



## BİR HERBİSİT OLAN 2,4-D (DİKLOROFENOKSİASETİK ASİT)' in SIÇANLARDA TESTİS DOKUSU ÜZERİNE ETKİSİ

EFFECT OF 2,4-D (2,4-DICHLOROPHENOXYACETIC ACID) AS A HERBICIDE ON RATS TESTES

Ebru ÖZDAŞ<sup>1</sup> Utku ATEŞ<sup>2</sup> Yiğit UYANIKGİL<sup>2</sup> Meral BAKA<sup>2</sup> Altuğ YAVAŞOĞLU<sup>2</sup>  
Songül BİÇER<sup>1</sup> Gürsel ERGEN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Zooloji Anabilim Dalı, İZMİR.

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İZMİR.

**Anahtar Kelimeler:** herbisit, 2,4-D, histopatoloji, testis, sıçan.

**Key Words:** herbicide, 2,4-D, histopathology, testis, Rat.

\*Bu çalışma E.Ü.Araştırma Fon Saymanlığı'nın 2005- FEN- 030 nolu projesi olarak gerçekleştirilmiştir.

### ÖZET

Her geçen gün tarıma elverişli alanlar giderek azalmaktadır. Bu yüzden birim alandan gelecek ürün miktarının artırılması gerekmektedir. Bu yöntemlerden biri de herbisitler ile yapılan kimyasal mücadele yöntemidir. Ancak, bu tarım ilaçlarının bilinçsiz ve kontrolsüz kullanımı sonucu çevrede oluşturduğu olumsuz etkiler günümüzün önemli sorunlarından biridir. Bu çalışmanın amacı; zirai mücadele yöntemleri içinde yabancı otlarla mücadelede çok yaygın olarak kullanılan 2,4-D herbisitinin oral kullanımının sıçan testislerinde oluşturduğu histopatolojik etkilerini incelemektir.

Bu amaçla, yaklaşık 200-250 gr ağırlığında olan Wistar Albino erkek sıçanlar kontrol, düşük, orta ve yüksek doz olmak üzere her biri 6 sıçan içeren 4 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu sıçanlara standart pellet yem verilirken düşük, orta ve yüksek doz 2,4-D sırasıyla 20, 40, 80 mg/kg dozda laboratuvar pellet yemlerine emdirilerek 28 gün boyunca oral yolla verilmiştir. Tüm sıçanlar intrakardiyal perfüzyonla tespit edilmiştir. Deneklerin testis dokuları rutin ışık mikroskopu takibi için alınmış ve Olympus BX51 araştırma mikroskopunda incelenmiştir.

Deney gruplarında dozla doğru orantılı olarak seminifer tübüllerde atrofi, spermatogonik hücre sırasında bozulma ve yüksek doz gruplarında testis hasarları saptanmıştır. Ayrıca, tunika albuginea'da ve seminifer tübül epiteli çapında azalma ve spermatogonik hücrelerin lümenine dökülmesine neden olmuştur. Bu sonuçlara göre, 2,4-D testis dokusunda histopatolojik hasara neden olmuştur.

### SUMMARY

*A gradual decrease is observed day by day in the amount of suitable agricultural fields all over world. This results in the requirement of an increased agricultural produce per agricultural area. One of the methods to increase the product per area is the chemical fight using herbicidal agents. However, the irrational and uncontrolled use of herbicides causes a series of environmental problems nowadays. Therefore, the aim of this study is to investigate the histopathological effects of oral 2,4-D (a selective pesticide that controls weeds in a crop) on the rat testicles. The study was carried out on Wistar Albino (Rattus norvegicus) male rats (200-250 g body weight) obtained from Experimental Research Center of Ege University.*

Yazışma adresi: Yiğit UYANIKGİL, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir -TÜRKİYE  
Makalenin geliş tarihi : 15.06.2006 ; kabul tarihi : 29.09.2006

*Rats were randomly divided into 4 experimental groups composed of control group and low, medium and high dose 2,4-D groups. Control rats were fed with standart chow; while rats in low, medium and high dose 2,4-D groups were fed 28 days with standart chow added with 20, 40, 80 ml/kg 2,4-D respectively. All rats were perfused with intracardiac fixative solution under anaesthesia. At the end of the study, the testicular tissue was removed and processed for light microscopy and histopathological changes were examined by Olympus BX51 research microscope.*

*Dose-dependent degenerative alterations including atrophy in seminiferous tubules, irregular arrangement of spermatogenic cells were observed, as well as a marked testicular damage especially prominent in high dose group. A decrease in the thickness of tunica albuginea and in the diameter of seminiferous tubular epithelia was also noticed in all experimental groups which was accompanied by the sloughing of germ cells into the tubular lumen. It has been concluded that subacute exposure to 2,4-D may result in histopathological damage in rat testis.*

## GİRİŞ

Son zamanlarda dünya nüfusunun sayısı hızla artarken tarım alanlarının yüzölçümü azalmaktadır. Bu da birim alandan elde edilen ürün miktarının artırılmasını zorunlu kılmaktadır. Zirai mücadelede en çok kullanılan yöntemlerden biri de pestisitler grubuna giren herbisitlerle yapılan kimyasal mücadele yöntemidir (1). Son zamanlarda, özellikle bilim ve teknoloji'de yaşanan gelişmeler toksisite olarak adlandırdığımız ve kimyasalların organizmada oluşturduğu hasarın belirlenmesi ve hasarlanma mekanizmalarının hücresel, biyokimyasal ve moleküler düzeyde aydınlatılmasında bilim adamlarına yardımcı olmuştur (2). Herbisitler hücre bölünmesi, hücre uzaması, protein sentezi ve solunum gibi bitki metabolizmasını düzenleyen hormonal dengeyi bozarlar. 2,4-D yaklaşık 50 yıldır dünyada yaygın olarak kullanılan bir herbisittir ve bitki metabolizmasında gerçekleşen enzim aktivitesi, nükleik asit sentezi, protein sentezi ve hücre bölünmesi gibi bazı olayları etkileyerek bitki gelişimini engeller. Ancak, bunu yaparken seçici olarak sadece geniş yapraklı yabancı otları elimine eder (3). Bu özelliklerinden dolayı tarımda birim alandan alınan verimin artırılması amacıyla piyasaya sunulan herbisitler bilinçsiz ve kontrolsüz kullanıldığında akut ve kronik zehirlenme, biyolojik dengenin bozulması, çevre ve besin kirlenmesi, insanlara ve hayvan türlerine yönelik teratojenik, mutajenik ve karsinojenik etkiler gibi birçok açıdan evrensel nitelikli çevre sorunlarına sebep olmaktadır.

Bu çalışmada; zirai mücadele yöntemleri içinde yabancı otlarla mücadelede çok yaygın olarak kullanılan 2,4-D'nin sıçan testisinde oluşturduğu histopatolojik etkileri incelendi.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurulu'nun (2004- 60) onayı ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yetiştirme Merkezi'nden temin edilen 12-14 haftalık erişkin 200-225 gr. 24 adet Wistar Swiss Albino (*Rattus norvegicus*) erkek sıçan ile yapılmıştır. Kontrol grubu (n= 6) dışında düşük (n= 6), orta (n= 6) ve yüksek doz (n= 6) olmak üzere sırasıyla 20, 40, 80 mg/kg dozda 2,4-D laboratuvar pellet yemleri

ne emdirilerek 28 gün boyunca oral yolla verilmiştir (4). Kontrol grubundaki sıçanlar ise aynı sürede ve 2,4-D içermeyen aynı miktardaki standart laboratuvar pellet yemleri ile beslenmişlerdir. 28. gün sonunda tüm sıçanlara letal dozda ketamin (0.15mg/ 100gr) ve Ksilazin (Rompun®) anestezisi (0.02 ml/100gr) altında intrakardiyak perfüzyon yapılmıştır. Sonra histolojik olarak incelenecek olan sıçanların testis dokusu %4'lük paraformaldehit fiksatifine alınmıştır. Işık mikroskopik doku takibinin ardından testis dokularından 5 mikronluk kesitler alınarak Hematoksilin& Eosin ile boyanmış ve histopatolojik olarak değerlendirilmiştir. Tüm gruplardaki sıçanların seminifer tübül çapları ve tunica albuginea kalınlıkları Image Pro Express Ver4.5.1.3 Media Cybernetics Inc. 2002 programı kullanılarak ölçülmüştür. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 11.00 programı kullanılarak yapılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) uygulanarak düşük, orta ve yüksek doz grubundaki sıçanlar kendi aralarında ve kontrol grubu ile gruplar arası farkın anlamlılığının test edilmesinde LSD testi kullanılarak karşılaştırılmıştır.

## BULGULAR

Kontrol grubunda; testislerde tunica albuginea, seminifer tübül, interstisyel bağ dokusu ve Leydig hücreleri normal histolojik görünümündedir. Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlar normal konfigürasyonda saptanmıştır. Ayrıca, seminifer tübüllerindeki spermatogenik hücrelerin dizilişi normaldir (Şekil 1). 2, 4 -D uygulanmış sıçanların testislerinde; seminifer tübüllerde, spermatogenik seri hücrelerinde önemli hasarlar saptanmıştır. Özellikle, seminifer tübüllerde atrofi ve tunika albuginea'da incelmeler gözlenmiştir. Düşük dozda, seminifer tübüllerde ve spermatogenik hücre sayısında azalmalara rastlanırken yer yer normal gelişim gösteren seminifer tübüller de gözlemlenmiştir (Şekil 2). Orta dozda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tunika albuginea'nın daha ince olduğu saptanmıştır. Ayrıca, interstisyel bağ dokusunun da kontrole göre azalmış olduğu görülmüştür (Şekil 3). Yüksek dozda, diğer gruplara göre tunika albuginea kalınlığı oldukça incelmış, spermatogenik hücre serilerinin-

de dejenerasyonlar ve daha ağır histopatolojik hasar gözlenmiştir (Şekil 4).

#### Seminifer Tübül Çapları

Çalışmada her grupta 6 olmak üzere toplam 24 erkek sıçan kullanılmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler örneklem sayısı (n>10) göz önünde bulundurularak yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol ve uygulama gruplarındaki sıçanların seminifer tübül çapları Tablo 1'de ve tek yönlü varyans analizi Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Kontrol grubunda ve üç farklı dozda 2,4 D uygulanan gruplarda seminifer tübül çapları. Veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. N=örnek sayısı

|                   | N | Tübül çapı (µm)          |
|-------------------|---|--------------------------|
| <b>Kontrol</b>    | 6 | 101,64±2,16              |
| <b>Düşük Doz</b>  | 6 | 68,99±1,42 <sup>*#</sup> |
| <b>Orta Doz</b>   | 6 | 33,39±0,83 <sup>*#</sup> |
| <b>Yüksek Doz</b> | 6 | 18,12±0,43 <sup>*#</sup> |

\* P<0,001, kontrolden anlamlı farklı

# P<0,001, diğer dozlardan anlamlı farklı

**Tablo 2.** Seminifer tübül çapları için Tek Yönlü Varyans Analizi Tablosu (Anova). K.T (Kareler Toplamı), Df (Serbestlik derecesi), K.O. (Kareler Ortalaması), P (Önem Derecesi).

|                      | K.T.  | Df | K.O.  | F Değeri | P              |
|----------------------|-------|----|-------|----------|----------------|
| <b>Gruplar Arası</b> | 8,330 | 3  | 2,777 | 1198,061 | <b>0.000**</b> |
| <b>Gruplar İçi</b>   | 0,222 | 96 | 0,002 |          |                |
| <b>Toplam</b>        | 8,552 | 99 |       |          |                |

**Tablo 3.** Kontrol grubunda ve üç farklı dozda 2,4 D uygulanan gruplarda tunika albuginea kalınlığı. Veriler ortalama±standart hata olarak sunulmuştur. N=örnek sayısı

|                   | N | T. albuginea kalınlığı (µm) |
|-------------------|---|-----------------------------|
| <b>Kontrol</b>    | 6 | 51,08±2,15                  |
| <b>Düşük Doz</b>  | 6 | 34,25±0,66 <sup>*#</sup>    |
| <b>Orta Doz</b>   | 6 | 17,80±0,15 <sup>*#</sup>    |
| <b>Yüksek Doz</b> | 6 | 8,35±0,036 <sup>*#</sup>    |

\* P<0,001, kontrolden anlamlı farklı

# P<0,001, diğer dozlardan anlamlı farklı

**Tablo 4.** Tunika albuginea kalınlıkları için Tek Yönlü Varyans Analizi Tablosu

|                      | K.T.  | Df | K.O.  | F Değeri | P              |
|----------------------|-------|----|-------|----------|----------------|
| <b>Gruplar Arası</b> | 8,858 | 3  | 2,953 | 560,896  | <b>0.000**</b> |
| <b>Gruplar İçi</b>   | 0,505 | 96 | 0,005 |          |                |
| <b>Toplam</b>        | 9,363 | 99 |       |          |                |

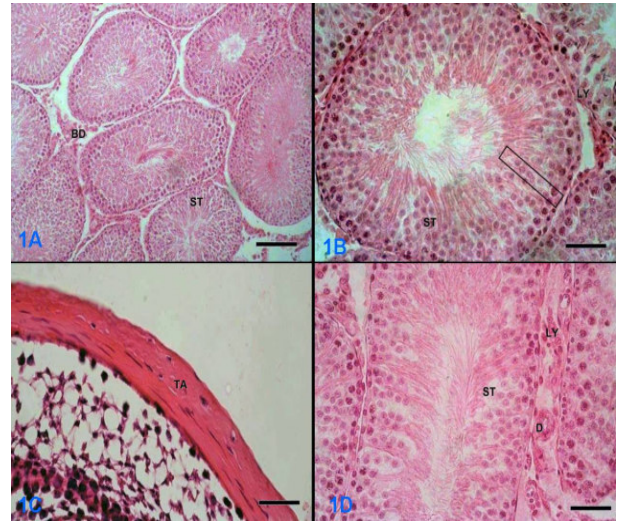
(Anova). K.T (Kareler Toplamı), Df (Serbestlik derecesi), K.O. (Kareler Ortalaması), P (Önem Derecesi).

Kontrol grubuyla kıyaslandığında her üç dozda da testis seminifer tübül çapının anlamlı olarak (P< 0,001) azaldığı görülmektedir. Düşük, orta ve yüksek dozlar birbiriyle kıyaslandığında farklılığın anlamlı olduğu (P< 0,001) ve dolayısıyla seminifer tübül çapındaki azalmanın doza bağımlı bir etki oluşturduğu dikkati çekmektedir.

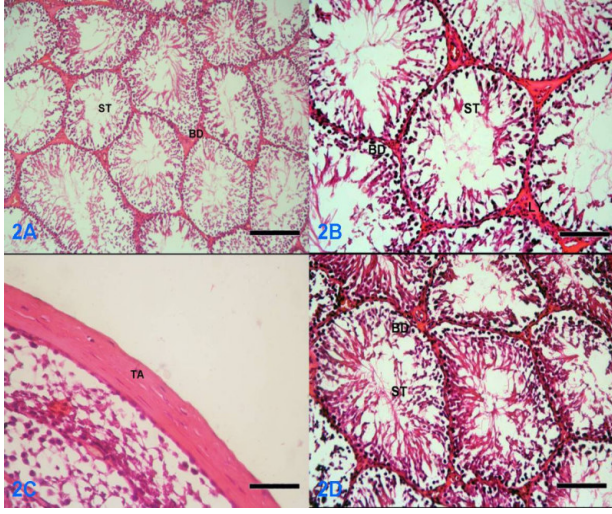
#### Tunika Albuginea Kalınlıkları

Elde edilen sonuçlara göre, Tablo 3 ve 4'de kontrol ve uygulama gruplarındaki sıçanların tunica albuginea kalınlıkları ve tek yönlü varyans analizi tablosu verilmiştir.

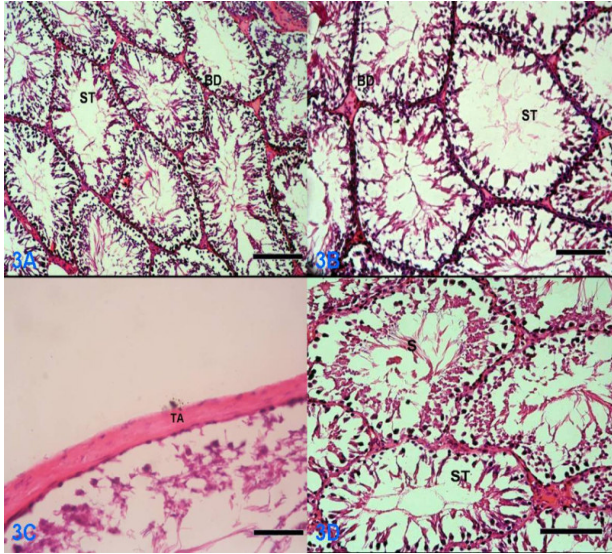
Saptanan bu sonuçlara göre, kontrol grubuyla kıyaslandığında her üç dozda da testiste tunica albuginea kalınlığının anlamlı olarak (P< 0,001) azaldığı görülmektedir. Deney grupları birbiriyle kıyaslandığında anlamlı fark olduğu (P< 0,001), dolayısıyla tunica albuginea kalınlığındaki azalmanın doza bağımlı olarak şekillendiği dikkati çekmektedir.



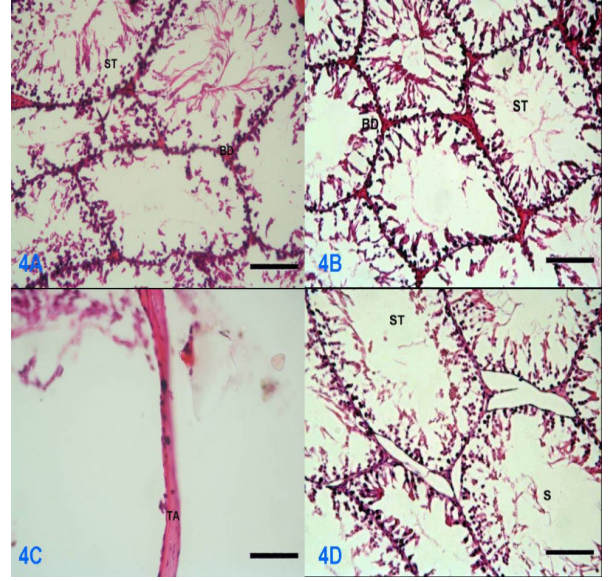
**Şekil 1.** Kontrol grubu. 1A. Testisin genel histolojik yapısı; ST: Seminifer tübül, BD: Bağ doku, H&E X 10 Bar:50µm. 1B. Leydig hücreleri, ST: Seminifer tübül, H&E X 40 Bar: 125µm. 1C Tunika albuginea; TA: Tunika albuginea, H&E X 40 Bar: 125µm. 1D ST: Seminifer tübül, D: damar, H&E X 40 Bar: 125µm.



**Şekil 2.** Düşük Doz. 2A. Testisin genel histolojik yapısı;ST: Seminifer tübül, BD: Bağ doku, H&E X 10 Bar: 500µm. 2B Seminifer tübüllerin görünümü; H&E X 20 Bar: 250µm 2C. Tunika albuginea kalınlığında azalma; H&E X 40 Bar: 125µm. 2D Seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücre serisi; H&E X 20 Bar: 5µm.



**Şekil 3.** Orta doz. 3A Testisin genel histolojik yapısı; ST: Seminifer tübül, BD: Bağ doku, H&E X 10 Bar: 500µm. 3B Tunika albuginea kalınlığında azalma ve seminifer tübüllerde atrofi; H&E X 40 Bar: 125µm. 3C Seminifer tübüllerin görünümü; H&E X 20 Bar: 125µm. 3D İnterstisyel bağ dokusunda azalma; H&E X 20 Bar: 250µm.



**Şekil 4.** Yüksek Doz. 4A Tunika albuginea kalınlığında azalma ve seminifer tübüllerde atrofi; H&E X 40 Bar: 125µm. 4B Seminifer tübüllerde atrofi; H&E X 20 Bar: 250µm. 4C Seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücrelerde azalma; H&E X 20 Bar: 250µm. 4D Seminifer tübüllerdeki spermatozoalarda azalma S: Spermatozoa; H&E X 20 Bar: 250µm.

## TARTIŞMA

Dünya pestisit pazarında herbisitler ve insektisitler en yaygın kullanılan formülasyonlardır. Türkiye’de birinci sırayı insektisitler alırken, herbisitler tarım ilaçlarının ikinci önemli bölümünü oluşturmaktadır. Bir herbisit olan 2, 4- D’nin zararlı etkilerinin anlaşılmasından sonra pek çok araştırmacı bu konuya odaklanmıştır. 2, 4- D’nin aşırı dozda ve zamansız uygulanması tarım ürünleri üzerinde kalıntıların oluşmasına dolayısıyla, bu ürünleri tüketen insanlar üzerinde zararlı etkilere yol açabilmektedir. Böylece, sera domates ve patlıcan üretiminde 2, 4- D uygulaması yasaklanmıştır. 2, 4- D’nin farklı bölgelere etkileri de araştırılmıştır ( 5, 6)

Bu çalışmada; 2, 4- D’nin üreme biyolojisi üzerine toksisitesini incelemek için sıçanların testis dokuları ışık mikroskobu seviyesinde histopatolojik yönden incelenmiş ve önemli yapısal deformasyonların varlığı bildirilmiştir. Ksenobiyotiklerin testis dokusu üzerindeki etkilerini saptamada organ ağırlığı ve histopatolojik bulguların daha kolay ve etkili olduğu bildirilmiştir ( 7, 8, 9).

Bu çalışmadaki 2,4 D’nin deney gruplarındaki doz ayarlanması vücut ağırlıkları göz önünde tutularak, LD50 değerinin 5 te 1’i, 10 da 1 i ve 20 de biri şeklinde OECD Guideline 407 kriterleri benimsenerek dizayn edilmiştir (10)

Tordon 75 (2, 4- D ve 4- amino- 3, 5, 6- trichloropicolinic acid karışımı) uygulanan sıçanların testislerinde

seminifer tübüllerde daralma ve büzülme görüldüğü, yüksek doz grubunda testis ağırlıklarında azalmalar oluşurken bu testiküler hasarın testosteron konsantrasyonunda önemli bir farklılığa neden olmadığı bildirilmiştir (11). Histolojik incelemeler sonucunda, intersitisyumdaki Leydig hücrelerinde kümeleşme, yüksek doz grubunda nekrotik hücreler ve çok nukleuslu dev hücrelerin oluşumu bildirilmiştir. Ayrıca, bazı tübüllerde boşalmanın oluştuğu ve sadece Sertoli hücrelerinin bulunduğu gözlemlenmiştir. Çalışmamızdaki histopatolojik bulgular bu çalışmanın sonuçlarını kısmen desteklemektedir. Johnson et al. (1992) tarafından 4 hafta süreyle bir herbisit olan 2, 3, 7, 8 tetrachlorodibenzopdioxin (TCDD) uygulanan erişkin sıçanlarda testis ağırlıklarında ve spermatogenez üzerine bir etki görülmezken seminal vezikül ve epididimis ağırlıklarının önemli derecede azaldığı bildirilmiştir(12). Polychlorinated biphenyl (PCB Aroclor 1254) ile muamele edilen sıçanlarda da benzer şekilde testis fonksiyonları değişmezken, seminal vezikül ve epididimis ağırlıklarında azalma meydana geldiğini bildirmiştir (13). Başka bir çalışmada da düşük dozda TCDD uygulanan erişkin sıçanlarda testislerde histopatolojik bir bulgu görülmezken yüksek dozda germinal epitelde ve spermatojenik hücre serilerinde dejenerasyona bağlı olarak tübüllerdeki spermatid sayılarının- kontrol grubuna oranla- azaldığı bildirilmiştir (14).

Albino farelere 13 hafta süresince organik fosforlu bir insektisit olan Dimethoate uygulanmış ve seminer tübüllerde spermatogenik hücre sıralarının bozulduğu, germ hücrelerinde dejenerasyon meydana geldiği ve sayılarının azaldığı saptanmıştır. Dimethoate'in doza bağlı testis hasarına neden olduğu saptanmıştır (15).

Dimethoate ve dimethyl methylphosphate uygulanan sıçanlarda doz değişimine bağlı olarak testis ağırlığının, toplam sperm sayısının ve ölü spermatozoa sayısının azaldığı, plazma testosteron seviyesinin düştüğü ve morfolojik olarak kamçıda kıvrılma, baş kısmında ayrılma olması gibi anormalliklerin meydana geldiği bildirilmiştir (16, 17).

Sonuçta; akut ve subakut etkisi kesin olarak bilinmeyen fenoksi türevi herbisit olan 2, 4- D'nin kalıntı miktarlarını göz önünde tutarak daha kontrollü ve bilinçli kullanılması, doğal dengenin bozulmaması için ve gelecek nesillerde üreme sorunlarının yaşanmaması açısından büyük önem taşımaktadır. Zirai mücadelede yaygın olarak kullanılan 2, 4- D erkek genotipli memeli hayvanlar üzerinde olumsuz etkiler oluşturabilmektedir. Bu çalışma daha sonraki araştırmalara ışık tutarak 2, 4- D'nin insanlar üzerindeki etkilerinin klinik yansımaları takip edilmeli, üreme biyolojisi ve genel fizyolojik denge üzerine etkileri araştırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Tepe I. Türkiye'de Tarım ve Tarım Dışı Alanlarda Sorun Olan Yabancıotlar ve Mücadeleleri. Yüzüncü Yıl Matbaası, Van ,1997; 237.
2. Şanlı Y. Veretiner Klinik Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım İlkeleri. Medisan Yayınevi, Ankara, 2002; 812.
3. Seiler J.P. The genetic toxicology of phenoxy acids other than 2, 4, 5- T. Mutat. Res, 1978; 55: 197- 226.
4. Wang Y, Waller D.P, Hikim A.P, Russell L.D. Reproductive toxicity of the obromine and extract in male rats. *Reprod Toxicol* ,1992; 6 (4): 347- 53.
5. Steiss J.E, Braund K.G and Clark E.G. Neuromuscular effects of acute 2, 4- dichlorophenoxyacetic acid (2, 4- D) exposure in dogs. *J. Neurol. Sci*, 1987; 78: 295- 301.
6. Squibb R.E, Tilson H.A and Mitchell CL. Neurobehavioral assessment of 2, 4- dichlorophenoxyacetic acid (2, 4- D) in rats. *Neurobehav. Toxicol Teratol*. 1983; 5: 331- 335.
7. Okazaki K, Okazaki S, Nishimura S, Nakamura, H, Kitamura, Y, Hatayama K, Nakamura A, Tsuda T, Katsumata T, Nishikawa A and Hirose M. A repeated 28-day oral dose toxicity study of methoxychlor in rats, based on the enhanced OECD test guideline 407 for screening endocrine-disrupting chemicals. *Arch Toxicol* 2001; 75: 513- 521.
8. Crissman J.W, Goodman D.G, Hildebrandt P.K, Maronpot R.R, Prater D.A, Riley J.H, Seaman W.J and Thake D.C. Best practice guideline: toxicologic histopathology. *Toxicologic Pathology*, 2004; 32: 126- 131.
9. Bage G, Cekanova E and Larson K.D. Teratogenic and embryotoxic effects of the herbicide di-and trichlorophenoxyacetic acids. *Acta Pharmacol. Toxicol*, 1973; 32: 408- 416.
10. OECD [Organisation for Economic Cooperation and Development]. Guideline 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, 8 pp. Paris: OECD, 1995.
11. Oakes D.J, Webster W.S, Woodman P.D.C.B, Ritchie. Testicular changes induced by chronic exposure to the herbicide formulation, Tordon 75D (2,4-D ve 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) in rats. *Reproductive Toxicology*, 2002; 16: 281- 289.

12. Johnson L, Dickerson R, Safe S.H, Nyberg C.L, Lewis R.P, Welsh T.J. Reduced Leydig cell volume and function in adult rats exposed to 2, 3, 7, 8- tetrachlorodibenzo- p- dioxin without a significant effect on spermatogenesis. *Toxicology*, 1992 Nov 30;76(2):103-18
13. Gray L.E.J, Ostby J, Marshall R, Andrews J. Reproductive and thyroid effects of low- level polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) exposure. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1993; 20 (3): 288- 94.
14. Chahoud I, Hartmann J, Rune G.M, Neubert D. Reproductive toxicity and toxicokinetics of 2, 3, 7, 8- tetrachlorodibenzo- p- dioxin 3. Effects of single doses on the testis of male rats. *Arch Toxicol*, 1992; 66 (8): 567- 72.
15. Sayım F. Pesticitlerin Sıçanlar Üzerindeki Subkronik Etkilerinin İncelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi , 2004; 119.
16. Afifi N.A, Ramadan A, Abd-El-Aziz M.I and Saki E.E. Influence of dimethoate on testicular and epididymal organs, testosterone plasma level and their tissue residues in rats. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*, 1991; 98 :419- 423.
17. Dunnick J.K, Gupta B.N, Harris M.W and Lamb J.C. Reproductive toxicity of dimethyl methylphosphate in the male fisher 344 rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol*, 1984; 72: 379- 387.