

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ENDOSÜLFAN, 2,4-D VE BACILLUS THURINGIENSIS
PREPARATININ SWISS - ALBİNO (MUS MUSCULUS) FARELERİNİN
DEĞİŞİK ORGANLARINDA BAZI ENZİMLERİN AKTİVİTELERİNE
VE GLİKOJEN SEVİYELERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Egemen DERE

S İ V A S

NİSAN - 1990

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İşbu çalışma, jürimiz tarafından, Biyoloji Anabilim
Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Üye

Üye

Üye

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosunun 05.01.1984
tarihli toplantısında kabul edilen tez yazma yönergesine göre
hazırlanmıştır.

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine
ait olduğunu onaylarım./.../1990

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ
Prof.Dr. İbrahim GÜMÜŞSUYU

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İşbu çalışma, jürimiz tarafından, Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Üye

Üye

Üye

Üye

O N A Y

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.//.../1990

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ
Prof.Dr. İbrahim GÜMÜŞSUYU

KISALTMALAR

AA : Dakikadaki absorbanın değişimi

B.t. : *Bacillus thuringiensis*

ATP : Adenozin trifosfat

ADP : Adenozin difosfat

G6P : Glikoz-6-fosfat

G6P-DM: Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz

HK : Heksokinaz

TEŞEKKÜR

LDH : Laktat dehidrogenaz

MDH : Tez konusunu bana veren sayın hocam Yrd.Doç.Dr. Atilla YANIKOĞLU'na, değerli bilgi ve yardımlarını esirgemeyen, laboratuvarlarında çalışabilme olanağı sağlayan Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof.Dr. Atilla ATALAY'a, deneysel çalışmalarım esnasında yardımlarını gördüğüm sayın Yrd.Doç.Dr. Ahmet AKER ve Dr. Sevtap BAKIR'a teşekkürlerimi sunarım.

2,4-D : 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid

K I S A L T M A L A R

Sayfa No

ΔA	: Dakikadaki absorbens değişimi	1
B.t.	: Bacillus thuringiensis	4
ATP	: Adenozin trifosfat	4
ADP	: Adenozin difosfat	4
G6P	: Glikoz-6-fosfat	7
G6P-DH	: Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz	9
HK	: Hekzokinaz	11
LDH	: Laktat dehidrogenaz	18
MDH	: Malat dehidrogenaz	20
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotid	21
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid (indirgenmiř)	22
NADP	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat	23
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiř)	23
TEA	: Triethanolamin	24
2,4-D	: 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	24
3.5.	Pestisit ve Kontrol Gruplarına Karşı Yapılan Enzim �zg�l Aktivite �alışmaları	25
3.5.1.	MDH Enzimi �zg�l Aktivitesinin Tayini	25
3.5.2.	HK Enzimi �zg�l Aktivitesinin Tayini	26
3.5.3.	LDH Enzimi �zg�l Aktivitesinin Tayini	27
3.6.	Total Protein Tayini	28
3.7.	Karaciğer ve Kasta Glikojen Seviyesinin Sap- tanması	28
4.	BULGULAR	31
4.1.	B.t. Preparatının LD ₅₀ Dozunun Saplanması	31
4.2.	B.t. Preparatının Karaciğer Enzim Aktiviteleri �zerine Etkisi	31
4.3.	B.t. Preparatının Böbrek Enzim Aktiviteleri �zerine Etkisi	34
4.4.	Endosulfan'ın Karaciğer Enzim Aktiviteleri �zerine Etkisi	38

İ Ç İ N D E K İ L E R

Sayfa No

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Pestisitlerin Tanımı ve Sınıflandırılması ...	4
2.2. Çalışmamızda Kullanılan Pestisitlerin Genel Özellikleri	4
2.2.1. Endosülfan	4
2.2.1.1. Kullanım Alanı ve Etkileri ..	7
2.2.2. 2,4-D	9
2.2.2.1. Kullanım Alanı ve Etkileri ..	11
2.2.3. Bacillus thuringiensis (B.t.) Preparatı ..	14
2.2.3.1. Kullanım Alanı ve Etkileri ..	18
2.3. Malat Dehidrogenaz (MDH) Enzimi	20
2.4. Hekzokinaz (HK) Enzimi	21
2.5. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Enzimi	21
2.6. Karaciğer ve Kas Glikojeni	22
3. MATERYAL VE METOD	23
3.2. Kullanılan Pestisitler	23
3.2.1. Farelere Pestisit Uygulanması	23
3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler	24
3.4. Özgül Aktivite Çalışmaları İçin Enzim Kaynağının Elde Edilmesi	24
3.5. Pestisit ve Kontrol Gruplarına Karşı Yapılan Enzim Özgül Aktivite Çalışmaları	25
3.5.1. MDH Enzimi Özgül Aktivitesinin Tayini	25
3.5.2. HK Enzimi Özgül Aktivitesinin Tayini .	26
3.5.3. LDH Enzimi Özgül Aktivitesinin Tayini	27
3.6. Total Protein Tayini	28
3.7. Karaciğer ve Kasta Glikojen Seviyesinin Saptanması	28
4. BULGULAR	31
4.1. B.t. Preparatının LD ₃₀ Dozunun Saptanması ...	31
4.2. B.t. Preparatının Karaciğer Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	31
4.3. B.t. Preparatının Böbrek Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	34
4.4. Endosülfan'ın Karaciğer Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	38

4.5. Endosülfan'ın Böbrek Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	41
4.6. 2,4-D'nin Karaciğer Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi	45
4.7. B.t. Preparatının Karaciğer Glikojen Seviye- sine Etkisi	49
4.8. B.t. Preparatının Kas Glikojen Seviyesine Etkisi	51
4.9. 2,4-D'nin Karaciğer Glikojen Seviyesine Et- kisi	53
4.10. 2,4-D'nin Kas Glikojen Seviyesine Etkisi ...	54
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
6. ÖZET	72
SUMMARY	74
7. KAYNAKLAR	76

Tablo 5. Serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan'ın değişik saatlerde böbrek MMH, HK ve LDH aktivitelerine etkileri	44
--	----

Tablo 6. Serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D'nin değişik saatlerde karaciğer MMH, HK ve LDH aktivitelerine etkileri	47
---	----

Tablo 7. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının değişik saatlerde karaciğer ve kas glikojen seviyelerine etkileri	52
--	----

Tablo 8. Etanol kontrol ve 2,4-D'nin değişik saatlerde karaciğer ve kas glikojen seviyelerine etki- leri	56
--	----

T A B L O L A R

Sayfa No

Şekil 1. Endosülfan'ın açık formülü	
Tablo 1. B.t. endotoksininde karbohidrat ve amino asit bileşimi	17
Tablo 2. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının değişik saatlerde karaciğer MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkileri	32
Şekil 3. Tablo 3. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının değişik saatlerde böbrek MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkileri	37
Tablo 4. Serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan'ın değişik saatlerde karaciğer MDH ve HK aktivitelerine etkileri	40
Tablo 5. Serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan'ın değişik saatlerde böbrek MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkileri	44
Tablo 6. Serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D'nin değişik saatlerde karaciğer MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkileri	47
Tablo 7. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının değişik saatlerde karaciğer ve kas glikojen seviyelerine etkileri	52
Tablo 8. Etanol kontrol ve 2,4-D'nin değişik saatlerde karaciğer ve kas glikojen seviyelerine etkileri	56
Şekil 10. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği	36
Şekil 11. Karaciğer MDH özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği	39
Şekil 12. Karaciğer HK özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği	39

Ş E K İ L L E R

Sayfa No

		Sayfa No
Şekil 13.	Böbrek MDH özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endo-	
Şekil 1.	Endosülfan'ın açık formülü	5
Şekil 2.	Endosülfan'ın stereoizomerlerinin açık for- mülleri	5
Şekil 3.	Endosülfan'ın metabolitlerinin açık formül- leri	6
Şekil 4.	2,4-Dichlorophnoxyacetic acid'in açık for- mülü	10
Şekil 5.	Karaciğer MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı veril- miş grupları için değişim grafiği	33
Şekil 6.	Karaciğer HK özgül aktivitesinin serum fiz- yolojik ve B.t. preparatı verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği	33
Şekil 7.	Karaciğer LDH özgül aktivitesinin serum fiz- yolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği .	34
Şekil 8.	Böbrek MDH özgül aktivitesinin serum fiz- yolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği .	35
Şekil 9.	Böbrek HK özgül aktivitesinin serum fizyo- lojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği .	36
Şekil 10.	Böbrek LDH özgül aktivitesinin serum fiz- yolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği .	36
Şekil 11.	Karaciğer MDH özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endo- sülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği	39
Şekil 12.	Karaciğer HK özgül aktivitesinin, serum fiz- yolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği	39

- Şekil 13. Böbrek MDH özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği 42
- Şekil 14. Böbrek HK özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği 42
- Şekil 15. Böbrek LDH özgül aktivitesinin, serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği 43
- Şekil 16. Karaciğer MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği 48
- Şekil 17. Karaciğer HK özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği 48
- Şekil 18. Karaciğer LDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği 49
- Şekil 19. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının çalışılan deney periyodlarında karaciğer glikojen seviyesine etkileri 50
- Şekil 20. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının çalışılan deney periyodlarında kas glikojen seviyesine etkileri 53
- Şekil 21. Etanol kontrol ve 2,4-D'nin çalışılan deney periyodlarında karaciğer glikojen seviyesine etkileri 54
- Şekil 22. Etanol kontrol ve 2,4-D'nin çalışılan deney periyodlarında kas glikojen seviyesine etkileri 55

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun hızlı ve kontrolsüz artışı, insanoğlunu açlık tehlikesi ile birlikte yetersiz ve dengesiz beslenme gibi çok önemli sorunlarla karşı karşıya bırakmaktadır. Bu sorunların çözümünde şüphesiz ilk akla gelen, tarımsal üretimde, yeterli miktarlarda kaliteli ürün elde etmek olmuştur. Bu amaçla bir yandan bataklık ve çöllerin, tarım alanları haline getirilmesi için uğraşılırken, diğer taraftan topraktan daha fazla ve kaliteli ürün elde etmek için gübreleme, melezleme, hormonlama gibi çeşitli yöntemler uygulanmakta, bunların yanı sıra ise tarımda büyük ölçüde ürün kaybına neden olan hastalık, böcek ve yabancı ot gibi zararlılara karşı savaşım yöntemleri geliştirilmektedir.

Günümüzde, tarım zararlılarına karşı daha çok pestisit adı verilen kimyasallar ile kimyasal olmayan savaşım yöntemleri uygulanmaktadır (ASAL, 1985). Pestisit kullanımıyla tarımsal üretimde gerçekten büyük ölçüde ekonomik faydalar sağlanmaktadır (ÖZTÜRK, 1978). Bununla beraber pestisitler, çevre kirliliğine neden olmalarıyla küçümsenmeyecek düzeyde zararlar oluşturmaktadır. Toprakta, suda, meyve ve sebzeler üzerinde uzun süre bozulmadan kalan ve besin zinciri yoluyla insanlara kadar ulaşan pestisitlerin allerjik, karsinogenik, mutajenik ve teratojenik etkilerinin olduğu çeşitli canlılarda gösterilmiştir (ASAL, 1985; WHO, 1984). Diğer taraftan geniş spektrumlu kimyasal pestisitlerin uzun yıllar yoğun ve düzen-

siz şekilde kullanılması sonucu, bir çok zararlıda, pestisit dirençliliği oluşmuştur. Sivrisineklerle mücadele edilmesine rağmen, sıtma hastalığının yayılması, sivrisineklerin kullanılan bu kimyasallara karşı direnç oluşturduğunu göstermektedir. Bu sebepten sadece Afrika kıtasında 1 milyonun üstünde çocuğun öldüğü görülmüştür (LACEY, 1986).

Son yıllarda gerek çevre kirliliğini önlemek, gerekse doğal dengeyi korumak için pestisit kullanımını sınırlandırma çalışmalarına başlanmıştır. Bu durum, çevre sağlığı için bir önlem oluştururken, zararlılara karşı daha etkin, hedef dışı organizmalarda ve insanda yıkılarak vücuttan atılabilen pestisitlerin bulunması çalışmalarını hızlandırmıştır. Bu konuda son 15 yıl içinde biyolojik savaşım yöntemlerine önem verilmiş ve biyolojik insektisit adı verilen bazı bakteri, fungus ve virüs gibi mikrobiyal preparatların zararlıların kontrolünde kullanılmasında önemli aşamalar kaydedilmiştir (BURGES, 1981)

Zararlı mücadelesinde kullanılan kimyasal pestisitlerin kendileri ya da yıkım ürünleri, çevremizde giderek artmakta ve dolayısıyla insan dahil bir çok yararlı organizma bu bileşiklerin toksik etkileri ile karşı karşıya kalmaktadır. İşte pestisitlerin bu olumsuz yönleri ve tarımsal alanlarda kullanılabilirlik dereceleri, ancak bunların çeşitli canlılar üzerinde etkilerini inceleyen araştırmalar yapmak suretiyle anlaşılabilir. Bugüne kadar kimyasal pestisitlerin canlılar üzerinde genetiksel, sitolojik, fizyolojik ve biyokimyasal yönlerden etkilerini inceleyen pek çok sayıda araştırma yapılmıştır (WHO, 1984; VURAL, 1984). Bu araştırmaların bazılarında pestisitlerin özellikle memelilerde çeşitli enzim aktiviteleri

ve farklı dokulardaki glikojen seviyeleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Bununla beraber, biyolojik insektisitlerin sözünü ettiğimiz konular da dahil çeşitli canlı gruplarında ve memeli sistemler üzerinde değişik yönlerden etkilerini araştıran çalışmalar henüz yeterli düzeye ulaşmamıştır.

Bu nedenle çalışmamızda, bir biyolojik insektisit olan *Bacillus thuringiensis* (B.t.) preparatını ele alıp, bu preparatla birlikte kimyasal pestisitlerden endosülfan ve 2,4-D'nin Swiss-Albino (*Mus musculus*) erkek farelerde karaciğer ve böbrek MDH, HK, LDH enzim aktiviteleri, ayrıca karaciğer ve kasta glikojen seviyeleri üzerine etkileri araştırılarak*, memeli sistemler üzerinde biyolojik preparatlar ve kimyasal pestisitlerle yapılan çalışmalara katkıda bulunmayı amaçladık.

Bu pestisitlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu durum karşısında, pestisitler belirli özellikleri göz önüne alınarak sınıflandırılmıştır. Örneğin Benson (1969), kontrol ettiği canlı sistemlerine göre sınıflandırırken, Hodges (1973), hedeflerine, kimyasal yapılarına, fiziksel durumlarına ve etki şekillerine göre sınıflandırmıştır.

2.2. Çalışmamızda Kullanılan Pestisitlerin Genel Özellikleri

2.2.1. Endosülfan

BSI (British Standards Institution) ve ISO (International Organization for Standardization) tarafından

*Bu araştırmada, endosülfan'ın fare karaciğer LDH aktivitesi (SÜMER, 1984) ile karaciğer ve kasta glikojen seviyelerine (DERE ve YANIKOĞLU, 1988), ayrıca 2,4-D'nin fare böbrek HK, MDH (PINARBAŞI, 1988) ve LDH enzim aktivitelerine etkileri çalışılmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pestisitlerin Tanımı ve Sınıflandırılması

Tarımsal ürünlerden en yüksek düzeyde verim alınabilmesi için zararlılarla mücadele edilmesi gerekmektedir. Bu mücadelede kullanılan madde ve bileşiklere Pestisit adı verilmektedir. Pestisitler, tarımsal ürünlere zarar veren, veya ürünlerle rekabet ederek ekonomik kayıplara neden olan zararlıları yok etmek, ortamdaki uzaklaştırmak, etkisini hafifletmek ve kontrol altında tutmak için kullandığımız bileşiklerdir.

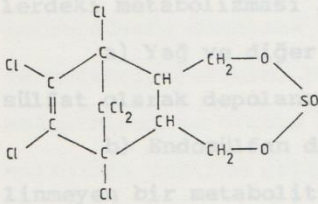
İkinci Dünya Savaşından sonra tarımda üretimi artırmak için yapılan çalışmalar, sayıları oldukça fazla bir çok pestisitlerin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bu durum karşısında, pestisitler belirli özellikleri göz önüne alınarak sınıflandırılmıştır. Örneğin Benson (1969), kontrol ettiği canlı sistemlerine göre sınıflandırırken, Hodges (1973), hedeflerine, kimyasal yapılarına, fiziksel durumlarına ve etki şekillerine göre sınıflandırmıştır.

2.2. Çalışmamızda kullanılan Pestisitlerin Genel Özellikleri

2.2.1. Endosülfan

BSI (British Standards Institution) ve ISO (International Organization for Standardization) tarafından endosülfan olarak adlandırılan bu madde organik klorlu insektisitlerin siklodienler grubundandır (FRENSCH, 1958). İlk defa 1954 yılında FRABWERKE HOECHST A.G tarafından geliştirilmiş ve Thiodan ticari adıyla kullanılmıştır. Insektisit özelliği ise FINGERBRING

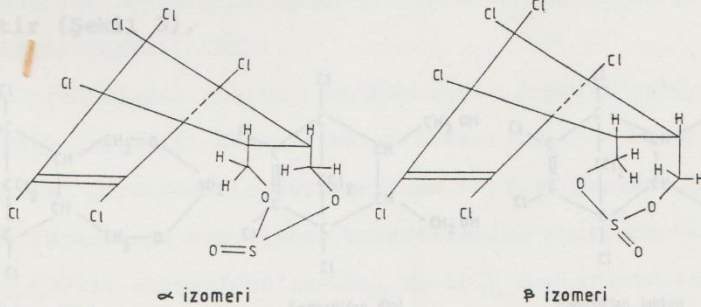
(1956) tarafından ortaya çıkarılmıştır. Daha sonraları Thimol, Cyclodan, Thiofar, Malix adlarıyla da kullanılmıştır. İran ve Rusya'da Thiodan adıyla tanınırken, Japonya ve İtalya'da Benzoezin adıyla tanınır (ÖZTÜRK, 1978). Açık formülü aşağıda verilmiştir (Şekil 1). (GUPTA, 1979).



Kimyasal Adı ; 6,7,8,9,10,10-hexachloro- 1,5 5a, 6, 9, 9a hexahydro-6,9-methano-2, 4-3-benzo(e) dioxathiepin-3-oxide veya α , β 2,2,3,4,7,7-hexachloro-bicyclo-(2,2,1)-heptene-(2)-bis-hydroxymethylene (5,6) sülfid'dir (FRENSCH,1958).

Şekil 1- ENDOSÜLFAN ($C_6H_6Cl_6O_3S$)

Endosülfan iki stereoizomerinin (α ve β) karışımıdır (Şekil 2).



Şekil 2-

β izomerinin erime noktası $280 - 210^\circ C$ dir. α izomerinin erime noktası $108 - 110^\circ C$ dir. Molekül ağırlığı 406.9 dur. Kahverengi kristaller halinde gün ışığına dayanıklı olan endosülfan, terpenten kokusundadır. Ergime noktası $80 - 90^\circ C$ özgül ağırlığı 1.745 dir ve pratik olarak suda çözünmez. Organik çözücülerdeki çözünürlükleri $20^\circ C$ için Asetonda % 33, Benzende % 37, Ksilende % 45, Karbontetraklorürde % 29, Kloroform-

da % 50, Etanolde % 5, Metanolde % 11 ve Kerosende % 20 dir. Sulu alkali ve asidik ortamlarda yavaşça hidroliz olur. Normal şartlar altında dayanıklı olup yanıcı değildir. Teknik endosülfandaki α ve β oranı 70/30 dur ve izomerinin saf bir karışımıdır (% 90-95) (GUPTA, 1979).

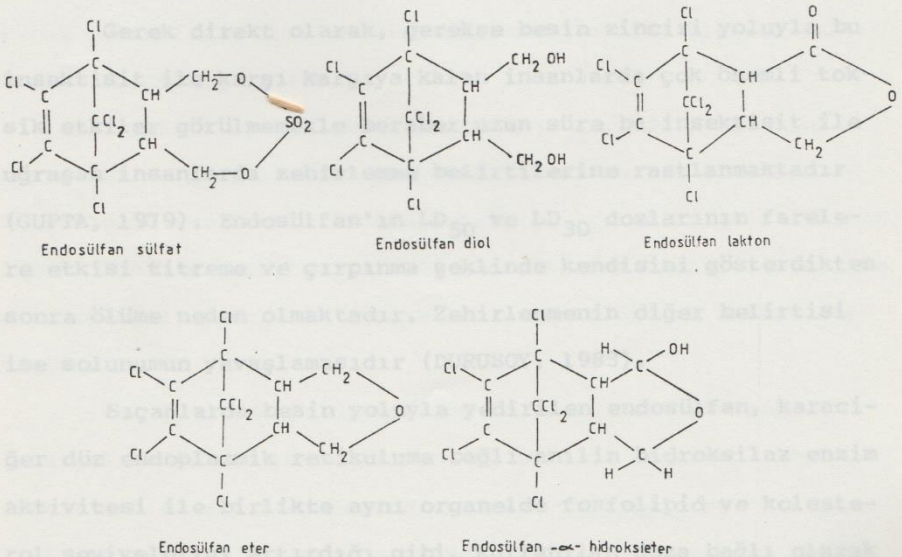
Çalışmamızda kullanılan bu insektisit in sıçan ve farelerdeki metabolizması 3 ayrı yol izlemektedir.

a) Yağ ve diğer dokularda endosülfan ya da endosülfan sülfat olarak depolanır veya geçici bir süre alınır.

b) Endosülfan diol, endosülfan- α -hidroksi eter ve bilinmeyen bir metabolit halinde idrarla atılır.

c) Endosülfan, endosülfan sülfat, endosülfan- α -hidroksi eter ve endosülfan lakton olarak dışkı ile atılır (GUPTA, 1976).

Endosülfan metabolitlerinin açık formülleri aşağıda verilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3.

2.2.1.1. Kullanım Alanı ve Etkileri

Canlı vücuduna direkt temas etmesiyle veya besin yoluyla alındığında, özellikle midede etkili bir insektisit olan endosülfan'ın, sulardaki parçalanması mikroorganizmalara, pH'ya ve suyun oksijen miktarına bağlıdır (GUPTA, 1976). İyi havalanmış sularda endosülfan konsantrasyonunun belirli ölçülerde düşmüş olmasına rağmen, bir çok araştırmacı, endosülfan ve metabolitlerinin, balıklarda birikerek zararlı etkilere neden olduğunu ortaya koymuşlardır (RAO, 1980). Bir tatlısu balığında yapılan çalışmada, 60 gün içinde kan glikozu ve total plazma proteinlerinde, karaciğer ve kasta glikojen ile laktik asit konsantrasyonlarında bir azalmanın olduğu görülmüş, ayrıca böbrek ve barsaklardaki HK aktivitesinde düşüş saptanmıştır (SASTRY, 1983). Alabalıklarda yapılan bir başka çalışmada ise beyin ATPaz aktivitesinin inhibe edildiği bildirilmiştir (DAVIS, 1971).

Gerek direkt olarak, gerekse besin zinciri yoluyla bu insektisit ile karşı karşıya kalan insanlarda çok önemli toksik etkiler görülmemekle beraber uzun süre bu insektisit ile uğraşan insanlarda zehirlenme belirtilerine rastlanmaktadır (GUPTA, 1979). Endosülfan'ın LD₅₀ ve LD₃₀ dozlarının farelere etkisi titreme ve çarpınma şeklinde kendisini gösterdikten sonra ölüme neden olmaktadır. Zehirlenmenin diğer belirtisi ise solunumun yavaşlamasıdır (DURUSOY, 1983).

Sığırlarda besin yoluyla yedirilen endosülfan, karaciğer düz endoplazmik retikuluma bağlı anilin hidroksilaz enzim aktivitesi ile birlikte aynı organelde fosfolipid ve kolesterol seviyelerini artırdığı gibi, kullanılan doza bağlı olarak aminopirin-N-demetilaz anilinhidroksilaz, tirozin amino trans-

feraz enzim aktiviteleri ile beraber, lipid peroksidasyonunda da bir artışa neden olmuştur (RAMA, 1980; AGARWAL, 1978).

Endosülfan, özellikle karaciğer mikrozomal enzimlerini etkileyerek hücre organellerinde yapısal bozukluklar oluşturmakta ve özellikle lipid içeren dokularda birikerek (PARKE, 1974), membran lipidlerinin peroksidatif yıkımlarına neden olmaktadır (AGARWAL, 1978). Bu insektisit çok küçük dozları bile (0.5 ppm) böbreklerde yağ birikimini artırmaktadır (NIBHRITI, 1981).

Endosülfan uygulanmış sıçanlarda kan ve beyinlerinde pentobarbital konsantrasyonunun, 30 dak.da önemli ölçüde düştüğü gösterilirken (GUPTA, 1977), kemik iliği ve spermatogenetik hücrelerin sitogenetik analizleri sonunda endosülfan'ın, kromozomlarda önemli bir etki yaratmadığı (DIKSHITH, 1978), bununla beraber sıçanlarda incebarsak duyarlılığının azaldığı, kanda Ca ve glikoz seviyesinin düştüğü ve bunlara bağlı olarak vücut metabolizmasının bozulup spermatogenezisi olumsuz etkilediği saptanmıştır (GUPTA, 1978).

Yapılan bir çalışmada endosülfan'ın, Vit A düzeyini karaciğer ve incebarsakta azalttığı, buna karşın plazmada ve böbreklerde ise önemli ölçüde artırdığı gösterilmiştir (SRIRAM, 1983). DUBEY ve Ark.'da (1984) endosülfan ve metabolitlerinin mitokondrial enerjinin azalmasına neden olduğunu ortaya koymuşlardır.

Son yıllarda yurdumuzda da bu insektisit ile yapılan bazı çalışmalarda endosülfan'ın, 10 ppm lik dozunun, besin zincirinin en alt kısımlarında bulunan Chlorella sp.'nin gelişimini tamamen durdurduğu (TOKER, 1988), aynı zamanda değişik dozlarının farelerde karaciğer lizozomal asit fosfataz,

deoksiribonükleaz II, ribonükleaz II'nin inhibisyonuna, β -glukuronidaz enziminin 16. saate kadar inhibisyonuna, bu saatten sonra ise aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (DURUSOY, 1983).

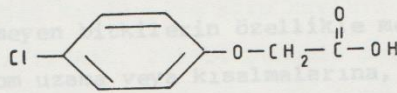
Diğer taraftan ÖZATA (1982), endosülfan'ın etkisiyle fare karaciğer hücrelerinde granüler endoplazmik retikulumun parçalandığını, şiştiğini, yağ vakuollerinin arttığını, glikojen partiküllerinin azaldığını, ribozomların, granüler endoplazmik retikulumdan ayrıldığını, mitokondri membranlarında erimelerin olduğunu, incebarsak hücrelerinde lizozomlarda asit fosfotaz aktivitesinin arttığını, böbrek lizozomlarında ise normale göre aktivitenin azaldığını göstermiştir.

Endosülfan'ın LD₃₀ dozunun farede L-Serin dehidrataz, L-Treonin dehidrataz ve glutaminaz enzim aktivitelerini azalttığı fakat L-Asparaginaz enzim aktivitesini etkilemediği saptanmıştır (ÜLKER, 1985). Diğer taraftan, aynı dozun farelerde serum alkalen fosfataz aktivitesini düşürdüğü saptanırken, non-prostatik enzim aktivitesinin endosülfan'dan etkilendiği ileri sürülmüştür (EREN, 1988). Yine LD₃₀ dozunun, fare karaciğer LDH ve G6P-DH aktivitesini baskıladığı, incebarsak alkalik fosfataz aktivitesini de azalttığı gösterilmiştir (SÜMER, 1984). Bir başka çalışmada ise endosülfan'ın farenin karaciğer ve kas glikojen seviyelerini kontrollere göre önemli ölçüde azalttığı saptanmıştır (DERE ve YANIKOĞLU, 1988).

2.2.2. 2,4-D

2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D), organik herbisitlerin fenoksi bileşikler grubundandır (KLINGMAN, 1975). Oksin özelliğinde olduğu için yabancı otlar üzerinde indol-

asetik asit gibi hormon etkisi göstererek bitkilerin düzen-
siz büyüme ve gelişmelerine neden olup, ölümlerine yol açar-
lar. Erime noktası 140 - 141 °C ve molekül ağırlığı 221 dir.
Saf durumda beyaz kristaller halinde gün ışığına dayanıklı
olan 2,4-D kokusuzdur. Pratik olarak suda kolayca çözülmez,
sudaki çözünürlüğü çok az olurken, organik çözücülerde iyi
çözünür. Normal şartlar altında yanıcı değildir. 2,4-D'nin
yağda çözünebilen amin tuzları (2,4-D alkanolamin tuzu, 2,4-
D'nin amin tuzu) amorf, kahverenkli ve kokusuz katı maddeler-
dir. Esterli bileşikleri (2,4-D bütilesteri, 2,4-D butoksi-
etilesteri, 2,4-D izopropilesteri) saf durumda renksiz, ko-
kusuz ve yoğun bir sıvıdır. Suda çözünmezler, organik çözücü-
lerde iyi çözünürler, buharlaşma güçleri yüksektir. Dimetil
amin tuzları ise beyaz kristaller halinde kokusuz maddeler-
dir. Suda iyi çözünürler, yağda çözünmezler, alev almazlar
ve buharlaşma güçleri düşüktür (KLINGMAN, 1975 ; ANONYM,
1979). 2,4-D'nin açık formülü aşağıda verilmiştir (Şekil 4).



Sekil 4. 2,4 -D (C₈ H₆ Cl₂ O₃)

Çalışmamızda kullanılan bu herbisit, yabancı otlar ü-
zerine erken gelişim devrelerinde uygulanır. Bitki yüzeyle-
rinde toplanan 2,4-D, yapraklar aracılığı ile diğer organla-
ra dağılır, besin maddeleri ile beraber taşınarak, genellik-
le kök ve gövdelerin büyümekte olan bölgelerinde toplanırlar.

Buralarda biriken 2,4-D, hücre büyümesine, bükülmelere, bo-
durlaşmaya, kök ve gövdede kalınlaşmalara yol açarak, bitki-
nin ölümüne neden olur (ANONYM, 1979).

İnsan metabolizmasına solunum ve deri yoluyla giren
(PRESCOTT, 1979) 2,4-D, hemen hidroliz olarak fenoksi asetik
asiti oluşturur, toksik etkisini de bu şekilde göstermektedir
(VURAL, 1984). İdrarla -alınan doza bağlı olarak- % 80 kada-
rının değişmeden, çok az kısmının glukronik asit ve amino a-
sitlerle konjuge olarak atıldığı gösterilirken (SAUERHOFF,
1977), karaciğer, böbrek, kalp ve dalakta birikebildiği de
tesbit edilmiştir (FEBORQUE, 1974).

2.2.2.1. Kullanım Alanı ve Etkileri

Vietnam savaşı sırasında ormanlık alanlarda askerlerin
saklandığı bölgeleri ortaya çıkarmak amacıyla yaprak dökücü
olarak kullanılan "Agent Orange" olarak da adlandırılan
(MORTELMANS, 1984) bu herbisit, genellikle mısır, çeltik, hu-
bubat ve meralardaki yabancı otlar üzerine kullanılmaktadır.
2,4-D, adı geçen bu bitkilere zarar vermezken (ÖZER, 1982),
ortamda istenmeyen bitkilerin özellikle meristematik hücrele-
rinde, kromozom uzama veya kısaltmalarına, anormal metafazla-
ra, kromozom yapışmalarına ve kümeleşmelerine neden olmakta-
dır (NAHLA, 1982).

Çeşitli konsantrasyonlarda 2,4-D uygulanmış arpada ya-
pılan çalışmalarda karyolojik düzensizlikler görülürken, buğ-
day bitkisinin kök ucu hücrelerinde 2,4-D ve bunun tuzlarının
5 katı fazla konsantrasyonda olduğu tesbit edilmiştir (SAALBACH,
1977). Bu herbisitin meristematik dokularda birikimi sonucu
buralarda DNA, RNA ve dolaylı olarak protein sentezinin art-
tığı görülmüştür (MOHR, 1978). Aynı zamanda sap ve meyvelerde

nişastanın hidrolize olması, şeker miktarının çok fazla artmasına (PENNER, 1966), sonuçta da bitkiler üzerinde yaşayan bazı böcek populasyonlarının, kendileri için artan bu besinler karşısında, aşırı çoğalmalarına neden olmuştur (RIPPER, 1964).

2,4-D uygulanmış bazı bitkilerin doku ve organlarında hücre uzamalarının olduğu, nükleik asit sentezinin engellendiği, mRNA sentezinin inhibe edildiği (THEOLOCIS, 1985), bazı mRNA'ların ise çeşitli değişikliklere uğrayarak sentezlenemediği ve dolayısıyla ortaya çıkan proteinin farklı olduğu gösterilmiştir (MEYER, 1984; ZURFLUH, 1982). Ayrıca bir grup araştırmacı, bitki hücre zarında ATPaz ve ATP kullanan fosfatazların aktive edildiğini, fosfatidal fosfataz enziminin ise inhibe edildiğini saptamıştır (GUNTHER ve Ark., 1978).

2,4-D'nin memeliler üzerindeki akut toksik etkisi genellikle dolaşım sistemi, kas sistemi ve merkezi sinir sistemi üzerinedir. Uygulamadan bir kaç saat sonra kaslarda zayıflık, vücut hareketlerinde düzensizlik ve koma hali görülür. Özellikle iskelet kasları ve kalp kasları üzerinde oldukça fazla etkilidir (VURAL, 1984). Bununla beraber tiroid bezinde şişme, kan ve kemik iliği hücrelerinde çeşitli bozuklukların olduğu da rapor edilmektedir (HALLIOP, 1980).

Günde vücut ağırlığı başına 375 mg/Kg dozda verilen 2,4-D'nin azalan testis ve prostat hacmine, anormal spermatogenezis'e ve ayrıca karaciğer ve böbrekte hasarlara neden olduğu (SCHILLINGER, 1960), farelerde ise 100 - 300 mg/Kg dozlarının ağız yoluyla alındığında kromozom hasarlarına neden olduğu tesbit edilmiştir (PILINSKAYA, 1974). Sıçan ve hamsterlerin (Cüce Avurtlak) karaciğer hücrelerinde yapılan in-

vivo ve in-vitro çalışmalarda peroksizomların artmasından kaynaklanan aktif oksijen gruplarının etkisiyle 2,4-D'nin genetik materyal üzerinde dolaylı bir etkiye sahip olduğu ortaya konmuştur (REDDY, 1982).

Üç ay boyunca düzenli olarak sıçanlara 2,4-D uygulandığı zaman kan serum alkalen fosfataz ve kan serum LDH aktivitelerinde düşme olurken, karaciğer alkalen fosfataz ve kan kolesterolaz enzim aktivitelerinde herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır (CAMPEL, 1986). Bununla beraber hamile farelere düzenli olarak 124 mg/Kg dozu verilecek olursa, yavrularda yarık damak oluşumuna neden olmakta, ayrıca 2,4-D'nin yavrularda birikmesi sonucu gelişim bozukluğu ve şuuruzluğun ortaya çıktığı görülmektedir (COURTNEY, 1977; CASEY, 1984).

2,4-D, sıçan karaciğerinde peroksizom artışına neden olurken, katalaz ve karnitin asetil transferaz enzimlerinin aktivitelerini de artırmakta, kan lipid düzeyini ise düşürmektedir (KAWASHIMA, 1984). Ayrıca glutation-S-transferaz enzimini de inhibe ettiği gösterilmiştir (WESSEY, 1984).

İnsanlardaki toksik etkileri de hayvanlardaki etkilere benzemektedir. Ancak uzun süre 2,4-D ile temasta bulunan kişilerde çeşitli kanser olaylarına rastlanmaktadır (SARMA, 1982). Kan plazmasındaki konsantrasyonu 335 mg/lt olduğu zaman toksik etkisini gösterirken, 447 - 826 mg/lt olduğu zaman öldürücü olmaktadır. Toksik etki esnasında genellikle hiperglisemi, hiperkolesterolemi ve kanda üre seviyesinde artma görülmüştür (CURRY, 1962). Bununla beraber 2,4-D üretiminde çalışan kişilerin 1/3 inde yapılan glikoz tolerans testlerinde, normal değerlere dönüşün çok yavaş olduğu, glikolitik enzim aktivitelerinde bir azalmanın meydana geldiği ortaya çıkmıştır (ANDREASIK, 1979).

2,4-D'nin bu tip belirtileri miyotoksik, nefrotoksik veya hepatoksik etkilerinden dolayı sekonder olarak ortaya çıkmaktadır (WHO, 1984).

2,4-D, kanın şekilli elemanlarında da değişiklikler yapmaktadır (HALLIOP, 1980). İnsan lenfosit kültürlerinde 2,4-D ile yapılan bir çalışmada kromozom kırıklarının olduğu (KORTE, 1982), kardeş kromatidlerde değişmelerin meydana geldiği saptanmıştır (PILINSKAYA, 1974).

Yurdumuzda da 2,4-D ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu herbisitinin üretiminde çalışan işçilerin idrarları düzenli olarak analiz edildiğinde 0.06 - 9.51 ppm arasında 2,4-D'ye rastlanmıştır (VURAL, 1983). Ergin erkek çekirgelerde yapılan bir başka çalışmada ise uygulanan her dozun kiazma frekansında önemli düşüslere ve kromozom hasarlarına neden olduğu gösterilmiştir (KOCA, 1986).

Yapılan enzimatik çalışmalarda ise 2,4-D'nin karaciğer G6P-DH enzimi üzerinde 32. saatte % 4 oranında aktivasyon, çalışılan diğer deney periyotlarında ise inhibisyon yaptığı (YELKOVAN, 1989), böbrek G6P-DH ve MDH enzim aktivitesini etkilemediği, fakat HK enzim aktivitesini etkileyerek inhibisyona neden olduğu saptanmıştır (PINARBAŞI, 1988).

2.2.3. Bacillus thuringiensis (B.t.) Preparatı

Zararlı olarak düşündüğümüz canlıların populasyonlarını zararsız seviyeye düşürmek için, yine bir başka canlıyı bu zararlıya karşı kullanmak, biyolojik mücadeleyi ortaya çıkarmıştır. Zararlılar için mikrobik doğal düşmanlar genellikle funguslar, protozoalar, viruslar ve bakterilerdir (BURGES, 1981). Bugün doğada gördüğümüz bu tip mikroorganizmalar ziraî mücadele

için ümit kaynaklarıdır. Örnek olarak Darluca filum, Tuberculina persicina adındaki funguslar ve Xanthomonas uredovorus adındaki bakteri, pas ürediospor yataklarında bulunurlar ve onların parazitidirler. Diğer taraftan bazı Actinomyces'lerin toprakta artması, toprakta bulunan ve çökerten hastalığının etkeni olan Pythium populasyonunu azaltmaktadır (ÖZER, 1976).

Spor oluşturmeyen bir çok bakteri, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera ve Orthoptera gruplarına etki ederken, spor oluşturan Bacillus cinsinin mecburi patojenleri Scarabeidae familyasına bağlı belirli böceklerde süt-lü hastalık (Milky disease) meydana getirmektedir. Bununla beraber B.t. preparatları son 14 yıldan bu yana üretilerek Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera ve Coleoptera takımlarına ait 55 zararlıya karşı başarıyla kullanılmaktadır (SMIRNOFF, 1974; GÜMÜŞSUYU, 1982). Bacillus cinsine ait birçok bakteri süşunun tarım zararlılarının biyolojik kontrolünde kullanılmalarına karşın, ekonomik etkisi ve üretilen miktarı göz önüne alındığında en büyük başarı B.t. süşlerinin kullanımından elde edilmiştir (DULMAGE, 1981).

B.t. grubu bakteriler, hareketli, çubuk şeklinde, 1.0-1.2 μ m genişliğinde 2-5 μ m uzunluğunda endospor oluşturan gram ve katalaz pozitif fermentatif mikroaerofilik ve anaerobik koşullarda üreme yeteneğine sahip bakterilerdir (BUCHER, 1981). B.t. ilk defa 1901 yılında Japonya'da "Flacheria" hastalığı adı verilen ve ipek böceklerinde görülen bir salgın sırasında ortaya çıkmıştır (ISHIWATA, 1901).

Bu bakteriler, sporulasyon esnasında sporun yanında piri-ramidi andıran parasporal bir kristal oluştururlar. Bu kristal,

molekül ağırlığı 130 000 dalton civarında olan bir polipeptit-
dir (BULLA, 1980). Parasporal kristalin % 5.6 sı karbohidrat,
% 54.4 ü proteindir. Bakterideki bu kristalin biyokimyasal ve
serolojik özellikleri ile, 20 den fazla varyetesi ortaya çı-
karılmış, ayrıca kamçı proteininin farklılıkları ile de H se-
rotipleri ayırt edilmiştir (BURSALIOĞLU, 1985).

B.t. suşlarının insektisit özellikleri, taşıdıkları
toksinlere göre farklılıklar gösterir. Suştan suşa değişiklik
gösteren bu toksinleri şöyle sıralayabiliriz. 1- Alfa-ekzotok-
sin, 2- Beta-ekzotoksin, 3- Delta-endotoksin, 4- Lesitinaz-C,
5- Toksin olmayabilecek, tanımlanmamış bir enzim (DULMAGE,
1971). Bu toksinlerden ikisi, Delta-endotoksin ve Beta-ekzo-
toksin ziraî mücadelede en çok kullanılan toksinlerdir (BULLA,
1976). Hedef böcek larvaları dışında hiç bir canlıya zarar
vermedikleri için Delta-endotoksinli B.t. varyetelerinin en
ideal insektisit olduğu ileri sürülmektedir (DULMAGE, 1975).
Bu toksinin karbohidrat ve amino asit bileşimi Tablo 1 de göste-
rilmiştir (BULLA, 1976).

Diğer taraftan karasinek mücadelesinde oldukça başarılı
olan Beta-ekzotoksin (OHBA, 1981), bir adenin türevi olup ya-
pısında adenin, riboz, glikoz ve fosfat grubuna bağlı allerik
asit bulunur (BOND, 1969). B.t.'in thuringiensis, kenyae, mor-
risoni, tolworthi ve dormstadiensis gibi varyetelerinde Beta-
ekzotoksin bulunmaktadır. 125 °C ye kadar dayanıklı olan bu
toksin, thuringiensis varyetesinde diğer varyetelere oranla
çok daha fazla sentezlendiği için, bu toksine thuringiensis
adı da verilmektedir (SEBESTA, 1981). B.t. var thuringiensis
toksini % 12 karbohidrat içerir. Bu karbohidratlar mannoz,
ksiloz ve arabinozdan oluşur (BETASON, 1970).

Tablo 1. B.t. Endotoksininde Karbohidrat ve Amino Asit Bileşimi

Amino asit ve şekerler	Kristalin 100 gr'ındaki miktarı (gr)
Aspartik asit	12,4
Threonin	5,5
Serin	5,9
Glutamik asit	13,1
Prolin	2,8
Glisin	3,6
Alanin	3,3
Sistin	1,4
Valin	5,8
Metionin	0,9
Izolösin	5,4
Lösin	7,7
Tirozin	5,7
Fenilalanin	5,0
Lizin	2,8
Histidin	1,9
Arjinin	10,3
Triptofan	1,7
Glikoz	3,8
Mannoz	1,8

B.t. preparatları larvalar üzerine uygulandıkları zaman sindirim kanalının ön kısmından mideye gelirler. Asidik ortamlarda inaktive olurken bazik pH'da aktifleşirler. Lepidopterlerin çoğunun mide pH'sı 10,2 - 10,5 arasında olduğu için bu ortamda kristal çözülür ve toksin proteolitik enzimler tarafından serbest bırakılır (DEACON, 1983). ARMSTRONG (1985) tarafından larvasidal aktiviteden, 25-28 Kd'luk polipeptidin sorumlu olduğu ifade edilirken, son çalışmalarda, 65 Kd'luk bir polipeptidin sorumlu olduğu bildirilmiştir (LEE, 1985). Tarım zararlılarının midesinde proteolitik enzimler tarafından açığa çıkarılan bu toksinler, hayvanın solunumunun hızlanmasına ve ATP eksikliği sonucu enerji yetmezliğine neden olurken, sindirim sistemi epitel hücrelerinin yüzeyinde glikoz alınımının engellenmesine, mikrovillüslerin şişmesine ve

sindirim boşluğundan kan dolaşımına iyon geçişini sağlayarak, kandaki iyon dengesinin bozulup, zararlıının ölmesine sebep olurlar (FAST, 1981).

2.2.3.1. Kullanım Alanı ve Etkileri

B.t. preparatları çeşitli ticari isimlerle 8 ülkede ve 14 üretim merkezinde elde edilmekte ve pek çok zararlı böceğin kontrolünde kullanılmaktadır. Örneğin orman ağaçlarında Choristoneura fumiferana zararlısına karşı kullanılmış ve iki yıl içinde kimyasal insektisitlerden, uzun dönemde daha etkili olduğu saptanmıştır (SMIRNOFF, 1974). Diğer bir çalışmada ise bütün bitkisine zarar veren değişik türdeki zararlılara karşı etkili olduğu gösterilmiştir (VANDER, 1971).

Sivrisinek mücadelesi esnasında suya karışan B.t. toksinlerinin su ortamlarında yaşayan ve hedef dışı olan Berosus sp., Cyclops fuscus, Daphnia magna, Cordilia sp., Artemia salina, Cambusia affinis, Ostrea edulis gibi organizmaların larva ve erginlerinin B.t. endotoksininden etkilenmedikleri ve bu nedenle de sivrisinek mücadelesinin yapıldığı bölgelerde doğal dengenin korunduğu belirtilmiştir (ANONYM, 1981).

B.t.'in farklı varyeteleri tarafından üretilen delta-endotoksininin ve beta-ekzotoksininin bakterideki miktarları suşlara göre farklılıklar gösterdiği için bunların Lepidoptera ve Diptera grubu böcekler üzerindeki etkilerinin de farklı olduğu tesbit edilmiştir. Bunun üzerine B.t.'in 6 varyetesinin ürettiği beta-ekzotoksin, 4 farklı karasinek Musca domestica L. soyu larvalarına verilmiş ve ölüm gözlenmiştir. Uygulanan 6 varyeteden en etkili olanının B.t. var. thuringiensis olduğu saptanmıştır (BAĞCI, 1985).

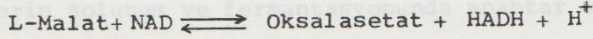
B.t. var. thuringiensis'ten elde edilen ve Tarmik-3 ticari adı verilen preparat, laboratuvar koşullarında büyük ungüvesi (*Galleria mellonella*), yüzük kelebeği (*Malocosoma neustria*) ve *Ephestia kuehriella* üzerinde denenmiş % 84 - % 100 oranında başarılı olmuştur. Aynı preparatın saha uygulamalarında ise Ankara'nın Çubuk ilçesi Sirkeli bucağında elma ağ kurduna (*Hyponomeuta malinellus*) karşı kullanılmış ve % 96 oranında başarı elde edilmiştir (BOŞGELMEZ, 1983).

Bir biyolojik insektisit olarak kullanılan B.t. preparatlarının, sivrisinek, karasinek ve kelebek larvalarına karşı oldukça etkili olduğu bildirilirken (WHITELEY, 1986), yiyecek ve içeceklerle birlikte, gerek memeli hayvan gerekse insanlar tarafından alınan B.t. preparatlarının, metabolizma için herhangi bir riskinin olmadığı (DE BARJAC, 1980), memeli sindirim sisteminde gelişemediği, feces yoluyla dışarı atıldığı bildirilmiştir (SHADDUCT, 1980). Ayrıca B.t. var. thuringiensis, var. kurstaki ve var. israelensis preparatlarının, percutan subcatan, intraperitoneal, intravenöz ve oral yolla tavşanlara, domuzlara, sıçanlara, farelere ve tavuklara verildikten sonra yapılan çalışmalarında 10^6 canlı organizmaya kadar zararsız olduğu, memeli dokusunda in-vivo olarak çoğalamadığı, ancak enjeksiyon bölgesinde 3-4 hafta kalabildiği, dalakta toplandığı, gözlerde görülen hafif iritasyonun ise geçici olduğu saptanmıştır (KRIEG, 1984). Ancak yapılan çalışmanın diğer kısmında $10^7 - 10^8$ bakteri/hayvan dozunun toksik olmadığı söylenirken, fare beyine 10^6 dan fazla bakteri enjeksiyonunun ölümlere neden olduğu ileri sürülmektedir (KRIEG, 1984). Buna ilave olarak B.t. preparatlarının böcekler üzerinde teratojenik etkisinin saptanmış olması ve muhtemelen mutajenik etkisinin olabileceği

düşünceleri beta-ekzotoksininin, insektisit olarak bazı ülkelerde kullanılması sakıncalı görülmüştür (BURGES, 1981).

2.3. Malat Dehidrogenaz (MDH) Enzimi

L-Malat Oksidoredüktaz (EC.1.1.1.37) adıyla da bilinen enzim, aşağıdaki tepkimeyi katalizler.



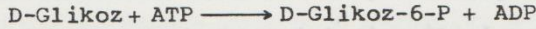
Bu enzim iki ayrı hücresel fraksiyonda bulunmaktadır. Birincisi sitoplazmik MDH (s-MDH), ikincisi ise mitokondrial MDH (m-MDH) dir. Bunların fiziksel ve kimyasal özellikleri birbirlerine benzemekle beraber; pH, substrat affinitesi ve organlardaki dağılımları farklılıklar gösterir. MDH'in sitoplazma ve hücre dışı bölgelerde yüksek konsantrasyonda olması, aynı zamanda hücre membranında düşük seviyede olması, serumda MDH'in seviyesinin yükselmesini sağlar.

Domuz kalp kasından elde edilen m-MDH enzimi 14 SH grubu kapsar. Enzim, molekülü başına 2 mol koenzim bağlar. Enzime bağlanan substrat her molekül için 2 SH grubuna ihtiyaç duyar. Yaklaşık olarak molekül ağırlıkları 35.000 olan 2 alt birimden oluşur. Denge sabiti ($\text{pH} = 7,2 : 23^\circ\text{C}$) $K_{eq} = 2,33 \cdot 10^{-12}$, Michaelis sabiti ($\text{pH} = 10$) L-Malat : $5,5 \cdot 10^{-5}$ M dir.

Aktivatörleri fosfat, arsenat ve çinko iyonları olurken, inhibitörleri 10^{-3} M oksaloasetat, fenoller, 1.10-fenantrolin, 8-hidroksiquinolin, nikotinic asit amid ve adenindir. Sülfid, NAD ve enzim ile bir üçlü kompleks oluşturarak inhibe etmektedir. Tiroksinin yaptığı inhibisyon ise tersinirdir (BOHRINGER, 1973).

2.4. Hekzokinaz (HK) Enzimi

ATP : D-hekzos-6-fosfotransferaz (EC.2.7.1.1.) adıyla da bilinen enzim aşağıdaki tepkimeyi katalizler.

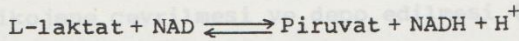


Fosforilasyonda önemli bir rol oynayan HK, bütün canlı hücrelerin solunum ve fermentasyonunda anahtar enzimdir. Denge durumunda tetramer halde olup molekül ağırlığı 100.000 - 111.000 iken, aktif halde dimer olup 50.000 - 55.000 molekül ağırlığına sahiptir. Her enzim molekülü 8 SH grubu içerir. Aktivitesi için bunlardan 4 tanesine ihtiyaç duyar.

Ekmeek mayasından elde edilen bu enzimin denge sabiti ($\text{pH} = 6,6 : 30^\circ\text{C}$) $K_{eq} = 3,86.10^2$ (Mg^{++} hariç) ve $K_{eq} = 1,55.10^2$ ($17 - 79 \text{ mM Mg}^{++}$) olup, Michaelis sabitesi substratlarına göre değişmektedir. Enzim, katalitik etki gösterebilmek için Mg^{++} iyonlarına ihtiyaç duyarken, sorboz-1-fosfat, polifosfat, 6-deoksi-6-floroglukoz, liksoz ve 2-C-hidroksi metil glikoz gibi maddeler inhibe etmektedir (BOHRINGER, 1973).

2.5. Laktat Dehidrogenaz (LDH) Enzimi

L-Laktat : NAD oksidoredüktaz (EC. 1.1.1.27) adıyla da bilinen enzim aşağıdaki tepkimeyi katalizler.



140.000 molekül ağırlığında bir tetramer olan ve hücre içinde görev alan bu enzim bütün dokularda bulunurken, özellikle böbrek, iskelet kası, karaciğer ve kalp kasında bol olarak dağılmıştır. Bu dokulardaki LDH enzimleri yapı bakımından birbirlerinden farklıdır. Her enzim molekülü 13 SH grubu içerirken, enzime bağlanan substrat, her molekül için 3 SH grubuna

ihtiyaç duyar. Katalizlediği reaksiyonun denge sabitesi (fosfat tamponunda, $\text{pH} = 7 : 25^{\circ}\text{C}$) $\text{K}_{\text{eq}} = 2,76.10^{-5}$ dir.

Inhibitör ve aktivatörleri, substrat olarak kullandığı (Piruvat ve laktat) moleküllere göre değişmektedir. LDH'nin katalizlediği bu tepkime tersinirdir. İleri tepkime için $\text{pH} 9-10$ olurken, geri tepkime $6,8 - 7,5$ olmalıdır. Hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında hücre metabolizmasını regüle etmektedir (BOHRINGER, 1973).

2.6. Karaciğer ve Kas Glikojeni

Hayvansal organizmalarda, bir glikoz polimeri olan glikojen, önemli bir enerji kaynağıdır. Memelilerde, karaciğer ve kasta en fazla oranda, diğer doku ve organlarda (Beyin hariç) ise az miktarda depo edilir. Saf glikojen renksiz, tatsız ve amorf yapıda bir madde olup, suda opelason bir solüsyon oluşturur. İyod ile kırmızı - kahverengi bir renk verir. Spesifik çevirme derecesi $+196,6$ dir.

Organizmada yüksek oranda tüketilen glikozun kandaki seviyesinin sabit tutulması önemlidir. Bu düzenleme işini karaciğer üstlenmiştir. Karaciğerin bu dengeyi korumadaki görevi başlıca iki noktada toplanmaktadır. Birincisi hiperglisemi esnasında fazla glikozun karaciğer hücreleri tarafından tutularak glikojene çevrilmesi ve depo edilmesi (Glikojenez); ikincisi ise Hipoglisemi esnasında depo ettiği glikojeni glikoza çevirerek kana vermesidir (Glikojenoliz).

Kaslardaki Glikojenez ve Glikojenoliz karaciğerdekine benzemekle beraber bazı farklılıklar da göstermektedir. Bu farklılıkların en önemlisi, kaslarda meydana gelen glikozun kan şekerinin düzenlenmesinde kullanılamamasıdır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Deney Hayvanı

Deneyler, Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde 20 ± 5 °C sıcaklık, $\% 40 \pm 5$ bağıl nem içeren laboratuvar koşullarında üretilen 25 - 35 gr ağırlığında erkek beyaz farelerle (*Mus musculus*, Swiss - Albino) yapıldı.

Fareler, Sivas yem fabrikası tarafından üretilen standart fare yemi ile beslenerek günlük su ihtiyaçları düzenli bir şekilde karşılandı. Kontrol grubunda çalışılan her saat için 5, deney grubunda çalışılan her saat için 10 fare kullanıldı.

3.2. Kullanılan Pestisitler

Organiklorlu insektisitler grubundan olan endosülfan ve organik fenoksi herbisitler grubundan olan 2,4-D, $\% 70$ lik etanol içinde; bir biyolojik insektisit olan ve Tarmik-3 ticari adı verilen B.t. var. thuringiensis preparatı ise serum fizyolojik içinde çözülerek kullanıldı.

3.2.1. Farelere Pestisit Uygulanması

Pestisit enjeksiyonu için, farelerde intraperitoneal enjeksiyonla tayin edilen LD_{30} dozları kullanıldı. Endosülfan için 4,64 mg/Kg vücut ağırlığı dozu (ÖZATA, 1982), 2,4-D için 338 mg/Kg vücut ağırlığı dozu (YELKOVAN, 1989) ve B.t. preparatı için Reed Muench yöntemine (IPSEN ve FEIGL, 1970) göre intraperitoneal enjeksiyonla tayin edilen LD_{30} dozu kullanıldı.

Enjeksiyondan önce hayvanlar, 24 saat aç bırakıldı. Enzim aktivite çalışmalarında endosülfan ve 2,4-D'nin etkisini kontrol edebilmek için serum fizyolojik ve etanol kontrol ol-

mak üzere iki grup kontrol ele alınırken, B.t. preparatının etkisini kontrol edebilmek için sadece serum fizyolojik kontrol grubu kullanıldı. Karaciğer ve kasta glikojen seviyelerinin saptanmasında 2,4-D'nin etkisini kontrol için etanol kontrol, B.t. preparatının etkisini kontrol için ise serum fizyolojik kontrol grubu kullanıldı.

Uygun konsantrasyondaki deney çözeltilerinin hayvanlara intraperitoneal enjeksiyonu 1 ml lik cam enjektörlerle yapıldı. Enjektör ve enjektör iğnesi her enjeksiyondan önce 15 dak. saf su içinde kaynatılmak suretiyle kullanıldı.

3.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $3\text{H}_2\text{O}$, MgCl_2 , KCl , H_2SO_4 Thioüre MERCK firmasından; Oksalasetat, NADH, NADP, TEA, ATP, G6P-DH, Sodyum Piruvat, Trikloroasetik asit, Anthron, 2,4-D SİGMA firmasından; Etanol (% 96) TEKEL'den; Endosülfan Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü pestisit laboratuvarından; B.t. preparatı Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarından sağlandı.

3.4. Özgül Aktivite Çalışmaları İçin Enzim Kaynağının Elde Edilmesi

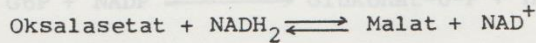
Enjeksiyon işleminden 4, 8, 16, 32, 64 saat sonra servikal dislokasyon yoluyla öldürülen fareler karın kısmından açılarak karaciğer üzerindeki safra kesesi patlatılmadan ayrıldıktan sonra karaciğer ve böbrekler çıkarıldı. Her iki organ ayrı ayrı, içinde 0.15 M soğuk KCl çözeltisi bulunan buz içindeki beherlere alındı. Beherler içinde, makas yardımıyla küçük parçalara ayrılan organlar, bir kaç kere 0.15 M soğuk KCl ile yıkandıktan sonra kurutma kağıdı üzerine alınarak

fazla suyun uzaklaşması sağlandı. Daha sonra Bosch 2000 marka hassas terazide, karaciğer 1 gr olacak şekilde tartılırken, yaklaşık olarak 300 - 500 mg ağırlığında olan böbreklerin her ikisi de tartıldı. Özütleme işlemi için 1/3 ağırlık/ hacim olacak şekilde 0.15 M KCl ile ayrı ayrı özütleyici tüpüne alınan organlar, B. Braun tipi homojenizatörün 1400 devir/dak hız durumunda 3 vuruşla özütlendi. Özütleme işlemi buzlar içinde yapıldı. Özütler, toplam hacim 5 ml olacak şekilde ayarlanarak orijinal santrifüj tüplerine kondu. Rotor numarası 40.3 olan L5-75 B ultrasantrifüjünde 20.000 rpm de 15 dak döndürüldü. Süpernatant pastör pipeti yardımıyla çökeltiden ayrılarak, enzim kaynağı olarak kullanıldı. Deney sonunda artan süpernatant protein çalışmalarında kullanılıncaya kadar derin dondurucuda donduruldu. Özütleme ve santrifüjleme işlemlerinin 0 - 4 °C de yapılmasına dikkat edildi.

3.5. Pestisit ve Kontrol Gruplarına Karşı Yapılan Enzim Özgül Aktivite Çalışmaları

3.5.1. MDH Enzimi Özgül Aktivitesinin Tayini

MDH aşağıdaki tepkimeyi katalizler.



Tepkime hızı, Beckman model 26 spektrofotometresinde, oksaloasetatın malata dönüştürülmesi esnasında oksidasyona uğrayan NADH'in 25 °C de 340 nm dalga boyunda 5 dak boyunca azalan absorbansı kaydedilerek, elde edilen ΔA değerinden saptandı (BOHRINGER, 1973).

Çözeltiler

0,1 M Fosfat tamponu	(pH : 7,5)
15 mM Oksalasetat	(Taze hazırlandı)
12 mM NADH	(Taze hazırlandı)

Metod

Deney Karışımı;

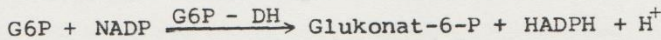
Fosfat Tamponu	2.83 ml
Oksalasetat	0.1 ml
NADH	0.05 ml
Enzim	0.02 ml

Enzim kaynağı olarak fare karaciğer ve böbrek homojenatları 20 kez tamponla seyreltilerek kullanıldı. Özgül aktivite aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı (WORTHINGTON,1978).

$$\text{Özgül aktivite} = \frac{\Delta A_{340}/\text{dak}}{6,22 \times \text{mg enzim protein/ml tepkime karışımı}}$$

3.5.2. HK Enzimi Özgül Aktivitesinin Tayini

HK aşağıdaki tepkimeyi katalizler



Tepkime hızı, Beckman model 26 spektrofotometresinde glikozdan G6P'ın oluşması, G6P'ın da G6P - DH enzimiyle Glukonat-6-P'a dönüştürülmesi esnasında oluşan NADPH'in 25 °C de 340 nm dalga boyunda, 5 dak boyunca artan absorbansı kaydedilerek, elde edilen ΔA değerinden saptandı (BOHRINGER, 1973).

Çözeltiler

0.1	M TEA	(pH : 7,6)
0.55	M Glikoz	(Taze hazırlandı)
0.1	M MgCl ₂	(Taze hazırlandı)
81	mM ATP	(Taze hazırlandı)
11	mM NADP	(Taze hazırlandı)
140	U/mg G6P - DH	

Metod

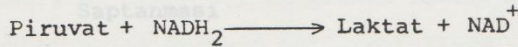
Deney karışımı;

TEA	1.27 ml
Glikoz	1.20 ml
MgCl ₂	0.20 ml
ATP	0.10 ml
NADP	0.20 ml
G6P - DH	0.01 ml
Enzim	0.2 - 0.4 ml

Enzim kaynağı olarak fare karaciğer homojenatından 0,2 ml alınırken böbrek homojenatından 0,4 ml alındı. Özgül aktivite, MDH özgül aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan formülle hesaplandı (WORTHINGTON, 1978).

3.5.3. LDH Enzimi Özgül Aktivitesinin Tayini

LDH aşağıdaki tepkimeyi katalizler



Tepkime hızı, Beckman model 26 spektrofotometresinde piruvatın laktata dönüştürülmesi esnasında oksidasyona uğrayan NADH'in 25 °C de 340 nm dalga boyunda azalan absorbansı kaydedilerek, elde edilen ΔA değerinden saptandı (BOHRINGER, 1973).

Çözeltiler

- 0.1 M Fosfat tamponu (pH : 7,0)
23 mM Sodyum piruvat (Taze hazırlandı)
12 mM NADH (Taze hazırlandı)

Metod

Deney Karışımı;

Fosfat tamponu	2.83 ml
Sodyum piruvat	0.10 ml
NADH	0.05 ml
Enzim	0.02 ml

Enzim kaynağı olarak kullanılan karaciğer ve böbrek homojenatları 20 kez tamponla seyreltilerek kullanıldı. Özgül aktivite, MDH özgül aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan formülle hesaplandı (WORTHINGTON, 1978).

3.6. Total Protein Tayini

Homojenatların 1 ml sindeki protein miktarları, Biüret yöntemi ile saptandı (VARLEY, 1980). Protein standardı olarak siğir serum albumini kullanıldı ve gerekli hesaplamalar bu standarda göre yapıldı.

3.7. Karaciğer ve Kasta Glikojen Seviyelerinin Saptanması

Enjeksiyon işleminden 2, 4, 8, 16, 32, 64 ve 72 saat sonra servikal dislokasyon yoluyla öldürülen farelerden enzim aktivite tayini için 1 gr olarak alınan karaciğerlerden arta kalan karaciğerin hepsi tartılarak glikojen tayini için kullanıldı. Kas izolasyonu için ise, farenin her iki bacağı kuyruk sokumu hizasından kesilerek çıkarıldı ve bu bacaklardan femur bölgesinin üstündeki kaslar, kemiklerden sıyrılıp ayrılarak

hassas terazide tartıldı. Gerek karaciğer gerekse kas tartıldıktan sonra hemen, içinde soğuk % 10 luk trikoloroasetik asit (TCA) bulunan kaplar içine konarak homojenize edilene kadar derin dondurucuda donduruldu.

Homojenizasyon işlemi için soğuk homojenizasyon kabına alınan karaciğerin veya kas dokusunun üzerine % 10 luk 2 ml TCA ilave edildi. Daha sonra süper star homojenizatöründe 15.000 devir/dak 11k bir hızla 5 dak homojenize edildi. İşlemin sonunda homojenizatör 2 ml TCA ile yıkanıp doku özütü whatman No 41 süzme kağıdından süzüldü, berrak olarak ayrılan süzüntünün hacmi hesaplanarak kaydedildi. Gerek karaciğer gerekse kas süzüntüsünden uygun hacimlerde alınarak tüplere aktarıldı. Üzerlerine, alınan hacmin 5 katı kadar % 95 lik etanol ilave edildi. Tüplerin ağızları parafilm ile kapatıldıktan sonra 35 - 40 °C deki su banyosuna konarak glikojenin çökmesi için bir gece bekletildi (JOSEPH ve Ark., 1961). İçinde glikojen bulunan bu tüpler Hettich Universal II santrifüjünde 3.500 devirde 15 dak santrifüj edildi ve çöken glikojen süpernatanttan ayrıldı. Tüplerin kurumasını bir müddet bekledikten sonra glikojenler 2 şer ml saf su içinde çözüldü. Bu tüplerin yanına bir kör, bir de standart tüp hazırlandı. Kör 2 ml saf su, standart ise 2 ml sinde 0.1 mg glikoz içeriyordu. Bütün tüplerin üzerine 10 ar ml Anthron belirteci ilave edildi. Tüplerin ağızları parafilm ile kapatıldıktan sonra 85 °C deki su banyosunda 30 dak bekletildi. Süre sonunda sıcak sudan çıkartılan tüpler soğuk su banyosunda 5 dak kadar soğutulduktan sonra bir müddet oda sıcaklığına gelmesi beklendi. Daha sonra bu tüplerin 620 nm dalga boyunda Beckman model 26 spektrofotometresinde absorbans değerleri okundu. Okuma işlemi her örnek için 3 paralel test tüpü üzerinden yapıldı.

Dokuların yaş ağırlığına göre glikojen yüzdeleri ise (Dokunun her 100 mgındaki glikojenin mg cinsinden değeri) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$\frac{DU}{DS} \times 0.1 \times \frac{\text{Ekstrakt hacmi (ml)}}{\text{Dokunun ağırlığı (mg)}} \times 100 \times 0.9 = \text{Dokunun her 100 mgındaki glikojen mg miktarı.}$$

DU: Bilinmeyen absorbansı

DS: Standardın absorbansı

0.1: 2 ml standart solüsyondaki glikoz miktarı

0.9: Glikoz miktarının glikojen miktarına dönüştürme sabiti (NICHOLAS ve Ark., 1955).

3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

Yapılan deneyler sonucunda elde edilen verilerin karşılaştırılmasında Varyans analizi kullanılmıştır (SNEDECOR, 1964). Ortalamalar arasındaki farkın önem kontrolü için "Multiple Range Testi" uygulanmıştır (DUNCAN, 1955). Ortalamalar arası farklar 0.05 olasılık düzeyinde F değerinden büyük olduğu zaman önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. B.t. Preparatının LD₃₀ Dozunun Saptanması

Reed - Muench biyoistatistik yöntemine göre (IPSEN ve FERGL, 1970) erkek farelerde 1287 mg/Kg vücut ağırlığı dozu saptandı.

4.2. B.t. Preparatının Karaciğer Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

B.t. preparatının karaciğer MDH, HK ve LDH aktivitele-
rine etkisi Şekil 5-6-7 de, özgül aktivite değerleri ise
Tablo 2 de görülmektedir.

Bir gün aç bırakılmış farelerde B.t. preparatı, kontro-
le göre MDH aktivitesini 4. saatte yaklaşık olarak 3.5 katı
kadar stimüle etmekte, 8. ve 16. saatlerde de kontrol grubunun
üstündeki değerlerde görülmektedir. 24. saatten itibaren ise
kontrol grubunun altında, ancak istatistiksel bakımdan önem-
siz derecede bir inhibisyon görülmektedir.

B.t. preparatı HK aktivitesini ilk saatlerden itibaren
aktive etmekte ve bu aktivasyon 16.saatte kontrol grubunun 2
katına kadar çıkmaktadır.Bu saatten sonra 30.saate kadar olan
aktivitedeki azalmayı,32.saatte bir inhibisyon izlemektedir. An-
cak bu saatte görülen inhibisyon,kontrol değerleri ile hemen
hemen aynı değerdedir. Çalışılan diğer deney periyodunda çok
az bir aktivasyon görülse de bu,istatistiksel olarak önemsizdir.

B.t. preparatı LDH aktivitesini 4. saatte 4.5 kat aktive
ederken 16. saatte 1.5 kat aktive etmekte, ancak 32. saatteki
önemsiz stimülasyondan sonra 40. saatten itibaren kontrol gru-
bunun altında ve istatistiksel olarak önemsiz derecede inhibis-
yona neden olmaktadır.

Tablo 2. Serum Fizyolojik Kontrol ve Bacillus thuringiensis (B.t.) Preparatının Değişik Saatlerde Karaciğer MDH, HK ve LDH Aktivitelerine Etkileri

Deney Periyodu	4. Saat		8. Saat		16. Saat		32. Saat		64. Saat	
	Ort. $\pm$ SH ^x	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH
MDH	Serum Fizyolojik Kontrol	6.000 $\pm$ 0.41 $\bar{x}$	15.400 $\pm$ 1.59 b x	22.800 $\pm$ 0.45 c x	23.500 $\pm$ 1.31 c x	21.100 $\pm$ 0.57 c x				
	B.t. Preparatı	20.500 $\pm$ 0.97 ab y	19.600 $\pm$ 1.56 b x	24.900 $\pm$ 0.01 a x	21.300 $\pm$ 1.34 ab x	18.800 $\pm$ 1.13 b x				
HK	Serum Fizyolojik Kontrol	0.005 $\pm$ 0.00 a x	0.017 $\pm$ 0.01 b x	0.033 $\pm$ 0.00 c x	0.041 $\pm$ 0.01 c x	0.037 $\pm$ 0.01 c x				
	B.t. Preparatı	0.021 $\pm$ 1.85 a y	0.030 $\pm$ 0.01 b y	0.075 $\pm$ 0.11 c y	0.036 $\pm$ 0.03 bd x	0.040 $\pm$ 0.01 d x				
LDH	Serum Fizyolojik Kontrol	3.400 $\pm$ 0.25 a x	14.500 $\pm$ 0.58 b x	15.000 $\pm$ 1.07 bc x	18.600 $\pm$ 0.72 d x	17.000 $\pm$ 0.78 cd x				
	B.t. Preparatı	14.100 $\pm$ 0.36 a y	14.700 $\pm$ 0.48 a x	23.600 $\pm$ 1.77 b y	19.600 $\pm$ 2.22 b x	14.300 $\pm$ 0.96 b x				

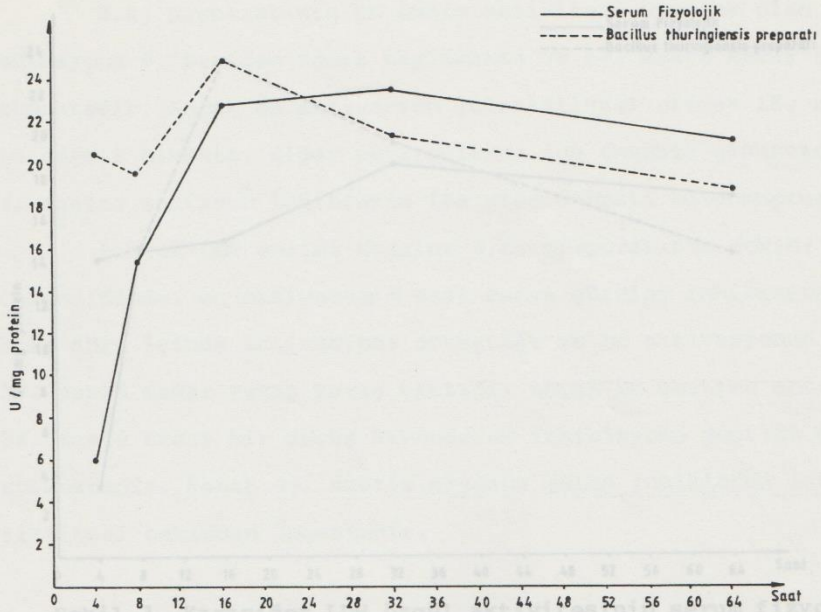
*: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (abc)

**: Düşey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xy)

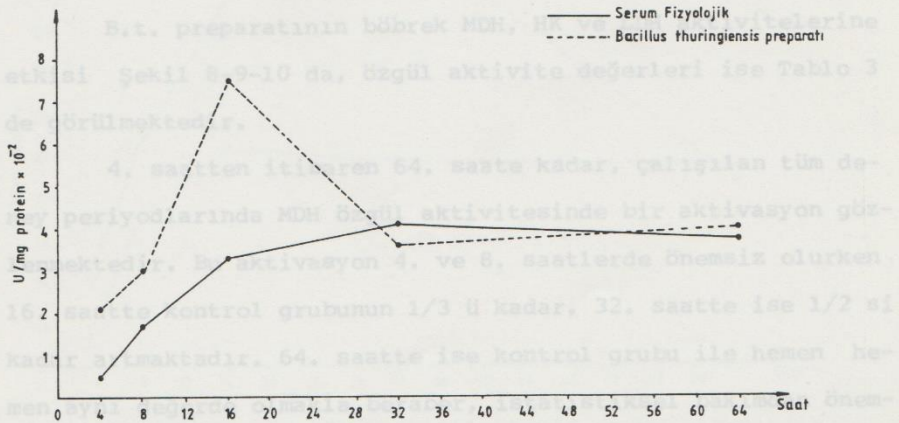
x : Tablodaki her veri U/mg protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir

SH : Standart Hata

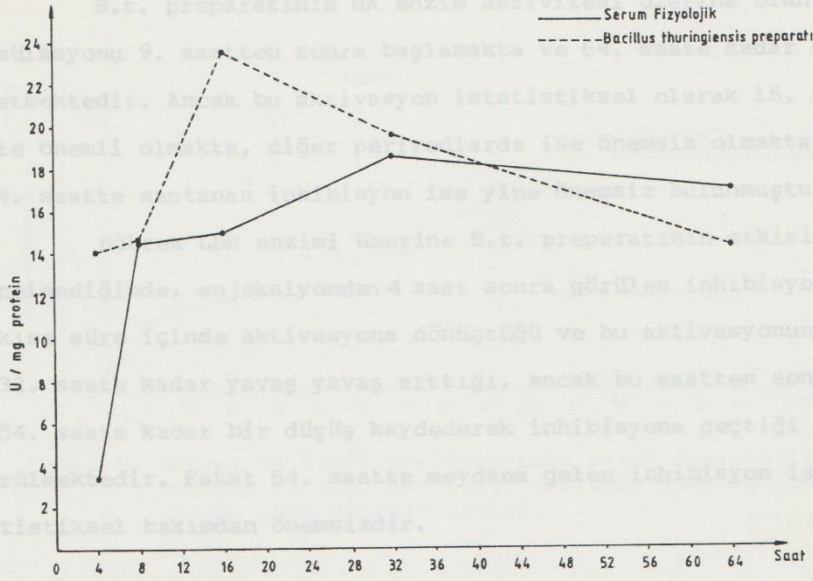
Ort.: Ortalama



Şekil 5. Karaciğer MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş gruplar için zamana göre değişim grafiği



Şekil 6. Karaciğer HK özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş gruplar için zamana göre değişim grafiği



Şekil 7. Karaciğer LDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş gruplar için zamana göre değişim grafiği

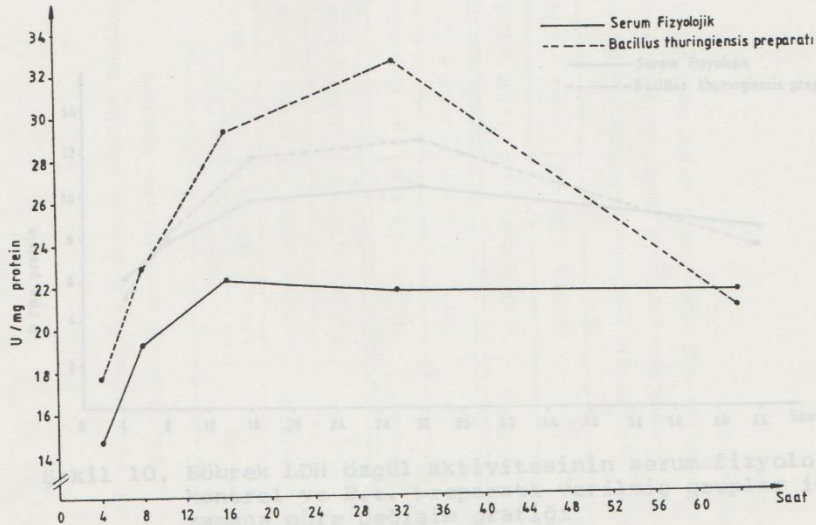
4.3. B.t. Preparatının Böbrek Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

B.t. preparatının böbrek MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkisi Şekil 8-9-10 da, özgül aktivite değerleri ise Tablo 3 de görülmektedir.

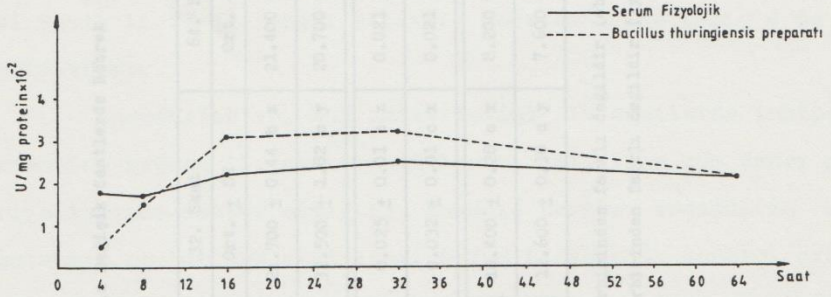
4. saatten itibaren 64. saate kadar, çalışılan tüm deney periyodlarında MDH özgül aktivitesinde bir aktivasyon gözlenmektedir. Bu aktivasyon 4. ve 8. saatlerde önemsiz olurken 16. saatte kontrol grubunun 1/3 ü kadar, 32. saatte ise 1/2 si kadar artmaktadır. 64. saatte ise kontrol grubu ile hemen hemen aynı değerde olmakla beraber, istatistiksel bakımdan önemsiz olan bir inhibisyon görülmektedir.

B.t. preparatının HK enzim aktivitesi üzerine olan stimülasyonu 9. saatten sonra başlamakta ve 64. saate kadar devam etmektedir. Ancak bu aktivasyon istatistiksel olarak 16. saatte önemli olmakta, diğer periyodlarda ise önemsiz olmaktadır. 4. saatte saptanan inhibisyon ise yine önemsiz bulunmuştur.

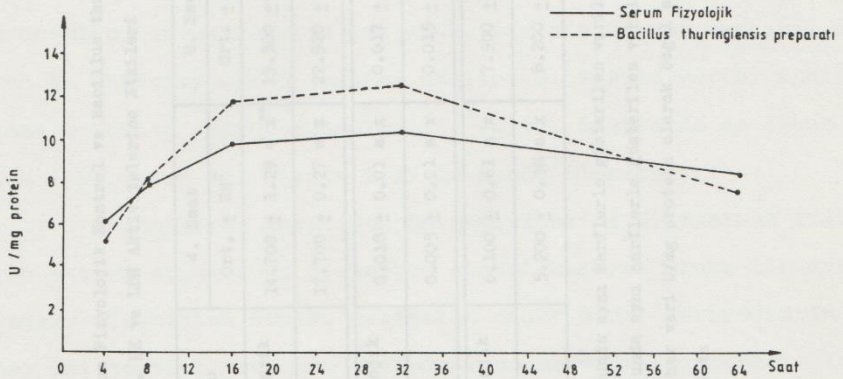
Böbrek LDH enzimi üzerine B.t. preparatının etkisi incelendiğinde, enjeksiyondan 4 saat sonra görülen inhibisyonun, kısa süre içinde aktivasyona dönüştüğü ve bu aktivasyonun da 32. saate kadar yavaş yavaş arttığı, ancak bu saatten sonra 54. saate kadar bir düşüş kaydederek inhibisyona geçtiği görülmektedir. Fakat 64. saatte meydana gelen inhibisyon istatistiksel bakımdan önemsizdir.



Şekil 8. Böbrek MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş gruplar için zamana göre değişim grafiği



Şekil 9. Böbrek HK özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş gruplar için zamana göre değişim grafiği



Şekil 10. Böbrek LDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı verilmiş gruplar için zamana göre değişim grafiği

Tablo 3. Serum Fizyolojik Kontrol ve Bacillus thuringiensis (B.t.) Preparatının Değişik Saatlerde Böbrek MDH, HK ve LDH Aktivitelerine Etkileri

	Deney Periyodu	4. Saat		8. Saat		16. Saat		32. Saat		64. Saat	
		Ort. $\pm$ SH ^r		Ort. $\pm$ SH		Ort. $\pm$ SH		Ort. $\pm$ SH		Ort. $\pm$ SH	
MDH	Serum Fizyolojik Kontrol	14.700 $\pm$ 1.29 a x*		19.300 $\pm$ 0.30 b x		22.300 $\pm$ 1.35 b x		21.700 $\pm$ 0.44 b x		21.400 $\pm$ 0.68 b x	
	B.t. Preparatı	17.700 $\pm$ 0.27 a x		22.920 $\pm$ 1.00 b x		29.300 $\pm$ 1.98 c y		32.500 $\pm$ 1.82 c y		20.700 $\pm$ 1.82 ab y	
HK	Serum Fizyolojik Kontrol	0.018 $\pm$ 0.01 a x		0.017 $\pm$ 0.01 a x		0.022 $\pm$ 0.01 a x		0.025 $\pm$ 0.01 a x		0.021 $\pm$ 0.01 a x	
	B.t. Preparatı	0.005 $\pm$ 0.01 a x		0.015 $\pm$ 0.01 b x		0.031 $\pm$ 0.01 c y		0.032 $\pm$ 0.01 c x		0.021 $\pm$ 0.01 d x	
LDH	Serum Fizyolojik Kontrol	6.100 $\pm$ 0.61 a x		7.900 $\pm$ 0.65 b x		9.800 $\pm$ 0.45 c x		10.400 $\pm$ 0.28 c x		8.200 $\pm$ 0.14 b x	
	B.t. Preparatı	5.200 $\pm$ 0.38 a x		8.200 $\pm$ 0.44 b x		11.800 $\pm$ 1.38 c x		12.600 $\pm$ 0.38 c y		7.600 $\pm$ 0.15 b x	

*: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (abc)

***: Düşey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xy)

r : Tablodaki her veri U/mg protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir

SH : Standart Hata

Ort.: Ortalama

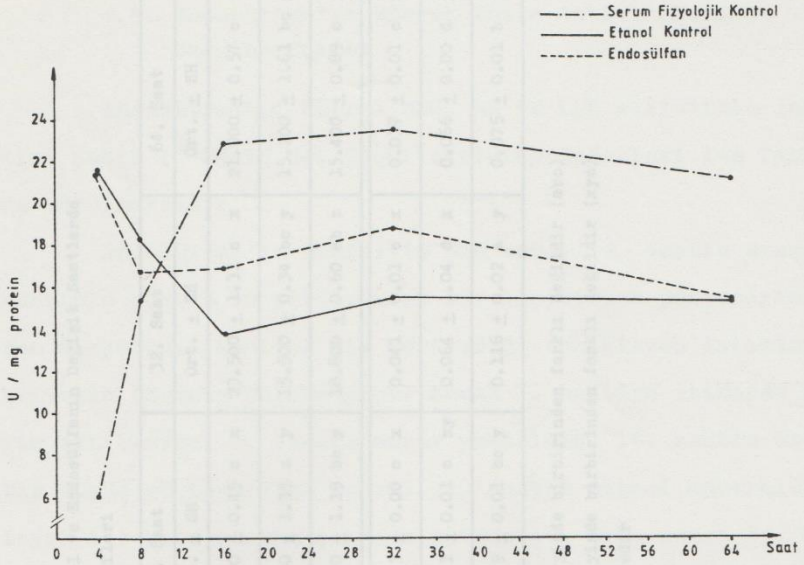
4.4. Endosülfan'ın Karaciğer Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Endosülfan'ın karaciğer MDH ve HK aktivitelerine etkisi Şekil 11-12 de, özgül aktivite değerleri ise Tablo 4 de görülmektedir.

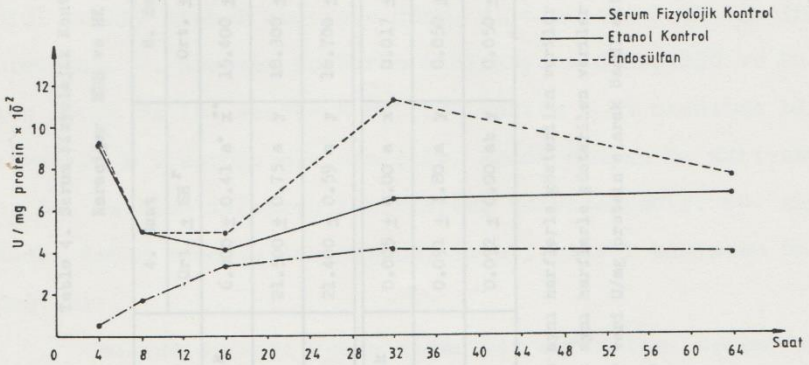
Endosülfan'ın, MDH aktivitesini ilk saatlerde inhibe etmesine rağmen 11. saatten itibaren, çalışılan tüm deney periyodlarında aktive etmiştir. Bununla beraber endosülfan uygulanmış grubun MDH aktivitesi serum fizyolojik kontrol grubu ile, etanol kontrol grubunun arasındaki değerlerde görülmüştür. 16. ve 32. saatlerdeki aktivasyon, etanol kontrol grubunun 1 katı kadar artarken, 32. saatten sonra bu aktivasyonun giderek azaldığı ve 64. saatte ise tamamen kaybolduğu saptanmıştır.

Serum fizyolojik kontrol grubu ile endosülfan uygulanmış grubun MDH aktivitesini karşılaştıracak olursak, 4. saatte endosülfan'ın yaklaşık 4 kat kadar bir aktivasyon yaptığı, ancak bu aktivasyonun 8. saatte azalıp, 9. saatte yerini inhibisyona bıraktığı görülmektedir. 16. ve 32. saatlerde de devam eden inhibisyon 64. saatte % 27 oranında olmaktadır.

Endosülfan, karaciğer HK aktivitesini 4. saatten itibaren aktive etmekte ve 8. saatte etanol kontrol grubu ile aynı değere ulaştıktan sonra, çalışılan diğer deney periyodlarında her iki kontrol grubunun üstündeki değerlerde seyretmektedir. Endosülfan'ın etkisi, serum fizyolojik kontrol ile karşılaştırıldığı zaman tüm deney periyodlarında istatistiksel bakımdan önemli olurken, etanol kontrole göre sadece 32. saatte yaklaşık olarak 2 katı kadar bir aktivasyon olmaktadır. 32. saatte ulaşılan bu en fazla aktivasyonun, 64. saate kadar giderek azaldığı ve 64. saatte hemen hemen aynı değerde olduğu görülmektedir.



Şekil 11. Karaciğer MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği



Şekil 12. Karaciğer HK özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği

Tablo 4. Serum Fizyolojik Kontrol, Etanol Kontrol ve Endosulfanın Değişik Saatlerde Karaciğer MDH ve HK Aktivitelerine Etkileri

Deney Periyodu	4. Saat		8. Saat		16. Saat		32. Saat		64. Saat	
	Ort. $\pm$ SH ^r		Ort. $\pm$ SH		Ort. $\pm$ SH		Ort. $\pm$ SH		Ort. $\pm$ SH	
MDH	Serum Fizyolojik Kontrol	6.000 $\pm$ 0.41 a* x	15.400 $\pm$ 1.59 b x	22.800 $\pm$ 0.45 c x	23.500 $\pm$ 1.31 c x	21.000 $\pm$ 0.57 c x				
	Etanol Kontrol	21.500 $\pm$ 0.75 a y	16.300 $\pm$ 2.30 ab x	13.800 $\pm$ 1.35 c y	15.500 $\pm$ 0.34 bc y	15.200 $\pm$ 1.61 bc y				
	Endosulfan	21.400 $\pm$ 0.59 a y	16.700 $\pm$ 0.59 bc x	16.900 $\pm$ 1.19 bc y	18.800 $\pm$ 0.60 ab z	15.400 $\pm$ 0.89 c y				
HK	Serum Fizyolojik Kontrol	0.005 $\pm$ 0.00 a x	0.017 $\pm$ 0.01 b x	0.033 $\pm$ 0.00 c x	0.041 $\pm$ 0.01 c x	0.037 $\pm$ 0.01 c x				
	Etanol Kontrol	0.091 $\pm$ 1.80 a y	0.050 $\pm$ 0.01 b y	0.041 $\pm$ 0.01 c xy	0.064 $\pm$ 1.04 d x	0.066 $\pm$ 0.00 d y				
	Endosulfan	0.092 $\pm$ 0.00 ab y	0.050 $\pm$ 0.01 bc y	0.049 $\pm$ 0.01 bc y	0.116 $\pm$ 0.02 a y	0.075 $\pm$ 0.01 b y				

*: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (abc)

**: Dişey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xyz)

r : Tablodaki her veri U/mg protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir

SH : Standart Hata

Ort.: Ortalama

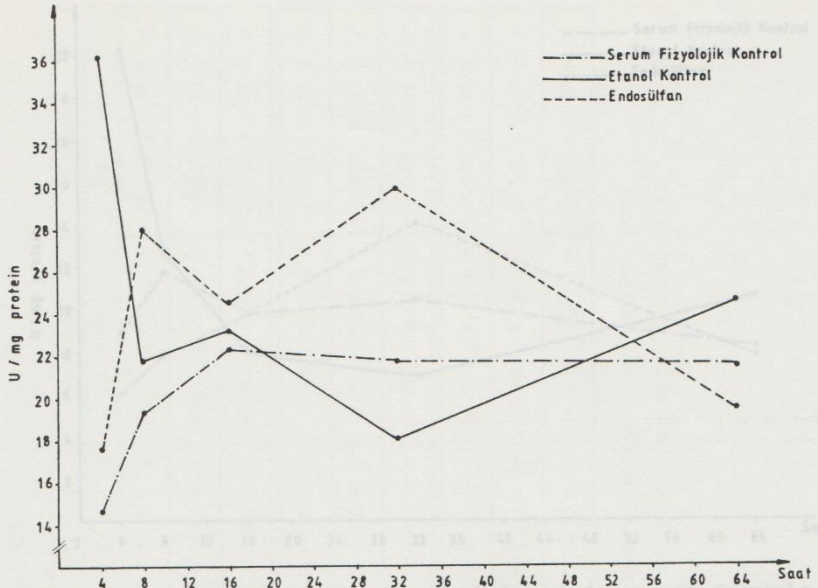
4.5. Endosülfan'ın Böbrek Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

Endosülfan'ın böbrek MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkisi Şekil 13-14-15 de, özgül aktivite değerleri ise Tablo 5 de görülmektedir.

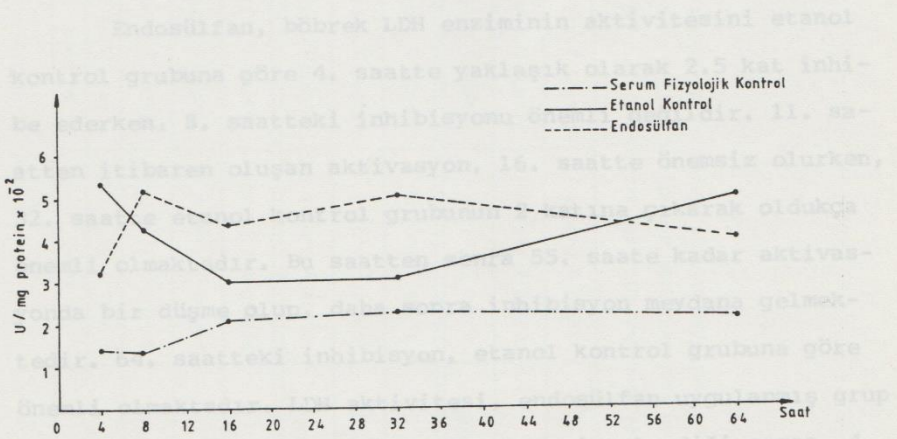
Endosülfan'ın etkisiyle MDH enzimi 4. saatte etanol kontrole göre % 50 gibi yüksek bir inhibisyon gösterirken, serum fizyolojik kontrol ile gösterdiği inhibisyon istatistiksel bakımdan önemsiz bulunmuştur. Ancak 7. saatten itibaren başlayan aktivasyon, 8. saatte biraz yükselmiş, 16. saatte önemsiz bir düşüş gösterdikten sonra, 32. saatte etanol kontrolün, yaklaşık 1.5 katı olacak şekilde artmıştır. Daha sonra 54. saate kadar aktivasyonda bir düşme olup, bu saatten sonra da inhibisyon başlamaktadır. 64. saatteki inhibisyonun istatistiksel açıdan, her iki kontrol grubuna göre önemsiz olduğu saptanmıştır.

Böbrek HK enzimi üzerine endosülfan'ın etkisi incelendiği zaman, etanol kontrole göre, 4. saatteki % 40 lık inhibisyonun, 7. saatten itibaren aktivasyona dönüştüğü ve bu saatten sonra da 16. saatte % 55, 32. saatte % 65 oranında bir aktivasyonun olduğu gözlenmiştir. Ancak oluşan bu aktivasyon da 54. saatten itibaren inhibisyona dönüşmektedir. 64. saate kadar devam eden bu inhibisyon, istatistiksel bakımdan önemli değildir.

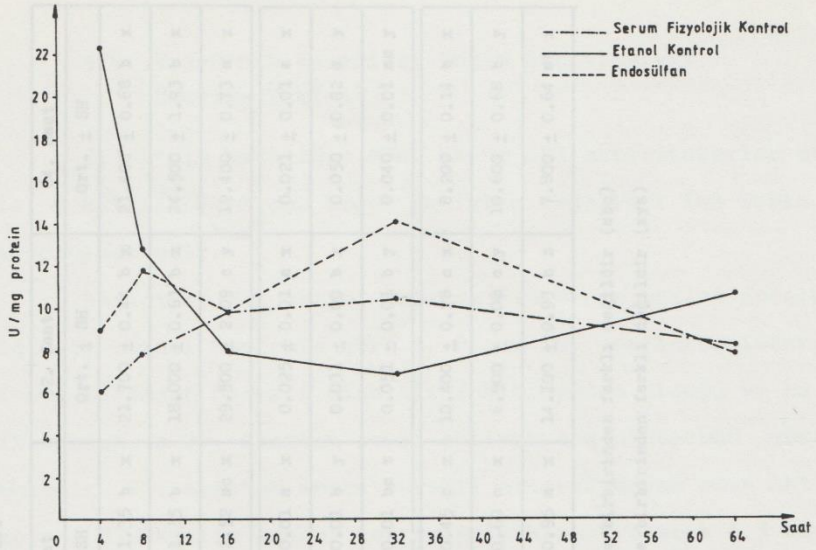
Burada dikkati çeken diğer bir durum ise, serum fizyolojik kontrol grubunun HK aktivitesinin, diğer iki grubun HK aktivite değerlerinin altında olmasıdır. Bir başka deyişle endosülfan, etanol kontrol grubuna oranla serum fizyolojik kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, daha fazla aktivasyon göstermektedir.



Şekil 13. Böbrek MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği



Şekil 14. Böbrek HK özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği



Şekil 15. Böbrek LDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve endosülfan verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği

Endosülfan, böbrek LDH enziminin aktivitesini etanol kontrol grubuna göre 4. saatte yaklaşık olarak 2,5 kat inhibe ederken, 8. saatteki inhibisyonu önemli değildir. 11. saatten itibaren oluşan aktivasyon, 16. saatte önemsiz olurken, 32. saatte etanol kontrol grubunun 2 katına çıkarak oldukça önemli olmaktadır. Bu saatten sonra 55. saate kadar aktivasyonda bir düşme olup, daha sonra inhibisyon meydana gelmektedir. 64. saatteki inhibisyon, etanol kontrol grubuna göre önemli olmaktadır. LDH aktivitesi, endosülfan uygulanmış grup ile serum fizyolojik uygulanmış grupta incelendiği zaman 4. saatte etanol kontrole oranla daha az bir aktivasyon gözükürken, 16. saatte aynı değerlerde olmaktadır. 32. saatte görülen % 35 lik aktivasyon, 64. saatte ortadan kalkmakta ve hemen hemen aynı değerde olmaktadır.

Table 5. Serum Fizyolojik Kontrol, Etanol Kontrol ve Endosülfamın Değişik Saatlerde Böbrek MDH, HK ve LDH Aktivitelerine Etkileri

Deney Periyodu	4. Saat	8. Saat	16. Saat	32. Saat	64. Saat
	Ort. $\pm$ SH ^r	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH	Ort. $\pm$ SH
MDH	Serum Fizyolojik Kontrol	14.700 $\pm$ 1.29 a [*] ^{**}	19.300 $\pm$ 0.30 b x	22.300 $\pm$ 1.35 b x	21.700 $\pm$ 0.44 b x
	Etanol Kontrol	36.200 $\pm$ 3.20 a y	21.800 $\pm$ 1.78 b x	23.200 $\pm$ 1.35 b x	24.500 $\pm$ 1.93 b x
	Endosülfam	17.600 $\pm$ 1.76 ab x	28.000 $\pm$ 2.21 c y	24.500 $\pm$ 2.52 ac x	19.400 $\pm$ 0.73 a x
HK	Serum Fizyolojik Kontrol	0.018 $\pm$ 0.01 a x	0.017 $\pm$ 0.01 a x	0.022 $\pm$ 0.01 a x	0.025 $\pm$ 0.01 a x
	Etanol Kontrol	0.057 $\pm$ 0.01 a y	0.045 $\pm$ 0.01 a y	0.030 $\pm$ 0.01 b y	0.031 $\pm$ 0.00 b x
	Endosülfam	0.035 $\pm$ 0.01 a z	0.054 $\pm$ 0.01 b z	0.047 $\pm$ 0.01 bc z	0.051 $\pm$ 0.01 b y
LDH	Serum Fizyolojik Kontrol	6.100 $\pm$ 0.61 a x	7.900 $\pm$ 0.65 b x	9.800 $\pm$ 0.45 c x	10.400 $\pm$ 0.28 c x
	Etanol Kontrol	22.300 $\pm$ 1.03 a y	12.800 $\pm$ 1.30 b y	8.000 $\pm$ 0.60 c x	6.900 $\pm$ 0.08 c y
	Endosülfam	9.000 $\pm$ 0.98 a z	11.800 $\pm$ 1.13 ab y	9.900 $\pm$ 0.95 a x	14.100 $\pm$ 0.93 b z

^{*}: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (abc)

^{**}: Düşey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xyz)

^r : Tablodaki her veri U/mg protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir

SH : Standart Hata

Ort.: Ortalama

4.6. 2,4-D'nin Karaciğer Enzim Aktiviteleri Üzerine Etkisi

2,4-D'nin karaciğer MDH, HK ve LDH aktivitelerine etkisi Şekil 16-17-18 de, özgül aktivite değerleri ise Tablo 6 da görülmektedir.

Karaciğer MDH enzimi üzerine 2,4-D'nin etkisi incelendiğinde, etanol kontrole göre 4, 8 ve 16. saatlerde istatistiksel bakımdan önemsiz olan bir inhibisyonun olduğu ve bu inhibisyonun da 21. saatten sonra aktivasyona dönüştüğü görülmektedir. 21. saatten sonra sürekli artarak devam eden aktivasyon, 32. saatte etanol kontrolün yaklaşık olarak 1.5 katı olurken, 64. saatte yaklaşık olarak 2 katı olmaktadır.

2,4-D'nin MDH enzimi üzerindeki etkisi serum fizyolojik kontrole göre incelendiğinde, 4. saatte önemli bir aktivasyonun olduğu, ancak bu aktivasyonun 7. saatten itibaren inhibisyona dönüştüğü görülmektedir. Bu inhibisyon, en yüksek oranda 16. saatte görülmektedir. 32. saatte devam eden inhibisyon 46. saatte yerini aktivasyona bırakıp, 64. saatte de serum fizyolojik kontrol grubunun 1 katı kadar olmaktadır. Ancak 64. saatte görülen bu aktivasyon istatistiksel bakımdan önemsizdir. Burada önemli olarak gözüken başka bir durum da, 46. saatten itibaren 2,4-D uygulanmış grubun MDH aktivite değerlerinin her iki kontrol grubunun üstünde olmasıdır.

2,4-D, HK aktivitesini başlangıçta her iki kontrol grubuna karşı stimüle etmektedir. Ancak bu stimülasyon etanol kontrole göre önemsiz olurken, serum fizyolojik kontrole göre önemli olmaktadır. 8. saatte önemli, 16. saatte ise önemsiz olarak devam eden bu stimülasyon, etanol kontrole göre 19.

saatten, serum fizyolojik kontrole göre 23. saatten itibaren inhibisyona dönüşmektedir. 32. saatteki inhibisyon, her iki kontrol grubunun da altında olmaktadır. Bu saatte etanol kontrol grubuna göre $1/3$ ü olan inhibisyon, serum fizyolojik kontrole göre $1/2$ si kadardır. Ancak bu saatten sonra inhibisyonun derecesi giderek azalıp, serum fizyolojik kontrolde 38. saatten, etanol kontrolde ise 46. saatten itibaren aktivasyona dönüşmektedir. 64. saatteki aktivasyon her iki kontrol grubunun üzerinde olup istatistiksel bakımdan önemli olmaktadır.

Karaciğer LDH enzimi üzerine 2,4-D'nin etkisi incelendiği zaman, etanol kontrole göre 4. saatte önemsiz olarak başlayan inhibisyon, 8. saatte 2 katı olmakta, 16. saatte ise inhibisyon, istatistiksel bakımdan önemsiz olarak 20. saate kadar devam etmektedir. Bu saatten sonra başlayan aktivasyon, giderek artmakta ve 32. saatte % 68 olmaktadır. 42. saatten sonra da azalarak devam eden aktivasyon, 64. saatte ortadan kalkarak etanol kontrol grubu ile hemen hemen aynı değere ulaşmaktadır.

Serum fizyolojik kontrol grubu ise, enjeksiyondan 4 saat sonra 2,4-D uygulanmış grubun % 19 değerinde kalmaktadır. Deneyin ilk saatlerinde başlayan bu aktivasyon fazla uzun sürmemekte ve 7. saatten itibaren bir inhibisyona dönüşmektedir. 8. ve 16. saatlerde istatistiksel olarak önemli bir şekilde devam eden inhibisyon 32. saatte biraz azalmış ve 42. saatten sonra da aktivasyona dönüşmüştür. 64. saatte de tesbit edilen bu aktivasyon, yaklaşık olarak serum fizyolojik kontrol grubunun 1.5 katı kadar olmaktadır.

Tablo 6. Serum Fizyolojik Kontrol, Etanol Kontrol ve 2,4 - D'nin Değişik Saatlerde Karaciğer MDH, HK ve LDH Aktivitelerine Etkileri

Deney Periyodu	4. Saat		8. Saat		16. Saat		32. Saat		64. Saat	
	Ort. ± SH ^r		Ort. ± SH		Ort. ± SH		Ort. ± SH		Ort. ± SH	
MDH	Serum Fizyolojik Kontrol	6.000 ± 0.41 a ^{**}	15.400 ± 1.59 b	x	22.800 ± 0.45 c	x	23.500 ± 1.31 c	x	21.100 ± 0.57 c	x
	Etanol Kontrol	21.500 ± 0.75 a y	18.300 ± 2.30 ab	x	13.800 ± 1.35 c	y	15.500 ± 0.34 bc	y	15.200 ± 1.61 bc	y
	2,4 - D	19.400 ± 0.95 a y	12.000 ± 0.19 b	x	11.900 ± 0.84 b	y	19.900 ± 1.30 a	z	25.700 ± 1.39 c	x
HK	Serum Fizyolojik Kontrol	0.005 ± 0.00 a x	0.017 ± 0.01 b	x	0.033 ± 0.00 c	x	0.041 ± 0.01 c	x	0.037 ± 0.01 c	x
	Etanol Kontrol	0.091 ± 1.80 a y	0.050 ± 0.01 b	y	0.041 ± 0.01 c	xy	0.064 ± 1.04 d	y	0.066 ± 0.01 d	y
	2,4 - D	0.100 ± 0.00 a y	0.070 ± 0.01 b	z	0.050 ± 0.01 c	y	0.023 ± 0.01 d	z	0.118 ± 0.00 e	z
LDH	Serum Fizyolojik Kontrol	3.400 ± 0.25 a x	14.500 ± 0.58 b	x	15.000 ± 1.07 bc	x	18.600 ± 0.72 d	x	17.000 ± 0.78 cd	x
	Etanol Kontrol	19.800 ± 0.06 a y	20.100 ± 0.32 a	y	12.500 ± 0.09 b	xy	9.400 ± 0.18 c	y	23.600 ± 0.14 d	y
	2,4 - D	17.700 ± 1.20 a y	12.200 ± 0.97 bc	z	10.100 ± 1.00 b	y	15.800 ± 1.58 ac	z	23.300 ± 1.55 d	y

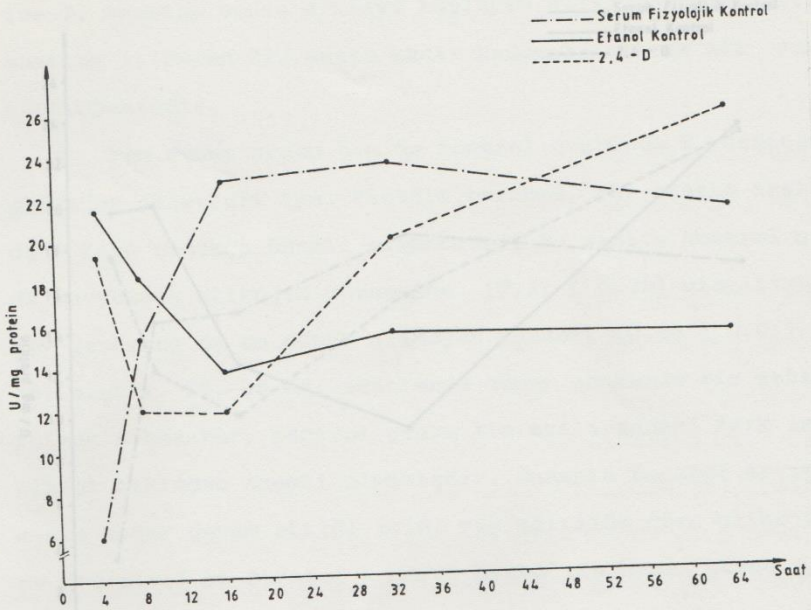
*: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (abc)

** : Dişey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xyz)

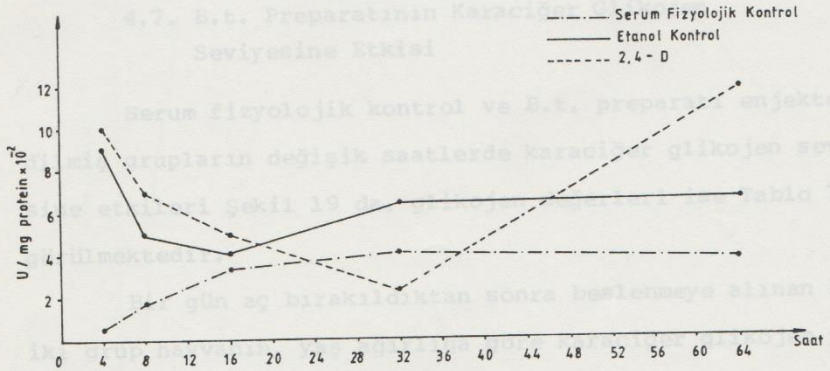
r : Tablodaki her veri U/mg protein olarak özgül aktiviteyi göstermektedir

SH : Standart Hata

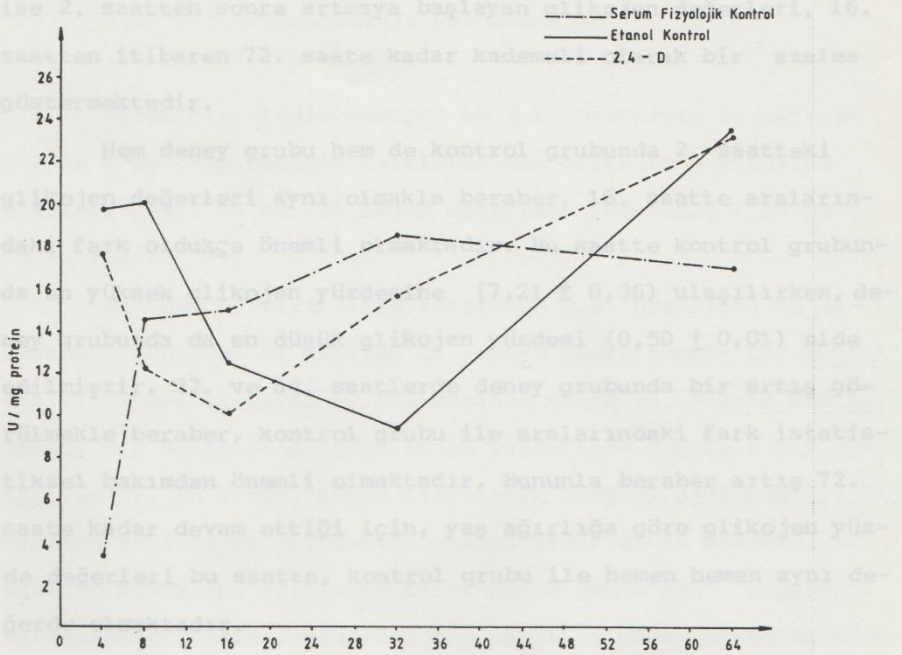
Ort.: Ortalama



Şekil 16. Karaciğer MDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği



Şekil 17. Karaciğer HK özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği



Şekil 18. Karaciğer LDH özgül aktivitesinin serum fizyolojik kontrol, etanol kontrol ve 2,4-D verilmiş grupları için zamana göre değişim grafiği

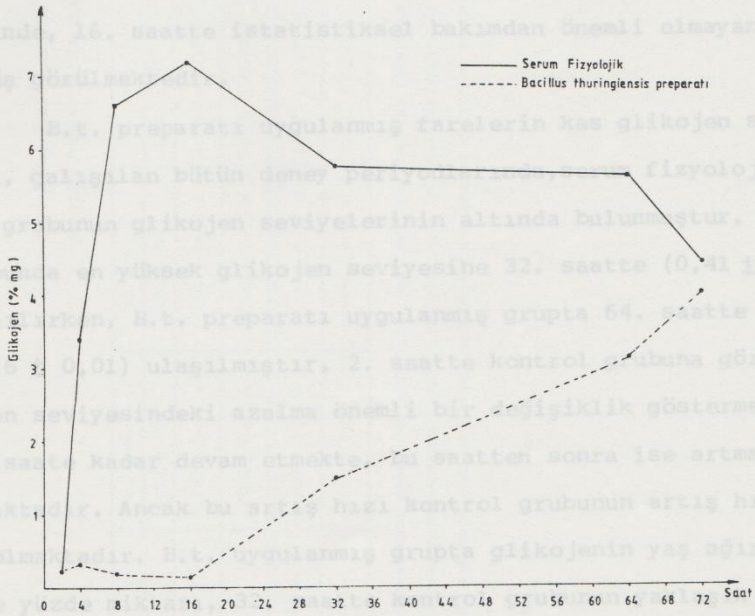
4.7. B.t. Preparatının Karaciğer Glikojen Seviyesine Etkisi

Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı enjekte edilmiş grupların değişik saatlerde karaciğer glikojen seviyesine etkileri Şekil 19 da, glikojen değerleri ise Tablo 7 de görülmektedir.

Bir gün aç bırakıldıktan sonra beslenmeye alınan her iki grup hayvanın, yaş ağırlığına göre karaciğer glikojen yüzdesinde başlangıçtaki saatlere oranla diğer deney periyodlarında büyük ölçüde bir artış vardır. Ancak deney grubundaki artış 16. saatten itibaren başlamakta, bu saate kadarki periyodlarda önemli bir değişiklik olmamaktadır. Kontrol grubunda

ise 2. saatten sonra artmaya başlayan glikojen değerleri, 16. saatten itibaren 72. saate kadar kademeli olarak bir azalma göstermektedir.

Hem deney grubu hem de kontrol grubunda 2. saatteki glikojen değerleri aynı olmakla beraber, 16. saatte aralarındaki fark oldukça önemli olmaktadır. Bu saatte kontrol grubunda en yüksek glikojen yüzdesine ($7,21 \pm 0,36$) ulaşılırken, deney grubunda da en düşük glikojen yüzdesi ($0,50 \pm 0,01$) elde edilmiştir. 32. ve 64. saatlerde deney grubunda bir artış görülmekle beraber, kontrol grubu ile aralarındaki fark istatistiksel bakımdan önemli olmaktadır. Bununla beraber artış 72. saate kadar devam ettiği için, yaş ağırlığına göre glikojen yüzde değerleri bu saatte, kontrol grubu ile hemen hemen aynı değerde olmaktadır.



Şekil. 19. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının çalışılan deney periyodlarında karaciğer glikojen seviyesine etkileri

4.8. B.t. Preparatının Kas Glikojen Seviyesine Etkisi

Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatı enjekte edilmiş grupların değişik saatlerde kas glikojen seviyesine etkileri Şekil 20 de, glikojen değerleri ise Tablo 7 de görülmektedir.

Bir gün aç bırakılmış farelerde B.t. preparatı enjeksiyonunu takiben, 2. saatten 16. saate kadar önemli bir değişiklik olmamakla beraber, 16. saatten sonra 72. saatin sonuna kadar, yaş ağırlığına göre glikojen yüzdesinde dereceli bir artış vardır. Bu artış, serum fizyolojik kontrol grubunda 2. saatten başlayarak 32. saatin sonuna kadar devam etmekte, 32. saatten sonra ise 72. saate kadar hemen hemen aynı değerde kalmaktadır. Kontrol grubunda yaş ağırlığına göre glikojen yüzdesinde, 16. saatte istatistiksel bakımdan önemli olmayan bir düşüş görülmektedir.

B.t. preparatı uygulanmış farelerin kas glikojen seviyeleri, çalışılan bütün deney periyodlarında, serum fizyolojik kontrol grubunun glikojen seviyelerinin altında bulunmuştur. Kontrol grubunda en yüksek glikojen seviyesine 32. saatte ($0,41 \pm 0,02$) ulaşılrken, B.t. preparatı uygulanmış grupta 64. saatte ($0,16 \pm 0,01$) ulaşılmıştır. 2. saatte kontrol grubuna göre glikojen seviyesindeki azalma önemli bir değişiklik göstermeden 16. saate kadar devam etmekte, bu saatten sonra ise artma başlamaktadır. Ancak bu artış hızı kontrol grubunun artış hızından az olmaktadır. B.t. uygulanmış grupta glikojenin yaş ağırlığına göre yüzde miktarı, 32. saatte kontrol grubunun yaklaşık olarak $1/5$ i kadar olmaktadır. 64. saate kadar devam eden bu durum, 64. saatten sonra artmaya başlamış ve 72. saatte kontrol grubunun hemen hemen yarısı bir değere ulaşmıştır.

Tablo 7. Serum Fizyolojik Kontrol ve Bacillus thuringiensis (B.t.) Preparatının Değişik Saatlerde Karaciğer ve Kas Glikojen Seviyelerine Etkileri

Deney Periyodu	2. Saat		4. Saat		8. Saat		16. Saat		32. Saat		64. Saat		72. Saat	
	Ort. ± SH F	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH	Ort. ± SH
Serum Fizyolojik Kontrol	0.220 ± 0.01 a x	3.400 ± 0.30 b x	6.500 ± 0.20 cd x	7.210 ± 0.36 c x	5.740 ± 0.36 de x	5.620 ± 0.43 de x	4.340 ± 0.30 b x							
B.t. Preparatı	0.250 ± 0.03 a x	0.350 ± 0.04 a y	0.190 ± 0.00 a y	0.150 ± 0.01 a y	1.520 ± 0.11 b y	3.130 ± 0.05 c y	4.000 ± 0.15 d x							
Serum Fizyolojik Kontrol	0.078 ± 0.01 a x	0.120 ± 0.01 abx	0.260 ± 0.07 cd x	0.220 ± 0.01 bc x	0.410 ± 0.02 e x	0.370 ± 0.04 de x	0.400 ± 0.03 e x							
B.t. Preparatı	0.021 ± 0.01 a y	0.026 ± 0.01 a y	0.023 ± 0.00 a y	0.022 ± 0.01 a y	0.085 ± 0.02 b y	0.094 ± 0.01 b y	0.160 ± 0.01 c y							

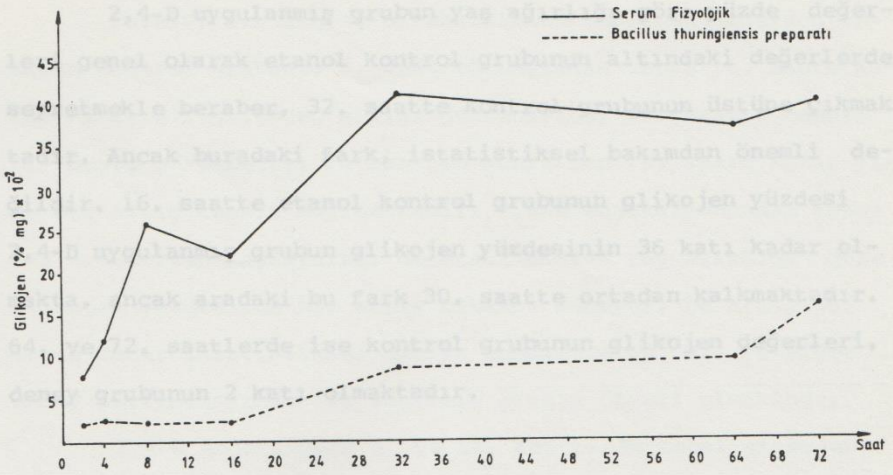
*: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (abc)

** : Dişey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xy)

r : Tablodaki her veri, 100 mg dokuda mg cinsinden glikojen miktarını göstermektedir.

SH : Standart Hata

Ort.: Ortalama



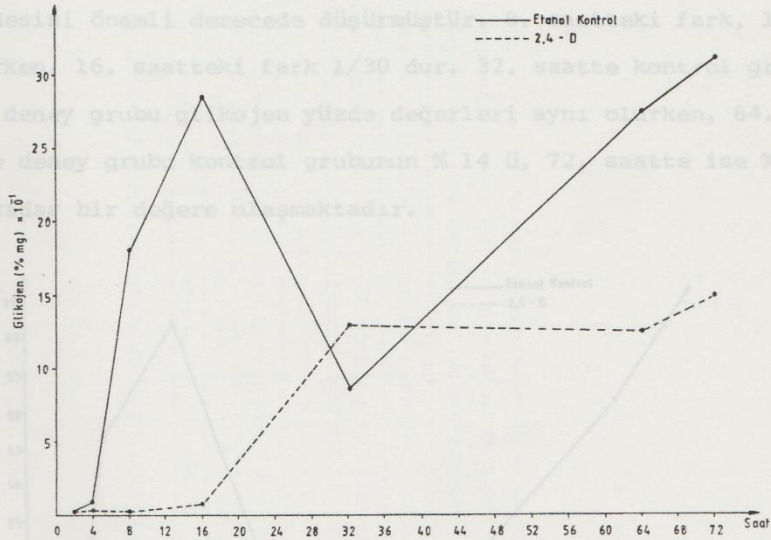
Şekil 20. Serum fizyolojik kontrol ve B.t. preparatının çalışılan deney periyodlarında kas glikojen seviyesine etkileri

4.9. 2,4-D'nin Karaciğer Glikojen Seviyesine Etkisi

Etanol kontrol ve 2,4-D enjekte edilmiş grupların değişik saatlerde karaciğer glikojen seviyesine etkileri Şekil 21 de, glikojen değerleri ise Tablo 8 de görülmektedir.

Bir gün aç bırakıldıktan sonra beslenmeye alınan her iki grup hayvanın, yaş ağırlığa göre karaciğer glikojen yüzdesinde, başlangıçtaki deney saatlerine oranla büyük ölçüde bir artış vardır. Etanol kontrol grubundaki bu artış, 2. saat-ten itibaren 16. saate kadar devam etmekte, 32. saatte istatistiksel bakımdan önemli olan bir düşüş gösterdikten sonra tekrar yükselmeye başlamaktadır. 2,4-D uygulanmış grupta ise, yaş ağırlığa göre glikojen artışı 16. saate kadar hemen hemen aynı değerde kalmakta, bu saatten sonra dereceli olarak bir artma göstermektedir. Her iki grupta da en yüksek glikojen değerlerine 64. saatte rastlanmaktadır.

2,4-D uygulanmış grubun yaş ağırlığına göre yüzde değerleri genel olarak etanol kontrol grubunun altındaki değerlerde seyretmekle beraber, 32. saatte kontrol grubunun üstüne çıkmaktadır. Ancak buradaki fark, istatistiksel bakımdan önemli değildir. 16. saatte etanol kontrol grubunun glikojen yüzdesi 2,4-D uygulanmış grubun glikojen yüzdesinin 36 katı kadar olmakta, ancak aradaki bu fark 30. saatte ortadan kalkmaktadır. 64. ve 72. saatlerde ise kontrol grubunun glikojen değerleri, deney grubunun 2 katı olmaktadır.



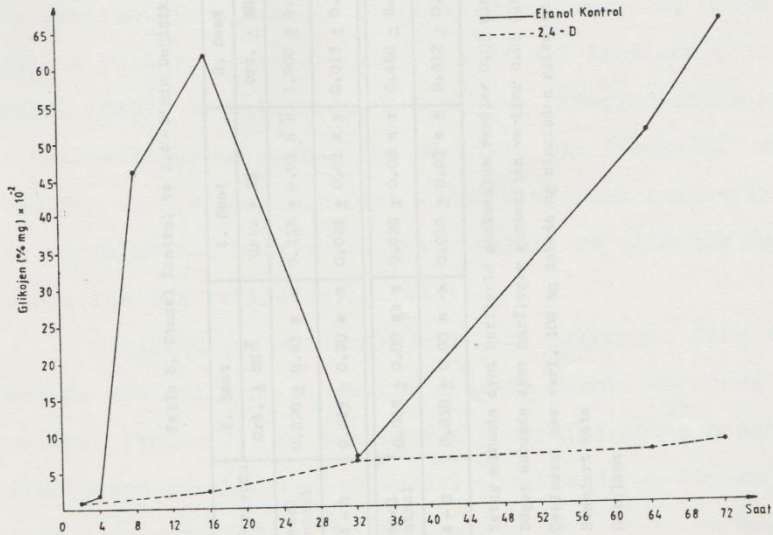
Şekil 21. Etanol kontrol ve 2,4-D'nin çalışılan deney periyotlarında karaciğer glikojen seviyesine etkileri

4.10. 2,4-D'nin Kas Glikojen Seviyesine Etkisi

Etanol kontrol ve 2,4-D enjekte edilmiş grupların değişik saatlerde kas glikojen seviyesine etkisi Şekil 22 de, glikojen değerleri ise Tablo 8 de görülmektedir.

Fareler bir gün aç bırakıldıktan sonra enjeksiyonu takiben kontrol grubunda 2. saatten başlamak üzere 16. saate kadar hızlı bir glikojen artışı gözlenirken, 32. saatte önemli bir düşüş görülmekte, bu saatten sonra ise 72. saate kadar yine bir artış tesbit edilmektedir. 2,4-D enjeksiyonundan sonra da, 2. saatten başlayarak, dereceli olarak yaş ağırlığına göre glikojen yüzdesinde bir artış olmakla beraber, bu artış 16. saate kadar istatistiksel olarak önemsiz olup, 32. ve diğer deney periyodlarında ilk saatlere oranla önemli olmaktadır.

2,4-D enjeksiyonu 8. ve 16. saatlerde total glikojen yüzdesini önemli derecede düşürmüştür. 8. saatteki fark, $1/38$ olurken, 16. saatteki fark $1/30$ dur. 32. saatte kontrol grubu ile deney grubu glikojen yüzde değerleri aynı olurken, 64. saatte deney grubu kontrol grubunun % 14 ü, 72. saatte ise % 12 si kadar bir değere ulaşmaktadır.



Şekil 22. Etanol kontrol ve 2,4-D'nin çalışılan deney periyodlarında kas glikojen seviyesine etkileri

Tablo 8. Etanol Kontrol ve 2,4 - D'nin Değişik Saatlerde Kuracılar ve Kas Glikojen Seviyelerine Etkileri

Deney Periyodu	2. Saat		4. Saat		6. Saat		16. Saat		32. Saat		64. Saat		72. Saat	
	Ort. $\pm$ SH	R	Ort. $\pm$ SH	R	Ort. $\pm$ SH	R	Ort. $\pm$ SH	R	Ort. $\pm$ SH	R	Ort. $\pm$ SH	R	Ort. $\pm$ SH	R
Etanol Kontrol	0.020 $\pm$ 0.01	a x	0.118 $\pm$ 0.01	a**	1.800 $\pm$ 0.07	b x	2.850 $\pm$ 0.06	c x	0.870 $\pm$ 0.03	d x	2.760 $\pm$ 0.04	c x	3.130 $\pm$ 0.13	e x
2,4 - D	0.019 $\pm$ 0.00	a x	0.024 $\pm$ 0.01	a y	0.019 $\pm$ 0.01	a y	0.080 $\pm$ 0.00	a y	1.300 $\pm$ 0.15	b x	1.270 $\pm$ 0.08	cd y	1.500 $\pm$ 0.04	bd y
Etanol Kontrol	0.009 $\pm$ 0.00	ab x	0.020 $\pm$ 0.02	a x	0.450 $\pm$ 0.03	bc x	0.620 $\pm$ 0.05	d x	0.066 $\pm$ 0.01	a x	0.510 $\pm$ 0.00	c x	0.660 $\pm$ 0.01	d x
2,4 - D	0.010 $\pm$ 0.00	a x	0.010 $\pm$ 0.01	a x	0.012 $\pm$ 0.01	a y	0.023 $\pm$ 0.00	a y	0.064 $\pm$ 0.01	b x	0.073 $\pm$ 0.01	b y	0.084 $\pm$ 0.02	b y

*: Yatay sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (ebc)

** : Dişey sütunda aynı harflerle gösterilen veriler 0.05 olasılık düzeyinde birbirinden farklı değildir (xy)

R : Tablodaki her veri, 100 mg dokuda mg cinsinden glikojen miktarını göstermektedir.

SH : Standart Hata

Ort.: Ortalama

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tarımda zararlılara karşı pestisit kullanımıyla gerçekleştirilen kimyasal savaşımın, en basit canlıdan insana kadar olan yaşamsal faaliyetler zincirini tehlikeye sokan, olumsuz bir çok etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle, günümüz tarımında bir taraftan pestisit kullanımı belirli ölçülerde kısıtlanırken, diğer taraftan zararlılara karşı mücadelede, kimyasal olmayan ve özellikle de biyolojik savaşım yöntemlerinin geliştirilmesine çalışılmaktadır. Bu yönde atılan en önemli adımlardan bir tanesi, son yıllarda yurdumuzda da kullanım alanı arayan, mikrobial biyolojik preparatlarla yapılan savaşım yöntemidir. Yurt dışında hazırlanan ve değişik ticari adlarla piyasaya sürülen bu biyolojik preparatlar, çeşitli zararlı böcekler üzerinde denenmiş ve oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Yurdumuzda da B.t. var. thuringiensis'ten elde edilen ve TARMİK-3 adı verilen bir biyolojik preparat üretilerek, bu preparatın değişik zararlı böcekler üzerine etkileri incelenmiştir (ÇAKMAKÇI, 1985). Bu çalışmada da B.t. var. thuringiensis preparatı kullanılmış, bu preparatla birlikte bir insektisit olan endosülfan ve bir herbisit olan 2,4-D'nin erkek farelerin değişik organlarında bazı enzim aktiviteleri ve glikojen seviyeleri üzerine etkileri araştırılmıştır.

Çalışmamızda kullandığımız B.t. preparatı fare karaciğerinde MDH enzimini 4. saatin dışında önemli derecede etkilememiştir (Tablo 2). 4. saatte ise kontrol grubuna oranla bir stimülasyon görülmektedir. Bu stimülasyon HK ve LDH enzimlerinde de oluşmaktadır. Bu iki enzimde de 4. saatten başlayan aktivasyon 16. saate kadar devam etmekte ve bu saatten sonra

kontrol grubu ile hemen hemen aynı değere ulaşarak istatistiksel bakımdan önemsiz olan iniş ve çıkışlar göstermektedir (Tablo 2). Sadece LDH enziminin aktivitesi, 8. saatte kontrol grubu ile hemen hemen aynı değeri almaktadır. Her üç enzimde de görülen bu aktivasyonlar, belki LD₃₀ dozunun oldukça yüksek olmasından ileri gelebilir. Bu yüksek doz ile karşı karşıya kalan karaciğer hücreleri ilk saatlerde etkilenip daha sonra kendilerini toparlayarak normal metabolizmalarına devam etmiş olabilirler. Yapılan bir çalışmada B.t.'in değişik dozlarının fare, kobay ve tavşan dokularında önemli bir bozukluk yapmadığı, organ ağırlıklarının değişmediği, B.t.'in organizmada çoğalamadığı ve savunma yolları ile ortamdan uzaklaştırıldığı saptanmıştır (SHADDUCK, 1980).

B.t. preparatının etkisiyle, 16. saate kadar çalışılan enzim aktivitelerindeki artışa karşın, karaciğer glikojen seviyesinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. Bununla beraber kontrol grubuna göre karaciğer glikojen seviyesinin önemli ölçüde düşük oluşu, hayvanların B.t. enjeksiyonunun etkisiyle beslenememelerinin bir sonucu olabilir. Zira kontrol grubu hayvanlarının enjeksiyondan sonra beslendiklerinin gözlenmiş olması ve haliyle glikojen seviyesinin artması, biraz önce söylediğimiz görüşümüzü büyük ölçüde desteklemektedir. Diğer taraftan kontrol grubuna göre deney grubundaki bu glikojen seviyesinin düşük olmasının bir başka nedeni ise, yüksek dozda verilen B.t. preparatının karaciğer hücreleri üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı olabilir. Şekil 19 u inceleyecek olursak, 16. saatten sonra glikojen seviyelerinde hızlı bir artış görülmekte ve 72. saatin sonunda da kontrol grubu ile istatistiksel bakımdan önemsiz olacak şekilde bir değere ulaşmaktadır.

Karaciğer glikojen seviyesinin 16. saatten itibaren artmaya başlaması ve çalıştığımız enzim aktivitelerinin de bu saatten sonra kontrol değerlerine paralel değerler alması, karaciğer hücrelerinin ilk saatlerde B.t. preparatından etkilenip daha sonraki saatlerde düzene girmesi düşüncemizi bir ölçüde destekler görünümündedir.

B.t. preparatı kontrol grubuna göre kas glikojen seviyesini, tüm deney periyodlarında istatistiksel bakımdan önemli olacak şekilde düşürmüştür. Deney grubunda 16. saatten itibaren artmaya başlayan glikojen seviyesi, 72. saatte en yüksek değere ulaşmasına rağmen, yine de kontrol grubuyla istatistiksel bakımdan önemli bir fark oluşturacak şekilde düşük seviyede kalmıştır. Halbuki karaciğer glikojen seviyesi, aynı saatte kontrol grubu ile arasında önemli bir fark oluşturmamıştır. Bu durum, karaciğerin vücuda giren yabancı maddeleri detoksifiye etme özelliğinden dolayı olabilir (PASCOE, 1983). Kas glikojen seviyesinin 72. saate kadar normal değerlere gelememesinin nedeni ise B.t. preparatının kas glikojen metabolizmasını daha uzun süre etkilemesinin sonucu olabilir.

Gerek karaciğerde gerekse kasta glikojen seviyelerinin ilk saatlerde yüksellememesinin bir başka nedeni, glikojenin parçalanması sonucu oluşan glikoz moleküllerinin enerji ihtiyacı için kullanılmasından ileri gelebilir. Glikozu substrat olarak kullanan HK enziminin karaciğerde ilk saatlerde aktivitesinin artması (Şekil 6), bu görüşümüzü bir ölçüde destekler görünümündedir.

Çalışmamızda etkisini incelediğimiz B.t. preparatı, böbrek HK ve LDH enziminde ilk saatlerde bir inhibisyon oluşturmakla beraber, daha sonraki deney saatlerinde aktivasyona

neden olmaktadır. LDH enzimindeki bu aktivasyon 32. saatte, HK enziminde ise 16. saatte önemli olmaktadır (Tablo 3). Ancak Şekil 9 ve 10 dan da görüleceği gibi deney grubunun gösterdiği eğri, kontrol grubundan fazla uzak değildir ve önemli bir değişiklik görülmemektedir. Bununla beraber MDH enzimi üzerine B.t. preparatının oldukça fazla etkisi vardır (Şekil 8). İlk saatlerde önemsiz derecede başlayan aktivasyon, 16. saatten sonra 32. saate kadar önemli derecede artmış, daha sonra ise bir iniş göstermiştir. İlk saatlerde görülen ve 32. saate kadar bir artış gösteren aktivasyonun nedeni, B.t. preparatının ilk saatlerde hücreler üzerine olan çeşitli etkilerinden dolayı olabilir. Yapılan bir çalışmada, B.t. den elde edilen delta-endotoksininin etkisinin böcek ve memelilerde hücre osmatik regülasyonunu ve hücre zarının geçirgenliğini değiştirdiği bildirilmektedir (THOMAS, 1983). Hücre membranlarında görülen bu tip değişimler, enzimler üzerinde aktivasyona ya da inhibisyona neden olabilmektedir. 32. saatten sonra aktivasyonda görülen azalma ve hatta 64. saatte meydana gelen inhibisyon ise MDH enziminin sentezlenme hızının yavaşlamasından dolayı olabilir. Zira yapılan bir çalışmada, bir adenin türevi olan beta-ekzotoksininin (BOND, 1969), RNA polimerazın polimerizasyon aktivitesi üzerinde etkili olduğu, DNA-RNA polimeraz kompleksi için ATP ile çekişip bir kompetatif inhibisyona neden olduğu ve bu nedenden dolayı beta-ekzotoksininin mikroorganizmalar da dahil omurgalılar ve omurgasızları etkilediği bildirilmektedir (SEBESTA, 1970).

B.t. enjeksiyonundan sonra geçen süre içerisinde her ne kadar ortamın pH'sından dolayı bakteriler gelişemiyorsa da (DEACON, 1983) kullandığımız dozun yüksek oluşu, vücudun

savunma mekanizmasını bu yabancı maddeye karşı harekete geçirmiş olabilir. Organizmanın bu yöndeki çabası gerek karaciğerde, gerekse böbrekte çalıştığımız enzimlerin aktivitelerini artırmış ya da düşürmüş olabilir.

Yapılan bir çalışmada, B.t.'in fare, kobay, sıçan ve tavşanlarda herhangi bir toksik etki görülmeden ortamdan uzaklaştırıldığı saptanırken (KRIEG, 1984), başka bir çalışmada ise asidik pH'da inaktif, bazik pH'da aktif olan (DEAGON,1983) beta-ekzotoksininin, bazı koşullar altında memelilere etki ettiği gösterilmiştir. Bununla beraber bu ekzotoksinin omurgalıların ve bir çok böcek türünün sindirim sisteminde epitel hücrelerinde bulunan alkalın fosfatazlarca defosforilize edilerek etkisini kaybettiği de gösterilmiştir (SEBESTA, 1981).

B.t. preparatının memeliler üzerine etki edip etmediği tartışılırken, böcekler üzerine toksik etkisinin nasıl olduğu üzerine en çok kabul edilen görüş, toksinlerin DNA ve protein sentez yoluna doğrudan etki etmemesi, ancak hem prokaryotik hem de ökaryotik DNA'ya bağlı RNA polimerazın özel inhibitörünü oluşturarak, bu enzime bağlanma bölgeleri için ATP ile rekabet etmesidir. Bu durum aynı zamanda ribozomal RNA'nın sentezinde rol oynayan polimeraz-A'yı da etkilemektedir (SEBESTA, 1981).

Fare karaciğer MDH ve HK aktivitelerine endosülfan'ın etkisini incelediğimiz zaman, HK aktivitesinin 4. saatten itibaren her iki kontrol grubunun da üzerinde olduğu ve 32. saatte bu aktivasyonun en yüksek seviyeye çıktığı görülmektedir (Şekil 12). Ancak, MDH aktivitesi başlangıçta serum fizyolojik kontrol grubuna karşı bir aktivasyon göstermekle beraber,

12. saatten sonra devamlı bir inhibisyona neden olmaktadır. MDH aktivitesi etanol kontrol grubuna göre ise, 12. saatten itibaren bir aktivasyon göstermekte, bu aktivasyon da 32. saatte istatistiksel bakımdan önemli olmaktadır (Şekil 11). Endosülfan'ın aktive ve inhibe edici etkileri, enzimlere bağlanarak onları daha kararlı duruma getirebileceği ya da üçüncül yapılarını değiştirerek olabileceği gibi, DNA'ya bağlanıp enzim sentezi ile ilgili genleri baskılayarak etkilemelerinden dolayı da olabilir. DNA ile kovalent etkileşime giren toksik maddelerin, tamir işlemi sırasında DNA'ya yanlış nükleotid girmesine neden oldukları bilinmektedir (AHMET ve Ark., 1977).

Endosülfan'ın etkisiyle aktivitelerini incelediğimiz karaciğer MDH ve HK enzimleri bazen aktivasyon gösterirken, bazen de inhibisyon göstermişlerdir. Enzimler, toksik maddelerin etkileriyle değişik zamanlarda farklı etkiler gösterebilmektedirler. Örneğin yapılan bir çalışmada karaciğer LDH aktivitesinin, endosülfan'ın etkisiyle 4. saatte 2 kat aktive olmasına rağmen, 8. saatte bir inhibisyon, 11. saatten itibaren başlayan tekrar bir aktivasyonun olduğu ve 43. saatten sonra bu aktivasyonun yerini inhibisyonun aldığı gösterilmiştir (SÜMER, 1984). Bununla beraber NATH ve Ark. (1978) sıçanlara endosülfan verildikten sonra karaciğer süksinik dehidrogenaz aktivitesinde bir azalma olduğunu saptarken, GUPTA (1979) karaciğer mikrozomal enzimlerini stimüle ettiğini göstermiştir. DURUSOY (1983) ise bizim bulgularımıza benzer şekilde, bazı enzimlerin endosülfan'ın etkisiyle, bazen aktivasyon bazen de inhibisyon gösterdiğini saptamıştır.

Endosülfan'ın etkisiyle MDH ve HK enzim aktivitelerinde görülen değişimler, karaciğer hücrelerinin veya bu hücrelerdeki organellerin, toksinin etkisi ile hasar görmesinden sonra, aktiviteleri artan lizozomal enzimlerin, diğer stoplazmik enzimlerin çalışmalarını etkilemesinden dolayı olabilir. Fareler üzerinde endosülfan uygulanarak yapılan elektron mikroskobik çalışmalarda, çeşitli lizozom bozukluklarının olduğu, enerji metabolizmasının bozulduğu, çeşitli organellerde deformasyonlar ve parçalanmaların olduğu gösterilmiştir (MOCZON, 1976; ÖZATA, 1982).

Fare böbreğinde MDH, HK ve LDH aktivitelerine endosülfan'ın etkisi incelendiği zaman, her üç enziminde etanol kontrole göre 8. saatten itibaren başlayan stimülasyonu, 54. saate kadar devam ederken, ilk saatlerde etanol kontrolün altındaki değerlerde kalmıştır (Şekil 13,14,15). MDH ve LDH enzimleri yaklaşık olarak 32. saate kadar aktive oldukları ve bu saatten sonra da aktivasyonun azaldığı görülmüştür. HK enziminde dikkat çeken bir durum ise, serum fizyolojik kontrol grubunun hem endosülfan'ın hem de etanol kontrol grubunun altında kalmış olmasıdır (Şekil 14). Her üç enzimin de kontrol gruplarına göre 32. saatte oldukça fazla aktive oluşları dikkat çekicidir. Bu durum endosülfan veya metabolitlerinin detoksifikasyonundan sonra, böbreklerde idrar yoluyla atılması esnasında enzimlerimizi direkt ya da indirekt yollardan etkilemesinden dolayı olabilir. GUPTA (1976), endosülfan'ın böbrek ve testis hücrelerinde hasar yaptığını, spermatogenezde bir düşme ve vücut metabolizmasında düzensizliklerin meydana geldiğini göstermiştir.

Ayrıca DUBEY (1984), endosülfan'ın ve metabolitlerinin etkisi ile mitokondrial enerjinin azaldığını ortaya koymuştur.

Gerek MDH ve HK gerekse LDH enzimlerinin, etanol kontrol grubuna göre 54. saatten itibaren görülen inhibisyonlarının nedeni, endosülfan'ın ya da metabolitlerinin böbrekte, konsantrasyonlarının artması ile, hücrede ribozomların etkilenerek protein sentezinin azalmasından dolayı olabilir. Zira yapılan bir çalışmada, 11 mg/Kg/gün dozunda verilen endosülfan'ın, böbrek ATPaz aktivitesini ve testis alkalın fosfataz aktivitesini azalttığı ve toksinlerin kanda 1.14 ppm ile en düşük düzeyde bulunurken, böbrekte 6.46 ppm ile en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır (NATH ve Ark., 1978). Başka bir araştırmada ise, böbrek lizozomlarının azaldığı ve poliribozomlarda bir dağılmanın olduğu gösterilmiştir (ÖZATA, 1982).

Çalışmamızda gerek karaciğerde gerekse böbrekte gözlenen enzim aktivite değişiklikleri, endosülfan'ın direkt olarak enzimler üzerine etki etmesinden kaynaklanabileceği gibi, bir sinir insektisiti olan bu maddenin, merkezi sinir sistemini etkiledikten sonra dolaylı olarak da enzimleri etkileyebileceği düşünülebilir. Nitekim GUPTA (1976), fare ve sıçanlarda bu insektisit merkezi sinir sistemini uyararak toksik etki gösterdiğini, hayvanlarda zehirlenme sonucu görülen titremenin nedeni olarak da beyindeki asetilkolin'in aktivitesinin artmasından dolayı olduğunu ileri sürmüştür.

Endosülfan verilen farelerin hem karaciğer hem de böbrek dokusunda HK aktivitesinde görülen artışın bir başka sebebi de, bu enzimin substratı olan glikozun, ortamda artışı

olabilir. Yapılan bir çalışmada, endosülfan uygulamasından 2 saat sonra, kandaki glikozun maksimum düzeyde arttığı gösterilirken (GARK ve Ark., 1980), kandaki glikozun artışının bir sebebi olarak, karaciğer glikojeninin yıkılması gösterilmiştir (DERE ve YANIKOĞLU, 1988).

2,4-D uygulanmış fare karaciğerinde, etanol kontrole göre, 4. saatten başlamak üzere MDH ve LDH enzim aktiviteleri azalmaya başlamış ve bu azalma her iki enzim için de 20. saate kadar devam etmiştir. Ancak bu inhibisyonlar MDH için önemsiz olurken, LDH enzimi için 8. ve 16. saatlerde önemli olmaktadır (Şekil 16, 18). 2,4-D'nin karaciğer HK enzimi üzerine etkileri incelendiğinde, 4. saatten 19. saate kadar her iki kontrol grubuna göre bir inhibisyon görülmektedir. Meydana gelen bu aktivasyon 8. saatte önemli olmaktadır (Tablo 6). MDH, HK ve LDH enzimlerinde, ilk saatlerde gözlenen bu aktivasyon ve inhibisyonları, 2,4-D'nin uygulanan yüksek dozuna bağlı olarak karaciğer hücreleri üzerindeki etkilerine bağlayabiliriz. Yapılan çalışmalar, uygulanan dozlara bağlı olarak, uzun süre 2,4-D ile karşı karşıya kalan köpek, fare, sıçan, tavşan, koyun ve sığırdan, karaciğer kan damarlarında aşırı kan yüklenmesi, karaciğer hücrelerinde atrofi, böbrek hücrelerinde ise histopatolojik anormalliklerin oluşması gösterilirken, askorbik asit miktarında, nükleik asit ve lipid içeriklerinde önemli değişikliklerin olduğu da saptanmıştır (WHO, 1984).

2,4-D'nin etkisi ile fare karaciğer MDH ve LDH enzimleri, 20. saatten sonra etanol kontrol grubunun üstündeki değerlerde seyrederken (Şekil 16, 18), HK enzim aktivitesi ancak

46. saatten sonra etanol kontrol grubunun üzerine çıkabilmiştir (Şekil 17). Ancak, MDH enziminde etanol kontrol grubuna göre artan bir aktivasyon görülürken, LDH enziminde 32. saatten itibaren, azalan bir aktivasyon görülmektedir. Çünkü etanol kontrol grubunda, karaciğer LDH aktivitesi, 32. saatten itibaren bir artış göstermektedir. Çalıştığımız MDH ve LDH enzimlerinin aktivasyonlarının nedeni, diğer bazı enzimlerin inhibisyonlarına bağlı olabilir. Yapılan bir çalışmada 2,4-D uygulananmış bitkilerin hücre membranlarındaki ATPaz ve fosfataz aktiviteleri artarken, fosfatidat fosfatazin inhibe olduğu saptanmıştır (GUNTHER ve Ark., 1978). Aynı araştırmacılar fosfatazin aktive olmasının, fosfatidat fosfatazin inhibisyonuna neden olduğunu da ileri sürmüşlerdir. Bununla beraber, 2,4-D'nin etkisi ile sıçan karaciğerinde bazı toksinleri ortamdaki uzaklaştırmada görevli glutatyon-S-transferaz enziminin bazı formları inhibe olurken, bazı formlarının aktive olduğu da gösterilmiştir (WESSEY, 1984). Yapılan çeşitli çalışmalarda 2,4-D'nin bazı enzimleri aktive ettiği, bazılarını ise inhibe ettiği gösterilmiştir (KAWASHIMA, 1984; YELKOVAN, 1989; ALICIGÜZEL, 1989). Çalışmamızda, 46. saatten itibaren HK enziminin, 2,4-D'nin etkisi ile aktivitesinin artmasının nedenini, kanda glikoz seviyesinin bu saatten sonra artmış olmasına bağlayabiliriz. Uzun süre 2,4-D'ye maruz kalan insanlardan kan örnekleri alınarak yapılan çalışmalarda bu tip insanlarda hiperglisemi olduğu gösterilmiştir (CURRY, 1962). Bu durum da bizim düşüncemizi bir ölçüde desteklemektedir.

Karaciğer MDH, HK ve LDH enzimlerinde 2,4-D'nin etkisi ile tesbit ettiğimiz stimülasyonların bir başka nedeni de, bu toksinin ilaç metabolize eden sistemleri uyarmasından dolayı olabilir. Çünkü bu sistemde bulunan enzimler, fazla özgül değildirler. Bir toksik madde, kendi metabolizması ile ilgili enzimlerin sentezini artırırken, başka toksik maddelerin metabolizmaları ile ilgili enzimlerin sentezini de artırabilmektedir (KAPPAS, 1975). Gerek MDH gerekse LDH enzimlerinde ilk saatlerde görülen inhibisyonların nedeni, 2,4-D'nin protein sentez mekanizmasını olumsuz yönde etkilemesinden dolayı olabilir. AHMET ve Ark. (1977), 2,4-D'nin, insan fibroblast kültürlerinde düzensiz DNA sentezine neden olduğunu gösterirken, KOCA (1986), kromozomlarda topraklaşma ve yapışkanlıkların olduğunu, ayrıca kıyazma frekansını etkilediğini göstermiştir. Bir başka çalışmada ise, 2,4-D'nin yüksek dozlarının insan ve hayvan kemik iliği hücrelerinde sitogenetik bozuklukların olduğu saptanmıştır (PILINSKAYA, 1974).

2,4-D hücresel seviyede çeşitli bozukluklara neden olduğu gibi, bir çok enzimin faaliyetinde de etkili olmaktadır. Yapılan çalışmalarda, 2,4-D, kaslarda LDH ve kreatinkinaz enzimlerinin aktivitelerini artırırken (LUKOSHKINA, 1970), böbrekte G6P-DH ve MDH enzim aktivitelerinde önemli bir değişiklik yapmamış, HK enzimini inhibe etmiştir (PINARBAŞI, 1988). Bununla beraber, karaciğerde G6P-DH enziminin aktivitesini artırdığı tesbit edilmiştir (YELKOVAN, 1989).

Çeşitli yollarla canlı sistemlere giren klorofenoksi asitik asitler, karşılaştıkları proteinler ile başlıca iki şekilde etkileşime girmektedirler. Birincisi proteinler üzerin-

deki aromatik amino asitler ile klorofenoksi asitlerin benzen halkası arasında meydana gelen hidrofobik etkileşimdir. İkinci ise, arginin amino asidinin guanidin grubu ile klorofenoksi asitlerin karboksil grupları arasındaki bağlanmadır (DAVID, 1974). Her ne kadar proteinler kendilerini bu toksik maddelerden üç boyutlu yapıları ile korumaya çalışsalar da, bahsettiğimiz bu iki etkileşimden dolayı inhibe olabilmektedirler. Çalışmamızda gerek MDH gerekse LDH enzim aktivitelerinde ilk saatlerde görülen inhibisyonun nedeni bu tür bağlanmalar ile de açıklanabilir. Ayrıca, 2,4-D'nin albumin ve globulinlerdeki palmitik asit ve tiroksinin bağlanma bölgelerine bağlanarak, bu maddelerle yarışa girdiği de bildirilmektedir (KOLBERG, 1973).

Çalışmamızda etkisini incelediğimiz 2,4-D herbisiti, deney periyodları süresince farenin karaciğer ve kas dokusunda glikojen seviyesini önemli ölçüde etkilemiştir. Hem deney hem de kontrol grubunda her iki dokuda da enjeksiyondan sonra, glikojen seviyelerinde belirli bir yükselme görülmektedir. Beslenmeye bağlı olarak görülen bu artış, 2,4-D uygulanan gruptaki farelerde, karaciğerde 30 ile 40. saat dışında kalan tüm deney periyodları süresince ve kas dokusunda çalışılan tüm saatlerde kontrol grubunun altında kalmıştır (Şekil 21, 22).

2,4-D uygulanmış grupta karaciğer ve kas dokusunda 16. saate kadar görülmeyen glikojen artışı, hayvanların ilk saatlerde beslenememelerinden ve 2,4-D'nin hızla dokular içerisine nüfuz ederek glikojen metabolizmasını direkt veya indirekt olarak etkilemesinden ileri gelebilir. Ancak 16. saatten iti-

72. saatten itibaren hızlı bir glikojen artışı gözlemlenirken, karaciğer glikojen yüzdesinde belirgin bir artış vardır (Şekil 21). Fakat bu artış 72. saatte maksimum düzeye gelmesine rağmen, yine de kontrol grubunun oldukça altında kalmaktadır. Yapılan bir çalışmada 2,4-D'nin, hayvanlardaki toksik etkisinin kaslar ve merkezi sinir sistemi üzerine olduğu gösterilirken (IYER, 1976), bu herbisitinin farelere enjeksiyonundan sonra, bir kaç saat içinde kaslarda zayıflığın olduğu, özellikle arka bacaklarda felcin meydana geldiği, buna bağlı olarak da vücut hareketlerinde düzensizliğin görüldüğü de saptanmıştır (VURAL, 1984). Yukarıda bahsettiğimiz bu olumsuzluklar, farelerin yeterli düzeyde beslenebilmelerine engel olarak, gerek karaciğerde gerekse kasta, glikojen seviyesinin 72. saate kadar normal değerlerine gelememesinin bir nedeni olabilir.

2,4-D'nin etkisi ile farelerde karaciğer ve kas dokusunda glikojen seviyelerinin, kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük olmasının nedenlerinden birisi, herbisitinin etkisi ile hücresel düzeydeki değişikliklerin çok fazla olmasından ve özellikle hücrelerin normal fonksiyonlarını yapamamasından ileri gelebilir. 2,4-D verilmiş hayvan dokularında yapılan mikroskopik çalışmalarda, organellerin bu herbisitten oldukça fazla etkilendiği, sıçanlarda, kullanılan dozlara bağlı olarak, dokularda glikojen seviyesinin değiştiği gösterilmiştir (DZHAPAROV ve TSILIKOV, 1969; CHANG, 1974).

2,4-D ve endosülfan deney gruplarında, kontrol olarak kullanılan etanolün, gerek karaciğerde gerekse kasta glikojen seviyelerini azaltıcı etkisi olmakla beraber (DERE VE YANIKOĞLU, 1988) çalışmamızda, her iki dokuda da etanolün etkisine

rağmen 4. saatten itibaren hızlı bir glikojen artışı görülmektedir. Ancak 32. saatte hem karaciğerde hem de kasta istatistiksel bakımdan önemli olan bir düşüş meydana gelmiştir (Tablo 8). Bu düşüşün nedeni, hücresel düzeydeki önemli hasarlardan ve alkol metabolizmasında rol oynayan enzimlerin aktivitelerindeki değişikliklerden ileri gelebilir. ÖZATA (1989), farelere etanol enjeksiyonundan sonra karaciğer parankima hücrelerinin ince yapısında önemli değişikliklerin olduğunu ve glikojen partiküllerinin azaldığını göstermiştir. Bununla beraber etanolün, enzim aktiviteleri üzerine etkilerinin olduğu da saptanmıştır (PÖSE, 1981; THURMAN, 1972; RUBIN, 1970; ÜLKER ve ATALAY, 1985). Bizim çalışmamızda da etanolün enjeksiyonundan sonra, ilk saatlerde enzimleri stimüle edici etkisi gözden kaçmamaktadır. Ancak zaman ilerledikçe bu etki değişmektedir. Etanolün, enzimleri daha kararlı hale getirdiği ve ilk saatlerde aktive ettiği bilinmektedir (BRUICE, 1970).

Buraya kadar tartıştığımız kısımlardan da anlaşılacağı gibi B.t. preparatı, karaciğer ve böbrekte çalışılan enzim aktivitelerinde pek fazla önemli bir değişiklik göstermezken, endosülfan ve 2,4-D kontrol gruplarına göre enzim aktivitelerinde oldukça önemli değişikliklere neden olmuştur. Bununla beraber 2,4-D ve B.t. preparatı hem karaciğerde hem de kas dokusunda glikojen seviyelerini kontrol gruplarına göre azaltmıştır (Şekil 7, 8). Ancak B.t. preparatının etkisi ile azalan karaciğer glikojen seviyesi, 2,4-D'nin etkisi ile azalan karaciğer glikojen seviyesine göre daha kısa sürede normal değerlere gelmiştir. Aynı şekilde bir organik pestisit olan endosülfan da, her iki dokuda glikojen seviyelerinin kontrol gruplarına

göre önemli ölçüde düşmesine neden olmuş, normal glikojen değerlerine ise, karaciğerde 1. haftanın sonunda ulaşılırken kasta henüz ulaşılammıştır (DERE ve YANIKOĞLU, 1988).

B.t. preparatının zararlı böcek kontrolünde oldukça düşük dozlarda kullanıldığını göz önüne alırsak, deneylerde farelere uyguladığımız LD₃₀ dozunun, çok yüksek olmasına rağmen çalışılan enzim aktivitelerini ve glikojen seviyelerini sadece ilk saatlerde etkilemiş olması dikkat çekicidir. Sonuç olarak bir biyolojik preparat olan B.t.'in çalışmada kullandığımız kimyasal pestisitlerle -ele aldığımız konular yönünden karşılaştırdığımızda bu biyolojik preparatın daha avantajlı olduğunu söyleyebiliriz. Bununla beraber B.t. preparatının ziraî mücadelede yaygın bir şekilde kullanılabilmesi için öncelikle çevre ve insan sağlığı açısından daha bir çok çalışmanın yapılması gerekmektedir.

B.t. preparatının karaciğerdeki aktiviteyi etkilediği görülmüştür. LD₅₀ enzimindeki aktiviteyi 64. saatte etanol kontrol grubu ile aynı değerde düşürmüştür. Endosülfan'ın etkisiyle karaciğerdeki NDN ve NN enzim aktiviteleri ilk saatlerde inhibisyon ve aktivasyonlar gözlemlenmiştir. Bu deney periyodunun sonlarına doğru kontrol gruplarındaki enzim aktivitelerine gelmiştir. Ancak böbrekte, incelenen enzim aktiviteye de bazen aktivasyon bazen de inhibisyonlar gözlemlenmiştir.

B.t. ve 2,4-D'nin gerek karaciğerde gerekse kas dokusunda glikojen seviyelerini 16. saate kadar etkilemesine rağmen ilerleyen saatlerde her iki dokuda da beslenmeye bağlı bir artış vardır. B.t. preparatı 16. saatte sonra karaciğer ve kasta glikojen seviyelerini yükseltmeye başlamıştır.

6. ÖZET

Bu çalışmada, bir biyolojik insektisit olan *Bacillus thuringiensis* (B.t) var. *thuringiensis* preparatı ile kimyasal pestisitlerden endosülfan ve 2,4-D'nin LD₃₀ dozları Swiss - Albino erkek farelere (*Mus musculus*) intraperitoneal olarak uygulanarak hayvanların karaciğer ve böbreklerinde bazı enzim aktivitelerine (MDH, HK, LDH), ayrıca karaciğer ve kasta glikojen seviyelerine etkileri araştırılmıştır.

B.t. preparatı, gerek 2,4-D gerekse endosülfan'a oranla enzim aktivitelerinde önemli bir değişiklik göstermemiştir. Bu preparatın etkisiyle ilk saatlerde meydana gelen aktivasyonlar, 64. saatte kontrol grubuna paralel değerlere ulaşmıştır. 2,4-D uygulanan farelerde, karaciğer dokusunda deneyin sonlarına doğru MDH ve HK enzimlerinde meydana gelen aktivasyonlar önemli olmaktadır. LDH enzimindeki aktivasyon ise 64. saatte etanol kontrol grubu ile aynı değerde bulunmuştur. Endosülfan'ın etkisiyle karaciğerdeki MDH ve HK enzim aktiviteleri ilk saatlerde inhibisyon ve aktivasyonlar gösterirken deney periyodunun sonlarına doğru kontrol grupları ile aynı değerlere gelmiştir. Ancak böbrekte, incelenen her üç enzimde de bazen aktivasyon bazen de inhibisyonlar görülmektedir.

B.t. ve 2,4-D'nin gerek karaciğerde gerekse kas dokusunda glikojen seviyelerini 16. saate kadar etkilemesine rağmen ilerleyen saatlerde her iki dokuda da beslenmeye bağlı bir artış vardır. B.t. preparatı 16. saatten sonra karaciğer ve kasta glikojen seviyelerini yükseltmeye başlamıştır.

SUMMARY

72. saatte karaciğerde, kontrol grubuna yakın seviyeye gelirken kas dokusunda henüz normal değerlere ulaşamamıştır. Bununla beraber 2,4-D uygulanan grubun glikojen seviyeleri her iki dokuda da kontrol grubunun altında seyretmiştir.

Elde edilen sonuçlar, B.t. preparatının farelerde, çalışılan enzim aktiviteleri ve glikojen seviyelerine etkileri yönünden, uyguladığımız kimyasal pestisitlere göre daha olumlu bir pestisit olduğunu göstermektedir.

B.t. preparat did not reflect any important variance in the enzyme activities in proportion to either 2,4-D or endosulfan. With the effect of that preparation activations occurred within the first hours reached, at the 64th hour, the values parallel to the control group. In the liver tissue of the mice to which 2,4-D is applied, the activations occurring in MDH and HK enzymes become significant toward the end of the experiment. The activations in LDH enzyme has also been found to be at the same level with the ethanol control group at the 64th hour. While the MDH and HK enzyme activities in the liver showed inhibitions and activations in the first hours under the effect of endosulfan, they then turned to the same levels with the right control groups toward the end of the experimental period. However, in the kidneys, each of the three examined enzymes sometimes show activation and sometimes show inhibition.

Although B.t. and 2,4-D effect the glycogen levels either in the liver or in the muscles until the 16th hour,

SUMMARY

In this study, LD₃₀ doses of *Bacillus thuringiensis* (B.t.) var. *thuringiensis* preparation, which a biological insecticide, with 2,4-D and endosulfan that are chemical pesticides have been applied intraperitoneally to Swiss-Albino male mice (*Mus musculus*) in an effort to their effects on some of the enzyme activities in the animals kidney and liver as well as on the levels of glycogen in the liver and muscle were investigated.

B.t. preparat did not reflect any important variance in the enzyme activities in proportion to either 2,4-D or endosulfan. With the effect of that preparation activations occurred within the first hours reached, at the 64th hour, the values parallel to the control group. In the liver tissue of the mice to which 2,4-D is applied, the activations occurring in MDH and HK enzymes become significant toward the end of the experiment. The activations in LDH enzyme has also been found to be at the same level with the ethanol control group at the 64th hour. While the MDH and HK enzyme activities in the liver showed inhibitions and activations in the first hours under the effect of endosulfan, they then turned to the same levels with the right control groups toward the end of the experimental period. However, in the kidneys, each of the three examined enzymes sometimes show activation and sometimes show inhibition.

Although B.t. and 2,4-D effect the glycogen levels either in the liver or in the muscles until the 16th hour,

there appears to be a rise in both tissues in the following hours depending on nutrition. B.t. preparat began to rise glycogen levels in the liver and muscle after the 16th hour. While B.t. was keeping up with the control group in the liver at the 72nd hour, it failed to reach the normal values in the muscle tissue. Nonetheless, the glycogen levels of the group to which 2,4-D was applied were under the control group found in both tissues.

The results obtained show that B.t. preparat is a more positive pesticide found in mice than that of the chemical pesticide that we applied, from the point of enzyme activities and glycogen levels that were examined.

ANONYM. (1979) DSI Tesislerinde Sorun Yaratıcı Yabancı Otlarla Savagın El Kitabı. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, DSI Basım ve Foto-Film İşletme Müd. Matbaası, ANKARA.

ANONYM. (1981) Mammalian Safety of Microbial Control Agents for Vector Control Report of an Informal Consultation. Geneva 10-13, November 1980, WHO/VBC/11-820 Geneva.

ARMSTRONG, J.L., ROHMANN, G.F., BENEDRAU, G.S. (1985) Delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* sbs. israelensis. J. Bacteriol. 161, 39-45.

ASAL, S. (1985) Bazı Pestisitlerin Mutajenik Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Doğa Bilim Dergisi D-2, 9: 1, 72-78

BAGCI, H., KENCE, A. (1985) Değişik Karasinek Soylarına *Bacillus thuringiensis*'in Farklı Etkisi. Doğa Bilim Dergisi A-2, 9: 2-3

BATESON, J.B. and G. STAINSBY. (1970) J. Food Technology 5: 403-415

7. KAYNAKLAR

- AGARWAL, D.K., SETH, P.K., GUPTA, P.K. (1978) Effect of Endo-sülfan on Drug Metabolizing Enzymes and Lipid Peroxidation in Rats. J. Environ. Sci. Health Part. C. Environ. Health Sci. 13 (1), 49-62.
- AHMET, F.E., HART, R.W., LEWIS, N.L. (1977) Pesticide Induced DNA Damage and Its Repair in Cultured Human Cells. Mutation Research, 42: 161-174.
- ALICIGÜZEL, Y., YÜCEL, G., ÖZBEN, T., AKSU, T.A., TOSUN, N., GÜMÜŞLE, S. ve YILMAZ, R.N. (1989) 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid'in İn-vitro Eritrosit, Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz ve Redükte Glutatanyon Üzerine Etkisi. Journal of Biochemistry Kongre Özel Sayısı Vol: XIV, No: 3, 76-77
- ANDREASIK, Z., KOLON, S., SMOLIK, R. (1979) Health Status Evaluation in Workers Packaging the Herbicide "Pielik" (Chlorophenol). Arh. Hig. Rad. Toxicol. 30, 599-602.
- ANONYM. (1979) DSİ Tesislerinde Sorun Yaratan Yabancı Otlarla Savaşım El Kitabı. Enerji ve Tabii Kaynaklar Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü, DSİ Basım ve Foto-Film İşletme Müd. Matbaası, ANKARA.
- ANONYM. (1981) Mammalian Safety of Microbial Control Agents for Vector Control Report of on Informal Consultation. Geneva 10-13, November 1980, WHO/VBC/11-820 Geneva.
- ARMSTRONG, J.L., ROHRMANN, G.F., BEAUDREAU, G.S. (1985) Delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* sbs. israelenses. J. Bacteriol. 161, 39-46.
- ASAL, S. (1985) Bazı Pestisitlerin Mutajenik Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Doğa Bilim Dergisi D-2, 9: 1, 72-78
- BAĞCI, H., KENCE, A. (1985) Değişik Karasinek Soylarına *Bacillus thuringiensis*'in Farklı Etkisi. Doğa Bilim Dergisi A-2, 9: 2-9
- BATESON, J.B. and G. STAINSEY. (1970) J. Food Technology 5: 403-415
- (1986) Studies on Enzyme Activities in Rats Intoxicated With 2,4-D Brometol. Chem. Toxicol. 19 (2) 91-94

- BENSON, W.R. (1969) The Chemistry of Pesticides in Biological Effects of Pesticides in Mammalian Systems. Annals of the New-York Academy of Sciences. Vol: 160, Art: 1, P: 8, Ed. By Kraybill, H.F., Albertson, P.D. and Krauss, Mar. Published By the Academy, New-York
- BOHRINGER, M., MANNHEIM, B. (1973) Biochemical Information p: 124-125 (MDH), p: 13-14 (HK), p: 121-122 (LDH).
- BOND, R.P.M., BOYCE, C.B.C., FRENCH, S.J. (1969) A Purification and Some Properties of an Insecticidal Exotoxin from *Bacillus thuringiensis* Berlier. Biochem. J., 114, 477-488
- BOŞGELMEZ, A., ÇAKMAKÇI, L., GÜRKAN, B., GÜRKAN, F. ve ÇETİNKAYA, G. (1983) Büyük Mum Güvesi Galleria mellonella L. (Lepidoptera: Galleridae) Üzerinde *Bacillus thuringiensis* in Etkisi, Mikrobiyoloji Bülteni 17: 4, 233-242
- BIUICE, T.C. (1970) Proximity Effects and Enzyme Catalysis in the Enzymes. Vol: II, P: 217-279 Ed. By. Boyer, P.D. Third Edition Academic Press, New-York London
- BUCHER, G.E. (1981) Identification of Bacteria Found in Insects. Ed. Burges, H.D. Microbial Control of Pests and Plant Diseases. Washington D.C.
- BULLA, L.A., DAVIDSON, L.I., KRAMER, K.J., BECHTEL, D.B. (1976) Microbiology. Ed. Schlessinger, A. Amer. Soc. Microbiol. Washington D.C.
- BULLA, L.A., BECHTEL, D.B., KRAMER, K.J., SHETHNA, Y.I. (1980) Ultrastructure Physiology and Biochemistry of *Bacillus thuringiensis*. Critical Reviews in Microbiology Madison. Wisconsin 8: 147-204
- BURGES, H.D. (1981) Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980 Academic Press Inc. 949, London.
- BURSALIOĞLU, M. (1985) Ülkemizde Çeşitli Habitatlardan İzole Edilen *Bacillus* Türlerinin Bazı Zararlı Böceklerin Biyokontrolünde Kullanılma Olanakları Üzerine Bir Araştırma, Ege Üniv. Fen Bil. Ens. Doktora Tezi.
- CAMPEL, M. (1986) Studies on Enzyme Activities in Rats Intoxicated With 2,4-D Bromatol. Chem. Toxicol. 19 (2) 91-94

- CASEY, P.H., COLLIE, W.R. (1984) Severe Mental Retardation and Multiple Congenital Anomalies of Uncertain Cause After Extreme Parental Exposure to 2,4-D. J. Pediatr. 104 (2) 313-315
- CHANG, H., KIP, S.W., CHERRY, S.H., (1974) Effect of Phenoxy-acetic acids on Rat Liver Tissues. J. Agric Food Chem 22 (1) 62-65
- COURTNEY, K.D. (1977) Prenatal Effects of Herbicides Evaluation by the Prenatal Development Index. Arch. Environ. Contamin. Toxicol. 6: 33-46
- CURRY, A.S. (1962) Twenty-one Uncommon Cases of Poisoning. Br. Med. J. 7, 687-689
- ÇAKMAKÇI, L., BOŞGELMEZ, A., SOYLU, O.S., BULUT, H., GÜRKAN, B. (1985) *Bacillus thuringiensis*'in Üretim Olanakları ve Tarımda Önemli Zararlara Neden Olan Bazı Lepidopter Türlerine Karşı Etkinliklerinin Saptanması Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK Tarım Ormancılık Grubu, TARMİK Ünitesi, Proje No Tarmik-3
- DAVID, K., EDWARDS, G. (1974) Progress in Biochemical Pharmacology Drug and the Kidney Vol: 9, 274
- DAVIS, P.V., WEDEMEYER, G.A. (1971) Na, K, Activated-ATPase Inhibition in Rainbow Trout. A. Site Organochlorine Pesticide Toxicity. Comp. Biochem. Physiol. B. Comp. Biochem. 40 (3) 823-827
- DEACON, J.W. (1983) Microbial Control of Plant Pests Diseases. American Society for Microbiology Washington D.C.
- DE BARJAC, H., LARGET, I., BENCCHOV, L., COSMAO, V., VIVIANI, G., RIPOUTEAU, H., PAPIAN, S. (1980) Innocuity Test on Mammals With Serotyp H-14 of *Bacillus thuringiensis* WHO/VBC/80-76 Geneva.
- DERE, E., YANIKOĞLU, A. (1988) Endosülfan'ın Erkek Farelerin (Swiss-Albino) Karaciğer ve Kas Glikojen Seviyelerine Etkisi. Doğa Bilim Derg. TU Biyol. D.C. 12 S.2
- DIKSHITH, T.S.S. and DATTA, K.K. (1978) Endosülfan; Lack of Cytogenetic Effects in Male Rats. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 20, 826-833

- DUBEY, R.K., BEG, M.U., SINGH, J. (1984) Effects of Endosülfan and Its Metabolites on Rat Liver Mitochondrial Respiration and Enzyme Activities In-vitro. *Biochem. Pharmacol.* 33 (21) 3405-3410
- DULMAGE, H.T., WOLFENBARGER, D.A., LUKEFAHR, M.J. et. al. (1971) Field Tests With HD-1 Formulation of the Delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* Against the Cabbage Looper on Cabbage. *J. Econ. Entom.* 64 (6) 1421-1422
- DULMAGE, H.T. (1981) *Cooperators*, Insecticidal Activity of Isolated of *Bacillus thuringiensis* and Their Potential for Pest Control in "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980" Ed. H.D. Burges. pp 193-282, Academic Press. London
- DUNCAN, D.B. (1955) Multiple Range and Multiple F Tests *Biometrics* 11, 1-41
- DURUSOY, M. (1983) Pestisitlerden Endosülfan'ın Fare (Swiss-Albino) Karaciğerinde Lizozomal Enzim Aktivitelerine In-vivo Etkileri. Hacettepe Üniv. Fen Bil. Ens. Doktora Tezi, ANKARA.
- DZHAPAROV, I.R., TSILOKOV, V.V. (1969) The Effect of Sodium Salt of 2,4-D and Carbothione on the Content of Glycogen in the Liver and the Blood Sugar Level in Rats. *Farmacol. Tsent. Kholinolitikav Drugikh Neintotropnykh Srodstv* P 180
- EREN, Z., SAĞLAM, E., KUTBAY, H.G. (1988) Endosülfan'ın Swiss-Albino tipi lab. Farelerinde Serum Alkalen Fosfataz ve Non-prostatik Asit Fosfataz Aktivitesi Üzerine Etkisi, IX. Ulusal Biyoloji Kongresi Bildiri Özetleri, Sayfa 12, Cum.Üniv. Fen-Ed.Fak. Biyoloji Bl. SİVAS
- FAST, P.G. (1981) The Crystal Toxin of *Bacillus thuringiensis* Ed. H.D. Burges *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980* Academic Press Inc (London) LTD 949 p
- FEDOROVA, L.M., BELOVA, R.S. (1974) Inclusion of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in Organs of Animals: Paths and dynamics of Its Excretion. *Gig. i. Sanit* 39 (2) 105-107
- FINGERBRING, W. (1956) *Nachbl. Deutsch Pfisch Dienst* 8, 183
- FRENSCH, H. (1958) *Med. Chem.* 6, 556

- GARG, A., KUNVAR, K., DAS, N., GUPTU, P.K. (1980) Endosülfan on Toxication Blood Glucose Electrolytes Calcium Levels Ascorbic-Acid and Glutathione in Rats. Toxicol. Left (Amst). 5 (2) 119-124
- GUNTHER, F.E., SCHERER and D. JAMES MORRE (1978) In-vitro stimulation by 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid of an ATPase Inhibition of Phosphatidate Phosphatase of Plant Membranes. Biochem. Biophys. Research Com. 84 (1), 238-247
- GUPTA, P.K. (1976) Endosülfan Induced Neurotoxicity in Rats and Mice. Bull Environm. Contam. and Toxicol. 15 (6) 708-713.
- GUPTA, P.K. (1977) Toxicity of Endosülfan; Effect on Pento-bartial Induced Hypnosis in Rats Ist. Int. Cong. Toxicol. March 30 to April 2, Royal Hote, Ontario Canada.
- GUPTA, P.K., CHANDRA, S.U., SAXENA, D.K. (1978) Teratogenic and Embryotoxic Effects of Endosülfan in Rats. Acta Pharmacol. et. Toxicol. 42, 150-152
- GUPTA, P.K. and GUPTA, R.C. (1979) Pharmacology, Toxicology and Degradation of Endosülfan. A. Review. Toxicology 13, 115-130
- GÜMÜŞSUYU, İ., (1982) Tarımda Tamamlayıcı Zararlı Mücadelesi. Selçuk Üniv. Fen Fak. Yayınları No: 3, S: 49, Konya
- HALLIOP, J., TOCHMAN, A. and LATALSKI, M. (1980) Ultrastructural Investigation and Myeloperoxidase Determinations in Rat Neutrophils in Acute Poisoning With 2,4-Dichlorophenoxy-acetic Acid. Acta Haematol. Pol., 11 (4), 249-257
- HODGES, L. (1973) Environmental Pollution. P 189-191, Holt Rinehart and Winston Inc.
- IPSEN, J. and FEIGL, P. (1970) Reed-Muench Biostatistics. Bancroft's Introduction to Biostatistics Bioassay. 163-170
- ISHIWATA, S. (1901) On A Kind of Severe Flacheria (Sotto Disease) Dainihon Sanshi Keiho, 9, 1-5.
- IYER, U., WHITING, M. (1976) Neural Influence in Experimental Myotonia Neurology. 26, 384.

- JOSEPH, H., ROE, J.M., BAILEY, R. RICHART GRAY and JOHN, N. ROBINSON (1961) Complete Removal of Glycogen From Tissues by Extraction With Cold Trichloroacetic Acid Solution. Journal of Biol. Chem. Vol 236, No: 5, May. 1961 Printed in USA
- KAPPAS, A. and ALVARES, A.P. (1975) How the Liver Metabolizes Foreign Substances. Scientific American June, P 22-31.
- KAWASHIMA, Y. et. al. (1984) Effects of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid on Peroxisomal Enzymes in Rat Liver. Biochem. Pharmacol. 33 (2), 242-245.
- KLINGMAN, C.G., ASHTON, M.F., NOORDHOFF, J.L. (1975) Weed Science Principles and practices. John Wiley and Sons. New-York, Chichester, Brisbane, Toronto VIII + 431 s.
- KOCA, S. (1986) 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid'in Schistocerca gregaria forskal (Acrididae: Orthoptera) Erkeklerinde Kiyazma Frekansına ve Meiotik Bölünmeye Etkileri. Cum. Üniv. Fen Bil. Ens. Biyoloji Anabilim D. Yüksek Lisans Tezi, SİVAS
- KOLBERG, J., HELCELAND, K., JONSEN, J. (1973) Binding of 2,4-D and 2,4,5-Trichlorophenoxyacetic Acid to Bovine Serum Albumin. Acta. Pharmacol. 33, (5,6) 470-475.
- KORTE, C., JALAL, S.M. (1982) Induced Clastogenicity and Elevated Rates of Sister Chromatid Exchanges in Cultured Human Lymphocytes. J. Hered 73, 224-226.
- KRIEG, A. and MILTENBURGER, G. HERBERT. (1984) Bioinsecticides: I. Bacillus thuringiensis. Advances in Biotechnological Processes 3. Pages 273-290.
- LACEY, L.A., UNDEEN, A.H. (1986) Microbial Control of Black Flies and Mosquitoes. Ann. Rev. Entomol. 31, 265-296.
- LEE, S.G., ECKBLAD, W., BULLA, L.A. (1985) Diversity of Protein Inclusion Bodies and Identification of Mosquitocidal Protein in Bacillus thuringiensis sbs. israelensis. Biochem. Biophys. Res. Common 126: 953-960

- LUKOSHKINA, L.P., GUESEINOVA, R.S., MELIK - ZODE, T.M. (1970) Study of Certain Aspects of Lipid-Protein-Carbohydrate Metabolism in Workers Engaged in 2,4-D Production Trud Azerbaid. Nauchno-Issled Instituta. Gig. Prof. Zabal. 5: 146-149.
- MEYER, Y., ASPART, L., CHARTIER, Y. (1984) Auxin-Induced Regulation of Protein Synthesis in Tobacco Mesophyll Protoplasts Cultivated In-vivo. Plant Physiol. 75: 1027-1033
- MOZCON, T. (1976) Inhibitory Effect of Pesticides on Phosphatase, Glucosidase and Acetylcholinesterase Activity in Miracidia of Fasciola Hepatica. Histochemical Data. Bulletin Academie Polonaise Des Sciences: Serie Des Sciences Biologiques 24 (5): 289-292
- MOHR, H., SCHOPFER, P. (1978) Lehrbuch de Pflanzenphysiologie Springer-Verlag, Berlin. Heidelberg New-York. XI + 608 S
- MORTELMANS, K., HAWORTH, S. SPECK, W. and ZEITGER, E. (1984) Mutagenicity Testing of Agent Orange Components and Related Chemicals. Toxicol. and App. Pharmacol. 75: 137-146.
- NAHLE, R., AL-NASSAR and ATEF S. SOLIMAN. (1982) Cytological Effects of Herbicides 1. Effect of 2,4-D and 2,4,5-T on Meiotic Cells of Wheat and Two Related Species. Cytologia 47: 53-61.
- NATH, G., DATTA, K.K., DIKSHITH, T.S.S. TANDON, S.K. and PANDYA, K.P. (1978) Interaction of Endosulfan and Metaph in Rats. Toxicology, 11 385-393.
- NIBHRITI, D. and ANITA, G. (1981) Effect of Endosulfan in Female Rats Growing on Low Protein and High-Protein Cereal Diet. Pestic. Biochem. Physiol. 15 (1): 90-98.
- NICHOLAS, V., CARROLL, ROBERT, W. LONGLEY. and JOSEPH, H., ROE, J.M. (1955) The Determination of Glycogen in Liver and Muscle by Use of Anthrone Reagent. (Received For Publication. October, 28. From the Department of Biochemistry, School of Medicine, George Washington University, Washington
- OHBA, M., TANTICHODAK, A., ALIZAWA, K. (1981) Production of Heat Stable Exotoxin by Bacillus thuringiensis and Related Bacteria. J. Invertebr. Pathol: 38, 26-32

- ÖZATA, A. (1982) Farelerde (Swiss-Albino) Pestisitlerin Neden Olduğu Hücre İnce Yapı ve Enzim Aktivite Değişikliklerinin Elektron Mikroskopik Yöntemlerle Araştırılması. Hacettepe Üniv. Mezuniyet Sonrası Eğt. Fak. Doktora Tezi, Ankara.
- ÖZATA, A. (1989) Fare (Mus musculus) Karaciğer İnce Barsak ve Böbrek hücrelerinde Alkolün Neden Olduğu İnce Yapı Değişiklikleri. DOĞA TU J. Biol. D 13, 3 149-161.
- ÖZER, Z., ÇITIR, A., GÜNCAN, A., DÖKMEN, T. (1976) Genel Fitopatoloji. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Bitki Koruma Kürsüsü, Erzurum.
- ÖZER, Z. (1982) Herbolojiye Giriş (Yabancı Otlar ve Kontrol Metodları) Ders Notu. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Erzurum.
- ÖZTÜRK, S., ÖZGE, N. (1978) Bitki Koruma İlaçları. Eser Matbaası Yayını.
- PARKE, D.V. (1974) The Biochemistry of Foreign Compounds, Pergamon Press, Oxford New-York, Toronto-Sydney, 172-195.
- PASCOE, D. (1983) Toxicology Studies in Biology No: 149, First Published by Edward Arnold (Publishers) Limited 41 Bedford Square, London WCI 3 DQ.
- PENNER, D., ASHTON, F.M. (1966) Biochemical and Metabolic Changes in Plants Induced by Chlorophenoxy Herbicides. Residue Reviews. 14, 39-113.
- PINARBAŞI, E. (1988) 2,4-D'nin Fare Böbreği G6P-DH, MDH ve HK Enzim Aktiviteleri Üzerine İn-vivo Etkisi. Cum. Üniv. Sağlık Bil. Ens. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi, Sivas.
- PILINSKAYA, M.A. (1974) Cytogenetic Effect of the Herbicide 2,4-D on Human and Animal Chromosomes Tsitd. Genet. 8, 202-206.
- POSE, H. and POSE, A.R. (1981) Inhibition of RNA and Protein Synthesis By Ethanol in Regenerating Rat Liver. Evidence For Transcriptional Inhibition of Protein Synthesis. Acta Pharmacol. et. Toxicol. 49, 125-129.

- PRESCOTT, I.F., PARK, J., DARRIEN, I. (1979) Treatment of Severe 2,4-D and Mecoprop Intoxication With Alkaline Diuresis Br. J. Clin. Pharmacol. 7: 111-116.
- RAMA, M., SRIVASTAVA, N., MISRA, U.K., VENKITA., SUBRAMANIAN, T.T. (1980) Effect Endosulfan on Anilinehydroxylase Activity of Hepatic Smooth Endoplasmic Reticulum in Rats Fed Lysine, Threonine Deficient and Supplemented Rice Diets. Nutr. Rep. Int. 21 (3), 425-428.
- RAO, D.M.R., DEVI, A.P., MURTY, A.S. (1980) Relative Toxicity of Endosulfan Its Isomers and Formulated Products to the Freshwater Fish Labeo rohita J. of Toxicol. and Environm. Health 6 825-836.
- REDDY, J.K., QURESHI, S.A., LALWONI, N.D. (1982) Induction By Ciprofibrate of Hepatic Peroxisome Proliferation in Rats, Pigeons, Chickens, Cats and Rhosus Momkeys. Fed. Proc. 41, 1741.
- RIPPER, W.E. (1964) Side Effects of Pesticides on Plant Growth Proc. 7 th Br. Weed Control Conf., 1040-1057.
- RUBIN, E., GANG, B.H., LIEBER, C.S. (1970) Induction and Inhibition of Hepatic Microsomal and Mitochondrial Enzymes By Ethanol. Labor. Insert. 22 (6) 569-580.
- SAALBACH, G., KOBLITZ, H. (1977) Karyological Instabilities in Callus Cultures From Haploid Barley Plants. Biochemie und Physiologie der Pflanzen. 171, 469-473.
- SARMA, P.R., JACOBS, J. (1982) Thoracic Soft-Tissue Sarcoma in Viet-Nam Veterans Exposed to Agent Orange. Engl. J. Med. 306: 1109.
- SAASTRY, K.V. and SIDDQUI, A.A. (1983) Metabolic in the Snake Heat Fish Channa Punctatus Chronically Exposed to Endosulfan Water Air. Soil Pollut. 19 (2).
- SAUERHOFF, M.W., BRAUN, W.A., BLAU, G.E., GEHRING, P.J. (1977) The Fate of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) Following Oral Administration to Man. Toxicology 8: 3-11.

- SCHILLINGER, J.E. (1960) Hygienic Evaluation of Agricultural Products Cultivated With the Use of Herbicides J. Hyp. Epidemiol Microbial. Immunol. 4, 243-352.
- SEBESTA, K. HORSKA, K. (1979) Mechanism of Inhibition of DNA-Dependent RNA Polymerase by Exotoxin of *Bacillus thuringiensis*, Biochem. Biophys. Acta., 209, 357-376.
- SEBESTA, K., FARKAS, J., HORSKA, K. (1981) *Thuringiensis* the Beta-Exotoxin of *Bacillus thuringiensis* "Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980" (H.D. Burges, Ed. Academic Press. New-York) P, 249-281.
- SHADDUCK, J.A. (1980) *Bacillus thuringiensis* Serotype H-14 Maximum Challenge and Eye Irritation Safety Tests in Mammals WHO/VBC/80. 763, Geneva.
- SMIRNOFF, W.A. (1974) Three Years of Aerial Field Experiments With *Bacillus thuringiensis* Plus Chitinase Formulation Against the Spruce Budworm. J. of Inverteb. Path.: 24, 344-348.
- SNEDECOR, G.W. (1946) Statistical Methods, 4 th Ed. Iowa State Collage Press. Ames.
- SRIRAM, K. and MISRA, U.K. (1983) Effect of Endosulfan on Liver and Plasma Vitamin A Levels in Rats. Nutr. Rep. Int. 28 (4) 731-734.
- SÜMER, S. ve ATALAY, A. (1984) Endosulfan'ın Karaciğer Laktat-Dehidrogenaz, Glikoz-6-Fosfat Dehidrogenaz ve İnce Barsak Alkalen Fosfataz Aktivitelerine Etkisi. DOĞA Bilim Derg. Seri A-2, Cilt 8, Sayı 1.
- THEOLOCIS, A., HUYNH, T.V., DAVIS, R.W. (1985) Rapid Induction of Specific mRNA's by Auxin in Pea Epicotyl tissue. J. Mol. Biol. 183, 53-68.
- THOMAS, W.E., ELLAR, D.J. (1983) *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crysCal Delta-Endotoxin: Effects on Insect and Mammalian Cell In-vitro and In-vivo. Journal of Cell Science 60; 181-187.
- THURMAN, R.G., LEY, H.G., SCHDZ, R. (1972) Hepatic Microsomal Ethanol Oxidation Eur. J. Biochem. 25, 420-430.

- TOKER, C., OEBALI, O. (1988) Endosülfan Azinfosmetil ve PCNB' nin *Chlorella* sp.'nin Gelişimine Etkisi. Cum. Üniv. Fen-Ed. Fak. Fen Bil. Derg. Cilt 6, Sayı 2, Sayfa 139.
- ÜLKER, N., ATALAY, A. (1985) Endosülfan'ın ve Gusathionun Bazı Fare Karaciğer Enzimleri Üzerine Etkisi. Cum. Üniv.Tıp Fak. Derg. Cilt 7, Sayı 1-2.
- VANDER GEEST, L.P.S. and VAN DER LAAN, P.A. (1971) Sources of Species Material-Appendix 6. Ed. H.D. Burges and N.W. Hussey-Microbial Control of Insects and Mites Academic Press. London New-York, 861 P.
- VURAL, N., BURGAZ, S. (1983) Türkiye'de kullanılan Dipridil Grubu Herbisitlerin Analitik Toksikoloji Açısından İncelenmesi, A.Ü. Ecz. Fak. Kec. 13, 170-181.
- VURAL, N. (1984) Toksikoloji. Ank.Üniv.Ecz.Fak. Yayınları No: 56, Ankara
- WESSEY, D.A., BOYER, T.D. (1984) Differential Activation and Inhibition of Different Forms of Rat Liver Glutathione-S-Transferase By the Herbicides 2,4-Dichlorophenoxyacetate (2,4-D) and 2,4,5-Trichlorophenoxyacetate (2,4,5-T). Toxicol. Appl. Pharmacol. 73, 492-499.
- WHITELEY, H.R. and SCHNEPF, H. ERNEST. (1986) The molecular Biology of Parasporal Crystal Body Formation in *Bacillus thuringiensis*. Ann. Rev. Microbial 40, 549-576.
- WHO (World Health Organization) (1984) Environmental Health Criteria 29 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) Geneva.
- WORTHINGTON (1978) Enzymes and Related Biochemicals Freehold, New Jersey USA P,111-112.
- YELKOVAN, İ. (1989) 2,4-D'nin Fare Karaciğerindeki G6P-DH Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisinin Araştırılması. Cum.Üniv. Sağlık Bil. Ens. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sivas.
- ZURFLUH, L.L., GUILFOYLE, T.J. (1982) Auxin-Induced Changes in the Population of Translatable Messenger RNA in Elongating Sections of Soybean Hypocotyl. Plant Physiol. 69, 332-337.