

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YABAN HAYATI EKOLOJİSİ VE YÖNETİMİ ANABİLİM DALI

GLYPHOSATE NPHOSPHONOMETHYL GLYCİNE GLYPHİN GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI *Oncorhynchus mykiss* SPERM KALİTESİ VE DNA HASARI
ÜZERİNDEKİ *İN VİTRO* ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ayşe AKÇA

NİSAN 2021
TRABZON



KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YABAN HAYATI EKOLOJİSİ VE YÖNETİMİ ANABİLİM DALI

GLYPHOSATE NPHOSPHONOMETHYL GLYCİNE GLYPHİN GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI *Oncorhynchus mykiss* SPERM KALİTESİ VE DNA HASARI
ÜZERİNDEKİ *İN VİTRO* ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayşe AKÇA

Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
“YÜKSEK LİSANS (YABAN HAYATI EKOLOJİSİ VE YÖNETİMİ)”
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 01.06.2021
Tezin Savunma Tarihi : 22.04.2021

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ
İkinci Danışman : Doç. Dr. Filiz KUTLUYER

Trabzon 2021

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yaban Hayatı Ekolojisi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı'nda yürütülmüştür. Araştırma giderleri ise KTÜBAP tarafından desteklenen FYL-2020-8763 nolu “Glyphosate Nphosphonomethyl glycine GlyPhın gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus mykiss* sperm kalitesi ve DNA hasarı üzerindeki *in vitro* etkilerinin belirlenmesi” adlı projeden karşılanmıştır.

Çalışmada, test organizması olarak seçilen *O. mykiss* türünde glifosat uygulaması gerçekleştirilmiştir. Glifosatın farklı dozlarına maruz kalan *O. mykiss* türünde sperm kalite parametreleri ve DNA hasarı belirlenmiştir.

Tüm bu süreçte benden desteğini esirgemeyen ve her konuda yardımcı olan tez danışmanlarım Sayın Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ, Doç. Dr. Filiz KUTLUYER'e ve meslektaşım Süleyman ATIL'a teşekkür ederim.

Ayça AKÇA
Trabzon, 2021

TEZ ETİK BEYANNAMESİ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Glyphosate Nphosphonomethyl glycine GlyPhın gökkuşığı alabalığı *Oncorhynchus mykiss* sperm kalitesi ve DNA hasarı üzerindeki *in vitro* etkilerinin belirlenmesi” başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanlarım Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ ve Doç. Dr. Filiz KUTLUYER’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim. 22/04/2021

Ayça AKÇA

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	III
TEZ ETİK BEYANNAMESİ.....	IV
İÇİNDEKİLER.....	V
ÖZET	VII
SUMMARY	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
SEMBOLLER DİZİNİ	XI
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Önceki Çalışmalar	3
1.2.1. Pestisitler	3
1.2.2. Herbisitler.....	5
1.2.3. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh).....	10
1.2.4. Gökkuşluğu alabalığı (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	14
1.3. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi	19
2. YAPILAN ÇALIŞMALAR	20
2.1. Materyal.....	20
2.1.1. Araştırmalarda Kullanılan Balık Materyalleri ve Sperm Temini.....	20
2.2. Metot	22
2.2.1. Spermatolojik Parametrelerin Belirlenmesi	22
2.2.2. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) Glycine] (GlyPh) Uygulaması.....	23
2.2.3. DNA Hasarının Belirlenmesi	25
2.2.4. Veri Analizi	27
3. BULGULAR	28
3.1. Spermatolojik Muayene Bulguları	28
3.2. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) Uygulamasından Sonra Elde Edilen Bulgular.....	28
3.3. DNA Hasar Bulguları.....	31
4. TARTIŞMA.....	32
5. SONUÇLAR	40

6.	ÖNERİLER	41
7.	KAYNAKLAR.....	42
ÖZGEÇMİŞ		



Yüksek Lisans Tezi

ÖZET

GLYPHOSATE [N-(PHOSPHONOMETHYL) GLYCİNE] (GLYPH)'İN GÖKKUŞAĞI
ALABALIĞI (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) SPERM KALİTESİ VE DNA HASARI
ÜZERİNDEKİ *İN VİTRO* ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayşe AKÇA

Karadeniz Teknik Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Yaban Hayatı Ekolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ, Doç. Dr. Filiz KUTLUYER

2021, 52 Sayfa

Günümüzde herbisitlerin kullanımı artmış ve farklı yollarla su kaynaklarına bulaşmaktadır. Bu durum doğal ortamı olumsuz etkilemektedir. Bu maddeler su ortamındaki canlıları etkileyerek vücutlarında birikmelerine de neden olabilmektedir. Tüketici açısından da tehlike oluşturabilmektedir. Günümüze kadar yapılan çalışmalar kirliliğin su ortamına ve sucul canlılar üzerine olumsuz etkileri üzerine olmuştur. Bu amaçla çalışmada, Glyphosate'ın (GlyPh), ülkemiz için egzotik olan, ancak kültür balıkçılığında dünyada söz sahibi olduğumuz ve yıllık 200.000 ton ürettiğimiz gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) sperminine olası *in vitro* maruziyetinin incelenmesi amaçlanmıştır. Gökkuşığı alabalığı spermi, farklı konsantrasyonlarda *in vitro* olarak çeşitli konsantrasyonlarda (2,5, 5, 10 mg L⁻¹) Glyphosate'a maruz bırakılmıştır. Sperm hareketlilik parametreleri bilgisayar destekli sperm analizi (SCA) ile analiz edilmiştir. Sperm hücrelerinin toksik maddeden ne oranda etkilendiğini belirlemek amacıyla sperm kalite parametreleri ile DNA hasarı incelenmiştir. Uygulanan konsantrasyonun artışıyla sperm motilitesi ve süresi azalmış, DNA hasarı artmıştır. Sonuç olarak, sperm hücreleri Glyphosate'ın düşük dozlarına hassastır ve bu durum doğal popülasyonları olumsuz etkileyebilir.

Anahtar Kelimeler: Glyphosate, herbisit, gökkuşığı alabalığı, sperm hareketliliği, DNA hasarı, *Oncorhynchus mykiss*.

Master Thesis

SUMMARY

EVALUATION OF *IN VITRO* EFFECTS OF GLYPHOSATE [N-(PHOSPHONOMETHYL) GLYCİNE] (GLYPH) ON QUALITY AND DNA DAMAGE OF RAINBOW TROUT (*ONCORHYNCHUS MYKİSS*) SPERMATOZOA

Ayşe AKÇA

Karadeniz Technical University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Wildlife Ecology Graduate Program
Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KOCABAŞ, Assoc. Prof. Filiz KUTLUYER
2021, 52 Pages

Today, the use of herbicides has increased and mixes with water sources in different ways. This situation does not affect the natural environment negatively. These substances can affect living things in the aquatic environment and cause them to accumulate in their bodies. These chemicals may also pose a danger to the consumer. Most studies conducted until today, have been on the adverse effects of pollution on the aquatic environment and aquatic organisms. For this purpose, in this study, it is aimed to investigate Glyphosate's (GlyPh) on possible *in vitro* exposure on the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) sperm, however, exotic for our country, that to be arbiter in aquaculture and produce 200.000 tons annually per year. Rainbow trout sperm were exposed to Glyphosate at various concentrations (2,5, 5, 10 mg L⁻¹) *in vitro* at different concentrations. Sperm motility parameters were analyzed by computer assisted sperm analysis (SCA). DNA damage was analyzed to determine the extent to sperm cells are affected by toxic substances. With the increase of the applied concentration, sperm motility and duration decreased and DNA damage increased. Consequently, sperm cells are sensitive to low doses of Glyphosate and this can negatively affect natural populations.

Key Words: Glyphosate, herbicide, rainbow trout, sperm motility, DNA damage, *Oncorhynchus mykiss*.

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Enolpiruvil shikimat-3-fosfat sentazı	10
Şekil 2. Gökkuşağı alabalığı	14
Şekil 3. Altıntaş ve İsina Alabalık Üretim Tesisi	20
Şekil 4. Çalışmada kullanılan gökkuşağı alabalıkları	21
Şekil 5. Abdominal masaj yöntemi ile sperm sağımı	21
Şekil 6. Sperm hacminin belirlenmesi	22
Şekil 7. Spermatolojik parametrelerin belirlenmesi	23
Şekil 8. İmmobilize solüsyonun hazırlanması	24
Şekil 9. Sperm örneklerine Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulaması	24
Şekil 10. DNA hasarının belirlenmesi	26
Şekil 11. Görüntü analizi ile veri toplanması	26
Şekil 12. DNA hasarının belirlenmesi	27
Şekil 13. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulamasından sonra gökkuşağı alabalığı sperminin motilite yüzdesi (%) (a,b,c,d gruplar arasındaki farklılıklarını gösterir)	29
Şekil 14. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulamasından sonra gökkuşağı alabalığı sperminin motilite süresi (%) (a,b,c,d gruplar arasındaki farklılıklarını gösterir).	29
Şekil 15. Komet analizi sonucu elde edilen görüntüler	31

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Spermatojok muayene bulguları	28
Tablo 2. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (Glyph) uygulamasından sonra gökkuşuğı alabalığı sperm kalite parameteleri	30



SEMBOLLER DİZİNİ

ALH	: Yatay Yer Değişirme
BCF	: Sperma Vuruş Frekansı
CAT	: Katalaz
EPSPS	: Enolpiruvil shikimat-3-fosfat sentazı
GlyPh	: Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine]
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
LIN	: Lineerlik
MOT	: Hareketli Sperma Yüzdesi
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SAP	: Shikimic Acid Pathway
SCA	: Sperm Class Analyser
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STR	: Doğrusallık
VAP	: Ortalama hız
VCL	: Eğrisel Hareket Hızı
VSL	: Doğrusal Hareket Hız

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Su, dünyayı 2-3 kez kaplamasına rağmen, kullanılabilir su miktarı oldukça kısıtlıdır. Artan nüfus ve buna bağlı olarak medenileşme sonucunda ortaya çıkan kirleticiler ekosistemi ve organizmaları direk ve dolaylı olarak etkilemektedir. Deşarj suları taşıdıkları nutrientler, yağlar, ağır metaller, patojenler, pestisitler ve organik maddeler sebebiyle sucul canlıların fizyolojik fonksiyonları da olumsuz etkileyebilmektedirler. Bu deşarj suları balıkların üreme yeteneklerinde azalmalara da neden olabilmektedirler. Sentetik ve doğal steroidler özellikle de balıklarda üreme sistemi üzerinde daha fazla etki göstermektedirler. Bunun sonucunda üremede meydana gelen olumsuzluklar, ayrıca deşarj sularında yaygın olarak bulunan sentetik ve doğal steroidler gibi organik kirleticilerin neden olduğu hormon bozucu aktivitelerin sonucunda da görülebilmektedir. Bu etkiler gonad yapısı, yumurta ve sperm kalitesi, hareketliliği ve dölleme fonksiyonlarında azalmalara neden olabilmektedir.

Akarsular ve göller, omurgasız canlıları, balıkları ve kuşları içine alan önemli ekosistemlerdir (Mc Lusky, 1989). Kabaca sularında kirlilik; suların kabul edilemez düzeyde insan faaliyetleri sonucunda kimyasal maddelerin akarsu yatağına katılmasıyla oluşur. Kaynağı çok geniş bir yelpazede olur. Alabalıkların yaşam alanlarının tahrip edilmesi (kanalizasyon atıkları, zirai mücadele ilaçları, bilinçsiz suni gübreleme, dere yatağı ıslahı, kum ve çakıl alımları, kentleşme/kıyı dolguları, yol çalışmaları, katı ve sıvı atıklar, hidroelektrik santrali projeleri gibi) ile birlikte yaşam alanları daralmış, nesli tehlike altına girmiştir. Bu nedenle avcılığı sınırlandırılmıştır. Buna karşın tür üzerindeki çevre bozulmaların etkisi artarak devam etmektedir. Yeterli bilimsel tedbirler alınmazsa, bir süre sonra popülasyonlarında önemli bir azalma ile karşı karşıya kalınacağı düşünülmektedir. Bu sayısal azalma, uzun vadede türün tamamen ortadan kalkmasına yol açabilecek sonuçlar bile doğurabilecektir (Kocabaş vd, 2010, 2011, 2012). Sucul organizmalar da bu tür faaliyetlerden çok farklı oranlarda etkilenir. Son yıllarda, hızlı endüstrileşme ve şehirleşme sonucunda ortaya çıkan kirleticiler, ekosistemler ve organizmaları direk ve dolaylı olarak etkilemeye başlamıştır (Halpern vd., 2008). Özellikle kanalizasyon suları nutrientleri, yağları, sedimenti, ağır metalleri, patojenleri, pestisitleri ve organik maddeleri içermesinden

dolayı su ortamında önemli kirleticilerdendir (Islam ve Tanaka, 2004) ve bazı türlerin fizyolojik fonksiyonlarında olumsuz etkilere neden olmaktadır (Wu, 1999).

Genellikle üreme döngüsünün erken aşmalarında başlayan uzun süreli kirliliğe maruz kalma, oosit olgunlaşmasını, sayısını, gonadosomatik indeksi (GSI), ve yumurta canlılığını olumsuz etkilemektedir (Sukumar ve Karpagaganapathy, 1992). Kirliliğe maruz kalma sperm hücrelerinde de değişen derecelerde malformasyonlara neden olmaktadır (Sehgal ve Pandey, 1984). Asit kirlenmesi ya da asidikleşme gibi kirleticilerin balıkların üremesini tamamen baskılayan durumlarda meydana gelebilir. Geçmişte benzer durumlar asitle kirlenen Kanada göllerinde meydana gelmiştir (Beamish, 1976).

Gamet kalitesi, doğal ortamda populasyonların neslinin devamının sağlanmasında başarıyı sınırlandıran en önemli faktörlerdendir (Harlıoğlu ve Kutluyer, 2011). Sperm özellikleri, üreme sezonu boyunca toplama periyoduna bağlı olarak türlere, stoklara, hatta aynı canlıdan alınan örneklerde bile değişim gösterebilir. Bu yüzden sperma kalitesi denemeleri ve bu kalite ile ilgili özelliklerin belirlenmesine öncelik verilmelidir (Cabrita vd., 2005). Su kirliliği, sperm kalitesini etkileyen faktörlerden biridir (Izquierdo vd., 2001; Bobe ve Labbe, 2010). Farklı şekillerde su kaynaklarına ulaşan kirleticiler su parametrelerinde değişiklik yaparak balıkların üremesini dolaylı olarak etkilediği gibi çeşitli yollarla doğrudan da etkilemektedir (Oğuzhan ve Atamanalp, 2008). Organizmaların üreme yeteneklerinde azalmalar meydana gelmektedir. Bu durum asenkronize gonad gelişiminden kaynaklanmaktadır (Leviton ve Petersen, 1995; Knowlton, 2001). Üremede meydana gelen sorunlar sucul ortamda yaygın olarak bulunan sentetik ve doğal steroidler gibi organik kirleticilerin neden olduğu hormon bozucu aktivitelerin sonucunda görülmektedir (Rotchell ve Ostrander, 2003). Ağır metaller sucul ortamda iz seviyede bulunurlar, ancak endüstriyel atıklar, jeokimyasal yapı, zirai ve madenle ilgili faaliyetler ağır metallerin seviyelerinde artışlara neden olur (Singh vd., 2006; Sprocati vd., 2006). Bunların sonucunda suyun fiziko-kimyasal özellikleri, sediment ve biyolojik içerikleri, dolayısıyla balık stokları etkilenir (Krishnani vd., 2003; Burger ve Gochfeld, 2005; Al-Rawi, 2005; Mantovi vd., 2005; Singh vd., 2006). Ağır metallerin üreme organlarında birikimi, suya bırakılan sperm ya da yumurtayı direkt etkilemesiyle üreme üzerinde olumsuzluklar meydana gelmektedir (Kime vd., 1996; Rurangwa vd., 1998).

Su kirliliği, dünyadaki en önemli çevre sorununu teşkil etmektedir, bu nedenle su kaynaklarının her seviyede sürekli olarak izlenmesi gerekmektedir. Özellikle, ekosistemin devamlılığı ve risk değerlendirmesi açısından izleme önem taşımaktadır. Su kirliliği, su

kütlelerinde yaşayan hayvanlar ve bitkiler de dahil olmak üzere biyosferin tamamını etkiler. Ekosistem içinde yer alan popülasyonlar ve bireysel türler çeşitli kimyasal ve bileşikleri içeren pestisitlerden etkilenir (IRENA, 2018 IRENA 30,2 - Pesticides in water).

Modern tarım uygulamalarında, yaygın olarak kimyasal ürün koruma ajanları uygulanır. Bu ürünler belirli zararlı böcek ve patojenlere toksik etki gösterir ve canlı organizmaları yok etmek için uygulanır (Piotrowicz-Cieślak ve Adomas, 2012). Çok sayıda çalışmada, pestisitlerin tarımsal uygulamalarda sık ve uzun süreli kullanımları sonucunda ortama ve canlılara olan etkileri, su ortamına nasıl karıştığı, güvenli seviyeleri rapor edilmiştir (Vereecken, 2005; Davis vd., 2011; Aparicio vd., 2013). Pestisitlere ait yeraltı ve yüzey suları için güven seviyeleri ile çevre kirliliği hakkında her yıl Avrupa Çevre Ajansı (EEA) tarafından raporlar yayınlanmaktadır (EEA, 2018).

Çoğu balık popülasyonu, doğrudan toksik olmayan konsantrasyonlarda çok çeşitli insan yapımı kimyasallara maruz kalır. Bununla birlikte, ölümcül olmayan konsantrasyonlarda maruz kalma, zararlı etkilere neden olabilir ve popülasyonları potansiyel olarak azaltabilir. Son yıllarda, kimyasal maddeler potansiyel sağlık etkilerine dair artan endişeler vardır, çünkü bu bileşikler çeşitli doğal yaşamda üreme bozukluğuyla ilişkilendirilmiştir. Raporlar, kimyasal maddelerin, üreme endokrin sisteminin bozulmasına neden olabileceğine veya sitotoksikite sonucu veya gamet gelişimi sırasında hormonal ortamı değiştirerek gamet gelişimini ve canlılığı doğrudan etkileyebileceğini, anormal sperm konsantrasyonu ve hareketliliğe, infertiliteye neden olabileceğini göstermiştir.

Son yıllarda, gamet kalitesi üzerinde çevresel kirleticilerin etkileriyle ilgili çalışmalarının önemi artmıştır. Neslin devamlılığı, popülasyonların doğadaki varlığının korunması açısından bu çalışmalar büyük önem taşımaktadır. Özellikle, yaygın kullanımlarından dolayı pestisitler çevresel kirleticiler olarak su ortamında yaşayan dış dölleme ile üreyen balık türlerinde döllemeyi etkileyerek, sonraki embriyo gelişim süreçleri, larva gelişimi olumsuz yönde etkilenmektedir.

1.2. Önceki Çalışmalar

1.2.1. Pestisitler

Pestisit, haşereleri yok etmek veya kontrol altına almak için kullanılan kimyasal bir ajan olarak tanımlanır. Kök kelime, öldürmek anlamına gelen Latince “cida” kelimesidir.

Genel "pestisitler" terimi, böcek öldürücüler, kemirgen öldürücüler, herbisitler, mantar öldürücüler, biyositler ve benzer kimyasallar dahil olmak üzere geniş bir kimyasal yelpazesi için geçerli olabilir.

Pestisit kullanımı sadece modern bir uygulama değildir. Belki de ilk kaydedilen pestisit kullanımı, Mısırlıların pireleri evlerden çıkarmak için belirtilmemiş kimyasallar kullandıkları M.Ö. 1550 civarındaydı. Yunan şair Homeros (yaklaşık İ.Ö. 800) mitolojik kahraman Odysseus'un Odyssea'da dolaşırken "salonu, evi ve avluyu temizlemek için" kükürt yaktığını yazmıştır. MÖ 900 civarında, Çin'de arsenik bir böcek ilacı olarak kullanılmış ve 1870'de birçok inorganik kimyasal pestisit olarak kullanılmıştır.

Bununla birlikte, modern zamanlarda, pestisit kullanımı çok daha yaygın ve 1990'a geldiğinde, 290 herbisit, 165 fungusit ve diğer pestisit kimyasalları gibi yaklaşık 300 böcek ilacı kullanılıyordu ve toplamda 3000'den fazla formülasyon, birçoğu aynı veya benzer formülasyonlara dayanan daha da fazla sayıda ayrı olarak tescil edilmiş ticari ürün vardır.

Pestisitlerin küresel kullanımı, ölçek ve yoğunluk olarak genişlemektedir. Bu teknolojik uygulamanın bazı çevresel sonuçları hakkında çok şey bilmemize rağmen, potansiyel etkilerin tamamı anlaşılmamıştır. Pestisitler potansiyel olarak hedef olmayan organizmalar, insanlar ve çevre (toprak, yüzey ve yeraltı suyu kaynakları) üzerinde istenmeyen olumsuz yan etkilere neden olabilir çünkü pestisitler tasarım gereği toksiktir ve kasıtlı olarak çevreye salınır. Pestisit riski, pestisidin (eko) toksikolojik özelliklerinin ve insanların, floranın ve faunanın pestisite potansiyel maruziyetinin bir kombinasyonudur.

Pestisit kullanımının bazı faydaları olmasına rağmen, çeşitli yan etkilere de neden olabilir. Pestisitler, hücre ve dokularda HSPs (ısı şoku proteininin indükleyicileri) oluşumuna, DNA (Deoksiribo nükleik asit) hasarına ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna neden olarak antioksidan savunma sistemi üzerinde etkilere neden olabilir (Mathew vd., 1992; Lee ve Steinert, 2003; Barlow vd., 2005; Ceyhun vd., 2010).

Pestisitler, çevrede ortaya çıkan mikro kirleticilerdir ve insan sağlığını etkiler. Üretim ve tüketimlerinin artmasıyla giderim yöntemlerinin önemi artmış ve tespitlerinde kromatografi yöntemi uygulanmaktadır. Böylelikle pestisitlerin tespiti ve uzaklaştırılması gereklidir çünkü pestisitler insan sağlığı üzerinde olumsuz etkiler yaratır. Mevcut düzenlemelere göre pestisit uygulamasının iyileştirilmesinin yanı sıra, pestisitlerin insan sağlığı ve su ortamları üzerindeki yan etkilerinin azaltılmasına katkıda bulunabilir.

Pestisitler günümüzde sprey şeklinde yaygın bir şekilde kullanılmakta, bitkiler tarafından emilmekte ve bitkilerin üzerinde kalıntı bırakmaktadır. Özellikle, çiğ tüketilen meyve ve sebzelerde yeterli arındırma sağlanamadığında tüketiciler için tehlike oluşturmaktadır. Ayrıca temas sonucu deri yoluyla ya da solunum yoluyla insanlar için zararlı olabilmektedir. Kullanıcıların, ilaçlamada özen göstermesi gerekmektedir.

1.2.2. Herbisitler

Pestisitler içinde yer alan herbisitler, hem tarımsal üretimin artırılmasında hem de ev ve toplum sağlığında çok önemli bir yere sahiptir. Dolayısıyla dünya nüfusundaki hızlı artış, kentsel alanlardaki büyüme ve sanayileşme, tarımsal amaçla kullanılan arazilerin azalması, daha az alandan daha fazla ürün alma kaygısı ile dünyada ve ülkemizdeki pestisit kullanımı kullanımını artmaktadır. Nüfus artışına paralel olarak şehirleşmenin artışıyla ekilebilir alanlarda azalma meydana gelmiş ve bu durum da sınırlı alanlardan maksimum verim alınması için kimyasalların kullanımını arttırmıştır. Pestisitlerin içerdikleri organik yapıdaki aktif maddelerin özelliklerine göre çevresel açıdan farklı etkileşimler ve yayılımlar göstermektedir. Ekosistem ve insan sağlığı, bilinçsiz ve yoğun bir şekilde herbisit kullanımından olumsuz yönde etkilenmektedir. Özellikle kalıntı riski tüketici açısından büyük önem taşımaktadır. Bunların sonucunda suyun fizyokimyasal özellikleri, sediment ve biyolojik içerikleri, dolayısıyla balık stokları etkilenmektedir. Sudaki pestisit kirliliği balık popülasyonlarında üremenin olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır.

Yabancı otlar, istenmeyen, kalıcı, zararlı ve diğer mahsul bitkilerinin büyümesini engelleyen, dolayısıyla insan faaliyetlerini, tarımı, doğal süreçleri ve ülke ekonomisini etkileyen bitkiler olarak tanımlanabilir. Yabancı ot kavramı farklı bakış açılarıyla değerlendirilebilir. Sosyolojik olarak bakıldığında, yetiştiriciliği yapılan bitkiler toprağın üvey, yabancı otlar ise öz evlatları olarak değerlendirilebilir. Ekonomik olarak bakıldığında, yabancı otların belli oranda ortamda bulunması doğal dengenin korunması ve toprağın verimliliğinin sürdürülmesi açısından önemlidir. Toprak korumacıları açısından bakıldığında, toprak anayı korumakta ve tutmaktadır. Yabancı otlar tek yıllık ya da çok yıllık olabilmekte ve üremeleri vejetatif ya da tohumla olabilmektedir. Kök şekilleri çok yıllık bitkilerde stolonlu, soğanlı, ribozomlu, kazık köklü ya da saçak köklü olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca, yer değiştiren ve yerinde kalan olarak da çok yıllık yabancı otlar sınıflandırılabilir. Tek yıllık yabancı otlar ise tohumla üreme gerçekleştirilmektedir. Bu

bitkiler, farklı şekillerde çiftçilerin ürünlerini etkilemektedir. Ancak, ülkemizde genel olarak yabancı otlar zararlı olarak bilinmekte ve gerektiği kadar yararlanılmamaktadır. Yabancı otlardan farklı şekillerde yararlanılabilmektedir. Yabancı otlar, çay olarak kullanım, baharat olarak kullanım, tıpta kullanımı, süpürge, hasır, sepet yapımında kullanım, insan besini olarak kullanım, yakacak olarak kullanım, arıların bal yapımında kullanım, tekstilde boya maddesi olarak kullanım, toprağın yorgunluğunun giderilmesinde kullanım, sap ve saman eldesinde kullanım, yeşil gübre olarak kullanım, yaban hayatında canlılar için barınak olarak kullanım, doğal dengenin korunmasında kullanım, süs bitkisi olarak kullanım, su kirliliğinin önlenmesinde kullanım, kültür bitkileri için gen kaynağı olarak kullanım, su ve rüzgar erozyonunda kullanım, kozmetik sanayiinde kullanım, hastalık ve zararlılar için tuzak olarak kullanım, indikatör olarak toprağın özelliklerinin belirlenmesinde kullanım, hayvan yemlerinde kullanım şeklinde değerlendirilebilmektedir. Bunların yanında, yabancı otların zararlarını farklı şekillerde sıralamak mümkündür. Yabancı otlar, hasadı zorlaştırarak maliyetin artmasına, yetiştiriciliği yapılan bitkilerin ışık, besin ve suyuna ortak olmasına, ürünün kalitesinin bozulmasına, hastalık ve zararlılara uygun ortam hazırlamasına, insan ve hayvanlarda zehirlenmeye, bazı bitkilerde parazit olarak gelişimin durmasına neden olabilirler. Yabancı otlar, yetiştiriciliği yapılan bitkilerle karşılaştırıldıklarında farklı üstünlüklere sahiptirler. Hastalık ve zararlılara dayanıklı olmaları, farklı ortam koşullarına uygun olmaları, tohum oluşturma daha fazla olması, uzun süre tohumların ortamda çimlenme kabiliyetlerini korumaları bunlardan bazılarıdır. Ortamdaki yabancı otların giderilmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar farklı şekillerde sıralanabilir: Fiziksel savaş, mekanik savaş, biyolojik savaş, kültürel önlemler.

İnsan ırkı, MÖ 10000 civarında (Hay, 1974) ekinleri yetiştirmeye başladıklarından beri yabancı otlara aşına olmuş ve hemen hemen aynı anda bu istenmeyen bitkiler bir sorun olarak kabul edilmiştir. Tropik bölgelerdeki tarım, yabancı otlardan azami derecede etkilenir, yine de nispeten hafife alınmış mahsul zararlılarıdır. Küresel senaryoya bakıldığında, mahsul kaybına en çok katkıda bulunan unsurlar yine yabancı otlar, ardından hayvanlar ve patojenlerdir (Oerke, 2006).

Herbisitlerin tarihi, tarımın gelişimiyle başlar. Çiftçiliğin ilk günlerinde, istenen mahsulün optimum büyümesi için uygun koşulların sağlanması amacıyla, ekilebilir arazilerden yabancı otları çıkarmak için insanlar enerjilerinin büyük bir kısmını harcamak zorundaydı. Aynı zamanda yabancı ot yönetimi veya kontrolü düşüncesi o zamanki çiftçilerin aklını meşgul etmeye başlamışlardır (Hay, 1974).

Başlangıçta insanoğlu, yabancı otları elle temizlemekteydi. Yabancı otları yok etmek için çıplak ellerin yerini ilkel el aletleri almışlardır (6000 civarı). Daha sonra M.Ö. 1000 yılında öküz ve at gibi hayvanların tırmık (alet) çekmek için kullanıldığı dönemi oluşturmuştur. Tuz, yabancı otların temizlenmesinde İngiliz çiftçileri tarafından 16. Yüzyılda kullanılmıştır (Lowery, 1987).

Petrol atıkları, kaya tuzları, ezilmiş arsenik cevherleri, bakır tuzları ve sülfürik asit gibi ham formdaki kimyasallar, demiryolları, araba yolları ve kereste avlularından yabancı otların yok edilmesi için kullanılmaktadır (Green vd., 1987). Ne yazık ki bu kimyasallar, mahsul bitkileri üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle tarıma elverişli topraklarda kullanılamamıştır. Böylece, yalnızca yabancı otları özel olarak öldüren seçici herbisit uygulaması ortaya çıkmıştır. Seçici bir kontrol için bakır tuzları ve inorganik bileşiklerin etkili olduğu bildirilmiştir (Klingman vd., 1982)

Yulaf koleoptilinde bulunan kimyasalın aktif bir büyüme düzenleyicisi olduğunu bulan Went idi (Went ve Thimann, 1937; Andersen, 1991). Yapılan bu çalışma, herbisitler içinde yer alan büyüme düzenleyicileri araştırmalarına hız kazandırmıştır. Bu, bu alandaki araştırmalara ivme kazandırmış ve şimdi herbisitler olarak büyüme düzenleyicileri, araştırma alanlarının anahtar alanlarından biri haline gelmiştir.

Pokorny (1941), 2,4-diklorofenoksiasetik asidin (2, 4-D) kimyasal sentezini açıklanmıştır. Daha sonra 2,4-D'nin diğer tuzları ve esterleri geliştirilmiştir. Bu büyüme düzenleyici, II. Dünya Savaşı sırasında Amerika Birleşik Devletleri ve İngiltere'den bilim adamlarının bitki büyüme düzenleyicileri üzerinde araştırma başlatmasıyla en önemli haber haline gelmiştir. Bu aslında herbisitlerin geliştirilmesi için "kimyasal çağı" başlatmıştır. Daha sonra 2, 4-D, 1947'den itibaren ABD'de ve MCPA'da ticari kullanıma girmiştir (Rao, 2000).

Sınıflandırma

Herbisitler çeşitli şekillerde sınıflandırılır / gruplanır; kimyasal aileye, aktiviteye, uygulama yöntemine, etki yerine veya uygulama zamanlamasına göre.

Translokasyona Göre Sınıflandırma

Sistemik herbisitler

Bu herbisitler, bitki içinde damar sistemi yoluyla, su, besinler ve diğer malzemelerle birlikte emilim alanından etki alanlarına kadar geniş ölçüde yer değiştirir. Sistemik herbisitler, çok yıllık yabancı otlar üzerinde temas eden herbisitlere göre daha etkilidir.

Non-sistemik herbisitler

Bitkide yer değiştirmeyen, temas halinde olan kısmını öldüren, nispeten hızlı etkiye sahip herbisitlerdir (örn. bromoxynil ve bentazon). Partikül boyutu ve tek sprej kapsamı uygulamanın yeterliliği açısından önem taşımaktadır. Köksaplardan, köklerden veya yumrulardan yeniden büyüeyebilen çok yıllık bitkiler üzerinde daha az etkilidirler. Yeraltındaki bitki parçalarının yeniden büyümesini önlemek için kontakt herbisitinin tekrar tekrar uygulanması gerekir.

Uygulama Zamanına Göre Sınıflandırma

Preplant

Seçici olamayan, mekanik olarak toprağa karışan ekimden önce toprağa uygulanan bitki öncesi herbisitlerdir (örn. Dazomet, Metam-sodyum). Herbisitler, herbisitle muamele edilmiş bölgede büyürken yabancı otları öldürür. Meraya ekilmeden önce uçucu herbisitlerin toprağa katılması gerekir. Özellikle, çimlenmekte olan ya da çimlenmiş yabancı otların ortadan kaldırılmasında büyük önem taşımaktadır.

Preemergence

Erken herbisitler (Pendimethalin, fenuron, diuron, monuron, prometryne, dithopyr, üre bileşikleri) yabancı ot fideleri toprak yüzeyinden çıkmadan önce uygulanır. Herbisitler yabancı otların filizlenmesini engellemez, ancak yabancı otları herbisitle muamele edilmiş bölgede büyürken ortaya çıkan fidede hücre bölünmesini etkileyerek öldürürler.

Postemergence

Bu herbisitler (2,4-D, MCPA, glyphosate) yabancı ot fideleri toprak yüzeyinden çıktıktan sonra uygulanır ve genellikle yeterli kontrol için birden fazla uygulama gerektirir. Bu herbisitlerin sıvı formülasyonları uygulamalarda daha etkilidir ve toprağı yıkama probleminden dolayı yağmur sırasında uygulama yapılmaz.

Toprak sterilizesi

Ekimden önce bazı herbisitler (alil alkol) ortamda yaşayan tüm canlıların yok edilmesinde kullanılmaktadır. Ekimden önce uygulanmaları kalıntı riskinin oluşumunun engellenmesi açısından önemlidir.

Uygulama Şekline Göre Sınıflandırma

Toprağa Uygulama

Bu herbisitler (Tiyokarbamatlar, dinitroanilinler), bitkinin çıkma öncesi ya da dikim öncesinde uygulanır ve fidelerin sürgün ve kökleri herbisitleri topraktan alır. Etkinleri çeşitli faktörlerin etkisi altındadır. Özellikle, bitkilerin emilim mekanizmalarından dolayı, bazı kimyasal maddelerin (organik madde, kolloidler) toprak tarafından adsorpsiyonu sonucunda emilim miktarı düşer. Herbisitini doğru toprak tabakasına yerleştirilmesi çok önemlidir, bu da mekanik olarak ve yağışla sağlanabilir. Bu herbisitlerin topraktaki bulunurluğu fotoliz ve uçuculuk süreçlerinden dolayı azalır.

Yaprağa Uygulama

Bunlar bitkinin yer üstündeki kısmına uygulanır ve açıkta kalan dokular tarafından emilir. Bunlar genellikle ortaya çıkma sonrası herbisitlerdir ve bitki boyunca yer değiştirebilir (sistemik) veya belirli bir yerde (temas) kalabilir. Kütikül, mumlar, hücre duvarı vb. gibi bitkilerin dış engelleri, herbisit emilimini ve etkisini etkiler. Glifosat, 2,4-D ve dikamba, yapraklara uygulanan herbisittir.

Özgünlüğe Göre Sınıflandırma

Seçici herbisitler

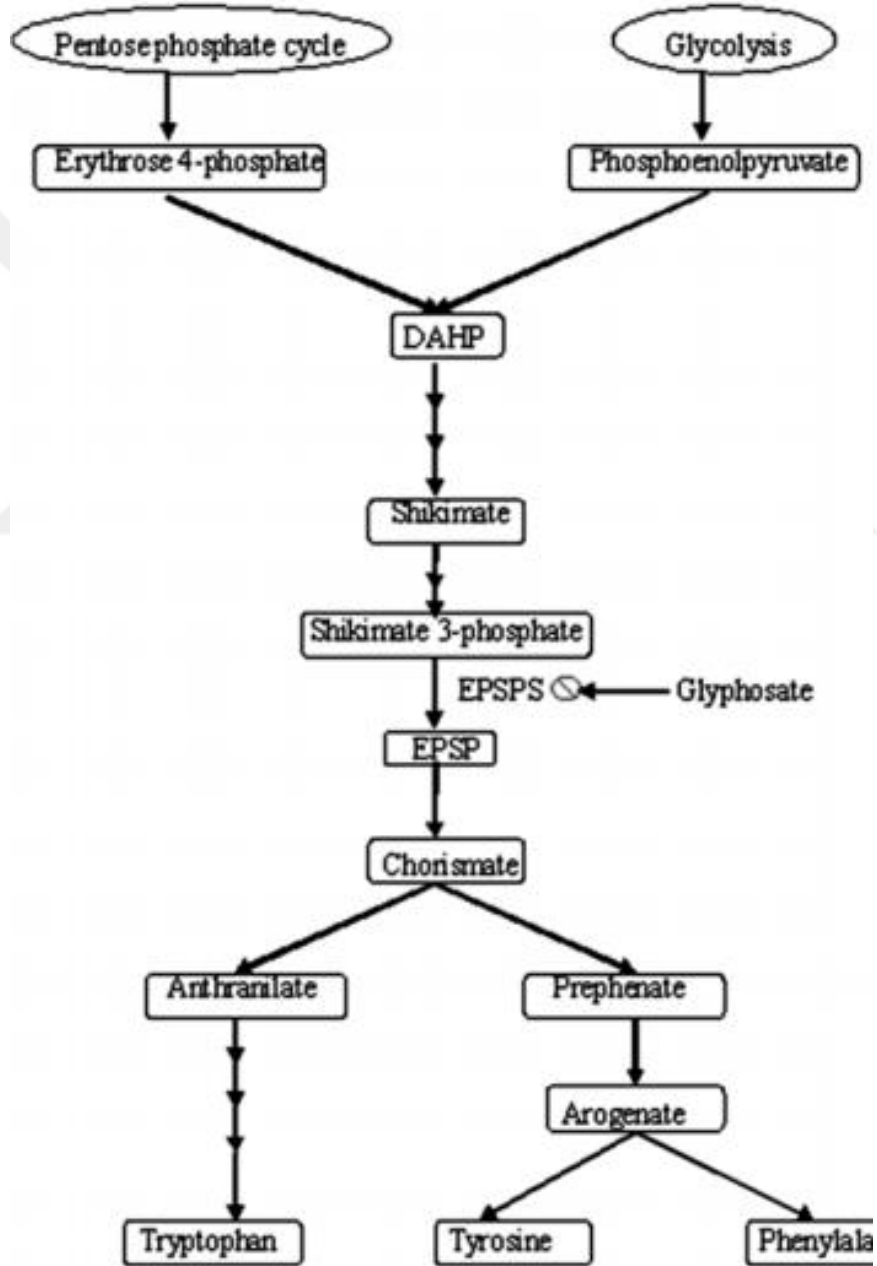
İstenilen türün kontrolünde kullanılan herbisitlerdir (örn. mecoprop, 2,4-D, dicamba). Hedef dışı bitkileri etkilemezler. Absorpsiyon, fizyolojik ve morfolojik farklılıklar ile bitki türlerindeki yer değişimi bu herbisitlerin seçiciliğini etkiler.

Seçici olmayan herbisitler

Bu herbisitler, belirli bitki türlerine karşı etki etmede ve temas ettikleri tüm bitki materyalini öldürmede özel değildir. Sanayi bölgelerini, atık zeminleri, demiryollarını ve demiryolu setlerini temizlemek için kullanılırlar. Paraquat, glufosinate, glyphosate seçici olmayan herbisitlerdir.

1.2.3. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh)

Glifosat (N-fosfonometil-glisin) seçici olmayan, en yaygın olarak yaprakta uygulanan, geniş spektrumlu herbisittir (Malik vd., 1989). Monsanto Co. tarafından geliştirilmiş ve 1974 yılında tarım dünyasına tanıtılmıştır. EPSPS (enolpiruvil shikimat-3-fosfat sentazı, EC 2.5.1.19), GlyPh tarafından engellenir (Şekil 1).



Şekil 1. Enolpiruvil shikimat-3-fosfat sentazı

Enzim nükleer kodludur ve plastid lokalize Shikimic Acid Pathway (SAP) biyosentezinde rol oynar (Steinrucken ve Amrhein, 1980; Gruys ve Sikorski, 1999). shikimate-3-fosfat (S3P) ile fosfoenol piruvat (PEP) substrat olarak, EPSP (5-enolpyruvylshikimate-3-fosfat) oluşturmasını sağlar (Marzabadi vd., 1996; McDowell vd., 1996). Enzimin X-ışını kristalografik yapıları, S3P-PEP-enziminin üçlü kompleksi ve S3P-glifosat-enzim konfirmasyonu, glifosatın PEP'in pozisyonunu işgal ettiğini doğrulamaktadır (Stallings vd., 1991; Schönbrunn vd., 2001)

SAP, tetrahidrofolat, ubikinon ve K ve E vitaminleri ile birlikte aromatik amino asitlerin (birincil metabolitler) Tirozin, Fenilalanin ve Trptofanın oluşumuna yol ağar (Haslam, 1993; Franz vd., 1997). Ayrıca, EPSPS'nin aktif bölgesi, daha yüksek bitkilerde oldukęa tutarlıdır ve bu nedenle glifosat, geniş bir yabancı ot spektrumunu gelişigüzel şekilde etkiler. "Glifosat, 100 yıllık bir keşifte bir tanesidir ve güvenilir küresel gıda üretimi için penisilin hastalıklarla savaşmak için olduğu kadar önemlidir" (Powles, 2010) Bitkileri yabancı otların olumsuz etkilerinden korumak için glifosat uygulaması neredeyse kaçınılmazdır. Ekilebilir arazilerde kullanıldığında sorun ortaya ęıkar. EPSPS'ye özgü olması ekin bitkilerini de olumsuz etkiler ve bu da çiftçiler tarafından kullanılmasını engeller. Transgenics bu sorunu büyük ölçüde çözmüştür ve saatin tercihidir.

Pestisitler mahsuller üzerinde koruyucu etkiler gösterir, ancak tarımsal uygulamada uzun süre kullanımları, yabancı bitki ve hayvan türlerinin sayısında ve çeşitliliğinde önemli bir düşüşe neden olmakta ve özellikle su ekosistemleri için önemli bir risk oluşurmaktadır (Jepson, 1988; Struger vd., 2008; Geiger vd., 2010; Davis vd., 2013; Battaglin vd., 2014; Grung vd., 2015). Araştırmalarda, farklı su kaynaklarında Kanada'da ($40,8 \times g \times L^{-1}$), Avustralya'da ($54 \mu g \times L^{-1}$), Yucatan Yarımadası'ndaki (Meksika) ($1,25-1,41 \times g \times L^{-1}$) Glyph konsantrasyonlarını rapor etmişlerdir (Worthing ve Walker, 1987; Scribner vd., 2003; Battaglin vd., 2005; Struger vd., 2008; Davis vd., 2013; Rendonvon Osten ve Dzul-Caamal, 2017). Peruzzo vd. (2008) suda ($700 \mu g \times L^{-1}$ e kadar), Arjantin'deki transgenik soya alanlarından toplanan toprak ve tortu örnekleri, Glyph geniş bir monokotiledon ve dikotiledon yabancı ot spektrumuna karşı etkilidir ve tarım arazileri, meyve bahçeleri, sebze tarlaları, tatlı su kütleleri ve çevresindeki alanlarda uygulanır (Franz vd., 1997). Tarımsal uygulamada ortalama Glyph oranı, ABD'de $1,0 \text{ kg} \times \text{ha}^{-1}$ ve dünyadaki $0,53 \text{ kg} \times \text{ha}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır (Benbrook, 2016). Su ve rüzgâr erozyonu, Glyph, rüzgar ve su erozyonu yoluyla tarım arazilerinden yer değiştirir (Peruzzo vd., 2008; Silva vd., 2018). Glyph'in sudaki yarı ömrü 2 ila 91 gün arasındadır ve bu durum çevre için ciddi bir sorun teşkil

etmektedir (Battaglin vd., 2014; Annett vd., 2014). Sucul ortamdaki yarı ömrü ise 35 ila 63 gün arasındadır (USEPA, 1986).

Glyph bazlı herbisitlerin hedef olmayan sucul organizmalar üzerindeki etkisi yeterince araştırılmamıştır (Tsui ve Chu, 2003). Glyphosate'ın suda yaşayan ve karadaki hayvanlar üzerindeki etkisi geniş çapta belgelendiğinden, toksik etkileri 2015 yılında yeniden değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçlarına göre, Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Glyph'i insan kaynaklı kanserojen olarak sınıflandırmıştır (IARC, 2015) ve akuatik ortamlardaki canlılarda uzun süreli maruziyet olumsuz etkilere neden olur (ECHA, 2019).

Ekosistemlerdeki hedef dışı organizmaların farklı yollarla suya karışan herbisitlerden olumsuz etkilenmesi nedeniyle çevresel etki ve risk değerlendirme çalışmalarının ve ekotoksikolojik araştırmaların önemi her geçen gün daha da artmaktadır (Mesnage vd., 2015).

Geniş spektrumlu bir sistemik herbisit olarak, Glyph, dünya çapında yabancı otlarının kontrolünde kullanılmaktadır. Genellikle tarım, bahçecilik, bağcılık ve silvikültürlük amaçlarının yanı sıra bahçe bakımı için kullanılır. Suda yaşayan canlılar için risk oluşturmaktadır (Folmar vd., 1979). Kullanımı son yıllarda artmasına rağmen balıklar üzerindeki yapılan araştırmalar yeterli düzeyde değildir (Kreutz vd., 2011). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, sitotoksik etkileri, fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerin kirleticiler tarafından etkilenmesinden dolayı balıklarda karaciğer tanı için kullanılmıştır (Pandey vd., 2003; Figueiredo-Fernandes vd., 2006; Li vd., 2010). Transkripsiyondan sonra enzim aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkilerinden mi yoksa transkripsiyonun inhibisyonundan mı kaynaklandığına dikkat edilmelidir. Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazdır (GPx), tüm organizmalarda bulunan ROS'un detoksikasyonunda önemli rol oynar (Van der Oost vd., 2003; Jiraungkoorskul vd., 2003a; Olsvik vd., 2005; Capkin vd., 2009). Bu enzimlerin ölçülmesi, oksidatif stresin belirlenmesi için gereklidir.

Glyph'in diğer herbisitlere göre daha güvenilir olmasından dolayı kullanımı yaygındır. Glyph içeren ve en yaygın kullanılan ilaç "Roundup"tır. Özellikle tarla bitkilerinin yetiştiriciliğinde yabancı otlarla mücadelede kullanılmaktadır. Yabancı otlar ve geniş yapraklı bitkilerde kullanılmaktadır. Endüstriyel alanlarda, tarım ve ormancılıkta ve bahçelerde yabancı otların yok edilmesinde kullanılır. Ayrıca, sucul bitkilerin kontrolünde de kullanılmaktadır. Yabancı otların kontrolünde genellikle erken ilkbahar döneminde toprağa uygulanmakta, 10-15 gün içinde mikroorganizmalar tarafından toprakta parçalanmaktadır. Ortamdaki biyotik ve abiyotik faktörler Glyph'im bozunmasına yardımcı olmaktadır. Ancak, yabancı otların mücadelede kullanılan Glyph ekosisteme ve çevreye olan olumsuz etkileri nedeniyle çoğu ülkede yasaklanmıştır. Buna rağmen, hala kullanımı devam etmektedir.

Yıllık 8 bin tonluk kullanımla ülkemizde de büyük bir tehlike oluşturmaktadır. Yapılan araştırmalarda glutenle ilgili sorun yaşayanların aslından bu sorunun Glyph kaynaklı olabileceğini belirtmektedir. Üreticiler, hasat süresinin hızlandırmak için Glyph içeren herbisitleri yüksek dozda hasattan önce kullanmaktadır. Çoğu buğday içeren (makarna, simit, kahvaltılık gevrekler, kek karışımları, buğday ekmeği vb.) ürünlerde bulunmakta ve insan sağlığı açısından büyük risk oluşturmaktadır. İnsanların sindirim ve metabolizmasını etkileyerek kansere kadar varabilen rahatsızlıklara neden olabilmektedir.

Güçlü bir herbisit olarak, Glyph, glisinden üretilir. Yabancı otlar, Glyph alımı sonucunda büyümesi için gerekli proteinleri engelleyerek 2-3 hafta sonra ölmesine neden olur. Roundup ticari adıyla 1974 yılında üreticilerin kullanımına sunulmuştur.

1.2.4. Gökkuşığı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*)

Akarsularda gökkuşığı alabalığının vücut rengi tipik olarak gümüşü-gri ila yeşilimsi kahverengidir. Gökkuşığı alabalığının, balığın tüm uzunluğu boyunca uzanan solungaç örtüsünden kuyruğa kadar, bazen lavanta veya turuncu tonları olan pembe veya kırmızımsı yanal şeritleri vardır (Şekil 2) (Behnke, 2002). Gökkuşığı alabalığının lekelenme desenleri ve vücut renkleri çeşitlidir. Genel olarak, kuyruk yüzgeçlerinde sırt ve yağ yüzgeçlerinde lekeler bulunan küçük koyu lekeler vardır (Behnke, 2002). Alt yüzgeçler lekesiz soluk pembedir. Genellikle baş ve yanlarda serpilmiş küçük siyahımsı noktalar vardır. Yumurtlama zamanında, erkekler yoğun bir kırmızı yan şeritle koyu renklenir.



Şekil 2. Gökkuşığı alabalığı

Gökkuşığı alabalığı, berrak, sağlıklı dağ dereleri ve göllerinin sembolü olan soğuk su balıklarıdır. Gökkuşığı alabalığının olta balıkçılığı arasındaki popülaritesi artmıştır. Bununla birlikte, nehir yatağı ve yüksek arazi erozyonu, nehir kenarı bitki örtüsünün kaybı, su saptırma, ağaç kesme ve madencilik faaliyetleri ve belediye gelişimi ve tarımdan kaynaklanan nokta ve nokta olmayan kaynak kirliliği, nedeniyle gökkuşığı alabalığının kaliteli alabalık habitatının azalmasına neden olmuştur.

Doğal yayılım alanları, Kuzey Amerika'nın Pasifik kıyıları boyunca Meksika'nın kuzeyi'nden Alaska, Bering Denizi ve Japonya'ya kadar uzanır. Bu yayılım alanı Pasifik somonlarının (*Oncorhynchus*) doğal yayılımı ile büyük oranda örtüşmesine rağmen, gökkuşığı alabalığı taksonomik olarak 1989 yılına kadar Atlantik grubu veya *Salmo* genusuna (*Salmo gairdneri*) dahil edilmiştir. İki ekolojik formu mevcuttur: anadrom olan “**çelikbaş**” alabalık ve tamamen tatlısularında yaşayan “**gökkuşığı**” alabalığı. İşte özellikle anadrom

formu, *Oncorhynchus* genusundan daha çok Atlantik somonu ile benzerlikler göstermektedir. Yüzgeç ışınlarının sayısı, morfometrik ölçüler, kuyruk tipi, gümüşü vücut rengi ve vücuttaki benekler bu türün geçmişte *Salmo* genusuna dahil edilmesine yol açmıştır. 1980’li yıllarda yürütülen DNA çalışmaları türün *Oncorhynchus* genusuna dahil edilmesi gerektiğini ortaya koymuştur. Pasifik somonları ile aynı taksonomik grup (cins) içerisine dahil edilen, gökkuşağı alabalığı *Oncorhynchus* genusunun diğer türlerinden, önemli morfolojik özellikler dışında hayat döngüsü açısından da önemli farklılıklar göstermektedir. Gökkuşağı alabalığı yumurtladıktan sonra çoğunlukla ölmez ve birden daha fazla döl verebilir. Yumurtlamadan sonra çelikbaş formunda oldukça yüksek oranlardan ölüm gözlenmesine rağmen, bunlarda da birçok anaç yaşamayı başararak birden fazla döl verebilmektedir. Buna karşın diğer *Oncorhynchus* türleri bir kez yumurtladıktan sonra büyük oranda ölmektedir.

Gökkuşağı alabalığı, 1874 yılından itibaren McCloud Nehrinden ABD’nin diğer eyaletleri ile iklim ve su kalitesini yaşama ve büyüme için uygun olduğu dünyanın bir çok bölgesine yayılmaya başlamıştır. Esas olarak yetiştiricilik amacıyla transfer edilmesine rağmen, bazı yerlerde doğal olarak üremeyi başararak dinamik populasyonlar oluşturmuşlardır. Örneğin, Kanada’nın Prens Edward Adasında anadrom bir populasyon gelişmiştir. Avrupa’ya getirilen stokların büyük çoğunluğunun köken aldığı McCloud Nehrindeki “Shasta” hattının denize göç eden çelikbaş ve göç etmeyen gökkuşağı formlarının melezi olup, her ikisinin de genlerini taşıdığı ileri sürülmektedir (Laird ve Needham, 1988). Kuzey Amerika’da özellikle olta balıkçılığı açısından son derece popüler bir türdür. Ancak, dünya genelinde hemen hemen evcilleşmiş bir “kültür” türü olarak önem taşır. Türün temel ayırt edici özellikleri (Stickney, 1991):

- Yüzgeçler:
 - Dorsal yüzgeç: 10-12
 - Anal yüzgeç: 8-12
 - Göğüs yüzgeçleri: 15
 - Karın yüzgeçleri: 10
- Solungaç dikenleri: (ilk kemerde)
- Yan hat üzerindeki pul sayısı: 115-161

Gökkuşağı alabalığının tatlısu formunda sırt metalik mavi ve yanlar gümüşüdür. Dorsal ve kaudal yüzgeçlerle sırtta siyah benekler bulunur. Olgunlaşmış erkeklerin yanlarında parlak pembe veya kırmızı bant bulunur. Çelikbaş formunda ise sırt çelik mavisi,

yanlar ve karın gümüşidir. Ancak, bunlar akarsulara geçtiklerinde, tatlısu formunun rengini alırlar. Anadrom balıklar denizden yumurtlamak amacıyla tatlısuya girdikten sonra genellikle hiçbir şey yemezler.

Genellikle 4-5 kg'dan daha küçük olmalarına rağmen, en büyük tatlısu formunun 20 kg, deniz formunun (çelikbaş) ise 18 kg'a ulaşabildiği bildirilmektedir (Laird ve Needham, 1988; Stickney, 1991). Özellikle anadrom olanların ömürleri 8-9 yılı geçmemektedir.

Genel olarak Salmonidae türleri sonbaharda yumurtlarlar. Kış boyunca embriyonik gelişim tamamlanır (inkübasyon) ve doğal üretimin başladığı ilkbaharda larvalar çıkar. Bu nedenle yumurtlama zamanı soğuk bölge veya sularda daha erken gerçekleşir. Diğer hemcinslerinein aksine gökkuşağı alabalığı doğal yayılım alanında ilkbaharda yumurtlamaktadır. Bu nedenle inkübasyon süresi diğer türlerden daha kısadır. Örneğin, anadrom form iki farklı zamanda tatlısuya girerek farklı zamanlarda yumurtlamaktadır. Akarsulara yazın (mayıs-ekim) girenler kışın (ocak-şubat), kışın (kasım-nisan) girenler ise ilkbahar aylarında (nisan-mayıs) yumurtlarlar (Stickney, 1991). Bu balıklar aynı akarsularda yumurtalasalarda bile, zaman farklılığı nedeniyle aralarında gen alış verişi olmamaktadır. Sürekli tatlısuda yaşayan gökkuşağı fromu içersinde de yumurtlama zamanı bakımından büyük farklılık söz konusudur. Yüksek dağ göllerinde yaşayanlar Haziran ayında, daha alçak kesimlerdeki göl ve akarsularda yaşayanlar ise Mart-Nisan ayında yumurtlamaktadırlar. Yumurtlama zamanındaki bu farklılıklar ve kısa kuluçka süresi yetiştiricilik açısından büyük avantaj sağlamaktadır.

Yumurtlama, bol oksijenli (>7-8 mg/l), uygun çakıl büyüklüğü (0,6-13 cm) ve akıntı hızına (23-155 cm/sn) sahip soğuk ve berrak sularda gerçekleşir. Yumurtlama alanlarının derinliği birkaç cm ile 150 cm arasında değişir. Dişiler, 5,5 m² genişlik ve 7-30 cm derinliğinde yuva açarlar. Yumurtlama, 4,0-9,5°C arasında gerçekleşir. Yumurta büyüklüğü 3-5 mm, yumurta verimi ise balık büyüklüğü ve coğrafik orijine bağlı olarak 2.000-12.000 adet veya 1500-2000 adet/kg arasında değişim göstermektedir. İnkübasyon süresi su sıcaklığına bağlı olarak 19-105 gün sürebilir. Genelde 28-50 günde çıkış gerçekleşir. Embriyo 0,5-15,0°C sıcaklıklarda başarılı bir şekilde gelişebilmektedir. Optimum inkübasyon sıcaklığı ise 8-10°C civarındadır. Düşük çözünmüş oksijen içeriği çıkışı geciktirirken, anormal larva oranını da artırır. Bu nedenle Salmonidae türlerinin kuluçka veya inkübasyon suyunun oksijen içeriği 5 mg/l'nin altına düşmemelidir. "Alevin" adı verilen larvalar su sıcaklığına bağlı olarak 7-21 günde besin kesesini absorbe ederek, serbest yüzmeye başlarlar. Yavrular, akarsuyun kenar kesimlerindeki sığ sularda küçük sürüler

oluştururlar. Büyüdükçe sürü dağılır. Yavruların başlıca doğal besinleri arasında böcekler, izopod ve amfipodlar önemli yer tutar.

Çelikbaş yavruları 2 veya 3 yıl akarsuda kaldıktan sonra denize geçer. Ancak, kuluçkahanede yetiştirilip doğal sulara bırakılan yavruların tatlısuda 1 yıl kaldıktan sonra deniz geçtikleri bildirilmektedir. (Stickney, 1991). Deniz veya okyanusa geçen balıklar 1-4 yıl burada kalarak oldukça uzun (geldiği akarsudan 3000 km uzağa kadar) mesafelere gidebilirler. Olgunlaştıklarında yumurtlamak amacıyla geldikleri akarsulara dönerler. Kuluçkahanede yetiştirilip belirli bir akarsuya stoklanan yavrular da cinsi olgunluğa ulaştıktan sonra büyük çoğunlukla aynı su kaynağına dönmektedir. Optimum büyüme sıcaklığı 15-20°C'dir. Özellikle hızlı büyüyen erkekler 1 yaşında cinsi olgunluğa ulaşabilirler. Buna karşın yavaş büyüyen dişilerde cinsi olgunluk yaşı 6'ya kadar çıkabilir. Genelde ise erkekler 2-3, dişiler ise 3-4 yaşında olgunlaşır. Doğal yayılım alanında birden fazla yumurtlayan anaç oranı oldukça düşüktür (%10 civarında), fakat dahil olduğu *Oncorhynchus* (Pasifik somonları) genusunun diğer üyelerinden daha yüksektir. Doğal yayılım alanı dışında nadiren doğal olarak ürer. Bu nedenle sadece kültür koşullarında yapay olarak döl alınabilir.

- Orijinal yayılım alanları: Kuzey Amerika, Doğu Pasifik sahilleri ve bu havzadaki akarsular,
- Gökkuşuğu alabalığında ilk yumurta sağımı 1872 yılında Kuzey Amerika'da yapılmıştır (McLeod Nehri'nin bir kolunda)
- Daha sonra buradan 1877 yılında Japonya'ya, 1885'de İngiltere'ye ve daha sonra Afrika, Asya, Avustralya, Yeni Zelanda ve Güney Amerika'ya dağıtılmıştır.
- Avrupa'da ticari üretim 1890'lı yıllarda Danimarka'da başlamıştır
- Türkiye'ye İlk gözlü yumurta 1970 yılında getirilmiştir. İlk çiftlikler; Bilecik'te (Papila), Konya Sarayönü'nde ve Rize'nin Fındıklı ilçesindeki (Çağlayan 1972-73) Alabalık üretim çiftlikleridir.
- Günümüzde 50 civarında ülkede ticari üretimi yapılmaktadır yıllık üretim 500 bin ton civarındadır.
- Orijinal stoklar ilkbaharda (Şubat – Haziran) yumurtlamasına rağmen, günümüzde coğrafik farklılıklar, genetik seleksiyon ve fotoperiyot uygulamaları ile yıl boyu yumurta üretimi yapılabilmektedir.

Gökkuşığı alabalığı, dünya çapında en yaygın olarak tanınan ve genel olarak en çok tanıtılan balık türlerinden biridir (Crawford ve Muir, 2008). California Acclimatization Society'nin San Francisco Körfezi bölgesinde gökkuşığı alabalığının ilk yapay yayılmasını gerçekleştirdiği 1870'ten beri (Behnke, 2002), türler en az 99 ülkeye tanıtılmış ve bunların en az 53'ünde popülasyon oluşturulmuştur (Gherardi, 2010).

Salmonidae familyasında yer alan Gökkuşığı alabalığı ülkemizde tatlı su balıkları içerisinde yetiştiriciliğinin en yaygın olarak yapıldığı balık türüdür ve model organizmadır. Düşük yetiştirme maliyetleri, erken yaşam safhalarında duyarlılık, birçok kanserojen sınıfa duyarlılık, tümör promotörlerine ve inhibitörlerine karşı duyarlılık nedeniyle dünyada araştırmalarda alternatif bir model organizma olarak kullanılmaktadır. Diğer bazı model balık türlerine göre boyut olarak büyük olmalarına ve oldukça uzun üreme döngülerine (2-3 yıl) sahip olmalarına rağmen, kültürü kolay ve ucuzdurlar.

Gökkuşığı alabalığı üretimi, hem doğal hem de kültür koşulları altında iyi anlaşılmıştır ve yıl boyunca çok sayıda gamet toplanmasına izin verir. Diğer balık modellerinin aksine, bu türün doğal popülasyonları hakkında evrimsel soruları ele almak için bir kaynak görevi görebilecek çok şey bilinmektedir (Behnke, 1992; Hershberger, 1992).

Gökkuşığı alabalığının genomik araştırmalar için etkin bir şekilde kullanılması için kaynaklar mevcut veya geliştirilmektedir. Gökkuşığı alabalığının beş klonal çizgisi, gökkuşığı alabalığına kolaylıkla uygulanabilen teknikler olan androjen ve jinojenin kromozom seti manipülasyon yöntemleri (Young vd., 1996) kullanılarak son zamanlarda oluşturulmuştur (Thorgaard, 1992'de gözden geçirilmiştir). Bu klonal hatlar değerli deneysel tekdüzelik sağlar (kendilenmiş fare soyları ile yapılan araştırmayla bir avantaj olarak iyi tespit edilmiştir) ve hatlar arasındaki farklar belirlendiğinde özelliklerin analizi ve genetik diseksiyonu için fırsatlar sağlar (Ristow vd., 1995; Robison vd., 1999). Bu türler için ayrıntılı genetik bağlantı haritaları geliştirilmektedir (Young vd., 1998; Sakamoto vd., 2000).

1.3. Çalışmanın Amacı ve Gerekçesi

Glyph'in omurgasızlar ve balıklar üzerindeki toksik etkileri çalışılmıştır, ancak balık sperm hücreleri üzerindeki etkileri ile ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır (Folmar vd., 1979). Bu çalışmada, dünyadaki en yaygın kullanılan herbisitlerden biri olan Roundup 360 SL etken maddesi olan Glyph'in, gıda zincirinde ve doğal ekosistemde önemli bir yeri olan gökkuşuğu alabalığının (*O. mykiss*) sperm hücrelerinin sperm kalitesi ve DNA hasarı üzerindeki etkisini değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Yüksek lisans tezi olan bu araştırmanın amacı, yaygın kullanılan herbisitlerden olan Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh)'ın gökkuşacağı alabalığının (*O. mykiss*) sperm kalitesi ve DNA hasarı üzerinde nasıl bir etkisinin olduğunun belirlenmesidir.

Tezde kullanılan materyal Altıntaş Alabalık Üretim Tesisi ve İsina Alabalık Üretim Tesisi'nden temin edilmiş ve uygun metot ile yapılmıştır.

2.1. Materyal

2.1.1. Araştırmalarda Kullanılan Balık Materyalleri ve Sperm Temini

Çalışmada kullanılacak damızlıklar ticari alabalık üretim tesislerinden (Altıntaş Alabalık Üretim Tesisi, Trabzon, İsina Alabalık Üretim Tesisi, Rize) temin edilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Altıntaş ve İsina Alabalık Üretim Tesisi

Çalışmada kayıtları tutulan, 2⁺ yaş ve üzerindeki 5 adet damızlık gökkuşacağı alabalığı kullanılmıştır (Şekil 4).



Şekil 4. Çalışmada kullanılan gökkuşuğu alabalıkları

Sağım işlemi normal gökkuşuğu alabalığı sağım protokolüne uygun olarak yapılmıştır. Damızlıklar Benzocaine kullanılarak bayıltıldıktan sonra boy ve ağırlık ölçümleri yapılmış ve “Abdominal masaj yöntemi” ile sağım yapılarak sperm alınmıştır (Şekil 5).



Şekil 5. Abdominal masaj yöntemi ile sperm sağımı

Damızlık alabalıklardan alınan semen örneklerinin spermatolojik özellikleri belirlenmiştir. Sağımda kontaminasyonu önlemek için, idrar ya da feçesin sperme karışmamasına dikkat edilmiştir.

2.2. Metot

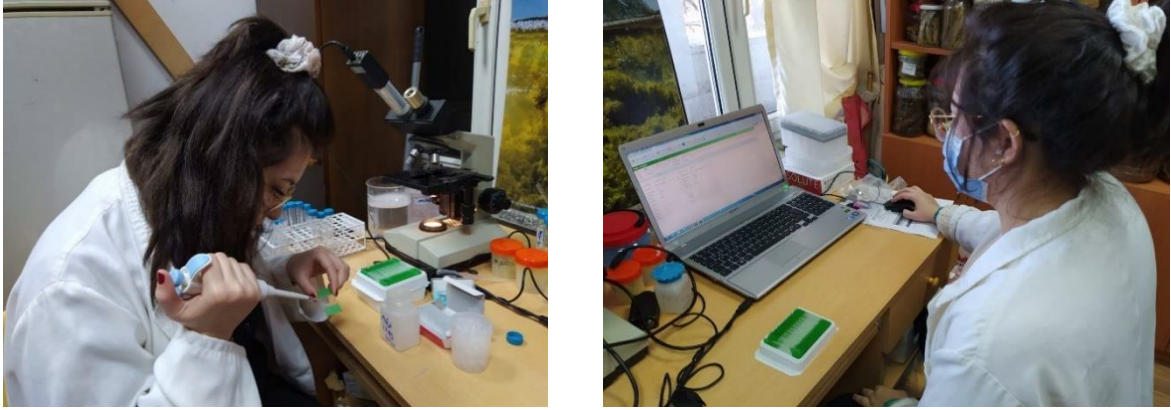
2.2.1. Spermatolojik Parametrelerin Belirlenmesi

Spermanın makroskobik muayenesinde renk, kıvam ve miktar parametrelerinin muayenesi yapılmıştır. Spermin rengi, spermin inspeksiyon yoluyla belirlenmiştir. Sperm miktarı, dereceli cam mezürler ile (ml) olarak belirlenmiştir (Şekil 6).



Şekil 6. Sperm hacminin belirlenmesi

Tek yönde ve güçlü hareket eden spermatozoonların, hareketsiz ve diğer hareket biçimi gösteren spermatozoonlara oranı olarak ifade edilen motilite, ışık mikroskopunda 40X büyütmede (%) olarak belirlenmiştir. Spermatozoonun canlılık süresi, mikroskop tablasına konulan sperm numunesinde son motil spermatozoonun canlılığını kaybetmesine kadar geçen süre spermatozoonun canlılık süresi (s) olarak kaydedilmiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Spermatolojik parametrelerin belirlenmesi

Spermin aktivasyonu, 0,5–1,0 μl sperm üzerine, 500 μl tampon sperm motilite aktivasyon solüsyonu (50 mM/L NaHCO_3 and 60 mM/L Tris, pH 9) eklenerek sağlanmıştır.

Sperm kalite parametrelerinin [MOT (hareketli sperma yüzdesi), VCL (eğrisel hareket hızı ($\mu\text{m s}^{-1}$); VAP (ortalama hız ($\mu\text{m s}^{-1}$), VSL (doğrusal hareket hız ($\mu\text{m s}^{-1}$), LIN (lineerlik ($\text{VSL/VCL} \times 100$), STR (doğrusallık ($\text{VSL/VAP} \times 100$), ALH (yatay yer değiştirme), BCF (sperma vuruş frekansı (Hz).] belirlenmesinde SCA (Sperm Class Analyser v. 4.0.0. by Microptic S.L., Barselona, İspanya) kullanılmıştır.

2.2.2. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) Glycine] (GlyPh) Uygulaması

Damızlıklardan elde edilen semenlerin kaliteleri belirlendikten sonra kaliteli olan spermlerden havuz oluşturulmuş ve immobilize solüsyonla (NaCl , 103 mmol/l; KCl , 40 mmol/l; CaCl_2 , 1 mmol/l; MgSO_4 , 0,8 mmol/l; Hapes (4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonik asit), 20 mmol/l; pH 7,8) (Lahnsteiner vd., 1998) 1:2 oranında sulandırılmıştır (Şekil 8).



Şekil 8. İmmobilize solüsyonun hazırlanması

Sperm örneklerine saf suda çözülmüş Glyph farklı dozlarda [0 (kontrol), (0, 2,5, 5, 10 mg L⁻¹)] ilave edilmiş ve 2 saat maruz bırakılmıştır (Hulak vd., 2013; Linhartova vd., 2013) (Şekil 9). Kullanılan subletal konsantrasyonlar önceden Folmar vd. (1979) ve Annett vd. (2014) tarafından belirlenen letal konsantrasyonlara göre belirlenmiştir. Her bir deneme 3 tekerrürlü yapılmıştır.



Şekil 9. Sperm örneklerine Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (Glyph) uygulaması

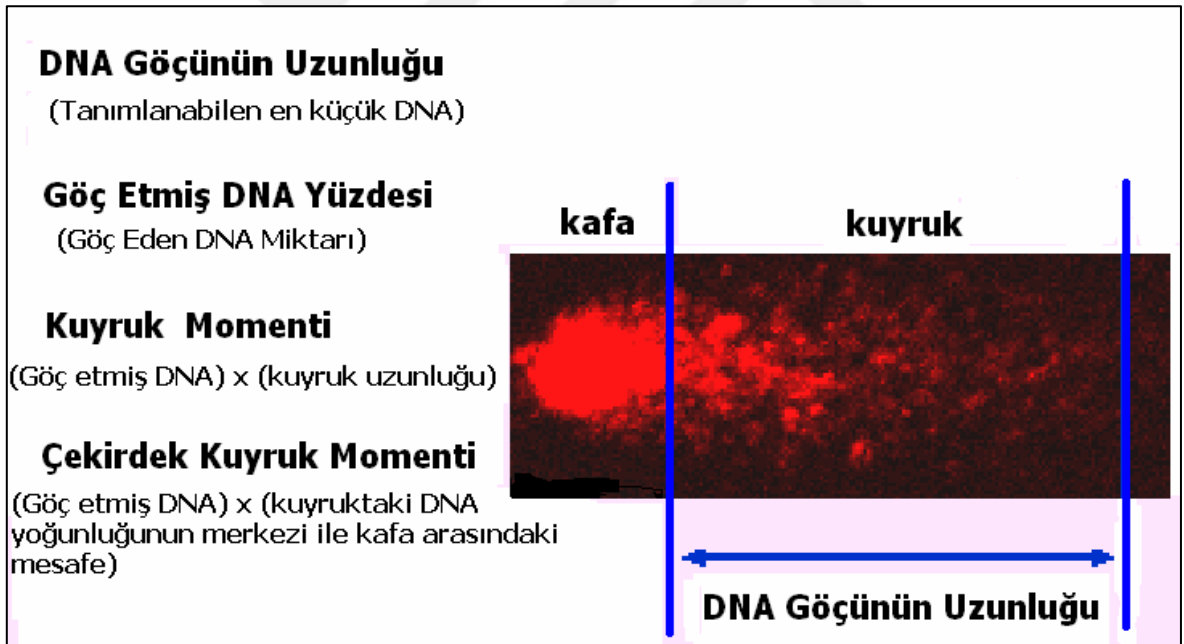
Örnekler, sperm kalitesinin belirlenmesi ve DNA analizleri için 2 gruba ayrılmıştır. DNA analizleri için örnekler -85°C’de muhafaza edilmiştir.

2.2.3. DNA Hasarının Belirlenmesi

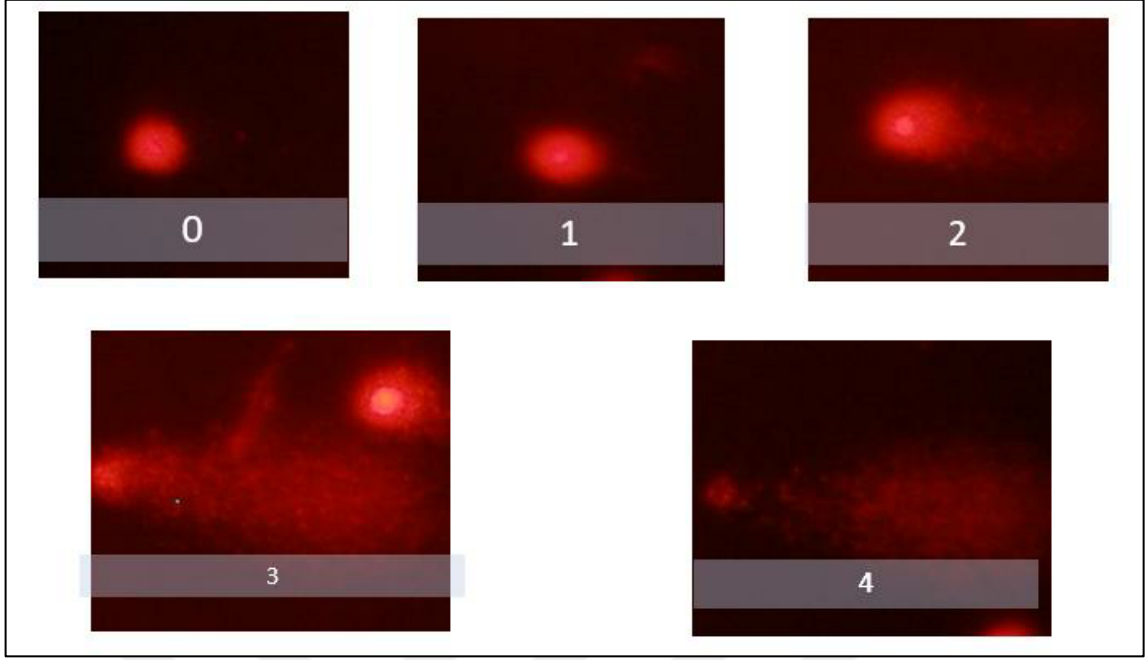
DNA hasarı analizleri KTÜ Sürmene Deniz Bilimleri Fakültesi, Genetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir (Şekil 10). Comet analizi, sperm kromatinini dekondeze etmek için Altınok vd. (2012) yöntemi modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. Deneyde kullanılan solüsyonlar ve tamponlar her denemede taze olarak hazırlanmıştır. Akut maruziyet sonunda kontrol ve deney grubundan 500-1000 µl semen örneği alınarak -20°C'de saklanmış ve laboratuvara gönderilmiştir. Her bir kuyruklu yıldız deneyi 3 tekrardan (slaytlar) oluşmuş ve tüm slaytlar aynı deneysel koşullara tabi tutulmuştur. Comet deney prosedürü, sperm DNA'sı üzerindeki UV'nin neden olduğu hasarı en aza indirmek için düşük ışık altında gerçekleştirilmiştir. Sperm örnekleri, 1:100 oranında fosfat tamponu tuzlu (PBS) (20 g NaCl, 0,5 g KCl, 0,5 g KH₂PO₄, 2,9 g Na₂HPO₄ ve 8 g Tris HCl) ile seyreltilmiştir. On µl PBS ile seyreltilmiş semen numuneleri, 37°C'de 180 µl %0,5 düşük erime noktalı agaroz (LMA) ile karıştırılmıştır. Bir gün önce %1,5 agaroz ile önceden kaplanan slaytlar, 150 µl sperm/LMA süspansiyonu ile kaplanmış ve hemen ardından üzerine lamel (18x18) kapatılarak LMA'nın sertleşmesi için 4°C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Hazırlanan lamalar bir kutu (şale) içine alınmış ve üzerine %1 Triton-X, %10 DMSO içeren lizis çözeltisi (100 mmol/l EDTA, 2,5 mol/l NaCl, 10 mmol / l Tris-baz (pH:10) dökülerek +4°C'de 60 dakika boyunca lizis için beklenmiştir. Lizisin ardından, lizis çözeltisine proteinaz K (100 µg/ml) ilave edilmiş ve lizis, 37°C'de 3 saat daha gerçekleştirilmiştir. Slaytlar saf su ile yıkanmış ve alkalın elektroforez tamponu (1 mM EDTA, 0,05 M NaOH) kullanılarak 25V, 300A'da 20 dakika süreyle elektroforeze tabi tutulmuştur. Slaytlar nötralizasyon tamponuna (1,82 g Tris-HCl, 0,125 g Trisma Base ve pH: 7.5) 10 dakika daldırılarak nötrale edilmiş ve distile su ile yıkanmıştır. Slaytlar etidyum bromür (10 mg/mL) ile 1:1000 seyreltide boyanmıştır. Sperm hücreleri, x40 büyütmede bir floresan mikroskop kullanılarak görüntülenmiştir. Comet analizi OpenComet yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Kuyruklu yıldız kuyruk uzunluğu (DNA göçünün orijinden µm cinsinden uzaklığı) ve kuyruk momenti ölçülmüştür (Şekil 11 ve 12).



Şekil 10. DNA hasarının belirlenmesi



Şekil 11. Görüntü analizi ile veri toplanması



Şekil 12. DNA hasarının belirlenmesi

2.2.4. Veri Analizi

Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS istatistik programı (14.0) kullanılmıştır. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi 0,05 güven aralığında uygulanmıştır. Sperm motilite özellikleri, DNA hasarı farklı konsantrasyonlar arasındaki farklılıkların analizinde tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) uygulanmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıkların belirlenmesinde Duncan testi uygulanmıştır.

3. BULGULAR

3.1. Spermatojistik Muayene Bulguları

Yapılan çalışmada gökkuşığı alabalıklarından elde edilen örneklerde başlıca spermatojistik özelliklerden sperma miktarı, spermatozoa motilitesi, sperma hacmi ve sperma rengi tespit edilmiştir (Tablo 1).

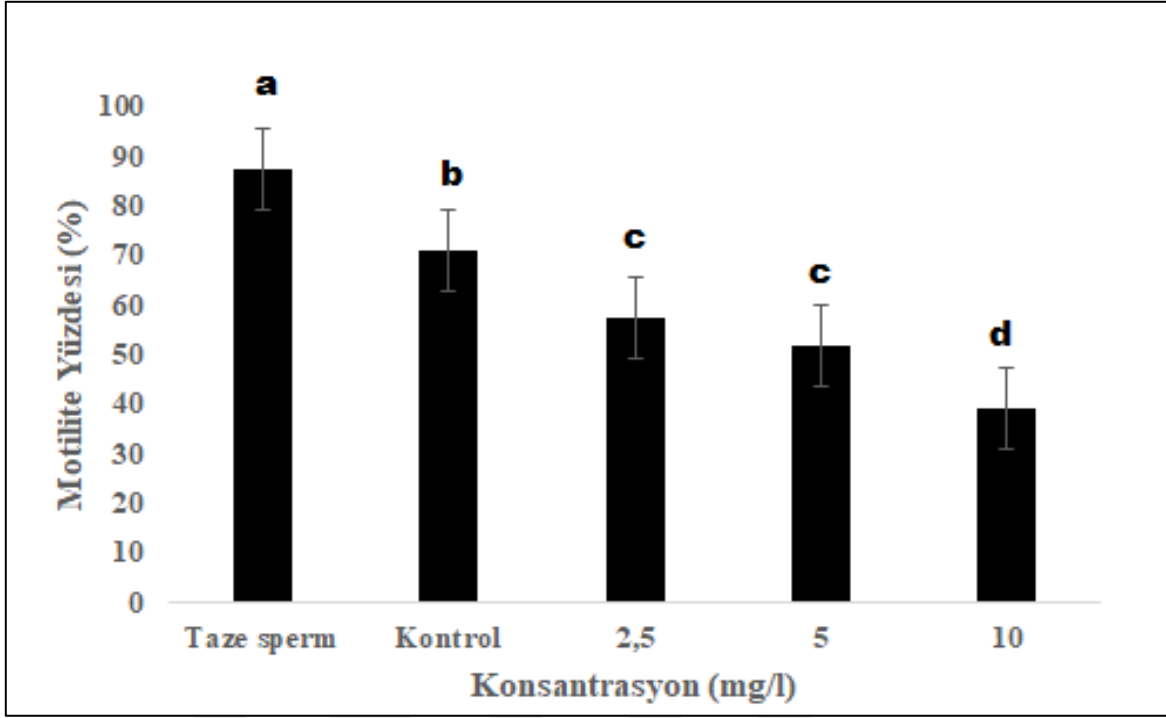
Alınan tüm sperma örneklerinde renk beyaz-krem olarak, hacmi ortalama $8,8\pm 3,96$ ml olarak belirlenmiştir.

Tablo 1. Spermatojistik muayene bulguları

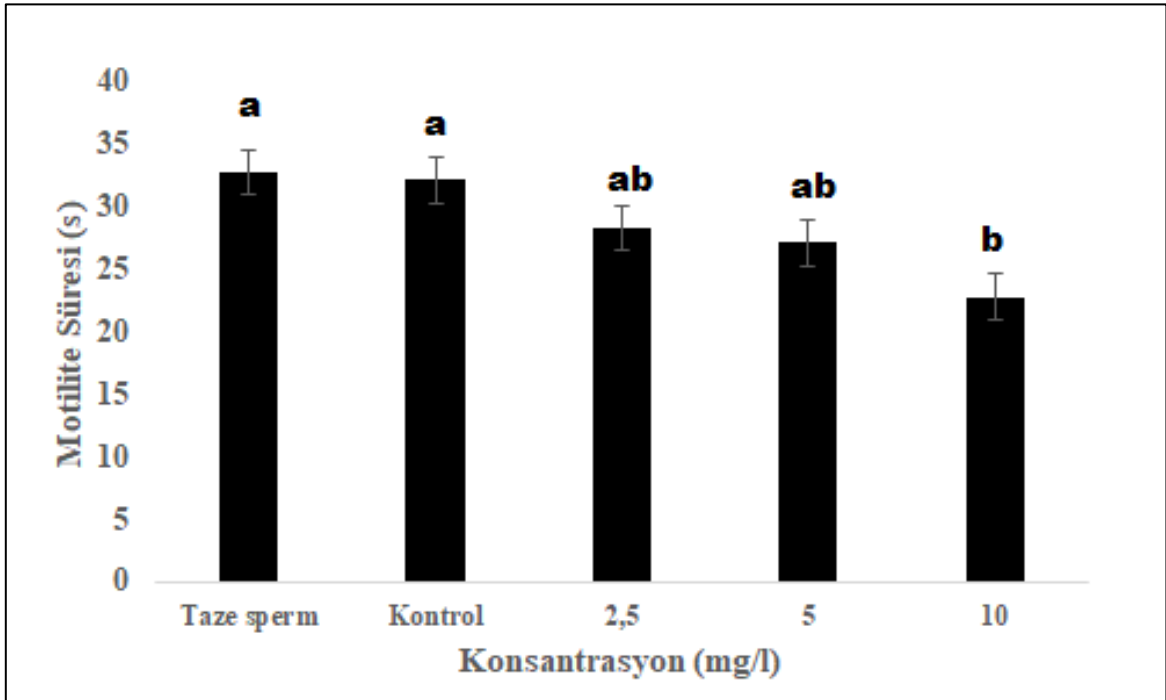
Örnek	Sperm miktarı (ml)	Renk	Kıvam	Motilite (%)	pH
1	8	Beyaz-Krem	Yoğun	75	7,5
2	5	Beyaz-Krem	Yoğun	70	7,5
3	10	Beyaz-Krem	Yoğun	70	7,5
4	15	Beyaz-Krem	Yoğun	90	7,5
5	6	Beyaz-Krem	Yoğun	97	7,5

3.2. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) Uygulamasından Sonra Elde Edilen Bulgular

Elde edilen sperm örneklerinin spermatojistik muayeneleri yapıldıktan sonra Glyphosate ilave edilmiş sulandırıcılardan elde edilen sperma kalite parametreleri (motilite yüzdesi ve süresi) Şekil 13 ve 14'te verilmiştir. Glyphosate uygulamasının gökkuşığı alabalığının motilite oranı ($p < 0.05$) ve süresini azalttığını göstermiştir.



Şekil 13. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulamasından sonra gökkuşuğu alabalığı spermının motilite yüzdesi (%) (a,b,c,d gruplar arasındaki farklılıkları gösterir)



Şekil 14. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulamasından sonra gökkuşuğu alabalığı spermının motilite süresi (%) (a,b,c,d gruplar arasındaki farklılıkları gösterir).

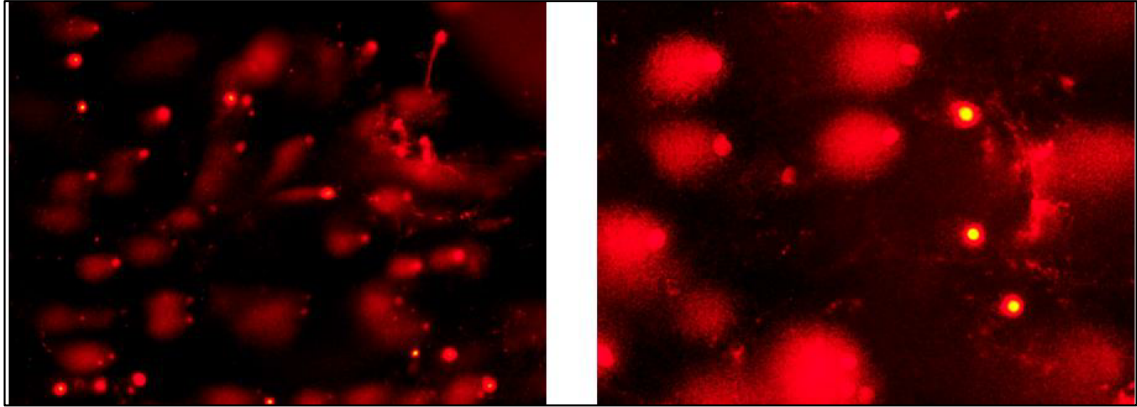
Belirlenen 8 sperm kalite parametresi Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulamasından sonra konsantrasyona bağı olarak azalma olduğu ancak gruplar arasında istatistiki olarak fark olmadığı tespit edilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Glyphosate [N-(phosphonomethyl) glycine] (GlyPh) uygulamasından sonra gökkuşuğu alabalığı sperm kalite parameteleri

	Kontrol (0 mg L⁻¹)	1. grup (2,5 mg L⁻¹)	2. grup (5 mg L⁻¹)	3. grup (10 mg L⁻¹)	F değeri	P değeri
Progresive motilite	70,83	57,50	51,67	39,17	19,523	0,000
Eğrisel hareket hızı (VCL)	74,08	61,51	52,82	42,16	0,668	0,595
Doğrusal hareket hızı (VSL)	28,10	23,58	15,14	14,80	1,023	0,432
Ortalama hız (VAP)	45,18	36,47	27,66	24,41	0,964	0,455
Lineerlik (LIN)	36,71	38,36	29,04	35,30	1,496	0,288
Doğrusallık (STR)	60,47	64,03	54,75	60,02	1,094	0,406
Wobble (WOB)	60,52	59,33	53,03	58,85	2,862	0,104
Yatay yer değiştirme (ALH)	2,63	2,42	2,33	1,82	0,289	0,832
Sperma vuruş frekansı BCF)	6,16	3,46	3,82	2,90	1,821	0,221

3.3. DNA Hasar Bulguları

Comet analizi sonucunda elde edilen görüntüler Şekil 15'te sunulmuştur. Spermatozoanın *in vitro* ışınlanması, DNA hasarında konsantrasyona bağlı bir artışa neden olur. Diğer bir deyişle, maruz bırakılan Glyph konsantrasyonu arttıkça sperm hücrelerinde DNA hasarı artmıştır. Yüksek Glyph konsantrasyonlarında gözlenen baş DNA yüzdesindeki azalma ve komet uzunluğu, kuyruk uzunluğu ve kuyruk DNA'sındaki artış, akut maruz kalma sırasında Glyph'nın gökkuşağı alabalığı spermatozoası DNA'sı üzerindeki mutajenik etkisinin açık göstergeleridir. Glyph'ye artan maruziyet ile baştan kuyruğa DNA göçündeki artış, daha fazla DNA'nın çekirdekten ayrılması ve komet kuyruğuna göçün bir sonucudur. Kontrol grubu, 1. grup ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$), 2. grup (5 mg L^{-1}) ve 3. grup (10 mg L^{-1}) için ortalama baş DNA yüzdesi sırasıyla $\%94,45 \pm 0,91$, $\%57,83 \pm 10,34$, $\%24,19 \pm 10,37$, $\%14,87 \pm 5,39$ olarak ölçülmüştür. Ortalama kuyruk DNA yüzdesi ise kontrol grubu, 1. grup ($2,5 \text{ mg L}^{-1}$), 2. grup (5 mg L^{-1}) ve 3. grup (10 mg L^{-1}) için sırasıyla $\%5,54 \pm 0,91$, $\%42,16 \pm 10,34$, $\%75,85 \pm 10,37$, $\%85,12 \pm 5,39$ olarak belirlenmiştir.



Şekil 15. Komet analizi sonucu elde edilen görüntüler

4. TARTIŞMA

Su, çok önemli doğal kaynaktır ve yaşam için mutlak gereklidir. Son dönemde yapılmış çalışmalara göre küresel ısınma ve kirlilik nedeniyle mevcut su kaynaklarının giderek azaldığı saptanmıştır. Günümüzde dünya nüfusu bir önceki yüzyıla oranla üç kat artmasına rağmen, su kaynaklarındaki kullanımın altı kat arttığı bildirilmektedir (Karaman ve Gökalp, 2010). Diğer taraftan ziraat ve sanayi kaynaklı kirliliğin yanında evsel atıkların artması sonucu kaynak sularımızın daha fazla kirletildiği gözlenmektedir. Bunun sonucunda besin zinciri en alt basamaktan en üst basamağa kadar etkilenmektedir. Ekolojik dengenin olumsuz yönde değişmesi, beraberinde canlı yaşamını da olumsuz yönde etkilemektedir. Bu kirlilik etmenleri besin zinciri yoluyla toprak, sucul ortam, bitki, hayvan ve insanlara kadar taşınarak yaşamları tehdit etmektedir.

Pestisitlerin bilinçsizce kullanılması, yararlı türler ve direkt veya dolaylı olarak insanlar üzerinde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Pestisitler, amaçlarına göre çeşitli türlere ayrılmaktadır. Temelde pestisitler üç ana türe ayrılır: herbisitler (yabani ot kontrolü için kullanılır), böcek öldürücüler (böcek kontrolü için kullanılır) ve mantar öldürücüler (mikotik kontrol için kullanılır). Balıklar, insanlar ve evcil hayvanlar için protein ve lipid kaynaklarıdır, bu nedenle balık türlerinin sağlığı insanlar için çok önemlidir. Şimdiye kadar pestisitlerin farklı balık türlerinin sperm kalitesi ve üreme sistemi üzerinde etkileriyle ilgili çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Gill vd. (2002) endüstriyel deşarjların ve evsel atıklar ile kirlenen ve yüksek oranda endokrin bozucu kimyasallarla kontamine olmuş İngiltere'nin kuzeydoğusundaki Tyne nehrinde pisi balığında testiküler gelişim ve spermatogenezi incelemiştir. Çalışma sonucunda testiküler yapıda anormallikler, bağlayıcı dokularda hipertrofi, spermin baş ve kuyruk yapılarında anormalliklerin olduğunu tespit etmişlerdir. Cardinali vd. (2004) Jessica vd. (2007) kirliliğin olduğu akarsuyun atık su arıtma tesisinin giriş ve çıkışında *Gobio gobio* ve *Barbatula barbatula* türlerinin üreme döngüsünü incelemiştir. Türlerin gonadosomatik indeksi, histolojik (testiküler ve ovaryumla ilgili safhaları) ve endokrin (cinsiyet steroidleri, aromataz aktivitesi) parametrelerini belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda *G. gobio* türünde üreme ve endokrin sisteminde bazı bozuklukların (GSI, oosit çapı azalma ve ALP konsantrasyonlarında azalma, gonadal aromataz aktivitesi, 11-KT seviyelerinde değişiklikler) meydana geldiği ancak *B. barbatula* türünde farklılıkların önemli olmadığını tespit etmişlerdir. Belova vd. (2007) Ukrayna'da Çernobil Nükleer Enerji Santrali (CNPP)'nden kaynaklanan felaket sonucunda oluşan

radasyonu ile kirlenmiş Glubokoe gölü, Kiev rezervuarı ve Teterev nehrinde bazı balık türlerinin (*Blicca bjoerkna*, *Rutilus rutilus*, *Carassius auratus*, *Carassius carassius*, *Abramis brama*, *Scardinius erythrophthalmus*, *Perca fluviatilis*) üreme sistemlerinin durumlarını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda kirlilikle orantılı olarak gonadlarda anormalliklerin arttığını, bazılarında triploidi ve çift cinsiyetin meydana geldiğini belirlemişlerdir. Singh vd. (2008) Hindistanda kirliliğin olduğu (hexachlorocyclohexane izomerleri, dichlorodiphenyltrichloroethane metabolitleri, aldrin, endosulfan ve kloropirifos) Gomti ve Ganga nehirlerinde ve kirliliğin olmadığı Gujartal nehrinde yayın balığında sperm kalite parametrelerini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda kirliliğin olmadığı alanla karşılaştığında sperm motilitesinde azalma olduğunu belirlemişlerdir. Ebrahimi ve Taherianfard (2011) Kor nehrinde endüstriyel deşarjların olduğu kısımlarda ağır metal analizleri yapmışlar ve bu ağır metal kirliliğinin *Cyprinus carpio* ve *Capoeta* sp. türlerinin üreme sistemini nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, ağır metallerin östrojenik ve androjenik hormonların salgılanmasını azalttığını vurgulamışlardır. Armoza-Zvuloni vd. (2012) İsrail Akdeniz kıyılarında kontamine olan (kanalizasyon, tavuk çiftlikleri atıkları, balık çiftliklerinden gelen su) ve olmayan alanda *Oculina patagonica* türünün üreme özellikleri ve steroid hormon seviyelerini incelemişlerdir. Çalışma sonunda, kontamine olan alandan alınan örnekler kontamine olmayan alanla karşılaştırıldığında hem su örneklerinde hem de dokularda steroid seviyelerinin yüksek olduğunu ve gametogenezde sorunların meydana geldiğini belirlemişlerdir. Shobikhuliatul vd. (2013) ksenobiyotik ve endokrin bozucu kimyasallarla kontamine olmuş Mas Nehri'nde *Puntius javanicus* türünde üreme sistemini, gonadları ve morfolojik anormallikleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, önceden toplanan erkek bireylerin daha sonraki süreçte %20'sinin dişileştiğini, bazı bireylerin gonadlarında testis ve ovaryumun bir arada bulunduğunu belirlemişlerdir. Jenkins vd. (2013) organoklorin kirleticilerle [poliklorlanmış bifeniller (PCBs), dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) ve polibromine difenil eter (PBDEs)] kontamine olmuş Kolombiya nehrinde *Catostomus macrocheilus* türünde üreme ve endokrin parametrelerini incelemişlerdir. Testis, tiroid dokusu ve plazmada çalışmışlardır. Sperm morfolojisi, sperm motilitesi, sperm apoptosisi, mitokondriyal membran bütünlüğü, DNA hasarı, ATP, plazma vitellojeni (VTG) ve trliyodotironini araştırmışlardır. İncelenen sperm parametreleri ve VTG, farklı alanlardan alınan örneklerde farkın önemli olduğunu, sperm kalitesinin düştüğünü, VTG'nin daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Total PCBs ve PBDEs'nin sperm motilitesiyle negatif ilişkisi olduğunu, PCB-206 ve BDE-154'ün DNA

hasarı ile pozitif ilişkisi olduğunu tespit etmişlerdir. Li vd. (2010) ağır metallerin (Cd, Cr and Cd + Cr) mersin balığı (*Acipenser ruthenus*) spermatozoaya maruziyetini araştırmışlardır. Sperm hücrelerine, ağır metallerin çevresel ortamda bulunan konsantrasyonlarına (0,1 mg L⁻¹ Cr, 0,001 mg L⁻¹ Cd, 0,1 mg L⁻¹ Cr + 0,001 mg L⁻¹ Cd) ve daha yüksek konsantrasyonlara (5,0 mg L⁻¹ Cr, 0,05 mg L⁻¹ Cd, 5,0 mg L⁻¹ Cr + 0,05 mg L⁻¹ Cd) uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, çevresel konsantrasyonların LPO seviyesi ve SOD aktivitesi hariç motilite parametreleri ve antioksidan durumunu önemli ölçüde etkilemediğini, daha yüksek konsantrasyonların ise oksidatif stresi tetiklediğini ve sperm motilite parametrelerini olumsuz yönde etkilediğini bildirmişlerdir. Gazo vd. (2013) mersin balığının (*A. ruthenus*) sperm kalitesi, DNA bütünlüğü, ATP seviyesi ve oksidatif stres durumuna bir anti-androjenik fungusit olan Vinklozolin (VIN)'in etkisini araştırmışlardır. Vinklozolinin (0,5, 2, 10, 15, 20 ve 50 µg/l) sperm hücreleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Konsantrasyonun artışıyla motilitede azalma, DNA fragmentasyonu ve oksidatif streste artış ile semende hücrelerarası ATP içeriğinde azalma meydana geldiğini belirlemişlerdir. Kutluyur vd. (2015a,b) gökkuşuğu alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) sperm kalitesi ve oksidatif stres ve antioksidan durumu üzerinde Cypermethrinin *in vitro* etkisini incelemişlerdir. Sperm hücreleri Cypermethrinin farklı konsantrasyonlarına (1,025, 2,05 ve 4,1 µg/l) maruz bırakmışlardır. Konsantrasyonun artışıyla motilitede azalma ve oksidatif streste artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, gökkuşuğu alabalığının (*O. mykiss*) sperm kalitesi ve oksidatif stres ve antioksidan durumu üzerinde Lambda-cyhalothrin'in *in vitro* etkisini incelemiş ve bu maddenin farklı konsantrasyonlarına (0,6, 1,2 ve 2,4 µg/l) maruz bırakıldığında sperm hücrelerinde, konsantrasyonun artışıyla motilitede azalma ve oksidatif streste artış meydana geldiğini belirlemiştir (Kutluyur vd., 2015b). Kutluyur vd. (2017, 2018, 2020) ve Kocabas vd. (2018, 2020) farklı balık türlerinin (*Salmo coruhensis*, *Alburnoides bipunctatus*, *Oncorhynchus mykiss*, *Barbus plebejus*, *Squalius orientalis*) sperm hücreleri üzerinde farklı kirleticilerin (bisphenol A, Cypermethrin, Lambda-cyhalothrin, Malathion) etkilerini incelemişler sperm kalitesinin olumsuz etkilendiğini ve oksidatif stresin arttığını bildirmişlerdir. Önceki çalışmalara paralel olarak, bu çalışmada hareketli sperm hücrelerinin yüzdesini ve süresini azaltmıştır.

Organofosfatlı bileşikler arasında yaygın olarak kullanılan ve sentetik bir herbisit olan Glyph, 1970 yıllarının başında Amerika'da arpa, buğday vb. tahıl ürünlerinde ve endüstri bölgelerinde kullanılırken, daha sonra tüm dünyada yaygın olarak uygulanmaya başlanmıştır. Brezilya'da yapılan çalışmada ise Glyph'ın pirinç tarlaların drenaj sularının

sucul ekosisteme girişi balık beslenme mevsimi ile eşzamanlı gerçekteştiği, bu nedenle sucul yaşam için potansiyel bir tehlike oluşturduğu bildirilmiştir (Giesy vd., 2000; Primel vd., 2005).

Glifosat, dűnyanın en çok satan kimyasal herbisitidir. Roundup gibi glifosat içeren herbisitler, çiftçilik, ormancılık, parklar, kamusal alanlar ve bahçelerde uygulanan en yaygın herbisitlerdir. Glifosat içeren herbisitler ayrıca genetiği değiştirilmiş herbisite dayanıklı mahsullerin üretimi için çok önemlidir. Yapılan araştırmalar sonucunda, yasaklanmasına dair konular gündemdedir. Yapılan araştırmalarda, 18 Avrupa űlkesinde test edilen insanların yüzde 44'ünün idrarında glifosat kalıntıları tespit etmişkerdir. Glyph, 750'den fazla farklı geniş spektrumlu herbisitin aktif bileşenidir (Brausch ve Smith, 2007; Guyton vd., 2015). Glyph, dűnya genelinde yaygın olarak kullanılan yabancı ot ilaçlarının en önemlisidir. Bu herbisit aynı zamanda kentsel ve evsel ortamlarda da yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yaygın kullanıma bağlı olarak yiyecek ve içme sularında glifosat kalıntıları tespit edilmiştir. Bu herbisitin bu denli yaygın olarak kullanılması evre ve insan sağlığı konusunda birtakım riskler hakkında endişelere yol açmıştır. Her ne kadar glifosatın hedef etki mekanizması bitkilere özgű olsa da, omurgalı ve omurgasız canlılarda da bir dizi toksikolojik etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Hem glifosatın hem de Roundup'un (glifosatın ticari şekli), canlı sistemde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu attırdığı ve antioksidan sistemin aktivitesini baskılayarak hücresele oksidatif stresi indűklediđi rapor edilmiştir (Uren Webster ve Santos, 2015).

Aromatik amino asit biyosentezini inhibe etmesi ile Glyph, mikroorganizma ve bitkilerde biyokimyasal değişimlere neden olur (Boocock vd., 1983). Glyph, EPSPS (enolpiruvil shikimat-3-fosfat sentazı) enzimini engeller. Protein sentezi, aromatik amino asit tükenmesi sonucunda azalır veya durur. Bu durum sonucunda, hücrelerde ölüm veya bozulma ya da ölüm meydana gelebilir (Miko vd., 2017).

İnsanların glifosata maruz kalmaları neticesinde, karaciğerde mitokondriyal oksidatif fosforilasyonunun azaldığı, proton ve kalsiyum iyonları için mitokondriyal membran geçirgenliğinin arttığı ve süksinat dehidrojenazın inhibe edilmesiyle mitokondriyal fonksiyonunun etkilendiği bildirilmiştir. Glifosat özellikle eritrosit ve lenfosit hücre membranlarında, lipit, protein ve DNA'da oksidatif hasara neden olabilmektedir. Kemirgenlerde yapılan kısa süreli çalışmalarda glifosatın belirgin toksik etki göstermediği, lakin glifosata kronik maruz kalma sonucunda karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu ve toksisite, hamile sıçanlarda fetal ossifikasyondaki eksiklikler, büyük ölçűde artmış kanser

riski ve kısa ömürlülük ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Yine glifosata maruz kalan sıçanlarda idrar ve organ biyokimyasal parametrelerinin yanı sıra proteomik ve metabolomik profilde de değişikliklerin olduğu tespit edilmiştir (Milić vd., 2018).

Balıklar üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, Roundup ve GF'nin hücrel antioksidan üretimini engelleyerek veya ROS (Reaktif oksijen türleri) oluşumunu tetikleyerek oksidatif stresi neden olduğu bildirilmiştir. Bu herbisitlerden Roundup 6 günden fazla süre 1-20 mg/l dozunda uygulandığında balıklarda proteinler, lipitler ve DNA da oksidatif zararlara neden olduğu ve hücrel antioksidanların miktarını değiştirdiği tespit etmişlerdir (Cavalcante vd., 2008; Ferreira vd., 2010).

GlyPh, bitkilerde esansiyel aromatik amino asitlerin sentezini kesintiye uğratarak 5-enolpiruvilşikimat-3-fosfat sentaz enziminin inhibitörü olarak görev yapan Roundup'ın aktif bileşenidir (Gomes vd., 2014). Şimdiye kadar, GlyPh insan ve farklı hayvan türlerinde etkisiyle ilgili çalışmalar yapılmasına rağmen sperm üzerindeki etkileriyle ilgili çalışmalar sınırlıdır. Balıklarda sperm kalitesi üzerindeki etkisiyle ilgili herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Glifosatın ana parçalanma ürünü olan aminometilfosfonik asitin (AMPA) yanı sıra glifosat, glifosatın memeli üremesine hiçbir yan etkisi olmadığı bulunduğundan gelişimsel olarak toksik değildir (Williams vd., 2000). Yapılan farklı bir araştırmada, tavuk ve kurbağa gelişimi üzerinde olumsuz etkisi ortaya koyulmuştur (Paganelli vd., 2010). GlyPh'in toksik etkilerine ilişkin bir meta-analiz, glifosata maruz kalmanın hem farelerde hem de sıçanlarda sperm konsantrasyonunu düşürdüğünü ortaya çıkarmıştır, bu da üreme parametreleri üzerindeki olumsuz etkilere işaret etmektedir (Cai vd., 2017). Zebra balığında, GlyPh'in sperm hücrelerinde motilitede azalmaya, DNA hasarına ve mitokondriyal işlevselliğin bozulmasına neden olduğu bildirilmiştir (Lopes vd., 2014). 5 mg/kg'lık bir dozdaki glifosat, Wistar sıçanlarının sperm kalitesi üzerinde zararlı etkiler yaratırken (Abarikwu vd., 2015), son zamanlarda hareketli *Jenynsia multidentata*'da glifosattan etkilenen en hassas parametreleri motilite ve konsantrasyon gibi sperm parametrelerinin temsil ettiği bildirilmiştir (Sanchez vd., 2017). Doza bağlı olarak glifosata, anormal ve ölü spermatozoa'da bir artış eşlik etmiş; bu, sperm kalitesi üzerindeki etkilerin, glifosatın spermatogenez üzerindeki doğrudan sitotoksik etkisinden ve/veya dolaylı olarak üreme verimliliğini kontrol eden hipotalamik-hipofiz-testis eksenini yoluyla olabileceğine işaret ediyor olabilir (Yousef vd., 1995). İnsanların glifosata potansiyel maruziyetine ilişkin mevcut literatür, son derece düşük maruziyetlere ilişkin kanıtlar sağlar (tahmini dozlar glifosat için önerilen oral referans dozdan > 500 kat daha azdır) ve glifosata ortam

maruziyetini olumsuz üreme etkileri ile ilişkilendiren sağlam bir kanıt olmadığını gösterir (Williams vd., 2012). Bununla birlikte, çeşitli glifosat formülasyonlarının hormonal fonksiyon üzerinde olumsuz etkileri olduğu görülmüştür ve Roundup gibi glifosat bazlı herbisitlerin oksijen reaktif türler üzerinde bir etkiye sahip olduğu ve ayrıca redoks sistemini değiştirerek apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (Kwiatkowska vd., 2013, Cassault-Meyer vd., 2014). Roundup'ın sığır granüloza hücrelerinin steroidogenez ve proliferasyonu üzerinde zararlı etkisi olduğu gösterilmiştir (Perego vd., 2017), bu da glifosatın dişi gametler üzerindeki dolaylı etkisini göstermektedir (Perego vd., 2017). Anifandis vd. (2018) yaptıkları çalışmada glifosatın insan sperm hareketliliği ve SDF üzerindeki *in vitro* etkisi ilk kez gösterilmiştir. Motilite, fertilizasyonla ilgili ana yönlerden biridir, SDF'nin normal fertilizasyonda ve sonraki implantasyon öncesi ve sonrası gelişimde önemli bir rol oynadığı bulunmuştur. Çeşitli glifosat dozlarının değerlendirilmesi, maruziyet düzeyini daha doğru bir şekilde belirlese de, spermatozoanın kontrol sperm hücrelerine kıyasla SDF'de 0,36 mg/L glifosata 1 saat maruz kalmasından sonra, sperm progresif hareketliliğinde önemli bir azalma gözlemlenmiş ve buna artış eşlik ettiğini tespit etmişlerdir. Sperm örneklerinde, pestisitlerin maruziyetini belirlemek için tarama analizlerini gerçekleştirmişlerdir. *In vivo* toksisite ile temel toksisite arasındaki ilişkiyi ortaya koymayı amaçlamışlardır (Anifandis vd., 2017). Elde edilen sonuçlar, mitokondriyal işlevselliğin bozulmasıyla ilişkilendirilebilir.

GlyPh ve Roundup, sperm hareketliliği üzerinde aynı olmasa da çok benzer etkiler sergiliyorsa Roundup etkisinin esas olarak GlyPh'tan geldiği varsayılabilir, Roundup'da yüzey aktif maddelerin varlığı, toksik etkilerinin göz ardı edilemez (Defarge vd., 2017). Yüksek doz glifosata maruz kalan sıçanlar üzerinde üremede herhangi bir ters etki olmadığına dair kanıt sağlayan Alman Federal Mesleki Güvenlik ve Sağlık Enstitüsü (2016) ile glifosatın olası olmadığını gösteren Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (2011) ile karşılaştırıldığında üreme veya gelişme için toksik olabilir, bu çalışma, kullanılan konsantrasyondaki GlyPh'ın, motilite açısından erkek gametler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Rapor edilen sonuçlar, GlyPh *in vitro* uygulamasının akut olmasıyla açıklanabilir. Hem glifosatın hem de metabolit aminometilfosfonik asidin (AMPA) üriner atılım düzeylerini ölçtüğü yakın tarihli bir yayında, ortalama glifosat idrar düzeylerinin zamanla arttığı ve 2014-2016 döneminde 0,45 µg/L'ye ulaştığı bildirilmiştir (Mills vd., 2017). İdrar örneklerinde yapılan bir çalışmada, GlyPh değerleri kabul edilebilir günlük alımdan (ADI) veya kabul edilebilir operatör maruziyet düzeyinden (AOEL) çok daha düşük seviyede rapor edilmiştir (Niemann vd., 2015). Diğer çalışmalarda,

biyokimyasal ajanların veya enzimlerin aracılık ettiği hava tüketimi yoluyla glifosat etkileri değerlendirilmiştir. Bu nedenle, glifosat, erkek gametlere ulaşmadan önce katalize edilebilir ve bu da glifosatın etkisini daha az toksik hale getirir. Özellikle çevre ve insan sağlığı değerlendirmesi için Kolombiya'da yapılan bir çalışmada, hava yoluyla uygulanan glifosatın hem insan sağlığı hem de çevre üzerinde önemli bir risk oluşturmadığı gözlemlenmiştir (Solomon vd., 2007, Solomon vd., 2007). Bununla birlikte, çok yakın tarihli bir çalışmada, sarı kuyruklu tetra balığında (*A. lacustris*) düşük konsantrasyonlarda glifosat bazlı herbisite maruz kaldıktan sonra (Gonçalves vd., 2018) sperm hareketliliğinde toplam bir kayıp gözlemlenmiştir, ancak *A. lacustris*'de testis doku hacmi veya organ kan akış hızı gibi diğer parametrelerin de oldukça farklı olduğu belirtilmelidir. Küçük moleküllü toksik ürünlerin menide kan veya idrar plazmasındaki benzer konsantrasyonlara ulaşabileceği akılda tutulduğunda (Scialli vd., 2015), Glyph'in kendisi veya metaboliti AMPA, motilite ve sperm DNA fragmentasyonu dahil olmak üzere çeşitli sperm parametreleri üzerinde olumsuz etkilere neden olabilir. ART merkezlerinin çoğunda, sperm analizlerinde SDF temel bir parametre olarak analiz edilmektedir (Agarwal vd., 2017, Cho vd., 2017). SDF ile düşük oranı arasındaki pozitif korelasyon iyi bilinmektedir (Anifandis vd., 2015). Artmış DNA fragmentasyonuna sahip spermatozoa, döllenmeden sonra gelişmekte olan embriyoya sağlam sperm DNA'sı sağlayamayabilir, bu da erken gebelik kaybına ve hatta implantasyon noktasına ulaşmadan embriyonun dejenerasyonuna neden olabilir. Bu nedenle, babaya ait genetik materyalin embriyo gelişimine önemli katkısı nedeniyle, sperm fonksiyonunun ana parametresi olarak DNA parçalanması önemlidir. Kirletici veya toksik maddelere maruz kaldığına dair kanıt olan kısır erkeklere SDF testleri önerilmelidir (Cho vd., 2017). Anifandis vd. (2018), Glyph'nin (0,36 mg/mL) SDF üzerindeki *in vitro* (1 saat) etkisini incelemişlerdir. İlk saatte Glyph'in, tedavi edilmeyen kontrollere göre SDF üzerinde önemli bir etki yaratmadığı görülmüştür, bu da Glyph'in tek başına sıçanların erkek üreme sistemi üzerinde düşük toksisiteye sahip olduğunu gösteren bir çalışma ile uyumludur (Dai vd., 2016). Çalışmada diğer bir sonuç da motilitede ortaya çıkan azalmadır. Glyph uygulaması, birkaç saat sonra DNA bütünlüğünün bozulmasına ve motilite kabiliyetinin azalmasına neden olmaktadır. Azalan motilite oranı ve süresi DNA hasarı ile ilgilidir. Bununla birlikte, tedaviden 2 veya 3 saat sonra toksik etki göz ardı edilemez. Bunların dışında, sperm boyama yöntemleri de DNA hasarını etkilemektedir (Sa vd., 2015, Bucar vd., 2015). Glyph ve Roundup ile tedavi edilen spermatozoa arasındaki DNA fragmentasyon yüzdesini karşılaştıran beş örnek üzerinde küçük bir ön çalışma, her iki maddenin SDF üzerindeki

etkisinin karşılaştırılabilir. Önceki çalışmalardaki gibi bu çalışmada da, glyfosat uygulaması sperm hücrelerinde DNA fragmantasyonuna neden olmuştur.



5. SONUÇLAR

Bu araştırma, Glyph'in alabalık sperm motilitesi ve DNA hasarı üzerindeki etkisini araştıran ilk çalışmadır. Kullanılan konsantrasyonlarda glifosat, düşük herbisit konsantrasyonlarına maruz kalmanın, alabalığın sperm kalitesini bozabileceğini açıkça göstermiştir. DNA hasarı analizleri, hücresel yanıtı ortaya koymuştur. Düşük glifosat dozları, hareketli sperm hücrelerinin yüzdesini ve süresini olumsuz etkilemiştir. Spermatozoa, pratik ve hızlı olması nedeniyle diğer yöntemler (örneğin kan hücrelerinin, dokuların kullanımı) yerine, letal dozu ve doğal ekosistemlerde izin verilen konsantrasyon aralığını belirlenmesi için kullanılabilir. Herbisitlere bağlı süreçleri ve spermatozoa üzerindeki etki mekanizmalarını değerlendirmek için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

6. ÖNERİLER

Hızlı nüfus artışı, endüstrileşme ve şehirleşme, yeryüzündeki pek çok tatlı su habitatının bozulmasına neden olmakta ve bu durum sucul organizmalar üzerinde özellikle balıklar üzerinde dikkate değer bir etki oluşturmaktadır. Yapılan çalışmayla kirliliğin alabalıkların sperm kalitesi üzerinde nasıl bir etkisinin olduğu ortaya koyulmuştur. Bu çalışma ileriki yıllarda ortaya çıkabilecek sorunlarla ilgili durum analizi ile mevcut durumun ortaya koyulmasını sağlayacaktır.

Balık üretiminde kaliteli gamet üretimi, üretim başarısında son derece önemlidir. Elde edilen bulgular sonucu ilgili kurumlara yapılacak uyarılar Glyphosate'ın etkenlerin engellenmesi, ekolojik ve ekonomik olarak önem taşıyan doğal türlerimizin hayatta kalma oranının artmasını sağlayacaktır. Rekreatif balıkçılığa katkıda bulunarak, sportif balıkçılığa da olumlu etkisi olacaktır.

Günümüzde herbisitlerin kullanımı artmış ve farklı yollarla su kaynaklarına karışmaktadır. Özellikle, disiplinlerarası araştırmalar herbisitlerin ekosistemlerdeki hedef dışı organizmalara olan etkilerin, ortamdaki kalıntı miktarlarının ve sucul organizmaların tolerans eşiklerinin belirlenmesinde büyük önem taşımaktadır. Glifosat ve diğer herbisitlerin kullanıldığı çeşitli ortamlarda uygun yüksek kaliteli kalıntı ve sağlık verilerini toplamak için küresel bir çaba gerekecektir; ancak bu tür veriler elde edildiğinde, glifosat ve diğer herbisitlerin kullanımıyla ilişkili sorunların daha da artmasına karşı koyacak stratejiler tasarlayabilir, geliştirebilir ve uygulayabiliriz.

7. KAYNAKLAR

- Abarikwu, S.O., Akiri, O.F., Durojaiye, M.A. ve Adenike, A. Combined effects of repeated administration of Bretmont Wipeout (glyphosate) and Ultrazin (atrazine) on testosterone, oxidative stress and sperm quality of Wistar rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*. 25 (2015) 70–80.
- Agarwal, A., Cho, C.L., Esteves, S.C. ve Majzoub, A. Development of treatment strategies in men with vulnerable sperm. *Translational Andrology Urology*. 6 (2017) (Suppl. 4), S476–S478.
- Altinok, I., Capkin, E. ve Boran, H. Mutagenic, genotoxic and enzyme inhibitory effects of carbosulfan in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 102 (2016) 61-67
- Andersen R.N., The north central weed control conference: origin and evolution. North Central Weed Science Society Champaign. 206 p (1991).
- Annett, R., Habibi, H.R. ve Hontela, A., Impact of glyphosate and glyphosate-based herbicides on the freshwater environment. *Journal of Applied Toxicology* 34 (2014) 458–479.
- Anifandis, G., Amiridis, G., Dafopoulos, K., Daponte, A., Dovolou, E., Gavriil, E., Gorgogietas, V., Kachpani, E., Mamuris, Z., Messini, C.I. The *in vitro* impact of the herbicide roundup on human sperm motility and sperm mitochondria. *Toxics* 2017, 6, 2.
- Anifandis, G., Bounartzi, T., Messini, C.I., Dafopoulos, K., Markandona, R., Sotiriou, S., Tzavella, A. ve Messinis, I.E. Sperm DNA fragmentation measured by Halosperm does not impact on embryo quality and ongoing pregnancy rates in IVF/ICSI treatments. *Andrologia*. 47 (2015) 295–302.
- Aparicio, V.C., De Geronimo, E., Marino, D., Primost, J., Carriquiriborde, P. ve Costa, J.L. Environmental fate of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in surface waters and soil of agricultural basins. *Chemosphere* 93 (2013) 1866–1873.
- Bailey, G.S. Role of aflatoxin-DNA adducts in the cancer process. *The toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. Academic Press, p: (1994) 137–147.
- Bailey, G.S., Williams, D.E., Hendricks, J.D. Fish models for environmental carcinogenesis: the rainbow trout. *Environmental Health Perspectives* 104 (1996) 5–21.
- Battaglin, W.A., Kolpin, D.W., Scribner, E.A., Kuivila, K.M. ve Sandstrom, M.W., Glyphosate, other herbicides, and transformation products in Midwestern

- streams. *Journal of the American Water Resources Association (JAWRA)* 41 (2002) 323–332.
- Battaglin, W.A., Meyer, M.T., Kuivila, K.M., Dietze, J.E.,. Glyphosate and its degradation product AMPA occur frequently and widely in U.S. soils, surface water, groundwater, and precipitation. *Journal of the American Water Resources Association (JAWRA)* 50 (2014) 275–290.
- Behnke, R.J. Trout and salmon of North America. First edition. The Free Press, Simon and Schuster Inc., New York, NY. pp (2002) 67-135.
- Benkhalifa, M., Ferreira, Y.J., Chahine, H., Louanjli, N., Miron, P., Merviel, P. ve Copin, H. Mitochondria: Participation to infertility as source of energy and cause of senescence. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology (The International Journal of Biochemistry & Cell Biology)*. 55 (2014) 60–64.
- Breinolt, V., Hendricks, J., Pereira, C., Arbogast, D., Bailey, G.S. Dietary chlorophyllin is a potent inhibitor of aflatoxin B1 hepatocarcinogenesis in rainbow trout. *Cancer Research* 55 (1995) 57–62.
- Boocock, M.R., Coggins, J.R. Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *FEBS Letters* 154 (1983) 127-133.
- Bucar, S., Gonçalves, A., Rocha, E., Barros, A., Sousa, M. ve Sá, R. DNA fragmentation in human sperm after magnetic-activated cell sorting. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 32 (2015) 147–154.
- Cai, W., Ji, Y., Song, X., Guo, H., Han, L., Zhang, F., Liu, X., Zhang, H., Zhu, B. ve Xu, M. Effects of glyphosate exposure on sperm concentration in rodents: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 55 (2017) 148–155.
- Cassault-Meyer, E., Gress, S., Séralini, G.É. ve Galeraud-Denis, I. An acute exposure to glyphosate-based herbicide alters aromatase levels in testis and sperm nuclear quality. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 38 (2014) 131–140.
- Cavalcante, D., Martinez, C. and Sofia, S. Genotoxic effects of Roundup® on the fish *Prochilodus lineatus*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 655 (1) (2008) 41–46.
- Cho, C.L., Agarwal, A., Majzoub, A. ve Esteves, S.C. Future direction in sperm DNA fragmentation testing. *Translational Andrology Urology*. 6 (2017) (Suppl. 4), S525–S526.
- Cremlyn R.J., *Agrochemicals: preparation and mode of action*. Wiley, Great Britain (1991).
- Dai, P., Hu, P., Tang, J., Li, Y. ve Li, C. Effect of glyphosate on reproductive organs in male rat. *Acta Histochemica*. 118 (2016) 519–526.

- Davis, A.M., Thorburn, P.J., Lewis, S.E., Bainbridge, Z.T., Attard, S.J., Milla, R. ve Brodie, J.E. Environmental impacts of irrigated sugarcane production: herbicide runoff dynamics from farms and associated drainage systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 180 (2013) 123–135.
- Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J. ve Séralini, G.E. Toxicity of formulants and heavy metals in glyphosate-based herbicides and other pesticides. *Toxicology Reports*. 5 (2017) 156–163.
- ECHA Glyphosate Not Classified As a Carcinogen by ECHA (Accessed 14 August 2018). <https://echa.europa.eu/-/glyphosate-not-classified-as-a-carcinogen-by-echa>.
- EFSA. The 2011 European Union report on pesticide residues in food. *EFSA J.* 2014, 12, 36–94.
- European Environment Agency, 2018. WISE-SoE Groundwater. (Accessed 14 August 2018). <https://www.eea.europa.eu/data-and-maps/data/wise-groundwater>.
- Ferreira, D., Costa da Motta, A., Kreutz, L. C., Toni, C., Loro, V. and Barcellos, L. Assessment of oxidative stress in *Rhamdia quelen* exposed to agrichemicals. *Chemosphere*. 79 (2010) 914–921.
- Folmar, L.C., Sanders, H.O. ve Julin, A.M. Toxicity of the herbicide glyphosate and several of its formulations to fish and aquatic invertebrates. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 8 (1979) 269–278.
- Franz J.E., Mao M.K., Sikorski J.A., Glyphosphate's molecular mode of action. In: *Glyphosate: a unique global herbicide*. American Chemical Society, Washington, D.C., pp (1997) 521–642.
- Gazo, I., et al. Influence of environmentally relevant concentrations of Vinclozolin on quality, DNA integrity, and antioxidant responses of sterlet *Acipenser ruthenus* spermatozoa. *Chemico-Biological Interactions*. 203 (2013) 377–385.
- Geiger, F., Bengtsson, J., Berendse, F., Weisser, W.W., Emmerson, M., Morales, M.B., Ceryngier, P., Liira, J., Tschardt, T., Winqvist, C., Eggers, S., Bommarco, R., Pärt, T., Bretagnolle, V., Plantegenest, M., Clement, L.W., Dennis, C., Palmer, C., Oñate, J.J., Guerrero, I., Hawro, V., Aavik, T., Thies, C., Flohre, A., Hänke, S., Fischer, C., Goedhart, P.W. ve Inchausti, P. Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology* 11 (2010) 97–105.
- Gluszczak, L., Miron, D.D., Moraes, B.S., Simoes, R.R., Schetinger, M.R.C., Morsch, V.M., Loro, V.L. Acute effects of glyphosate herbicide on metabolic and enzymatic parameters of silver catfish (*Rhamdia quelen*). *Comparative Biochemistry and Physiology C* 146 (2007) 519–524.

- Green M.B., Hartley G.S., West T.F., Chemicals for crop improvement and pest management, 3rd edn. Pergamon Press, Oxford, p (1987) 207.
- Gomes, M.P., Smedbol, E., Chalifour, A., Hénault-Ethier, L., Labrecque, M., Lepage, L., Lucotte, M. ve Juneau, P. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview Journal Experimental Botany. 65 (2014) 4691–4703.
- Gonçalves, B.B., Nascimento, N.F., Santos, M.P., Bertolini, R.M., Yasui, G.S. ve Giaquinto, P.C. Low concentrations of glyphosate-based herbicide cause complete loss of sperm motility of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris*. Journal of Fish Biology. 92 (2018) 1218–1224.
- Grung, M., Lin, Y., Zhang, H., Steen, A.O., Huang, J., Zhang, G. ve Larssen, T. Pesticide levels and, 2019 Pesticide levels and environmental risk in aquatic environments in China — a review. Environment International 81 (2015) 87–97.
- Gruys K.J., Sikorski J.A., Inhibitors of tryptophan, phenylalanine, and tyrosine biosynthesis as herbicides. In: Singh B (ed) Plant amino acids. Marcel Dekker, Inc., New York, pp (1999) 357–384.
- Haslam E., Shikimic acid: metabolism and metabolites. John Wiley and Sons Inc, Chichester (1993).
- Hay J.R., Gain to the grower from weed science. Weed Sci 22(5) (1974) 439–442.
- Hendricks, J.D., Meyers, T.R., Shelton, D.W., Casteel, J.L., Bailey, G.S. Hepatocarcinogenicity of benzo[a]pyrene to rainbow trout by dietary exposure and intraperitoneal injection. Jorunal of the National Cancer Institute 74 (1985) 839– 851.
- Hendricks, J.D., Shelton, D.W., Loveland, P.M., Pereira, C.B., Bailey, G.S. Carcinogenicity of dietary dimethylnitrosomorpholine, N-methyl-N'-nitroNnitrosoguanidine, and dibromoethane in rainbow trout. Toxicology Pathology 23 (1995) 447–457.
- Herrmann K.M., The shikimate pathway: early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. Plant Cell 7 (1995) 907–919.
- Hulak M., Gazo I., Shaliutina A., Linhartova P., In vitro effects of bisphenol A on the quality parameters, oxidative stress, DNA integrity and adenosine triphosphate content in sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa. Comp Biochem Physiol Part C. 158 (2013) 64–71.
- IARC, 2015. International Agency for Research on Cancer. Monographs Volume. 112: Evaluation of Five Organophosphate Insecticides and Herbicides. <https://www.iarc.fr/en/media-centre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>.

- IRENA, 2018. Indicator Fact Sheet IRENA 30.2 - Pesticides in Water. (Accessed 14 August 2018). http://ec.europa.eu/eurostat/documents/2393397/2518916/IRENA+IFS+30.2+Pesticides+in+water_FINAL.pdf/a9a35e3b-076f-4a72-8e7b-264da2d74886.
- Jepson, P.C. Ecological characteristics and the susceptibility of non-target invertebrates to long-term pesticideside-effects. In: Greaves, M.P., Smith, B.D., Greig- Smith, P.W. (Eds.), *Field Methods for the Study of Environmental Effects of Pesticides*. BCPC Monograph 40, Farnham, pp (1988) 191–198.
- Kelly, J.D., Orner, G.A., Hendricks, J.D., Williams, D.E. Dietary hydrogen peroxide enhances hepatocarcinogenesis in trout: correlation with 8hydroxy-2'-deoxyguanosine levels in liver DNA. *Carcinogenesis* 13 (1992) 1639–1642.
- Klingman G.C., Ashton F.M., Noordhoff L.J., *Weed science: principles and practices*. John Wiley & Sons, New York, p (1982) 449.
- Kocabaş M., Kutluyer F., Benzer F., Erişir M., Malathion-induced spermatozoal oxidative damage and alterations in sperm quality of endangered trout *Salmo coruhensis*. *Environmental Science and Pollution Research (ESPR)*. 25 (2018) 2588–2593.
- Kocabaş M., Kutluyer F., Çakır Sahilli Y., Aksu Ö., Cellular responses of spiralin *Alburnoides bipunctatus* spermatozoa exposed to Bisphenol A: Biochemical response and sperm quality alterations evaluation, *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. (2020)
- Kutluyer F., Erişir M., Benzer F., Öğretmen F., İnanan B.E., The *in vitro* effect of Lambda-cyhalothrin on quality and antioxidant responses of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spermatozoa. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 40 (2015) 855–860.
- Kutluyer F., Benzer F., Erişir M., Öğretmen F., İnanan B.E., The *in vitro* effect of Cypermethrin on quality and oxidative stress indices of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* spermatozoa. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 128 (2016) 63–67.
- Kutluyer F., Kocabaş M., Erişir M., Benzer F., Effect of the organophosphate insecticide chlorpyrifos exposure on oxidative stress and quality of *Salmo coruhensis* spermatozoa, *Tox Rev*. (2017)
- Kutluyer F., Kocabaş M., Erişir M., Benzer F., Cypermethrin-induced *in vitro* alterations on oxidative stress and quality of *Salmo coruhensis* spermatozoa. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*. 52-4[Suppl] (2018) 71-76.
- Kutluyer F., Çakır Sahilli Y., Kocabaş M., Aksu Ö., Sperm quality and oxidative stress in chub *Squalius orientalis* and Padanian barbel *Barbus plebejus* (Teleostei: Cyprinidae) after *in vitro* exposure to low doses of bisphenol A. *Drug and Chemical Toxicology*. 12 (2020) 1-6.

- Kwiatkowska, M., Paweł, J. ve Bukowska, B. Glyphosate and its formulations—Toxicity, occupational and environmental exposure. *Medycyna pracy*. 64 (2013) 717–729.
- Li Z.H., et al. Effect of human pharmaceutical carbamazepine on the quality parameters and oxidative stress in common carp (*Cyprinus carpio* L.) spermatozoa. *Chemosphere*. 80 (2010b) 530–534.
- Linhartova P., et al. The in vitro effect of duroquinone on functional competence, genomic integrity, and oxidative stress indices of sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa. *Toxicol in Vitro*. 27 (2013) 1612–1619.
- Lopes, F.M., Varela Junior, A.S., Corcini, C.D., da Silva, A.C., Guazzelli, V.G., Tavares, G. ve da Rosa, C.E. Effect of glyphosate on the sperm quality of zebrafish *Danio rerio*. *Aquatic Toxicology*. 155 (2014) 322–326.
- Lowery R.F., Granular formulations and application. In: McWhorter C.G., Gebhardt M.R., (eds) *Methods of applying herbicides*, WSSA monograph 4. Weed Sci. Soc. Amer, Champaign, pp (1987) 165–176. 358.
- Malik J., Barry G., Kishore G., The herbicide glyphosate. *Biofactors* 2 (1989) 17–25.
- Marzabadi M.R., Gruys K.J., Pansegrau P.D., Walker M.C., Yuen H.K., Sikorski J.A., An EPSP synthase inhibitor joining shikimate 3-phosphate with glyphosate: synthesis and ligand binding studies. *Biochemistry* 35 (1996) 4199–4210.
- McDowell L.M., Schmidt A., Cohen E.R., Studelska D.R., Schaefer J., Structural constraints on the ternary complex of 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase from rotational-echo double resonance NMR. *Journal of Molecular Biology* 256 (1996) 160–171.
- Mesnager, R., Defarge, N., Spiroux de Vendômois, J. ve Séralini, G.E. Potential toxic effects of glyphosate and its commercial formulations below regulatory limits. *Food and Chemical Toxicology* 84 (2015) 133–153.
- Miko, Z., Ujszegi, J., Gal, Z., Hettyey, A. Effects of a glyphosate-based herbicide and predation threat on the behavior of agile frog tadpoles. *Ecotoxicology Environmental Safety* 140 (2017) 96–102.
- Milić, M., Žunec, S., Micek, V., Kašuba, V., Mikolić, A., Lovaković B.T., Želježić, D. Oxidative stress, cholinesterase activity, and DNA damage in the liver, whole blood, and plasma of Wistar rats following a 28-day exposure to glyphosate. *Archives of Industrial Hygiene and Toksikology* 69 (2018) 154-168.
- Mills, P.J., Kania-Korwel, I., Fagan, J., McEvoy, L.K., Laughlin, G.A. ve Barrett-Connor, E. Excretion of the Herbicide Glyphosate in Older Adults Between 1993 and 2016. *JAMA*. 318 (2017) 1610–1611.

- Niemann, L., Sieke, C., Pfeil, R. ve Solecki, R. A Critical review of glyphosate findings in human urine samples and comparison with the exposure of operators and consumers. *Journal Verbraucherschutz Lebensmittelsicherheit*. 10 (2015) 3–10.
- Nunez, O., Hendricks, J.D., Fong, A.T. Interrelationships among aflatoxin B1 (AFB1) metabolism, DNA-binding, cytotoxicity, and hepatocarcinogenesis in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms* 9 (1990) 15–23.
- Oerke E.C., Crop losses to pests. *Journal of Agricultural Sciences* 144 (2006) 31–43.
- Paetow, J., McLaughlin, D., Cue, R.I., Pauli, B.D., Marcogliese, D. Effects of herbicides and the chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* on the health of postmetamorphic northern leopard frogs (*Lithobates pipiens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 80 (2012) 372–380.
- Paganelli, A., Gnazzo, V., Acosta, H., López, S.L. ve Carrasco, A.E. Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chemical Research in Toxicology*. 23 (2010) 1586–1595.
- Perego, M.C., Caloni, F., Cortinovis, C., Schutz, L.F., Albonico, M., Tsuzukibashi, D. ve Spicer, L.J. Influence of a Roundup formulation on glyphosate effects on steroidogenesis and proliferation of bovine granulosa cells in vitro. *Chemosphere*. 188 (2017) 274–279.
- Perego, M.C., Schutz, L.F., Caloni, F., Cortinovis, C., Albonico, M. ve Spicer, L.J. Evidence for direct effects of glyphosate on ovarian function: Glyphosate influences steroidogenesis and proliferation of bovine granulosa but not theca cells in vitro. *Journal of Applied Toxicology*. 37 (2017) 692–698.
- Peruzzo, P.J., Porta, A.A. ve Ronco, A.E. Levels of glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in North Pampasic region of Argentina. *Environmental Pollution* 156 (2008) 61–66.
- Piotrowicz-Cieślak, A.I., Sikorski, Ł., Łozowicka, B., Kaczyński, P., Michalczyk, D.J., Bęś, A. ve Adomas, B. Uptake and reaction to roundup ultra 360 SL in soybean seedlings. *Biologia* 73 (2018) 1–10.
- Powles S.B., Gene amplification delivers glyphosate-resistant weed evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* U S A 107 (2010) 955–956.
- Rao V.S., Principles of weed science, 2nd edn. CRC Press, New Hampshire (2000).
- Rendon-von Osten, J. ve Dzul-Caamal, R. Glyphosate residues in groundwater, drinking water and urine of subsistence farmers from intensive agriculture localities: a survey in Hopelchén, Campeche, Mexico. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14 (2017) 595.

- Ristow, S.S., Grabowski, L.D., Wheeler, P.A., Prieur, D.J., Thorgaard, G.H. Arlee line of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) exhibits a low level of nonspecific cytotoxic cell activity. *Developmental and Comparative Immunology* 19 (1995) 497–505.
- Robison, B.D., Wheeler, P.A., Thorgaard, G.H. Variation in development rate among clonal lines of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 173 (1999) 131–141.
- Sá, R., Cunha, M., Rocha, E., Barros, A. ve Sousa, M. Sperm DNA fragmentation is related to sperm morphological staining patterns. *Reproductive Biomedicine Online*. 31 (2015) 506–515.
- Sakamoto, T., Danzmann, R.G., Gharbi, K., et al. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics* 155 (2000) 1331–1345.
- Sánchez, J.A., Varela, A.S., Corcini, C.D., da Silva, J.C., Primel, E.G., Caldas, S., Klein, R.D. ve Martins, C.M. Effects of Roundup formulations on biochemical biomarkers and male sperm quality of the livebearing *Jenynsia multidentata*. *Chemosphere*. 177 (2017) 200–210.
- Scialli, A.R., Bailey, G., Beyer, B.K., Bøgh, I.B., Breslin, W.J., Chen, C.L., De Lise, A.M., Hui, J.Y., Moffat, G.J., Stewart, J. Potential seminal transport of pharmaceuticals to the conceptus. *Reproductive Toxicology*. 58 (2015) 213–221.
- Schönbrunn E., Eschenburg S., Shuttleworth W.A., Schloss J.V., Amrhein N., Evans J.N.S., Kabsch W., Interaction of the herbicide glyphosate with its target enzyme 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in atomic detail. *Proceedings of the National Academy of Sciences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* U S A 98 (2001) 1376–1380.
- Scribner, E.A., Battaglin, W.A., Dietze, J.E., Thurman, E.M., Reconnaissance Data for Glyphosate, Other Selected Herbicides, Their Degradation Products, and Antibiotics in 51 Streams in Nine Midwestern States. 2002. US Department of the Interior, US Geological Survey (2003)
- Shaliutina O., et al. The *in vitro* effect of nonylphenol, propranolol, and diethylstilbestrol on quality parameters and oxidative stress in sterlet (*Acipenser ruthenus*) spermatozoa. *Toxicol in Vitro*. 43 (2017) 9–15.
- Solomon, K.R., Anadon, A. ve Carasquilla, G. Coca and poppy eradication in Colombia: Environmental and human health assessment of aerially applied glyphosate. In *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*; Springer: New York, NY, USA, 2007; Volume 190, pp. 43–125.
- Solomon, K.R., Anadon, A., Brain, R.A., Cerdeira, A.L., Crossan, A.N., Marshall, J., Satin, L.H. ve Smith, J.L. Comparative hazard assessment of the substances used for production and control of coca and poppy in Colombia. In *Rational*

Environmental Management of Agrochemicals: Risk Assessment, Monitoring, and Remedial Action ACS Symposium Series; Kennedy, I.R., Solomon, K.R., Gee, S., Crossan, A.N., Wang, S., Sanchez-Bayo, F., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, USA, 2007; Chapter 6, Volume 966, pp. 43–125, ISBN 978-0-8412-7420-4

Stallings W.C., Abdel-Meguid S.S., Lim L.W., Shieh H., Dayringer H.E., Leimgruber N.K., Stegeman R.A., Anderson K.S., Sikorski J.A., Padgett S.R., Kishore G.M., Structure and topological symmetry of the glyphosate target 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: a distinctive protein fold. *Proceedings of the National Academy of Sciences (Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)* U S A 88 (1991) 5046–5050.

Steinrucken H., Amrhein N., The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 94 (1980) 1207–1212.

Struger, J., Thompson, D., Staznik, B., Martin, P., McDaniel, T. ve Marvin, C. Occurrence of glyphosate in surface waters of southern Ontario. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 80 (2008) 378–384.

The German Federal Institute for Occupational Safety and Health. GLH Report for Glyphosate. Proposal for Harmonised Classification and Labelling. Based on Regulation (EC) No 1272/2008. (CLP Regulation), Annex VI, Part 2, Version 2.0; The German Federal Institute for Occupational Safety and Health: Dortmund, Germany, 2016.

Thorgaard, G.H. Application of genetic technologies to rainbow trout. *Aquaculture* 100 (1992) 85–97.

Tsui, M.T.K. ve Chu, L.M., Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*, 52 (2003) 1189–1197.

U.S.EPA (United States Environmental Protection Agency), 1986. Quality Criteria for Water EPA 440/5-86-001. 1 May 1986. Office of Water Regulations and Standards, Washington D.C., USA.

Vereecken, H., Mobility and leaching of glyphosate: a review. *Pest Management Science* 61 (2005) 1139–1151.

Walter, R.B., Timmins, G.S., Tilton, S.C., Orner, G.A., Benninghoff, A.D., Bailey, G.S., Williams, D.E. Carcinogenesis models: focus on Xiphophorous and rainbow trout. In: Walsh, P.J. (Ed.), *Oceans and Human Health: Risks and Remedies from the Seas*. Elsevier, p (2008) 586–611.

Went F.W., Thimann K.V., *Phytohormones*. The Macmillan Co., New York, p (1937) 294.

- Williams G, M., Kroes, R. ve Munro, I.C. Safety evaluation and risk assessment of the herbicide Roundup and its active ingredient, glyphosate, for humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 31 (2000) 117–165.
- Williams, A.L., Watson, R.E. ve DeSesso, J.M. Developmental and reproductive outcomes in humans and animals after glyphosate exposure: A critical analysis. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*. 15 (2012) 39–96.
- Worthing, C.R., Walker, S.B., *The Pesticide Manual: A World Compendium*, eighth ed. British Crop Protection Council, Thornton Heath (1987).
- Yaduraju N.T., Herbicide resistant crops in weed management. In: *The extended summaries, golden jubilee national symposium on conservation agriculture and environment*, Banaras Hindu University, Banaras, 26–28 October, pp (2006) 297–298.
- Young, W.P., Wheeler, P.A., Fields, R.D., Thorgaard, G.H. DNA fingerprinting confirms isogenicity of androgenetically-derived rainbow trout lines. *Journal of Heredity*. 87 (1996) 77–81
- Young, W.P., Wheeler, P.A., Coryell, V.H., Keim, P., Thorgaard, G.H. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. *Genetics* 148 (1998) 839–850.
- Yousef, M.I., Salem, M.H., Ibrahim, H.Z., Helmi, S., Seehy, M.A. ve Bertheussen, K. Toxic effects of carbofuran and glyphosate on semen characteristics in rabbits. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. 30 (1995) 513–534.
- Zhou B.S., et al. Exposure of spermatozoa to duroquinone may impair reproduction of the common Carp (*Cyprinus carpio*) through oxidative stress. *Aquatic Toxicology*. 77 (2006) 136–142.

ÖZGEÇMİŞ

Çorlu Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi'ni kazandı. 2012 yılında Ayvalık Anadolu Lisesi'nden mezun oldu. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Yaban Hayatı Ekolojisi ve Bölümü'nde öğrenim görmeye hak kazandı. 4 yıllık lisans öğrenimini tamamladıktan sonra, "Yaban Hayatı Uzmanı" unvanıyla mezun oldu. Eylül 2018 tarihinde Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yaban Hayatı Ekolojisi ve Yönetimi Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. 2019 yılında Doğa Koruma ve Milli Parklar 6. Bölge Burdur Şubesinde 9 ay sözleşmeli "Danışman Mühendis" olarak görev yaptı.

