrasyonlarına maruz kalanlar arasındaki değişimler yani hareketsizlik durumları deney süresince karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, 2,4-D ve türevlerinin kaynaklara bakıldığında ayrı ayrı deney organizmalarına yüksek miktarda toksik olduğunu göstermektedir.

Deneme süresince kontrol grubunda hiç ölüm olmamıştır, normal hareketlerine devam etmişlerdir. Verilen yüksek konsantrasyonlarda ani ölümler, irkilmeler olmuştur, deney kaplarında bir yandan bir yana ani kaçmalar gözlenmiştir; yavaş yavaş dozların konsantrasyonu azaldıkça bu belirtiler daha da kuvvetlenmiştir.

Sonunda ölenlerin hepsine tek tek bakıldığında karapaks kısımlarında aşınmalar olduğu, özellikle de yüksek konsantrasyonlarına maruz kalanlarda ise parçalanmalar olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 5.1. *D. magna*’da denemelerden önce deney suyundaki (kontrol grubundaki bireylerin) sıcaklık, ec, ph ve oksijen değerleri

Kullanılan Beher Sayısı	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	EC (Elektriksel İletkenlik) ms/cm	Oksijen (g/l)	pH
1	21	0,8	7,2	8,4
2	21	0,8	7,2	8,4

Deney sonunda 24 saatlik periyotlarla yapılan denemelerde, oksijen derişimi 6 mg/l altına düşmemiştir.

Asıl deneye başlamadan önce standartlarda belirtilen aşamalardan birincisi ön akut deney kısmıdır. Her bir kimyasal madde için ayrı ayrı ön akut denemeler gerçekleştirilmiştir. Ön akut deney kısmında 2,4-D için 30 mg/l’lik, BPA için 10 mg/l’lik PPT için ise 4 mg/l’lik stok çözeltiler hazırlanmıştır. 2,4-D Ester ve 2,4-D Amin için, suda çözünmüş hazır ticari formülasyonlar, kullanılmıştır. Sonuçta canlı hayvan sayısı 20 olarak belirlenmiş, çeşitli konsantrasyonlar seçildikten sonra her biri için ayrı ayrı denemeler yapılmıştır.

Yapılan denemeler sonucunda ölümün en az %10 en fazla %100 olan konsantrasyonlar seçildikten sonra, aralarında kalacak şekilde en az 3 tane daha ara konsantrasyon belirlenerek, 10’ar adet hayvan kullanılarak, asıl belirleyici akut deneylere başlanmıştır.

2,4-D (2,4-Diklorofenoksi asetik asit) için;

Akut deney kısmında; 2,4-D saf hali etil alkolde bir miktar çözüldükten sonra 30 mg/l’lik stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlandıktan sonra literatür taraması yapılarak ölüm oranının %0 ile %100 olduğu dozlar temel alınarak 5 ara

konsantrasyon daha seçilmiş toplam 7 dozla, canlı sayısı 10'ar adet belirlenerek deneye başlanmıştır. Kullanılan dozlar; 50 mg/l, 100 mg/l, 250 mg/l, 375 mg/l, 500 mg/l, 625 mg/l ve 750 mg/l dir (Çizelge 5.2).

Daha sonra probit analiz yöntemi kullanılarak 2,4-D'nin *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi tespit edilmiş (Çizelge 5.3), ayrıca sonuçlar Şekil 5.1'de görüldüğü üzere grafiklendirilmiştir. Sonuç olarak EC50 değeri; 462,3 mg/l (346,36–636,42) bulunmuştur.

Çizelge 5.2. 2,4-D'nin farklı konsantrasyonlarında, *D. magna* bireylerindeki 24 saat içerisindeki ölüm oranları arasındaki ilişkileri

Konsantrasyon (mg/l)	Canlı Birey Sayısı	Ölen Birey Sayısı	% Ölüm Oranı
Saf Su	10	0	%0
%2'lik ETOH	10	0	%0
%50'lik ETOH	10	0	%0
50	10	0	%0
100	9	1	%10
250	9	1	%10
375	7	3	%30
500	7	3	%30
625	3	7	%70
750	0	10	%100

Çizelge 5.3. 2,4-D'nin *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi

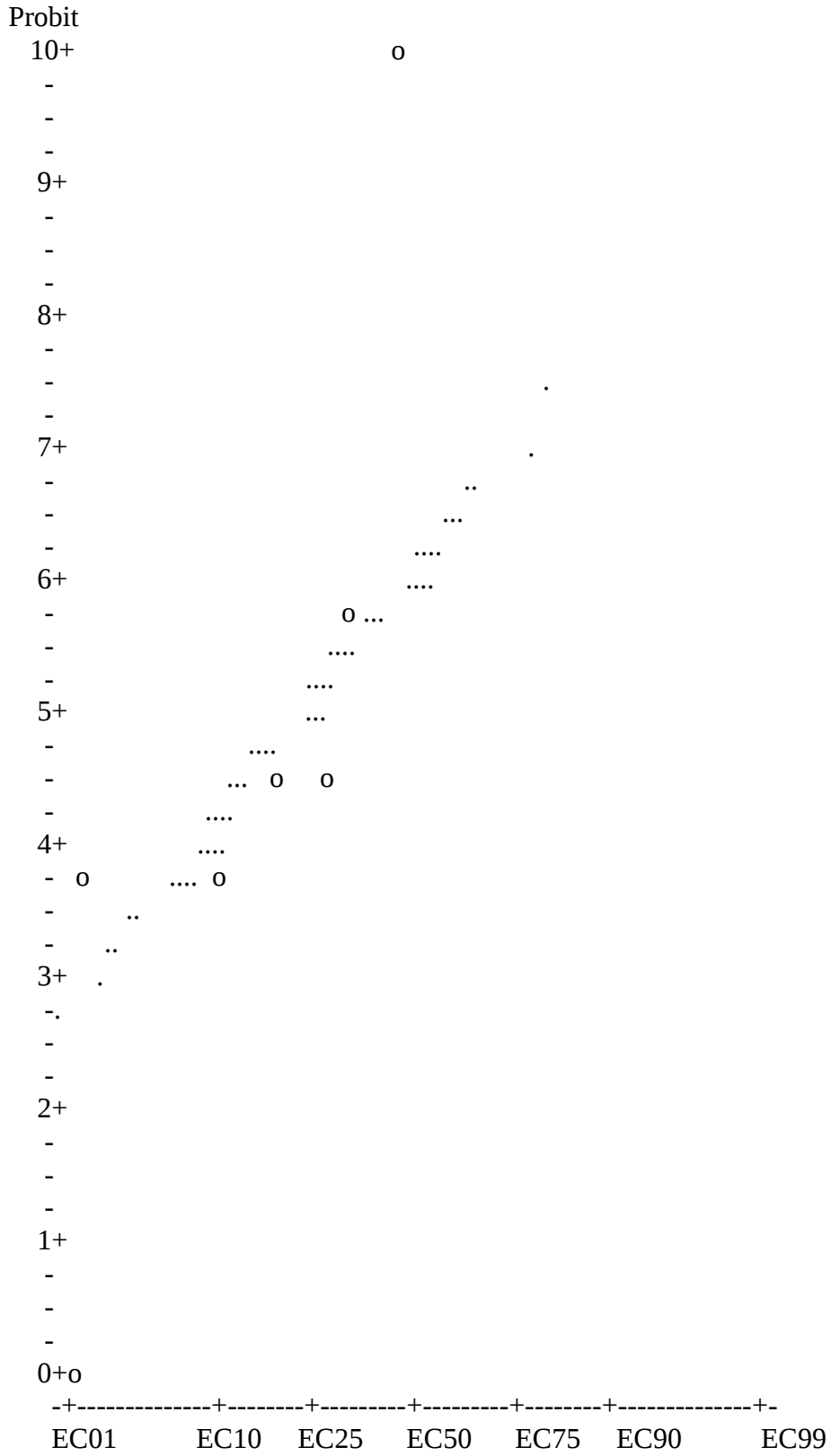
Nokta	Konsantasyon (mg/l)	%95 Güven sınırları	Eğim-SH	Intersept-SH
EC1,00	88,170	13,17-160,89	2,033 3,233-0,883	2,98 3,62-2,35
EC5,00	143,249	36,86-224,06		
EC10,00	185,553	63,42-268,99		
EC15,00	220,960	91,012-305,813		
EC50,00	462,269	346,36-636,42		
EC85,00	967,108	685,054-2548,36		
EC90,00	1151,649	777,16-3665,22		
EC95,00	1491,752	931,31-6317,64		
EC99,00	2423,640	1295,05-17710,74		

Teorik Spontan Oranı:0,0000

EC50 değerinin tespitinde ayrıca Behrens-Karber Yöntemi de uygulanmıştır (Çizelge 5.4). Bu yöntemle göre yapılan hesaplama sonucu EC50 değeri 694,72 mg/l olarak bulunmuştur

Çizelge 5.4. Behrens- Karber Yönteminin 2,4-D için tabloda hesaplanmış hali

Kullanılan Dozlar(mg/l)	Ölü Sayısı	Birey A	b	a.b
50	0	50	0,5	25
100	1	150	1	150
250	1	125	2	250
375	3	125	3	375
500	3	125	5	625
625	7	125	8,5	1062,5
750	10			



Şekil 5.1 *D. magna* bireylerinde 2,4-D için hesaplanan probit değerleri ve regresyon grafiği

2,4-D Ester için;

Deney kısmında; 2,4-D Ester için hazır olarak alınan 480 gr/l'lik suda çözünmüş hazır ticari formülasyon kullanılmıştır. Ön deney kısmı için literatür taramasından onra belirlenen dozlardan ölümün en az ve en çok olduğu dozlar seçildikten sonra ilave olarak 4 ara doz daha seçilmiştir. Ön akut denemeler sonucunda 1 mg/l altındaki dozlarda, canlılar kontrol gruplarıyla karşılaştırıldıklarında hiçbir ölüm olmadığı görüldüğünden 1 mg/l nin altı dozlar asıl denemeye alınmamıştır. Bu yüzden en az ölüm oranı % 40 olarak kabul edilmiştir. Kullanılan dozlar; 1 mg/l, 2 mg/l, 3 mg/l, 5 mg/l, 8 mg/l ve 10 mg/l dir (Çizelge 5.5).

Probit analiz yöntemi kullanılarak 2,4-D Ester'in *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi tespit edildiğinde (Çizelge 5.6), EC50 değeri 2,4 mg/l (0,69–4,10) olarak bulunmuştur. Sonuçlar Şekil 5.2'de grafikte gösterilmiştir.

Çizelge 5.5. 2,4-D Ester'in farklı konsantrasyonlarında, *D.magna* bireylerindeki 24 saat içerisindeki ölüm oranları arasındaki ilişkileri

Konsantrasyon (mg/l)	Canlı Birey Sayısı	Ölen Birey Sayısı	% Ölüm Oranı
Saf Su	10	0	%0
1	6	4	%40
2	6	4	%40
3	5	5	%50
5	4	6	%60
8	3	7	%70
10	0	10	%100

Çizelge 5.6. 2,4-D Ester'in *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi

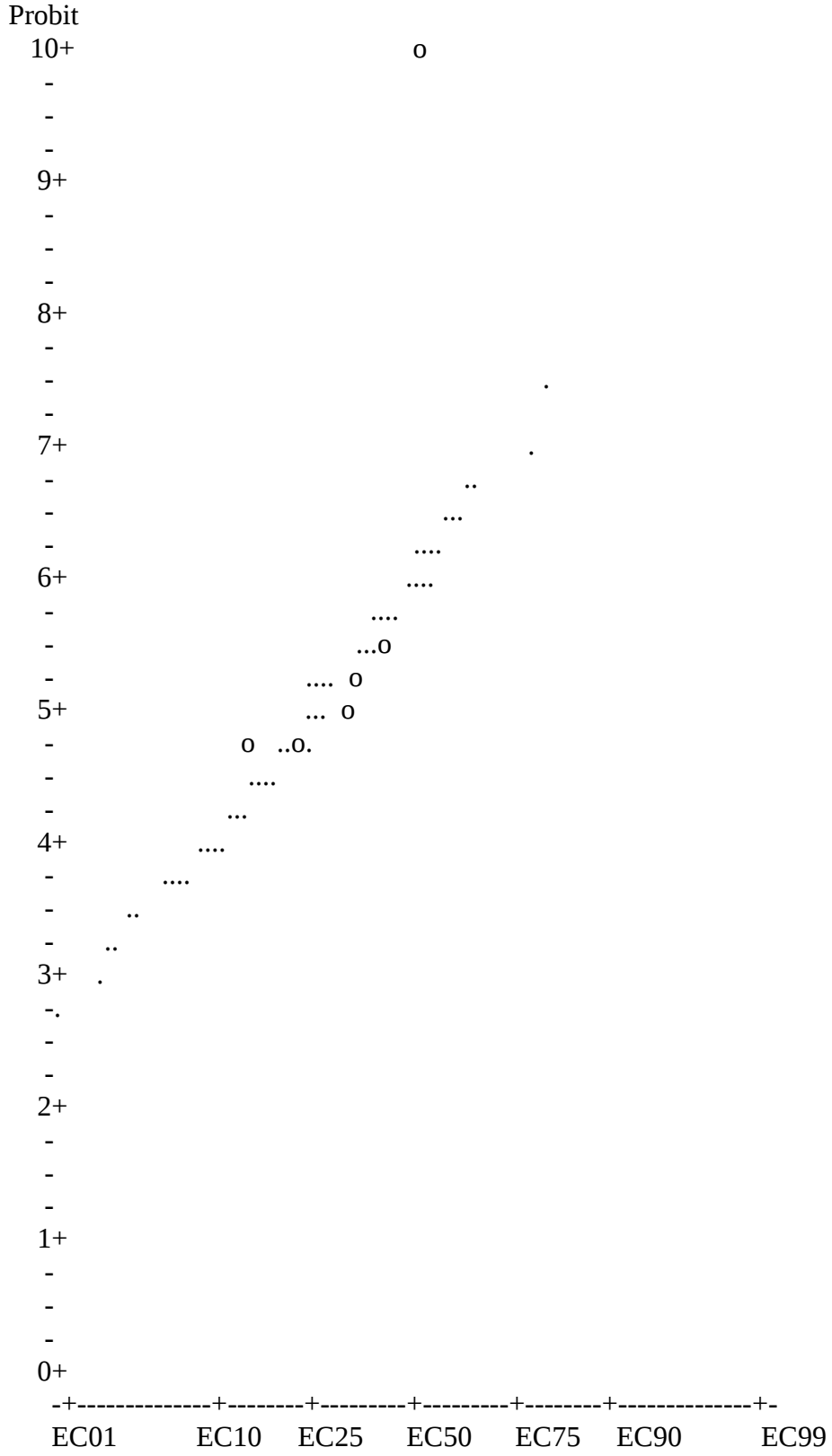
Nokta	Konsantasyon mg/l	%95 Güven sınırları	Eğim-SH	Intersept-SH
EC1,00	0,061	0,000-0,34	0,99 1,462-0,511	2,39 4,446-0,330
EC5,00	0,179	0,000-0,65		
EC10,00	0,318	0,002-0,92		
EC15,00	0,468	0,005-1,18		
EC50,00	2,394	0,69-4,10		
EC85,00	12,249	6,33-210,062		
EC90,00	18,023	8,25-690,480		
EC95,00	31,940	11,95-4113,12		
EC99,00	93,420	23,26-120237,8		

Teorik Spontan Oranı:0,0000

2,4-D Ester için EC50 değerlerinin tespitinde ayrıca “Behrens-Karber Yöntemi”de uygulanmış ve bu yöntemle göre elde edilmiş değerler Çizelge 5.7’de verilmiştir. Behrens-Karber yöntemi ile yapılan hesaplama sonucu EC50 değeri 7,7 mg/l olarak bulunmuştur.

Çizelge 5.7. Behrens-Karber Yönteminin 2,4-D Ester için tabloda hesaplanmış hali

Kullanılan Dozlar (mg/l)	Ölü Birey Sayısı	A	b	a.b
1	4	1	4	4
2	4	1	4,5	4,5
3	5	2	5,5	11
5	6	3	6,5	19,5
8	7	2	8,5	17
10	10			



Şekil 5.2. *D. magna* bireylerinde 2,4-D Ester için hesaplanan probit değerleri ve regresyon grafiği

2,4-D Amin Tuzu için;

2,4-D Amin tuzu için hazır olarak alınan 500 g/l'lik suda çözünmüş ticari formülasyon kullanılmıştır. Ön deneme sonucunda ölümün %10 ve %100 olan dozlarına ilaveten 4 ara doz daha seçilmiş, 10'ar hayvanla 24 saatlik asıl akut deneye başlanmıştır. Kullanılan dozlar; 50 mg/l, 75 mg/l, 150 mg/l, 250 mg/l, 350 mg/l ve 500 mg/l dir (Çizelge 5.8).

Probit analiz yöntemi kullanılarak 2,4-D Amin'in *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi belirlendiğinde (Çizelge 5.9), EC50 değeri 199,3 mg/l (146,94–266,095) olarak bulunmuş sonuçlar aynı zamanda Şekil 5.3'de grafikte gösterilmiştir.

Çizelge 5.8. 2,4-D Amin tuzunun farklı konsantrasyonlarında, *D.magna* bireylerindeki 24 saat içerisindeki ölüm oranları arasındaki ilişkileri

Konsantrasyon (mg/l)	Canlı Birey Sayısı	Ölen Birey Sayısı	% Ölüm Oranı
Saf Su	10	0	%0
50	9	1	%10
75	9	1	%10
150	9	1	%10
250	5	5	%50
350	1	9	%90
500	0	10	%100

Çizelge 5.9. 2,4-D Amin tuzu'nun *D.magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi

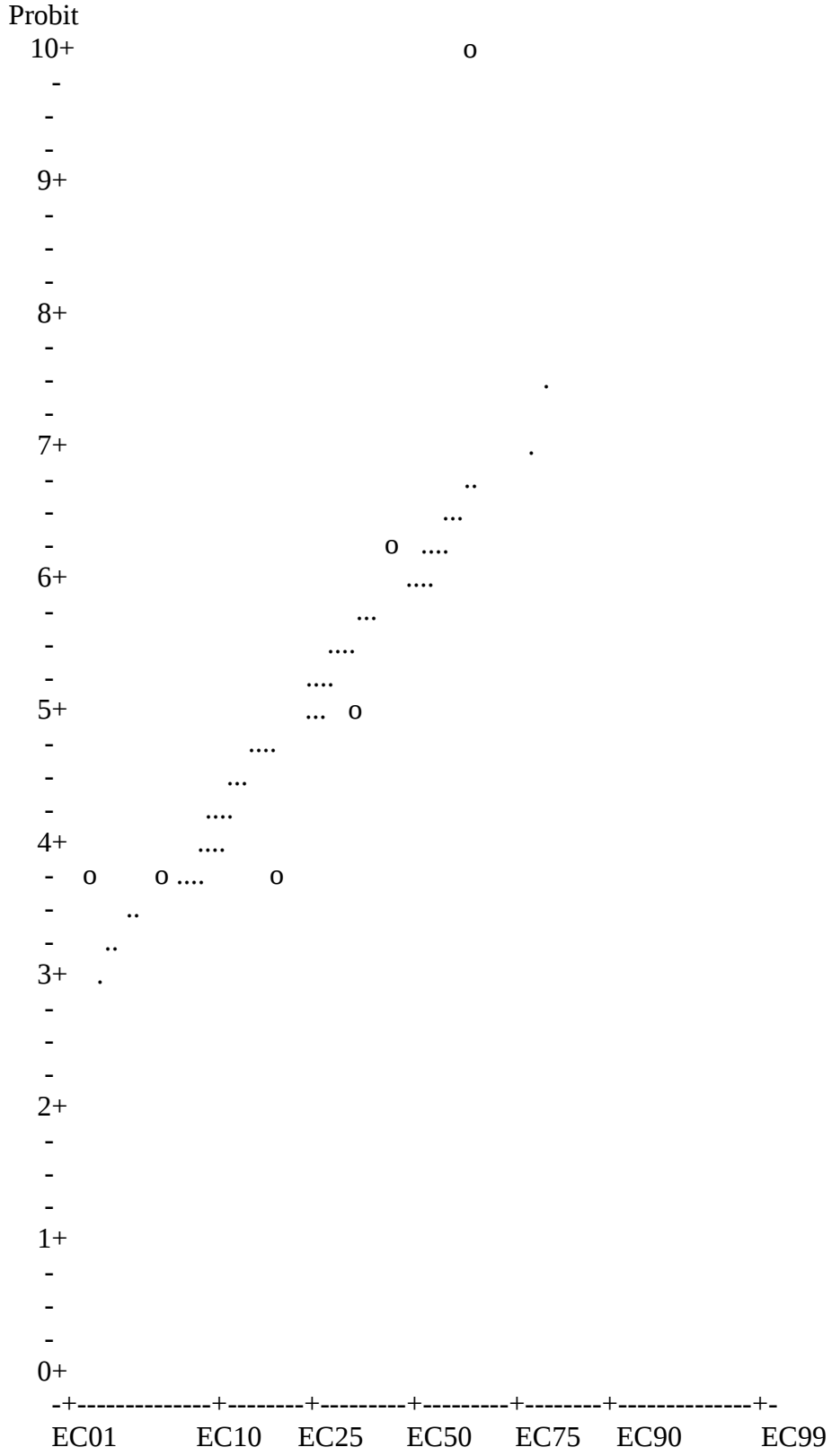
Nokta	Konsantrasyon (mg/l)	%95 Güven sınırları	Eğim-SH	Intersept-SH
EC1,00	41,307	12,34–69,95	2,063 3,40–0,726	2,26 2,827–1,693
EC5,00	65,493	26,73–98,67		
EC10,00	83,738	40,11–119,29		
EC15,00	98,845	52,50–136,21		
EC50,00	199,258	146,94–266,095		
EC85,00	401,679	295,26–724,012		
EC90,00	474,146	337,91–945,59		
EC95,00	606,231	409,38–1415,77		
EC99,00	961,197	578,58–3060,79		

Teorik Spontan Oranı:0,0000

2,4-D Amin Tuzu'nun EC50 değerlerinin tespitinde ayrıca "Behrens-Karber Yöntemi"de uygulanmış ve bu yöntemle göre elde edilmiş değerler Çizelge 5.10'da verilmiştir. Behrens-Karber yöntemi ile yapılan hesaplama sonucunda EC50 değeri 423,5 mg/l olarak bulunmuştur.

Çizelge 5.10. Behrens-Karber Yönteminin 2,4-D Amin tuzu için tabloda hesaplanmış hali.

Kullanılan Dozlar mg/l	Ölü Birey Sayısı	A	B	a.b
50	1	25	1	25
75	1	75	1	75
150	1	100	3	300
250	5	100	7	700
350	9	150	9,5	1425
500	10			



Şekil 5.3. *D.magna* bireylerinde 2,4-D Amin Tuzu için hesaplanan probit değerleri ve regresyon grafiği

BPA (Bisfenol-a) için:

Akut deney kısmında; BPA'nın saf hali distile suda bir miktar çözüldükten sonra 10 mg/l 'lik stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlandıktan sonra literatür taraması yapılarak ölüm oranının % 0 ile % 100 olduğu dozlar temel alınarak 3 ara konsantrasyon daha seçilmiş toplam 5 dozla, canlı sayısı 10'ar adet belirlenerek deneye başlanmıştır. Kullanılan dozlar; 2 mg/l, 4 mg/l, 6 mg/l, 8 mg/l ve 10 mg/l dir (Çizelge 5.11).

Probit analiz yöntemi kullanılarak BPA'nın *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi tespit edilmiş (Çizelge 5.12) sonuçlar aynı zamanda grafiklendirilmiştir (Şekil 5.4). Buna göre EC50 değeri 6,68 mg/l (5,872–7,446) bulunmuştur.

Çizelge 5.11. BPA 'nın farklı konsantrasyonlarında, *D. magna* bireylerindeki 24 saat içerisindeki ölüm oranları arasındaki ilişkileri.

Konsantrasyon (mg/l)	Canlı Birey Sayısı	Ölen Birey Sayısı	% Ölüm Oranı
Aseton	10	0	0
Saf su	10	0	0
2	10	0	0
4	8	2	%20
6	7	3	%30
8	6	4	%40
10	5	5	%50

Çizelge 5.12. BPA 'nın *Daphnia magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi

Nokta	Konsantasyon (mg/l)	%95 Güven sınırları	Eğim-SH	Intersept-SH
EC1,00	3,849	2,370–4,710	9,715 5,46–13,97	3,615 6,63–0,60
EC5,00	4,524	3,138–5,306		
EC10,00	4,931	3,637–5,667		
EC15,00	5,226	4,012–5,932		
EC50,00	6,682	5,872–7,446		
EC85,00	8,543	7,640–10,512		
EC90,00	9,054	8,023–11,560		
EC95,00	9,869	8,593–13,358		
EC99,00	11,599	9,707–17,639		

Teorik Spontan Oranı:0,0000

EC50 değerinin tespitinde ayrıca “Behrens-Karber Yöntemi”de uygulanmış ve bu yöntemle göre elde edilmiş değerler Çizelge 5.13’de verilmiştir. Behrens-Karber yöntemi ile yapılan hesaplama sonucu, EC50 değeri 7,7 mg/l olarak bulunmuştur.

Çizelge 5.13. Behrens-Karber Yönteminin BPA için tabloda hesaplanmış hali

Kullanılan Dozlar mg/l	Ölüm Sayısı	A	b	a.b
2	0	2	1	2
4	2	2	2,5	5
6	3	2	3,5	7
8	4	2	4,5	9
10	5	2		

PPT (Fosfonitrisin) için;

Akut deney kısmında; PPT'nin saf hali distile suda bir miktar çözüldükten sonra 4mg/l'lik stok çözelti hazırlanmıştır. Stok çözelti hazırlandıktan sonra literatür taraması yapılarak ölüm oranının % 0 ile % 100 olduğu dozlar temel alınarak 3 ara konsantrasyon daha seçilmiş toplam 5 dozla, canlı sayısı 10'ar adet belirlenerek deneye başlanmıştır. Kullanılan dozlar; 5 mg/l, 10 mg/l, 25 mg/l, 50 mg/l, ve 100 mg/l'dir (Çizelge 5.14).

Probit analiz yöntemi kullanılarak PPT'nin *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi hesaplandığında EC50 değeri 65,78 mg/l (33,872- 444,371) bulunmuştur. Bu sonuçlar (Çizelge 5.15)'de verilmiş, ayrıca Şekil 5.5'de grafiklendirilmiştir.

Çizelge 5.14. PPT'nin farklı konsantrasyonlarında, *D. magna* bireylerindeki 24 saat içerisindeki ölüm oranları arasındaki ilişkileri

Konsantrasyon (mg/l)	Canlı Birey Sayısı	Ölen Canlı Sayısı	% Ölüm Oranı
Saf Su	10	0	%0
5	10	0	%0
10	10	0	%0
25	4	6	%60
50	1	9	%90
100	0	10	%100

Çizelge 5.15. PPT'nin *D. magna* bireylerindeki 24 saatlik akut toksik etkisi

Nokta	Konsantasyon (mg/l)	%95 Güven sınırları	Eğim-SH	Intersept-SH
EC1,00	1,334	0,002–5,226	1,374 0,450–2,298	2,501 1,069–3,933
EC5,00	4179	0,059–10,932		
EC10,00	7,682	0,355–16,738		
EC15,00	11,585	1,153- 23,082		
EC50,00	65,783	33,872- 444,371		
EC85,00	373,527	120,71–70514,828		
EC90,00	563,325	157,04–242758,67		
EC95,00	1035,476	230,26–1526892,0		
EC99,00	3243,463	465,97–48674356,0		

Teorik Spontan Oranı:0,0000

EC50 değerinin tespitinde ayrıca Behrens-Karber Yöntemi de uygulanmıştır. Bu yöntemle göre yapılan hesaplama sonucu EC50 değeri 94,71 mg/l olarak bulunmuştur (Çizelge 5.16).

Çizelge 5.16. Behrens-Karber Yönteminin PPT için tabloda hesaplanmış hali

Kullanılan Dozlar mg/l	Ölü Birey Sayısı	A	b	a.b
5	1	5	1	5
10	1	5	2	10
25	3	15	3	45
50	3	25	5	125
100	7	50		



Şekil 5.5. *D. magna* bireylerinde PPT için hesaplanan probit değerleri ve regresyon grafiği

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyodeneyle, su kirliliği kontrolünde su kalitesi standartları ile uygunluk sağlamada ve risk yönetimi çalışmalarında kullanılmaktadır.

Zirai ilaçların su ürünleri üzerindeki etkileri ile ilgili bir çok literatür vardır. 2,4-D ile su ürünleri için yapılan çalışmalar ise diğer zirai ilaçlarla yapılan araştırmalara göre daha azdır. Yapılan araştırmalar ve literatürlere bakıldığında 2,4-D'nin henüz kirlilik açısından deşarj miktarları belirlenemeyecek kadar değişkenlik gösteren tehlikeli bir pestisit olduğu görölmektedir.

Tehlike düzeyi değişkenlik göstermekle birlikte 2,4-D'nin ilk etkisi ağır şekilde seyretmektedir. Su piresi üzerinde yaptığımız bu çalışmada hayvanlar üzerindeki ilk sersemlik atlatıldıktan sonra yavaş ama ağır bir şekilde hayvanı parçaladığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın hayvanlar üzerinde oluşturacağı muhtemel tahribat hakkında fikir vereceği kaçınılmazdır. Ayrıca bulunan sonuçlar literatürle karşılaştırıldığında balıklarda toksik etki bakımından yüksek derecede toksik olduğu da göröülecektir.

Bu çalışmada tarım sanayide kullanılan ve akuatik ekosistemlerde toksik etki yapan 2,4-D ve türevleri ile BPA ve PPT'nin 24 saatlik LC/EC50 değerleri belirlenmiştir. Deneylerin başlangıcından sonuna kadar, her bir deşişim denenmiş ve ortam şartlarının değişkenliği minimum seviyede tutulmuştur.

Bu kimyasalların denenmesinden elde edilen bulgular istatiki olarak probit analiz yöntemi ile değerlendirilmiş ve *D. magna*'da 24 saatlik EC50 değerleri sırayla 2,4-D 462,3 mg/l, 2,4-D Ester 2,4 mg/l, 2,4-D Amin 199,3 mg/l, BPA 6,68 mg/l, PPT 65,78 mg/l olarak hesaplanmıştır. İki ayrı yöntem kullanılarak bulunan değerler birbirinden çok farklılık göstermekle birlikte akuatik sistemler için oldukça toksik olduğu görölmüştür.

Her iki yöntemde havanların ölüm oranlarıyla ilişkilendirilmiştir. Probit-Analizi yönteminde EC50 yani ortalama olarak hayvanları öldüren doz bulunurken Behrens-Karber yöntemi hayvanların yarısını öldüren dozun LD50 bulunmasını sağlamaktadır. Genel anlamda bakıldığında kullanılan hayvan sayısının ortalaması göze alındığında Probit-Analiz yöntemi hayvanların yarısını öldüren dozu gösterdiğinden Behrens-Karber yöntemine yakınlık göstermektedir. Her iki yöntemle ilgili olarak sonuçlar farklı çıkmış olsa da birbirlerine yakınlık göstermektedirler. Her iki yöntemde yakın sonuçlar elde edilmesi deneyin olurluğunu kanıtlamaktadır.

Aynı tür üzerinde çalışmalarda, EC50 değerinin farklı bulunabileceği yapılan çeşitli deneyler sonucunda gözlenmiştir [Alexander ve ark., 1983; WHO 1989]. EC50 değeri üzerinde suyun sertliği, sıcaklık, deneyde kullanılan canlıların büyüklüğü ve hatta cinsiyeti etkili olduğu bilinmektedir. Tatlı su ortamlarındaki canlı grupları için toksik maddelerin lethal ve sublethal dozları her bir canlı grubu için ayrı ayrı düzenlenen biyodeneylerde sağlanmaktadır [Anonim, 1998].

Aynı maddelerin farklı canlılar üzerindeki etkileri ya da aynı familyaya ait canlılar açısından bulgular hep farklılık göstermektedir.

Rıppen, (1989); 2,4-D'nin saf halini kullanarak su piresiyle yaptığı bir çalışmada 24 saatlik LC/EC50 değerini 100 mg/l den büyük olarak bulmuştur. Yine *D. magna* üzerine 2,4-D'in saf haliyle yaptığı 48 saatlik akut denemeler sonucunda ; McCarty, (1979) LC/EC50 262 mg/l, Alexander ve ark., (1983); LC/EC50 250 mg/l, McCarty ve Batchelder (1977) LC/EC50 247,2 mg/l bulmuşlardır.

Bu sonuçlara bakarak bizim yaptığımız deney sonucunda bulduğumuz sonuçların farklılık göstermesi zaman, sıcaklık ve pH'a bağlı olabilir. Değerlendirmeye alındığında 24 saatlik LC/EC50 değerimiz yüksek toksik çıkmış, karşılaştırmalar yapıldığında bulduğumuz değer farklılık göstermesi kullanılan kimyasalın stok çözeltisindeki değişikliklerden vs. kaynaklandığı söylenebilir.

2,4-D Ester'le *Daphnia* üzerinde Alexander ve ark., (1983) yaptığı iki ayrı 48 saatlik LC/EC50 değerleri sırayla 5,2 mg/l ve 2,92 mg/l bulmuş, McCarty (1979)'de 48 saatlik LC/EC50 12,38 mg/l olarak bulmuştur. Bu değerler 48 saatlik olmasına rağmen bizim yaptığımız 24 saatlik deney sonuçlarına oldukça yakınlık göstermektedir. Bu durum deneyin olurluğunu ispat etmektedir. 48 saatin daha yüksek olması ester maddesinin zamanla hayvanlara daha ağır bir şekilde etki ettiğini ve vücutlarında birikim yaparak zaman geçtikte daha kısa sürede ölüm meydana getirdiğini gösterebilir.

2,4-D Amin ile yapılan akut toksisite testlerinden Alexander ve ark., (1983) 48saatlik LC/EC50 103 mg/l bulurken; Memmert (1997) 48 saatlik LC/EC50 (NOEC) 102 mg/l olarak bulmuştur. Amin sonuçlarını kendi sonuçlarımızla değerlendirdiğimizde aradaki farklılık zamana bağlı olabilir. Yinede her iki sonuçta yüksek ve orta dereceli toksisite göstermiştir.

Sularda kirlenmeye neden olan maddelerin tespit edilen etki düzeylerini aşması halinde, bu maddelerin sucul ortama girişi yasaklanmaktadır. Bu değerler 2,4-D ve türevleri için değişiklik gösterdiğinden henüz belirlenememiştir. Sulara karışan madde miktarları ve çeşitleri her geçen gün artmaktadır. Bunların birbirleri ile etkileşimleri yapılan standartları geçersiz kılmakta ve esik değerlerinin sürekli değişimine neden olmaktadır [Anonymous, 1971].

Benli ve arkadaşları (2007); 2,4-D'nin sucul ekosistemdeki etkisini ölçmek için kerevitler üzerinde 96 saatlik akut toksisite deneyi yaparak sıcaklığın 23°C olduğu ortamda LC/EC50 değerini 32,6 mg/l olarak bulmuştur. Bu deney sonucunda değerler arasında bu kadar farklılık göstermesi zaman geçtikçe 2,4-D maddesinin daha çok etki ettiğini ve dokularda birikerek toksisitesinin daha düşük miktarlarda ortaya çıkabileceği hakkında bize bilgi verebilir.

Wang ve Liu (2007) *D.magna*'da BPA'nın toksisitesini araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlar denenerek 48 saatlik EC50 değerleri 8,91 mg/l ve 10,69 mg/l

olduğu ve yüksek derecede toksik olduğu belirtilmiştir.

Hirano ve ark., (2004), endokrin bozucuların *D.magna* üzerindeki akut toksisitesini araştırmış ve en düşük 48 saatlik EC50 değeri 12,4 mg/l ile BPA çıkmıştır. Bu çalışmaya göre BPA yüksek hassasiyet gösteren EDC olarak tespit edilmiştir.

Alexander ve ark., (1988), BPA'nın *D.magna* üzerindeki akut toksisitesinde 48 saatlik EC50 değeri 1(9-11) mg/l bulunmuştur. Çevre Koruma Ajansı standart değerlendirme prosesine göre BPA LC50 ve EC50 değeri ile orta derecede toksik olarak bulunmuştur. Bu sonuca dayanarak BPA biyolojik olarak yüzey sularında hızla çözünür olduğu gerçeği ile akut toksisite verileri, kronik maruz kalma veya toksisite için daha düşük potansiyel göstermiştir.

Brennan ve ark., (2006) ise bu çalışmada *D.magna* üzerinde omurgalı türü östrojen - EDC- yapıdaki kimyasalların ekotoksikolojik olup olmadığına bakmıştır. Sonuç olarak BPA'nın 48 saatlik EC50 değeri 7,75 mg/l olarak tespit edilmiştir. Aynı zamanda BPA'nın *D.magna* üzerinde 21 günlük kronik test ile tüylerde dökülmeye etkisi olduğu tespit edilmiştir.

BPA'nın ekosistemlere deneysel çalışmalar sonucunda, ticari kullanımı, sanayi atıkları olarak kanalizasyon sistemine karışması, aynı zamanda polikarbonat olarak pek çok alanda yaygın olarak kullanılması sonucunda çevrede bulunması ve yahut yayılması sebebiyle; PPT ise deneysel çalışmalar sonucunda ve tarımsal alanlarda diğer kimyasallarla karıştırılıp kullanılması sebebiyle ekotoksikolojinin önemli konuları arasında yer almaktadır.

Bununla birlikte BPA ile yapılan bu çalışmalar bize gösteriyorki bizim yaptığımız 24 saatlik LC/EC50 deneyine ait sonuçlar, bu çalışmaları destekler nitelikte olmuştur. Bu da yaptığımız tüm bu çalışmaların tutarlılık gösterdiğini ve bu çalışmalardan elde edilen sonuçların bu konuda yapılacak ilerdeki çalışmalara ışık tutması açısından özgün değeri olduğunu göstermiştir.

2,4-D ve türevleri ile yaptığımız çalışmaların sonuçları bize; kimyasal maddelerin kendi türevlerinde bile toksisitelerinin oldukça değişkenlik gösterdiğini ve karşılaştırma yapıldığında ester gruplarının daha toksik olduğunu gözler önüne sermektedir. Bu üç madde arasında bir karşılaştırma yapacak olursak 2,4-D Ester'in çok küçük dozlarda bile 2,4-D ve 2,4-D Amin'den daha toksik olduğu 2,4-D nin ise türevlerine nazaran daha az toksik olduğu görülmüştür. Aynı zamanda bu sonuçlarda da görüldüğü gibi 2,4-D ve türevi olan 2 kimyasalın toksisitesi literatürle karşılaştırıldığında oldukça değişkenlik göstermektedir. Yapılan kirlilik kontrolü çalışmalarında 2,4-D ve türevlerinin deşarj limitleri henüz belirlenememiştir [Anonim-a., 2008].

Kullandığımız diğer iki kimyasal olan PPT ve BPA'nın birbiriyle karşılaştırıldığında BPA'nın daha toksik olduğu görülmüştür. Kullandığımız bu bütün kimyasallar arasında en toksik olan Ester formu olurken onu BPA izlemekte Amin ve saf 2,4-D daha az toksik olarak sıralanmaktadır.

Sonuç olarak; tarımsal alanlarda yaygın olarak kullanılan 2,4-D, 2,4-D Ester ve 2,4-D Amin ile ilgili çalışmalar Türkiye'de ve Dünya'da sınırlıdır. PPT ile ilgili araştırmalar, transjenik bitkilerle ilgili çalışmalarda göze çarparken, BPA ise plastik yapımında yaygın olarak kullanıldığından plastik sanayi alanında çalışmaları destekler amaçlı çalışmalarda yaygın olarak görülmektedir.

Besin zinciri düşündüğümüzde alt basamaklarda yer alan ama besin zinciri için en önemli halkayı oluşturan canlılardan üste doğru yayılım gösteren bu kimyasallar, her basamakta toksik etki bırakmaktadır. Dolaylı olarak insana kadar giderek artan düzeyde bir birikim etkisi söz konusudur. Besin zincirinde yer alan canlıların bu kimyasallara karşı gösterdiği tepkinin bilinmesi önemlidir.

Tüm bu çalışmalar dahilinde olsa 2,4-D saf hali ve türevleri ile BPA ve PPT dahil olmak üzere bu toksik maddelerin tüm ekolojik etkilerinin değerlendirilmesi için kronik çalışmalar başta olmak üzere daha kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

Ahmed, I., and D. Malloch, “ Interaction of soil microflora with the bioherbicide Phosphinothricin”, *Agric. Ecosystems and Environ.*, 54 (3):165–174, (1995).

Ahmed, I., J. Bisset, and D. Malloch, “Influence of the bioherbicide phosphinothricin on interactions between phytopathogens and their antagonists”, *Canadian J. of Botany-Revue Canadienne de Botanique*, 73 (11): 1750–1760, (1995).

Alexander, H.C., Gersich, F.M., Mayes, M.A. & Applegath, S. L., “The acute toxicity of (2,4-dichlorophenoxy) acetic acid isooctyl ester in representative aquatic organisms”, (Study ID:ES-DR-0019-1208-3), Unpublished study from Dow Chemical USA, Michigan, USA. Submitted to **WHO by Industry Task Force II on 2,4-D Research Data**, Indianapolis, Indiana, USA (1983).

Alexander H, Gersich F, Mayes M and Applegath S, “The Acute Toxicity of (2,4-Dichlorophenoxy) Acetic Acid Isooctyl Ester to Representative Aquatic Organisms”, **Laboratory Project Study** ID ES-DR–0019–1208–3, Dow Chemical USA, Midland, Michigan, (1983).

Alexander H, Mayes M, Gersich F, Bartlett E and Applegath S, “The Acute Toxicity of (2,4-Dichlorophenoxy) Acetic Acid Dimethylamine Salt to Representative Aquatic Organisms”, **Laboratory Project Study** ID ES-DR–0008–3556–2, Dow Chemical USA, Midland, Michigan, (1983).

Alexander, H.C., Dill, D.C., Smith, L.W., Guiney, P.D., Dorn, P., “Bisphenol A: Acute aquatic toxicity”, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 7 (1): 19–26, (1988).

Alexander, H.C., Gersich, F.M., Mayes, M.A., “Acute toxicity of four phenoxy herbicides to aquatic organisms”, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35 (3): 314–32, (1985).

Anonim, “T.S.E. Su Kirliliği Kontrolü, Metod ve Kuralları, Zehirlilik Denemeleri”, Ankara, (1998).

Anonim, “Su Kalitesi *Daphnia magna* Straus’un (*Cladocera*, *Crustacea*) hareketliliğinin engellemesinin (inhibisyonu) tayini”, akut zehirlilik deneyi, TS 6050 EN ISO 6341, (1999).

Anonymous, “Standart methods for the examination of water and wastewater” **APHA, AWWA, WPCF**, Washington, (1971).

Anonim-a; “Tehlikeli Maddelerin Su ve Çevresinde Neden Olduğu Kirliliğin Kontrolü Yönetmeliği”, *İstanbul Üniversitesi Hukuk Fakültesi Milletlerarası Hukuk ve Milletlerarası Münasebetler Araştırma ve Uygulama Merkezi* (2008)

Ardalı, Y., “Endüstriyel Atık Sulardan Ağır Metallerin Adsorbsiyon ile Uzaklaştırılması, Yüksek Lisans Tezi”, **Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü** , Samsun, (1990).

Arnold, E. K., “Pharmacokinetics of chlorinated phenoxy acid Herbicides”, **Veterinary Human Toxicology**, 31 (2): 121-5, (1989).

Bartsch, K. and C.C. Tebbe, “Initial steps in the degradation of hosphinothricin (glufosinate) by soil bacteria”, **Appl. And Environ. Microb.**, 55 (3): 711- 716, (1989).

Baudouin, M.F. and Scoppa, P., “Acute toxicity of various metals to freshwater zooplankton”, **Bull. environ. Contam. Toxicol.**, 12: 745-751 (1974).

Baykan, Ö., “Kurşun Nitrat metal tuzunun *Daphnia magna* (straus, 1820) (*Cladocera*, *Crustacea*) üzerindeki akut toksik etkisinin araştırılması”, **Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı, Yüksek Lisans Tezi**, ANKARA, (2007).

Benli ve Arkadaşları, “2,4-D Herbisitinin Kerevitler Üzerinde Akut Toksik Etkisinin Belirlenmesi”, **Gazi üniversitesi**, Ankara, (2007).

Bircan, R. ve Aras, M.S., “Su Piresi Yetiştiriciliği”. **A. Ü. Ziraat Fak. Yay.** S: 140. Erzurum, (1992).

Brennan, S.J., Brougham, C.A., Roche, J.J., Fogarty, A.M. “Multi-generational effects of four selected environmental oestrogens on *Daphnia manga*”, **Chemosphere**, 64 (1): 49–55, (2006).

Buchel.K.H., “Pflanzenschutzund schödlingsbakömbfung”, **Thleme**, Stuttgart, (1977).

Castano, A. And Cantarino, M.J., “Correlations Between the RTG-2 cytotoxicity test EC50 and in-vivo LC50 Rainbow trout Bioassay”, **Chemosphere**, 32 (11): 2141-2157, (1996).

Cirik, S.ve Gökpınar, S., “Plankton Bilgisi ve Kültürü (Ders Kitabı)”, **Ege Üniv. Su Ürünleri Fakültesi Yayınları**, S: 47, Ders Kitabı Dizini S:19., İzmir, (1993).

Cox, C., 1996. “Herbicide Fact Sheet: Glufosinate. J. of Pesticide Reform”, **North West Coalition for Alternatives to Pesticides (NCAP)**, Oregon, USA

Çelik, Ö., “Herbisitlere Dayanıklı Transgenik Bitkilerin Geliştirilmesi”, **Haliç Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü** (2002).

Çiltas, A.K., “Su piresi (*Daphnia magna*)’nın farklı kültür ortamlarında yetiştirilme imkânları”, **Yüksek Lisans Tezi A. Ü. Fen. Bil. Enst.**, Erzurum, (1994).

Çolak, A., Atalay, A., Cengiz, S., “Sivas Yöresinde 2,4-D Adlı Herbisitinin Balıklara Biyolojik Etkisinin İncelenmesi”, **Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu**, Proje S: 698, (1989).

Dewey, I.E. and Parker, B.L., “Mass rearing of *Daphnia magna* for insecticide bioassay” **Jour. Economic. Ent.** 57,6, (1964).

Dodson, S. I., Frey, D. G., “Cladocera and other branchiopoda. In: Thorp JH, Covich AP (eds)” **Ecology and classification of North American Freshwater invertebrates**, Academic Press, London, 850–914 (2001).

Dumont, H. J., Negrea, S. V., “Introduction to the class Branchiopoda. Guides to the identification of the microcrustaceans of the continental waters of the world 19” . **Backhuys Publishers**, Leiden, 398 (2002).

Düzgüneş, Z. ve Düzgüneş, O., “Entomolojide İstatistiksel Metodlar”, A.Ü. **Ziraat Fak. Yayını**, S: 140, Ankara, (1958).

Ecevit, O., Mennan, H., Aksoy, H., M., Akça., “Tarımsal Mücadele İlaçları ve Çevreye Olan Etkileri”, **O.M.U. Ziraat Fak. Ders Kitabı** S: 32. Samsun, (1999).

Edmondson, W. T., Litt, A. H., 1982. *Daphnia* in Lake Washington. **Limnol. Oceanogr.**, 27, 272–293.

EPA., U.S. “Information about pesticide use and report on the pesticide market”, **Environmental Protection Agency**, (1989).

Erne, K., “Distribution and elimination of chlorinated phenoxyacetic acid in animals”, **Acta Vet Scand.** 7, 240–256, (1966a).

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

Erne, K., “Studies on the animal metabolism of phenoxyacetic herbicides”, **Acta Vet. Scand.** 7, 264–271, (1966c).

EXTOXNET., “Extension Toxicology Network”, **Pesticide Information Profiles**, (1996).

Feldman, R.J., and Maibach, H.I., “Percutaneous penetration of some pesticides and herbicides in man”, **Toxicol, Appl. Pharmacol.** 28: 126–3, (1974).

Ftiesen EG, Jones GR, and Vaughan D., “Clinical presentation and management of acute 2,4-D oral ingestion”. **Drug Saf**; 5(2): 155–90, (1990).

Fujii, T., T. Ohata, M. Horinaka, “Alternations in the response to kainic acid in rats exposed to glufosinate-ammonium, a herbicide, during infantile period”. **Proc. Of the Japan Acad. Series B-Physical and Biological Sciences**, 72 (1): 7–10, (1996).

Fujii, T. “Transgenerational effects of maternal exposure to chemicals on the functional development of the brain in the offspring”. **Cancer Causes and Control**, 8 (3): 524–528, (1997).

Gliwicz, Z. M., “Between Hazards of Starvation and Risk of Predation: The Ecology of Offshore Animals”. **Excellence in ecology**, Book 12, International Ecology Institute, Oldendorf/Luhe, (2003).

Gomez, L., Duran, A., Gazquez, A., Martinez, S., Masot, J., Roncero; V., Lesions “Induced by 2,4-D and Chloropyrifos in Tench (*Tinca tinca* L.): Implication in toxicity Studies”. **Histology and Pathological Anatomy Unit, Facultad de Veterinaria**, Uex, Céceres, Spain, (2001).

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

Gray, AJ and AF Raybould, “Environmental Risks of Herbicide Tolerant oilseed rape: a review of the PGS hybrid oilseed rape”, **Report for the Advisory Committee on releases to the Environment** December, (1998)

Güley, M. ve Vural, N., “Toksikoloji”, **Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi** 48, Ankara, (1987).

Gülnaz, O., Bisfenol a’nın Biyolojik Parçalanması, Biyokonsantrasyon Faktörleri ve Östrojenik Aktivite Düzeylerinin Belirlenmesi”. **Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi**, Adana, (2006).

Gürbüz, H. ve Önalın, S.K., “Su piresi (*Daphnia magna*)’nın farklı kültür Ortamlarında yetiştirilmesi”. **Tr.J of Veterinary and Animal Sciences**, 237–242. **Atatürk Üni.** Erzurum, (1996).

Ha, M.-H., Choi, J. “Effects of environmental contaminants on hemoglobin gene expression in *Daphnia magna*: A potential biomarker for freshwater quality monitoring”, **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, 57 (2): 330–337, (2009).

Hayes, W.J. and Laws, E.R., **Handbook of Pesticide Toxicology Volume 3 Classes of Pesticides**, 1318-1319-1320, (1991).

Hektaş Kimya, “**Tarım İlaçları ve Zirai Mücadele Rehberi**”, (1995).

Hermens, J., H. Canton, P. Janssen and R. de Jong., “Quantitative structure-activity relationships and toxicity studies of mixtures of chemicals with an *anaesthetic potency: acute lethal and sublethal toxicity to Daphnia magna*”, **Aquat. Toxicol.**, 5: 143–154, (1984).

Hirano, M., Ishibashi, H., Matsumura, N., Nagao, Y., Watanabe, N., Watanabe, A., Onikura, N., Kishi, K., Arizono, K. “Acute toxicity responses of two *Crustaceans*, *Americamysis bahia* and *Daphnia magna*, to endocrine disrupters”, **Journal of Health Science**, 50 (1): 97–100, (2004).

IARC, “Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic risk of chemical to man”, **International Agency for Research on Cancer**, 41, Lyon, (1977).

Ike, M., Chen, M.-Y., Jin, C.-S., Fujita, M. “Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of biodegradation products of bisphenol-A” **Environmental Toxicology**, 17 (5): 457–461, (2002).

Ismail, B.S. and A.R. Ahmed, “Attenuation of the herbicidal activities of glufosinate - ammonium and imazapyr in 2 soils.” **Agric. Ecosystems and Environ.**, 47 (4): 279–285, (1994).

İnternet 1; <http://www.tutev.org.tr/index.php/makale-ve-paneller/makaleler/581-genet-detrlm-organzmalar-gdo-ve-endeler> (2011).

İnternet 2; <http://webs.lander.edu/rsfox/invertebrates/daphnia.html>, (2011).

İnternet 3; http://www.rsc.org/Publishing/Journals/cb/Volume/2009/12/flea_spin.asp, (2009)

İnternet 4; <http://www.nature.com/nature/journal/v450/n7171/full/nature06291.html>, (2011).

İnternet 5; <http://evrimcaliskanlari.org/blog/2011/03/su-piresinin-cevreye-duyarli-genomu/>, (2011)

Jeppesen, E., Jensen, P. J., Søndergaard, M., Lauridsen, T. L., ”Trophic dynamics in turbid and clearwater lakes with special emphasis on the role of zooplankton for water clarity” **Hydrobiologia**, 408/409: 217–231, (1999).

Johnson, I., Harvey P, “Study on The Scientific Evaluation of 12 Substances In The Context of Endocrine Disrupter Priority List of Actions European Commission”, Wrc-Nsf Ref: Uc 6052, (2002).

Kahvecioglu, Ö., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S., “TMMOB Metalürji Mühendisleri Odası”, **Metalürji Dergisi**, (2006).

Kancir, CB., Anderson, C., and Olesen, AS., “Marked hypocalcemia in afatal

poisoning with chlorinated phenoxy acid derivatives” *Clin Toxicol* 26 (3&4): 257-64, (1988).

Kaya, S., Pirinçci, I. ve Bilgili, A., “Çevre Bilimi ve Çevre Toksikolojisi”, **Medisan Yayın Serisi**, 36, (1998).

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

Khan, M., “Effect of temperature on the toxicity of heavy metals to aquatic invertebrates”. Illinois water Conference. **Biological Sciences Department, U.I.C.**, (2006).

Klassen, C.D., Tall, T.W., Nies, A.S., Taylor, P.(Eds.), “Principles of toxicology. In: Gilman”, Pharmacological Basis of Therapeutics, eight ed. **McGraw-Hill**, 49–61, (1991).

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

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

Kosky, P.E., Guggenheim, E.K., “The Aqueous Phase in the Interfacial Synthesis of Polycarbonates. 1. Ionic Equilibria and Experimental Solubilities in the BPA-NaOH-H₂O System Ind. Eng.”, (1991).

Koyama K, Y. Andou, K. Saruki, and H. Matsuo, “Delayed and severe toxicities of a herbicide containing glufosinate and a surfactant”. *Vet. Human Toxicol.* 36 (1): 17–18, (1994).

Kriete, G., and I. Broer, “Nodulation capacity of *Rhizobium meliloti*.” *Appl. Microbiology and Biotechnology*, 46 (5–6): 580–586. (1996).

Lampert, W., “*Daphnia*: Model herbivore, predator and prey.” *Polish Journal of Ecology*, 54 (4): 607-620., (2006).

Lindquist, N.G., Ulberg, S., “Distribution of the herbicides 2,4,5-T and 2,4-D in pregnant mice, Accumulation in the yolk sac epithelium”, *Experientia* 27:1439-1441, (1971).

Liu, H.-L., Liu, X.-H., Wang, X.-Y., Wang, X.-R., Yu, H.-X. “Toxicity of BPA and TBBPA to *Daphnia magna* and zebrafish *Brachydanio rerio*” **Huanjing Kexue/Environmental Science**, 28 (8): 1784–1787, (2007).

MAFF, “Health and Safety Executive”, **Advisory Committee on Pesticides HMSO, Annual Report**, London, (1991).

MAFF, Health and Safety Executive, **Advisory Committee on Pesticides Mannual Report**, HMSO, London,. (1991).

MAFF, **Health and Safety Executive**, (1991).

McCarty W. and Batchelder, T., “Toxicity of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid to *Daphnids*”, **Laboratory Project Study** ID ES-143. Dow Chemicals USA, Midland, Michigan, (1977).

Memmert U, “Acute Toxicity of Herbizid Marks D to *Daphnia magna* in a 48 Hour Immobilisation Test”. Study Project No.: 655931. RCC Umweltchemie Ag, Itingen, Switzerland., (1997).

Mu, X., Rider, C.V., Gap, S.H., Hoy, H., LeBlanc, G.A. “Covert signal disruption: Anti-ecdysteroidal activity of bisphenol A involves cross talk between signaling pathways, **Environmental Toxicology and Chemistry**, 24 (1): 146–152, (2005).

OECD, “*Field Releases of Transgenic Plants*”, OECD, Paris. Cited in Agrow 202, (1994).

OECD, “*Daphnia* sp., Acute Immobilisation Test and Reproduction Test”, **Guideline for Testing of Chemicals.**, (1984).

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

Öden.T., Zirai Mücadele İlaçları Kimyevi Fiziki Biyolojik ve Diğer Özellikleri, **Tarım Bakanlığı Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enst.**, 2, (1962).

Pagano, S.M., “Evsel Atık sularda *Daphnia magna* (Su Pireleri) ile Zehirlilik İzleme”, **Su Kirlenmesi Kontrolü Dergisi** 12 (1): 7–16, (2002).

Park, S.Y., Choi, J. Cytotoxicity, genotoxicity and ecotoxicity assay using human cell and environmental species for the screening of the risk from pollutant exposure **Environment International**, 33 (6): 817–822, (2007).

Park, S.-Y., Choi, “J. Genotoxic effects of nonylphenol and bisphenol a exposure in aquatic biomonitoring species: Freshwater crustacean, *Daphnia magna*, and aquatic midge, *Chironomus riparius*”, **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, 83 (4): 463–468. (2009).

Pesticides Trust, “*Crops Resistant to Glutamine Synthetase Inhibitors*” **PesticidesTrust**, London, (1997).

Polat.H., “Beta-Cyphemethrin Pestisitinin Balıklara Ani Toksik Etkileri”, Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, (1999).

Prokop, Z., Hankova, L., Jerabek, K., “Bisphenol A Synthesis–Modeling of Industrial Reactor and Catalyst Deactivation”, **Reac. And Func. Polym.**, 60: 77–83, (2004).

Quinn, J.P., J.K. Heron, and G. McMullan, “Glufosinate tolerance and utilisation by soil and aquatic Bacteria”. **Biol. And Environ.**, Proceedings of the Royal Irish Academy, 93B (3): 181–186, (1993).

RSPB, Comments on Weed control on the farm: management of genetically modified herbicide tolerant crops, (1997).

Riley, P., Warhurst, M., Diamand, E. and . H. Barron, “Health and Environmental Impacts of Glufosinate Ammonium”, The Reports of Friends of Earth <http://www.foe.co.uk>, (2001).

Sauerhoff. M. W. et all, “The fate of 2,4-D following oral administration to man”, **Toxicol.**, 8: 3–11, (1977).

Scheffer, M.I., “The effect of aquatic vegetation on turbidity; how important are the filter feeders?” **Hydrobiologia**, 408/409: 307–316, (1999).

Schriver, P., Bøgstrand, J., Jeppesen, E., Søndergaard, M., “Impact of submerged macrophytes on fishzooplankton– phytoplankton interactions: large-scale enclosure experiments in a shallow eutrophic lake”, **Freshwater Biology**, 33: 255–270, (1995).

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

Stevens, J.T. and Sumner, D.D., “**Herbicides In Handbook of Pesticide Toxicology**, (1991)

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

Tepe.I., “Türkiye’de Tarım ve Tarım Dışı Alanlarda Sorun Olan Yabancı Otlar ve Mücadeleleri”, **Yüzüncü Yıl Üniv.Yay.**, 32 (16), (1997).

Uluköy, G., “Sudak (*Stizostedion lucioperca* L.1758) Balıklarında Farklı Konsantrasyondaki Bazı Pestisitlerin Oluşturabileceği Hematolojik Histapatolojik Değişimlerinin İncelenmesi Üzerinde Bir Araştırma”, **Yük. Lis. Tezi, Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü**, Antalya, (1992).

U.S. EPA, “Catecholamines and glutamine synthetase determinations on Hoe 039866 and Hoe061517 treated rats”. **Data Evaluation report**. Cited in C. Cox, Op., (1988)

U.S. National Library of Medicine, “Hazardous Substanc-e Databank”, Bethesda, MD,7–8, (1995).

Vural N., “Toksikoloji Kitabı”, **Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayını**, 73, (1996).

Wang, Y-S., C-G.Jaw, and Y-L.Chen., “Accumulation of 2,4-D and glyphosate in fish and water hyacinth”, **Water air soil pollut**, 74: 397- 403, (1994).

Watanabe, T. and T. Iwase, “Development and dymorphogenic effects of glufosinate ammonium on mouse embryos in culture”, **Teratogenesis carcinogenesis and mutagenesis**, 16 (6): 287–299, (1996).

Watanabe, T. , “Apoptosis induced by glufosinate ammonium in the euroepithelium of developing mouse embryos in culture”, **Neuroscientific Letters**, 222 (1): 17–20, (1997).

Watkins, S., “Agrow*s top twenty five”. Report ref: DS 106. **PJB Publications**, London, (1995).

Westing, A.H., “Ecological Effects of Military Defoliation on the forests of South Vietnam”, **Bioscience**, 21, 893-898, (1979).

World Health Organization., “Public Health Impact of Pesticidies Used in Agriculture”, **WHO**, Genava, (1990).

Yalçinkaya, M., “Bir herbisit olan 2,4-D (diklorofenoksi asetik asit)'in *poecilia reticulata* (p.,1859) (lepistes balığı)'da *Medulla spinallis* üzerine etkileri” **Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı,Yüksek Lisans Tezi**, İzmir, (2006).

Yelkovan, A., “Ksenobiyotik Olarak 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetik asit)'nin Proteinlerle Etkileşiminin İncelenmesi”, **Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi. Sağ. Bil. Enst.** Sivas, (1995).

EKLER

EK 1 Toksikolojik Genel Tanımlar

Toksikoloji: Kimyasal maddelerin biyolojik dokulara kantitatif tesirlerinin mekanizmalarıyla birlikte araştırılmasını inceleyen ve elde edilen bilgilerden insan popülasyonuna ve çevreye zararları ve etkileri hakkında tahmin eden bir bilim dalıdır (Anonim 1998).

Zehirlilik Deneyleri: Zehirli maddeye belirli bir maruz kalma süresinden sonra ölüm, hareketsizlik, üremenin engellenmesi gibi zehir etkilerini belirleyen konsantrasyonu tespit edilmiştir (Anonim 1998).

Akut Zehirlilik Deneyleri: Deney organizmalarında kısa sürede olumsuz değişikliğe sebep olan deney konsantrasyonlarını belirleme işlemidir (Anonim 1998).

Zehirlilik Etkisi: Sularda tabii dengeyi bozan, organizmaların yaşam sürecini kısaltan ve/veya şartlarını bozan her türlü yabancı etkidir (Anonim 1998).

Zehir: Organizmada şekillenen veya dışardan organizmaya giren, kimyasal yapıları dolayısıyla canlının doku veya organlarını etkiyebilen, canlının sağlığında geçici veya sürekli olarak olumsuz etki yapan maddelerdir (Anonim 1998).

Ortalama Etkili Konsantrasyon (EC50) : Deney organizmalarının %50'sinde denge kaybı, felç, anormallikler veya vücut bozuklukları gibi etki meydana getiren konsantrasyondur (Anonim 1998).

Ortalama Tolerans Limiti (TL50) : Su organizmalarının zehirli ortamda yarısının canlı kaldığı sınır zehirlilik değeridir (Anonim 1998).

En Yüksek Tolerans Dozu: Ölüm meydana getirmeyen en yüksek dozdur (Anonim 1998).

EK 1 (Devamı) Toksikolojik Genel Tanımlar

En Düşük Öldürücü Doz: Ölüm meydana getiren dozların en küçüğüdür (Anonim 1998).

Ortalama Öldürücü Doz (LD50) : Tatbik edildiği organizmaların yarısını öldüren dozdur (Anonim 1998).

Ortalama Öldürücü Konsantrasyon (LC50) : Tatbik edildiği organizmaların yarısını öldüren konsantrasyondur (Anonim 1998).

Öldürücü Doz : Bir defa tatbikinde öldüren doza denir (Anonim 1998).

Zehirlilik Dozu (Toksik Doz) : Ölüm meydana getirmemekle beraber, zehirlenme belirtilerine sebep olan dozdur (Anonim 1998).

Ortalama Ölüm Zamanı (LT50) : Zehir etkisini gösteren bir maddenin öldürücü dozunun organizmaya girdikten sonra, organizmaların yarısının ölümü için geçen süredir (Anonim 1998).

Eşik Konsantrasyonu: Kontrollü koşullarda basit deney hayvanında seçici bazı cevapları almak için gerekli olan minimum zehir konsantrasyonu veya aynı koşullar altında canlıların hayatta kalmasına izin veren maksimum zehir konsantrasyonudur (Anonymous 1983).

Akut Zehirlilik: Tek dozda 24 saatlik süre içinde görülen zehirliliktir (Vural1996).

Kronik Zehirlilik: Sıçanlarda 3 doz düzeyinde 1 yıllık süreli; köpeklerde 3 doz düzeyinde 6 ay süreli; üçüncü bir türde 6 ay süreli ortaya çıkan zehirliliktir (Vural 1996).

EK 1 (Devamı) Toksikolojik Genel Tanımlar

Subkronik Zehirlilik: Sıçanlarda 3 doz düzeyinde 16–13 hafta süreli, köpeklerde 3 doz düzeyinde 4–13 hafta süreli ortaya çıkan zehirliliktir (Vural 1996).

Subletal Doz: Doğrudan ölüme sebep olan seviyenin altındaki dozdur (Anonim 1998).

Doz-Cevap İlişkisi: Kimyasal maddelere maruz kalma özellikleri ile meydana gelen çeşitli ve geniş spektrumlu tesirler arası ilişkilere denir (Anonim 1998).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÇINAR PEKTAŞ, GÜLDANE
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 06.05.1984 Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (312) 347 91 21
 e-mail : guldane.cinar.pektas@gmail.com

Eğitim

<i>Derece</i>	<i>Eğitim Birimi</i>	<i>Mezuniyet tarihi</i>
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü	20...
Lisans	Kırıkkale Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2007
Lise	Anıttepe Yabancı Dil Ağırlıklı Lise	2002

İş Deneyimi

<i>Yıl</i>	<i>Yer</i>	<i>Görev</i>
2011	Bulgu Araştırma	Anketör
2010	Coca-Cola A.Ş.	Şatış Pazarlama-MIT

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Müzik, sinema, tiyatro, kitap, çevre bilimleri, biyoloji