

**GLİFOSATIN (HERBİSİT) SIÇANLAR ÜZERİNE TOKSİK  
ETKİLERİNİN HEMATOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE  
HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ**

**HAEMATOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL  
INVESTIGATION OF TOXIC EFFECTS OF GLYPHOSATE  
(HERBICIDE) ON RATS**

**SİNAN ÇAĞLAR**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır.

2007

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOLOJİ BÖLÜMÜ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....  
Prof. Dr. M.Turan AKAY

Üye (Danışman) :.....  
Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA

Üye :.....  
Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

Üye :.....  
Doç. Dr. Güldeniz SELMANOĞLU

Üye :.....  
Doç. Dr. E. Arzu KOÇKAYA

ONAY

Bu tez ...../...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Erdem YAZGAN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**SEVGİLİ ANNEME VE BABAMA...**

# GLİFOSATIN (HERBİSİT) SIÇANLAR ÜZERİNE TOKSİK ETKİLERİNİN HEMATOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE HİSTOLOJİK OLARAK İNCELENMESİ

**SİNAN ÇAĞLAR**

## Öz

Bu çalışmada kullanılan Roundup, glifosat bazlı bir herbisit olup %78,5 oranında glifosat ve surfektan madde içerir. Glifosat, tarım alanlarında Türkiye'nin de içinde bulunduğu birçok ülkede yaygın kullanıma sahip seçici olmayan, sistemik organofosfatlı bir herbisittir. Bu çalışmanın amacı Roundup'ın sıçan karaciğerindeki toksik etkilerinin gösterilmesidir. Sıçanlara bir ve üç aylık iki deney düzeneğinde 56 mg/kg ve 560 mg/kg oral yolla Roundup uygulaması günlük olarak yapılmış; karaciğer hasarında biyokimyasal belirteç olarak kullanılan alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) ve laktat dehidrogenaz (LDH) aktiviteleri, serum lipoproteinleri (LDL, HDL), total kolesterol ve kreatinin değerleri ölçülmüş; biyokimyasal ve hematolojik incelemelerin yanında histopatolojik incelemeler de yapılmıştır.

ALT, AST, LDH, LDL ve HDL değerlerinde ve kan parametrelerinde de uygulama gruplarında kontrol gruplarına göre değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte üç aylık uygulamalarda AST/ALT oranları anlamlıdır. Kreatinin değerlerinde kontrol gruplarına göre bir değişim saptanmamıştır. Histolojik incelemelerde uygulama gruplarında patolojik bulgular tespit edilmiştir. Tüm uygulama gruplarında konjesyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu, ve bazı hücrelerde sitoplazmik erimeler saptanmıştır. Ayrıca dokuda apoptotik hepatositlerde artış görülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Sıçan, Roundup, Glyphosate, serum ALT, AST, LDH, HDL, LDL, t-kolesterol, kreatinin, karaciğer histopatolojisi.

Danışman: Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Zooloji Anabilimdalı

# HAEMATOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND HISTOLOGICAL INVESTIGATION OF TOXIC EFFECTS OF GLYPHOSATE (HERBICIDE) ON RATS

SİNAN ÇAĞLAR

## Abstract

Roundup is a glyphosate-based herbicide that includes 78,5% glyphosate and surfactant at lower toxic concentrations. Glyphosate is an organophosphorated non selective agrochemical widely used in many countries including Turkey and acts after the sprout in a systemic way. The objective of this study was to analyze toxic effects of the herbicide Roundup in rat liver. Animal were treated with 56 mg/kg and 560 mg/kg of Roundup (78% glyphosate) each day, during 1 month and 3 months. Hepatic toxicity was monitored by quantitative analysis of the serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and lactate dehydrogenase (LDH) activities, and were measured amount of serum lipoprotein (LDL, HDL), total cholesterol and creatinine which were used as the biochemical markers of liver injury. Besides the biochemical and hematological analysis we also investigated liver tissues histopathologically.

Although there have been differences in ALT, AST, LDH, HDL, LDL, T.Cholesterol, creatinin values and also hematological parameteres of application groups with respect to those in control groups, these are not significant statistically. However compared to control group there is an increase in AST/ALT proportion of 3 months application groups.

Within all of the application groups, we have found pathological changes in histological investigation. Degenerative signs such as mononuclear cell infiltration, congestion of the liver tissues and cytoplasmic degeneration were observed in all treatment groups and also apoptotic hepatocytes have also been detected.

**Key words:** Rat, Roundup, Glyphosate, serum ALT, AST, LDH, HDL, LDL, t-cholesterol, creatinin, liver histopathology.

Advisor: Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA, Hacettepe University, Department of Biology, Zoology Section

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve tamamlanması sırasında her konuda desteğini ve yardımını gördüğüm tez danışmanım, hocam sayın Prof. Dr. Dürdane KOLANKAYA'ya teşekkürü borç bilirim.

Tez çalışmamın her aşamasında yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Aslı (Doğan) Korkmaz'a ve Uzman A. Elif Savcı'ya; deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarından dolayı Emre Göktekin'e, Arş. Gör. Aysun Kılıç'a, özel çalışma öğrencileri Gülfidan Zülfikaroğlu'na ve Özge Çaldıran'a teşekkür ederim.

Çalışmalarımı sürdürdüğüm Zooloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, çalışma olanağının sağlanmasına katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamın her aşamasında maddi ve manevi destekleri ile yanımda olan aileme sonsuz teşekkürlerimle.

Bu çalışma **Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından 05D11601001** nolu proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	vii
RESİMLER DİZİNİ .....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	x
1-GİRİŞ .....	1
2-ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	3
2. 1. Glifosat (Glyphosate) ve Roundup® .....	3
2. 2. Glifosatın Metabolizması ve Kalıcılığı .....	3
2. 3. Glifosatın Herbisidal Etki Mekanizması .....	5
2. 4. Glifosatın Toksik Etkileri .....	9
2. 5. Alanin Amino Transferaz (ALT), Aspartat Amino Transferaz (AST) ..	17
2. 6. Laktat Dehidrogenaz (LDH) .....	17
2. 7. Kreatinin .....	17
2. 8. Total Kolesterol ve Serum Lipoproteinleri (LDL, HDL) .....	17
2. 9. Karaciğer Histolojisi .....	18
3-GEREÇ ve YÖNTEM .....	19
3. 1. Gereç .....	19
3. 1. 1. Sıçanlar .....	19
3. 1. 2. Kimyasallar .....	19
3. 2. Yöntem .....	19
3. 2. 1. Ortam Koşulları .....	19
3. 2. 2. Uygulama Çalışmaları .....	20
3. 2. 3. Glifosat-Roundup® Toksikite Çalışmaları .....	20
3. 2. 4. İstatistiksel Değerlendirmeler .....	21

4-BULGULAR .....	22
4. 1. Klinik Belirtiler .....	22
4. 2. Vücut Ağırlığı, Yem-Su Alımındaki Değişiklikler .....	22
4. 3. Doku Ağırlığı / Vücut Ağırlığı İlişkisi .....	29
4. 4. Serum Enzim Değerleri .....	32
4. 5. Hematolojik İncelemeler .....	37
4. 6. Histolojik İncelemeler .....	40
5-TARTIŞMA .....	52
KAYNAKLAR .....	57
ÖZGEÇMİŞ .....	62

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Glifosat'ın açık formülü . . . . .	3
Şekil 2. 2. Amerika Birleşik Devletlerinde 1990–2004 yıllarında glifosat kullanımı	4
Şekil 2. 3. Türkiye'deki 2002 yılına ait toplam herbisit tüketimi. . . . .	5
Şekil 2. 4. Glifosatın parçalama yolları ve ürünleri. . . . .	6
Şekil 2. 5. Karaciğerin şematik yapısı. . . . .	18
Şekil 4. 1. Bir ay kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri. . . . .	23
Şekil 4. 2. Üç ay kontrol, %1 ve %10 Roundup erkek ve dişi sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri. . . . .	24
Şekil 4. 3. Kontrol, %1, %10 Roundup gruplarının deney başlangıcı ile deney sonu arasındaki erkek ve dişi sıçanların vücut ağırlık değişimleri. . . . .	26
Şekil 4. 4. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların ortalama yem tüketimi miktarları (gr). . . . .	27
Şekil 4. 5. Kontrol, %1, %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların 1 ve 3 aylık ortalama su tüketimi miktarları (ml). . . . .	28
Şekil 4. 6. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki ALT ve AST (IU/L) değerleri . . . . .	34
Şekil 4. 7. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki LDL ve HDL (mg/dl) değerleri . . . . .	34
Şekil 4. 8. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki T. KOL (mg/dl) değerleri. . . . .	35
Şekil 4. 9. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki LDH (IU/L) değerleri. . . . .	35
Şekil 4. 10. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki kreatinin (mg/dl) değerleri. . . . .	36
Şekil 4. 11. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların AST/ALT değerleri. . . . .	36



## RESİMLER DİZİNİ

Resim 4. 1. Kontrol grubuna ait sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusu (100X). . . . .	40
Resim 4. 2. Kontrol grubuna ait sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusu A-200x ; B- 400x . . . . .	41
Resim 4. 3. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) B- 1 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x) . . . . .	42
Resim 4. 4. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) B- 1 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x). . . . .	43
Resim 4. 5. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x) . . . . .	44
Resim 4. 6. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) . . . . .	45
Resim 4. 7. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (100x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (100x) . . .	46
Resim 4. 8. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (100x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (200x). . . .	47
Resim 4. 9. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (200x) . . .	48

- Resim 4. 10. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (100x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (100x). . . . 49
- Resim 4. 11. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda sitoplazmik erime (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda sitoplazmik erime (200x). . . . . 50
- Resim 4. 12. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda apoptotik hücre (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda apoptotik hücre (400x) . . . . . 51

## KISALTMALAR DİZİNİ

AChE	Asetil kolinesteraz
AcP	Asit fosfotaz
AIP	Alkalin fosfataz
AMPA	Aminometilfosfonik asit
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
LC <sub>50</sub>	Letal konsantrasyonun yüzde ellisi
G6PD	Glukoz-6-fospat dehidrogenaz
NGR %	Nötrofil yüzdesi
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
ICD	İzositrat dehidrogenaz
LD <sub>50</sub>	Letal dozun yüzde ellisi
LDH	Laktat dehidrogenaz
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
Lym %	Lenfosit yüzdesi
MCH	Hemoglobin hücre ortalaması
MCHC	Hemoglobin hücre konsantrasyonu ortalaması
MCV	Hücre hacim ortalaması
Mon %	Monosit yüzdesi
MPV	Platelet hacim ortalaması
POEA	Polioksietilen amin
RBC	Kırmızı kan hücresi
Pct	Platekrit
PDW	Platelet dağılım genişliği
WBC	Beyaz kan hücresi

## 1- GİRİŞ

Organofosfat grubu geniş spektrumlu, seçici olmayan, herbisit özellikli glifosat, glisin ve fosfometil içeren zayıf bir organik asittir. 1970'lerin ilk yıllarında Monsanto tarafından üretilen ilk glifosatlı herbisit olan Roundup®; o günden sonra birçok formül ve içeriğine çeşitli tuzlar eklenerek dünyada tarım bölgelerinde özellikle yabancı ot kontrolünde çok yaygın bir şekilde kullanılmıştır (www.pesticide.org, 2004). Paraquat gibi diğer seçici olmayan herbisitlerle birlikte Glifosat-Roundup® milyonlarca kişiyi ağır bir iş olan elle yabancı ot temizleme yükünden kurtarmıştır. Herbisit kullanımı zararlı otların ticari bitkilerin üretimi üzerindeki engelleyici etkisi oldukça azaltmıştır. Sistemik etkili olması nedeni ile glifosat içerikli herbisitler bir yıllık bitkilerin kontrolünde büyük başarı sağlamaktadır. Bu nedenle glifosat dünyanın önde gelen en çok kullanılan tarımsal herbisiti olmuş ve halende marketi en çok büyüme gösteren konumdadır (Baylis ve ark., 2000).

Tarım alanlarında, özellikle de pirinç, mısır ve soya ekimi yapılan alanlarda, bahçe bakımında, ormanlık alanlarda, otlakların ve yeşillik alanların geniş yapraklı istenmeyen bitkilerinden kurtulmak amacıyla sıkça kullanılmaktadır (Dallegrave ve ark., 2003).

Glifosatın yaygın kullanımı araştırmacıları glifosat-dirençli bitkileri araştırmaya yönlendirmiştir. Genetiği değiştirilmiş bu bitkiler yalnızca bitki verimini arttırmamış aynı zamanda; hayvan ve insanların marul, havuç, arpa gibi bitkilerde saptanmış olan glifosat kalıntısına daha fazla maruz kalmasına sebep olmuştur. Glifosat kalıntıları glifosat uygulamasından sonra arpada 4 ay, marulda 5 ay sonra bile ölçülebilir düzeyde tespit edilmiştir (Sivikova ve ark., 2006).

Glifosatın sudaki çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle hem toprak hem de sucul sistem sürekli olarak kontamine olmaktadır. Bu nedenle hedef olmayan organizmalar da etkilenebileceğinden bu canlıların gelişimi, morfolojisi, fizyolojisi, immünolojisi ve biyokimyası üzerinde değişiklikler ortaya çıkabilir (Tate ve ark. 1997).

Glifosat içerikli herbisitler ile yapılan çalışmalar hedef olmayan bitkiler üzerinde akut toksisiteye sahip olduğunu göstermiştir. Bu bitkilerin içine sucul bitkiler ve algler de dahildir. Bir herbisit olmasına rağmen glifosat maruziyeti yer solucanlarının, bal arıları gibi yararlı böcek türlerinin, balıkların, kuşların ve bazı küçük memelilerin de içinde bulunduğu hayvan popülasyonlarına zarar verdiği birçok raporda belirtilmektedir (Cox, C.,1996).

Yapılan çalışmalar, glifosatın memeliler üzerinde farklı etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Gebe sıçanlar ve sıçan fetüsleri üzerinde yapılan kronik toksisite deneylerinde, uygulama gruplarındaki hayvanların vücut ağırlığında azalma, diyare, burun akıntısı, gebe bireylerde ölüm, yavru böbreklerinde ve sindirim sisteminde bozukluklar tespit edilmiştir (US-EPA R.E.D., 1993).

Üretici raporları insan sağlığına zararlı etkisinin olmadığını belirtmiş olsa da; Sivikova ve ark., (2006)'nın yaptıkları epidemiyolojik çalışmalarda göz ve deri tahrişi, baş ağrısı, kalp basıncında artma, mide bulantısı gibi birçok klinik belirtiler glifosat ürünleri ile uğraşanlarda rapor edilmiştir. Diğer yandan Kolpin ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada glifosat uygulamasından kısa süre sonra çiftçilerin idrarlarında glifosat kalıntıları tespit etmişlerdir. Glifosat içerikli herbisit kullanan bazı tarım işçilerinin üreme ile ilgili problemlerinin olduğu ve bazı enzimlerin aktiviteleri üzerinde etkili olduğu rapor edilmiştir (Savitz ve ark. 1997; Acquavella ve ark., 2004; Daruich ve ark. 2001; Williams ve ark. 2000).

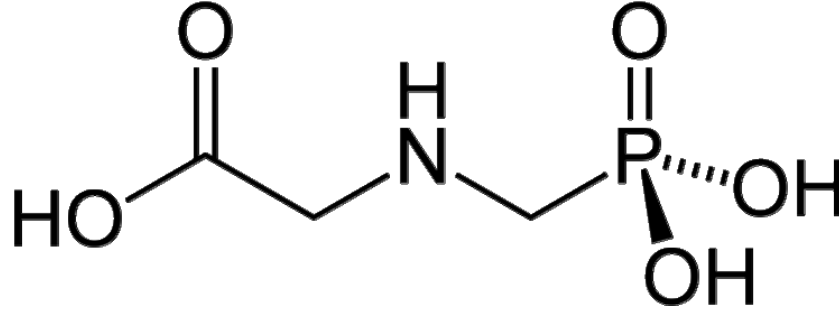
Bu çalışmada kullanılan % 78.5 oranında glifosat ve sülfektan içeren Roundup® glifosatın bir ticari formudur ve dünyada olduğu gibi Türkiye'de de yaygın olarak kullanılmaktadır. Roundup®'ın sıçanlara uygulanan LD<sub>50</sub> dozunun % 1'lik ve % 10'luk dozları, bir ve üç aylık sürelerde erkek ve dişi sıçanlara uygulanarak, karaciğer histopatolojisi histolojik, kan parametreleri üzerinde etkilerin biyokimyasal ve hematolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2. 1. Glifosat (Glyphosate) ve Roundup®

Glifosat organofosfatlı bir herbisit olup glisin ve fosfometil içeren zayıf bir organik asittir. Geniş spektrumlu bir herbisit olan glifosat, tarım alanlarında, bahçe bakımında, ormanlık alanlarda istenmeyen bitkilerden kurtulmak amacıyla ve yeşillik alanların, geniş yapraklı yabancı otların, otlakların, pirinç, mısır ve soya ekimi yapılan alanların yabancı ot kontrolünde dünyada ve ülkemizde sıkça kullanılan bir organofosfat grubu herbisittir (Dallegrave ve ark., 2003).

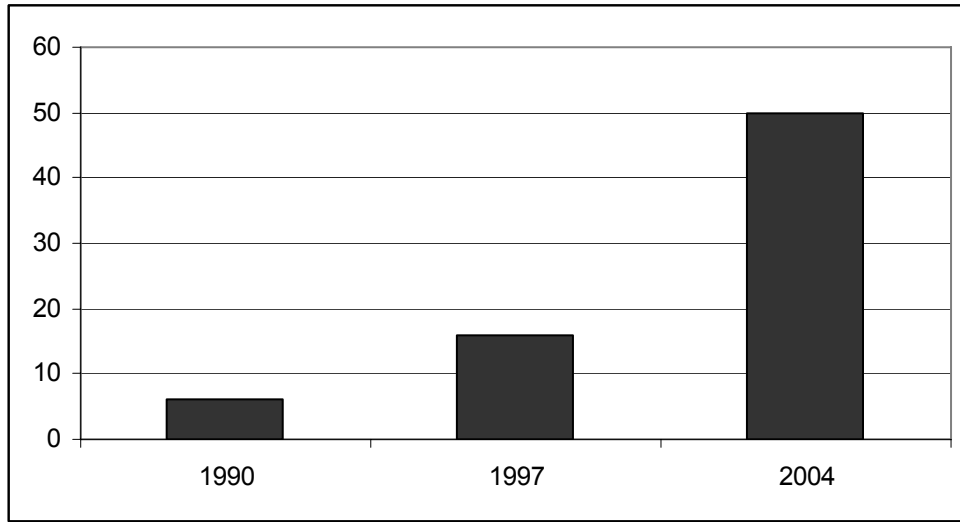
Çoğu pestisitte olduğu gibi, bitki hücresine girişi kolaylaştırmak için glifosatta da sürfektan madde eklenerek çeşitli ticari isimlere sahip (Roundup®, Rodeo®, Accord®, Vision®) ticari formları satışa sunulmuştur. Kullanılan sürfektan inert özellikli polioksietilen amin (POEA) (www. cetos. org)'dir. En çok bilinen ve kullanılan ticari formu bu sürfektanı içeren Roundup®'tır. Roundup® formülasyonu glifosatın bir tuzu olan 480 g/L glifosat isopropilamin içerir. Glifosatın açık formülü, [N-phosphonomethylglycine ] Şekil 2.1 de gösterilmiştir.



Şekil 2. 1. Glifosat'ın açık formülü

Herbisit kullanımı ile yabancı zararlı otların ticari bitkilerin üretimi üzerindeki engelleyici etkisi oldukça azaltmıştır. Glifosat, sistemik etkili olması nedeni ile bir yıllık bitkilerin kontrolünde büyük başarı sağlamaktadır. Bu nedenle glifosat dünyanın önde gelen en çok kullanılan tarımsal herbisiti olmuş ve halende marketi en çok büyüme gösteren herbisit konumundadır (Baylis ve ark., 2000).

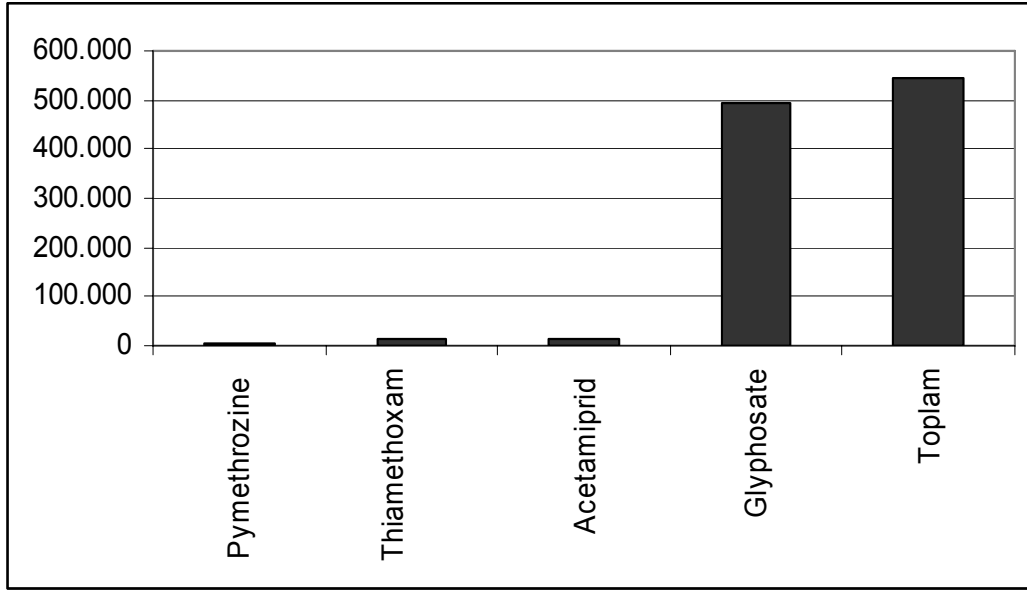
1990'lı yıllarda üretici Monsanto firmasının glifosat üzerindeki patent süresinin bitmesi ile diğer pestisit üretimi yapan firmalar da glifosat ve glifosat içerikli kimyasalları üretmeye başlayabilmiş ve glifosat satışları hızla artmış; yıllık yaklaşık %20 oranında da artmaya devam etmektedir (Jiang ve ark., 2006). Şekil 2.2 de görüldüğü gibi 1990 yılında Amerika'daki glifosat kullanım miktarı 2004'e gelindiğinde yaklaşık 7 kat artış göstermiştir. ABD'de 1997 yılından itibaren glifosat kullanımı artmaya başlamıştır; bunun nedeni de genetik olarak glifosat-dirençli mısır, pamuk, soya gibi tarım bitkilerinin yetiştirilmesi ile glifosatın bu ürünlere zarar vermeyeceği düşünülmüştür (Kolpin ve ark., 2006). ABD'de 1997 yılından 2004 yılına gelindiğinde glifosat kullanımı yaklaşık 3 kat artmıştır (Şekil 2.2 )



Şekil 2. 2. Amerika Birleşik Devletlerinde 1990–2004 yıllarında glifosat kullanımı

Roundup®'in aktif bileşeni olan glifosat, dünya pazarındaki satışını 1995–2001 yılları arasında 3 katına çıkarmıştır (<http://www.monsanto.com/>,2001). Dünyada 2004 yılında sadece soya ekilen alanlarda 26 milyon kg.'dan daha fazla glifosat kullanılmıştır (Santos ve ark. 2007).

Delen ve ark.'na (2005) göre, Türkiye'de 2002 yılına ait çeşitli herbisitlerin tüketim miktarları incelendiğinde, glifosatın toplam kullanılan herbisit miktarının tamamına yakını oluşturduğu görülmektedir (Şekil 2.3).



Şekil 2. 3. Türkiye'deki 2002 yılına ait toplam herbisit tüketimi

1970'lerin ilk yıllarında Monsanto firması tarafından üretilen ilk glifosat'lı herbisit olan sürfektan içerikli Roundup®; o günden sonra birçok formül ve içeriğine çeşitli tuzlar eklenerek dünyada tarım bölgelerinde uygulanmıştır. Glifosat'ın ticari formları içerisinde inert madde olarak ifade edilen metil p-hidroksilbenzoat, polioksietilen alkilamin, propilen glisol, sodyum sülfid, sodyum benzoat, sorbik asit gibi değişik kimyasallar bulunur. Bu kimyasallar tek başlarına belirli dozun üzerinde kullanıldığında genetik hasar, deri ve gözde kontakt sonucu tahriş gibi bazı zararlı etkiler gösterebilmektedir (www.pesticide.org, 2004).

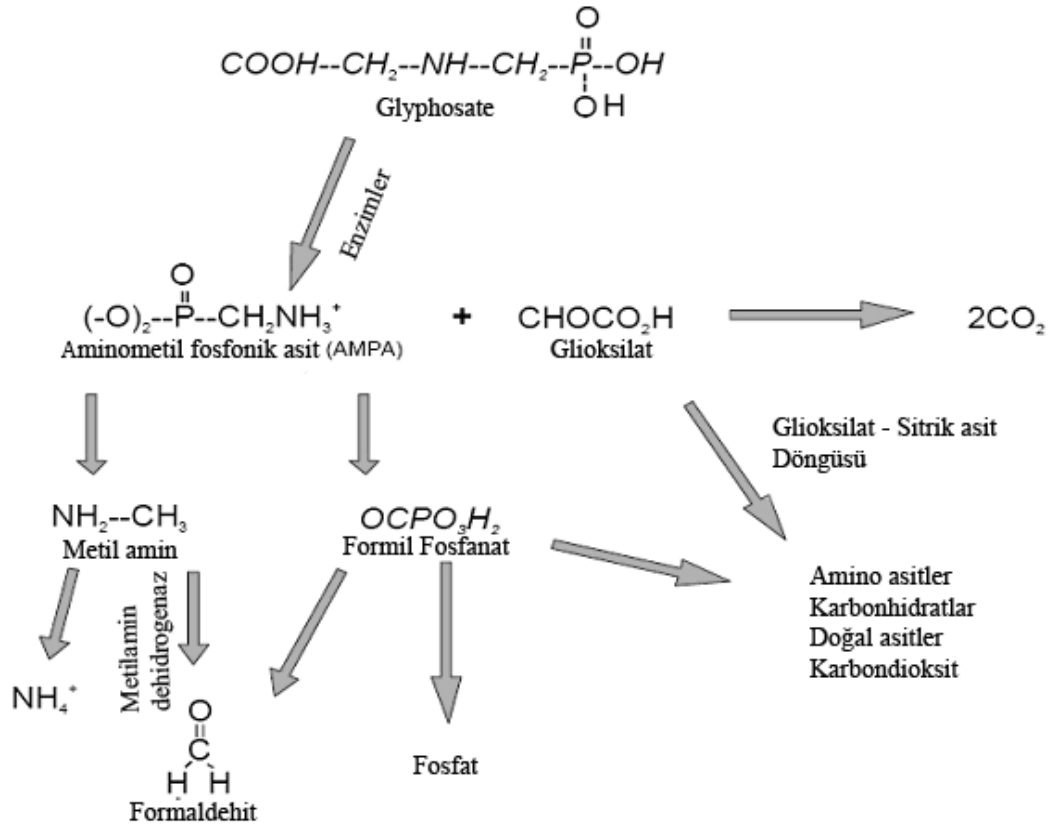
## 2. 2. Glifosatın Metabolizması ve Kalıcılığı

Glifosat toprakta hızlı bir şekilde parçalanır, suda parçalanması ise minimal düzeydedir. Yıkım ürünlerinden biri aminometilfosfonik asit (AMPA)'tir. Bu üründen toksik bir bileşik olan formaldehit meydana gelir. Glifosatın biyolojik parçalanması C-N bağının ayrılması ile AMPA oluşumu şeklindedir (Şekil 2. 4). Parçalanma oksijenli durumlarda oksijensiz durumlara göre daha hızlı olmaktadır. (Brewster ve ark. , 1991).

Birçok araştırmacı tarafından glifosatın mikroorganizmalar ve bitkiler tarafından AMPA ve sarkosine parçalandığını ve bunların da daha sonra su, karbondioksit ve

fosfata parçalandığı gösterilmiştir. Abiyotik parçalanma da glifosat'ın çevresel dağılımında önemli rol oynamaktadır. Glifosat'ın hidrolizi steril tamponlarda yavaştır. Işıқта parçalanmanın (foto-degradasyon) direkt olarak gerçekleşmediği düşünülse de; daha sonraki çalışmalarda ışıkta parçalanmanın olabileceği ancak bu parçalanmada ışık kaynağının ve bileşiğin içeriğinin önemli olduğu bulunmuştur (Chen ve ark. 2007).

Düşük hareketliliği nedeni ile yeraltı sularını direkt olarak kontamine etmez, ancak bu kaynaklara yakın uygulama yapılması durumunda hem su sistemlerine hem de yeraltı sularına geçebilir.



Şekil 2. 4. Glifosatın parçalama yolları ve ürünleri

Üretici firmaya göre iyonik karakteri ve sudaki çözünürlüğünün yüksek olması nedeniyle besinlerde biyolojik birikmesi beklenmez. Buna karşın su ortamına glifosat uygulamasından sonra balık, bazı kabuklular ve yumuşakçalarda glifosat kalıntıları tespit edilmiştir. Bu canlılar 14–28 gün glifosat içermeyen suya bırakıldıklarında kalıntı oranı %50–90 oranında azalma göstermiştir (Kjaer ve ark.,2004).

Glifosat, suda yüksek oranda çözünürken organik çözücülerde hemen hemen hiç çözünmez. Glifosatın sudaki çözünürlüğü 25°C'de 12 g/L 'dır. Sudaki iyonik durumundan dolayı ne suda ne de toprakta buharlaşması beklenmez. Sudaki kalıcılığı topraktaki kalıcılığına göre daha azdır. Topraktaki yarı ömür birkaç günden birkaç aya; sudaki yarı ömrü ise 12 saatten 7 haftaya kadar değişiklik gösterebilir. Kanada'da göl suyunda 12–60 gün arasında kalıcılığı tespit edilse de sedimenlerde ki kalıcılığı daha fazla olduğu görülür. Amerika'da, Missouri'de, sedimenlerde yarılanma ömrü ortalama 120 gün olarak tespit edilmiş; Michigan ve Oregon'da ise bu zaman dilimi 1 yılı aşkın bir süre olarak rapor edilmiştir. Glifosat silikatlar, metal oksitler, kristalize olmayan materyaller ve organik madde ile bağ kurarak birçok toprak içinde tutulur ve bu şekilde 174 günden daha fazla kalıcılığa ulaşabilir (Veiga ve ark. 2001).

Yaygın glifosat kullanımı araştırmacıları glifosat-dirençli bitkileri araştırmaya yönlendirmiştir. Genetiği değiştirilmiş bu bitkiler yalnızca bitki verimini artırmamış aynı zamanda hayvan ve insanların daha fazla glifosat kalıntısı almalarına da sebep olmuştur. Glifosat kalıntıları marul, havuç, arpa gibi bitkilerde saptanmıştır; marulda glifosat uygulamasından 5 ay, arpada ise 4 ay sonra bile ölçülebilir düzeyde kalıntı tespit edilmiştir (Sivikova ve ark., 2006).

Topraktaki glifosat varlığı mikrobiyal populasyon ve aktivitesinde değişikliklere neden olur. Wradle ve Parkinson'un (1990) çalışmaları toprakta glifosat varlığının topraktaki bakteri sayısı ve mikrobiyal aktiviteyi geçici olarak arttırdığını göstermiştir. Mantar ve aktinomiset sayısında ise bir değişiklik kaydedilmemiştir. Haney ve ark. (2000) ve Busse ve ark.'nın (2001) çalışmaları da benzer sonuç göstermiştir. Diğer taraftan Stratton ve Stewart (1992) çalışmasında mikrobiyal kütlede küçük bir artış görülürken mikroorganizma sayısında ya da toprak havalanmasında negatif ya da pozitif bir glifosat etkisi görülmemiştir. Araujo ve ark. (2003) topraktaki glifosat varlığı ve mikrobiyal aktivite üzerindeki çalışmalarında, glifosat uygulanan toprak örneklerinin inkübasyonu sırasında kontrol gruplarına göre daha fazla miktarda karbondioksit çıktığı rapor edilmiştir. Aynı çalışma sonunda glifosat varlığının topraktaki mikrobiyal aktiviteyi kısa ve uzun dönemler için uyardığını göstermiştir (Araujo ve ark. 2003).

Toprakta mantar varlığı görülürse herbisit uygulanması polietilen lifler arasında yapılır. Glifosat uygulamasından 15 gün sonra dahi bu polietilen lifler üzerinde glifosat kalıntıları tespit edilmiştir (Santos ve ark. 2007).

Glifosat içeren herbisitlerin akut ya da kronik toksisitesinde çevresel faktörler (pH, asılı partiküller vs.) etkilidir (Tsui ve ark., 2003).

Glifosat'ın yaygın kullanımı nedeniyle hem toprak hem de sucul sistem sürekli olarak kontamine olmaktadır bu yolla hedef olmayan organizmalar, sudaki çözünürlüğünün yüksek olması, çok fazla miktarlarda ve yaygın kullanılması nedeni ile glifosata maruz kalabilirler. Bu kimyasal canlıların gelişimi, morfolojisi, fizyolojisi, immünolojisi ve biyokimyası üzerinde değişikliklere neden olabilmektedir (Tate ve ark. 1997).

Tek doz olarak ve <sup>14</sup>C ile işaretlenmiş glifosat verilen sıçanların, uygulamadan 7 gün sonra vücutta geniş bir yayılım gösterdiği, en fazla dozun ise kemikte olduğu otoradyografi ile saptanmıştır. Sıçanlarda uygulama sonrası <sup>14</sup>C'ün büyük kısmı üre ve feçeste değişiklik göstermeden ilk bileşik halinde bulunmuştur. Nefesle birlikte atılım ise oldukça azdır. Glifosat metaboliti olan AMPA ise uygulanan dozun %0.2–0.3 oranında saptanmıştır (JMPPR, 2004).

Glifosat memeliler üzerinde göreceli düşük toksisitesinden dolayı dünya genelinde en çok kullanılan herbisit olmuştur. Bu kadar yaygın kullanıma sahip olması çevreninde bu kimyasal ile kontaminasyonu sonucunu beraberinde getirmiştir. Ancak, sığır, domuz ve kümes hayvanları üzerinde yapılan bir çalışmada günlük 100 mg/kg glifosat yemlerine katılarak yapılan uygulamada bu hayvanlarda, karaciğer ve / veya kalplerinde önemli derecede glifosat kalıntısına rastlanmıştır fakat süt, yumurta ve etlerinde glifosat miktarı çok az miktarda saptanmıştır (Khrolenko ve ark. 2005).

### **2. 3. Glifosatın Herbisidal Etki Mekanizması**

Glifosat triptofan, tirozin ve fenilalanin gibi aromatik amino asitlerin bitkilerde sentezini inhibe eden bir herbisittir (Santos ve ark. 2007). Bitkilerde 5-enolpiruvilshikimat 3-fosfat sentaz'ı (EPSPS) glifosat tarafından inhibe edilir. EPSPS, primer olarak plastidlerde yer alır ve inhibisyonu shikimat-3-fosfat birikimine neden olur, bundan ötürü aromatik amino asitlerin üretimi engellenir ve bu da protein sentezinin engellenmesi anlamına gelir. EPSPS, glifosat'ın hedef aldığı bilinen yegane enzim de olsa; glifosat tarafından birçok fizyokimyasal ve fiziksel süreçlerin de etkilendiği bilinmektedir (Baylis, 2000). Shikimat aromatik sentez yolu sadece bitki ve bazı mikroorganizmalarda olduğu için diğer hayvanlara ve memelilere gösterdiği düşünülen toksik etkiler farklı nedenlerden meydana gelmektedir.

### **2. 4. Glifosatın Toksik Etkileri**

Glifosat'ın hayvanlar üzerinde saptanan oral LD<sub>50</sub> değeri değişik kaynaklarca değişik değerlerle gösterilmiştir. Williams ve ark.'na (2000) göre oral LD<sub>50</sub> değeri 5000 mg/kg, üretici firmaya göre ise 5600 mg/kg 'dır. LC<sub>50</sub> değeri ise 3.18 mg/L'dir. İçerdiği sürfektan madde glifosata göre daha toksik özellikte ve LD<sub>50</sub> değeri 1200 mg/kg 'dır.

Glifosat tarımsal kullanım sonrası ve / veya direkt olarak makrofit bitkilerin kontrolü için su sistemlerine uygulandığında suya geçebilir (Soso ve ark., 2007). Bir herbisit olmasına rağmen glifosat maruziyeti yer solucanlarının, bal arıları gibi yararlı böcek türlerinin, balıkların, kuşların, ve bazı küçük memelilerin de içinde bulunduğu hayvan popülasyonlarına zarar verdiği bir çok raporda belirtilmektedir (Cox, C.,1996).

Glifosat'ın rüzgar gibi etmenlerle sürüklenmesi ve kazara dış ortama salınımı ile çevresel yayılım ve birikimi olabilir (Daruich ve ark., 2001). Glifosat uygulaması eğer havadan uçaklar ile yapılırsa; uygulama alanı dışındaki canlıları da etkileyebilmektedir. Kaliforniya'da yapılan çalışmalarda, glifosat uygulama alanının

800 metre ötesinde dahi glifosat kalıntısı tespit edilmiştir. Bu da glifosatın rüzgar ile savrulabildiğini göstermektedir, bu nedenle Kanada'da pestisitlen sakınılması gereken tampon alan 75–1200 metre olarak tespit edilmiştir.

Tate ve ark. (1997), çalışmasında uzun süreli sub-letal dozda (0.1–10 mg/L) glifosat uygulanan *P. columella* (salyongoz) büyüme ve gelişmesinde gecikme, yumurta yayma kapasitesi ve yumurtadan çıkma oranında azalma tespit etmişlerdir.

Glifosat bazlı herbisitlerin, glifosatın saf formundan sucul organizmalara karşı daha toksik olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (Kolpin ve ark. 2006). Balıklardaki toksik etkileri, balık türlerine göre değişmekle birlikte Roundup®'ın glifosata göre 30 kat daha fazla toksik olduğu bilinmektedir (Mitchell ve ark., 1987). Diğer bir çalışma sağlıklı 80–100 g.'lık *Cyprinus carpio*'lar ile yapılmıştır. Balıklar iki ayrı Roundup® dozuna (205 ve 410 mg glifosat /L) maruz bırakılmıştır. Elektron mikroskopu ile yapılan çalışmalarda hepatositler ve mitokondrionlar incelendiğinde Roundup® uygulanan balıklarda hepatositlerde miyelin benzeri yapılar, mitokondrionlarda büyüme ve mitokondrion iç zarının görünmez hale geçmesi rapor edilmiştir (Peixoto, F., 2005). Bu sonuçlara göre bu iki dozun bu balık türü için toksik olduğu belirtilmiştir.

Soso ve ark. (2007)'nin bir balık olan dişi Jundia'lar (*Rhamdia quelen*) üzerinde yaptığı çalışmada, glifosat içerikli kimyasal uygulanan canlıların karaciğer somatik indekslerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da uygulama gruplarında kontrole göre artış kaydedilmiştir. LC<sub>50</sub> dozunun %10'unun uygulaması ile Jundia'da glisemi gelişmiş ve alanin aminotransferaz (ALT) değerinde artış olurken aspartat aminotransferaz (AST) değerlerinde ise bir değişiklik saptanmamıştır. Kortisol seviyesi de 20. ve 40. günlerde kontrol gruplarına göre yüksek bulunmuştur. Buna göre glifosat içerikli herbisitlerin karaciğer metabolizmasını etkilediği; ayrıca diğer metabolik yollarında protein ve glikoz sentezi gibi etkilendiği rapor edilmiştir.

Ana detoksifikasyon merkezi ve toksik maddelerden ilk olarak etkilenen organ karaciğerdir. Gluszczak ve ark. (2006)'nin çalışmasında Roundup® uygulanan balık karaciğer proteinlerinde ve laktat miktarında azalma tespit edilmiştir. Kas

dokusunda, glikojen ve glikozda anlamlı azalmalar kaydedilirken, protein ve laktat miktarında ise tüm uygulamalarda artış görülmüştür. Amonyum miktarı hem karaciğer hem de kas dokusunda Roundup® uygulanan tüm gruplarda artmıştır. Bu artışın dokulardaki protein yıkımından kaynaklanıyor olduğu düşünülmektedir, çünkü plazma proteinleri tüm uygulama gruplarında azalmıştır. Dokularda protein yıkımında gerekli enerjiyi sağlamak üzere enerji glikojeni kullanarak sağlandığından miktarında azalmaya neden olmuştur.

13 hafta süresince 200, 1000 ve 4500 mg/kg teknik glifosat uygulanan Sprague-Dawley sıçanlarda ve farelerde, vücut ağırlık kazanımı, yem ve su tüketimlerinde değişiklik saptanmamıştır. Ayrıca organ ağırlıkları incelendiğinde gruplar arası değişiklik bulunmamıştır (Perry ve ark. 1991a ve 1991b; JMPR, 2004).

13 hafta boyunca haftalık olarak, 13 haftadan sonra 104. haftaya kadar 4 haftada bir olmak üzere 0, 100, 300, 1000 mg/kg teknik glifosat uygulanan farelerde besin tüketimi, vücut ağırlık kazancı ve kan sayımında önemli değişiklikler görülmemiştir (Stout & Ruecker, 1990; JMPR, 2004).

İlk 12 hafta için her hafta sonraki uygulamaların 8 haftada bir yapıldığı 104 haftalık Sprague-Dawley sıçanlar ile yapılan deneyde 0, 100, 300 ve 1000 mg/kg teknik glifosat uygulanması sonucu hematolojik değişiklikler araştırılmış ve glifosat uygulanması ile oluşan hematolojik bir değişiklik saptanmamıştır (Atkinson ve ark. 1993b; JMPR, 2004).

In vitro çalışmalar glifosat ve paraquatın ALT, AST, laktat dehidrogenaz (LDH) ve asetil kolinesteraz (AChE) aktivitesini inhibe edebileceğini göstermektedir. Sıçanlar üzerinde subkronik uygulamalar tüm bu enzimler üzerinde anlamlı değişiklikler meydana geldiğini rapor etmektedir. Kronik uygulamalar ALT ve AST değerlerinde artışa neden olmaktadır. Benzer bir biçimde organofosfatlı herbisit solunumu ile lipid profilinde de bir artma saptanmıştır (Hernandez ve ark. 2006).

Beuret ve ark. (2005) Herbicygon ile gebe sıçanlarda yaptıkları çalışmada gebeliğin birinci gününden 21. gününe kadar glifosat uygulanmasının (0.4 ml glifosat / 20ml su) hayvan ağırlığında ve karaciğer ağırlığında azalmaya yol

açtığı bulmuştur. Fetus karaciğer ve vücut ağırlığında ise önemli değişiklikler bulunmamıştır.

Dallegrave ve ark. (2003), gebe sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada 1000 mg/kg glifosat dozu uygulanan gebe sıçanların %50'sinin, gebeliğin 7 ila 14. günleri arasında öldüğü gösterilmiştir. 500 mg/kg ve 750 mg/kg'lık dozlarda ise gebe bireylerde ölüm gözlenmemiştir. Aynı çalışma içerisinde fetusların iskelet oluşumu ile glifosat arasındaki ilişki araştırılmıştır. Roundup® verilen deney gruplarında kontrol grubuna oranla fetuslarda artan oranda iskelet bozukluğu görülmüştür. İskelet oluşumu sırasında görülen bozukluk oranları kontrol grubu ve sırasıyla 500, 750, 1000 mg/kg deney gruplarında; %15.4, %31.1, %42, %57.3 olarak tespit edilmiştir. En çok rastlanılan iskelet bozukluğu tamamlanmamış kafatası kemikleşmesi ve bingıldak büyümesidir.

Gebe sıçanlar üzerinde yapılan diğer bir çalışmada; Daruich ve ark. (2001) uygulama gruplarının içme sularına 0.2 ml glifosat/100 mL su(1. grup) ve 0.4 ml glifosat/ 100 mL su (2. grup) eklemiştir. Çalışma sonunda gebe sıçanların yem ve su alımlarında azalma tespit edilmiştir. 0.4 ml glifosat/mL, uygulanan gruptaki gebe sıçanların vücut ve karaciğer ağırlıklarında da azalma saptanmıştır. Fetus ağırlıklarında ise önemli bir değişim olmamıştır. Gebe sıçanların çeşitli dokularda çeşitli enzim aktiviteleri de ölçülmüştür; karaciğerde izositrat dehidrogenaz (ICD) aktivitesinin 0.2 ml uygulanan grupta kontrol grubuna göre azalma; 0.4 ml uygulanan grupta ise önemli miktarda artma olduğu tespit edilmiştir. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) aktivitesinde yine 1. grupta kontrol grubuna göre azalma,2. grupta ise kontrol grubuna göre artma saptanmıştır. Lipoperoksidasyona bakıldığında ise glifosat uygulanan gruplarda kontrol gruplarına göre daha fazla miktarda lipoperoksidasyon gerçekleştiği tespit edilmiştir. Kalpteki ICD, aktivitesinin 1. grupta kontrol grubuna göre arttığı, G6PD aktivitesinin 2. grupta kontrol grubuna göre arttığı görülmüştür. Beyinde ise ICD aktivitesi 2. grupta kontrol grubuna göre artmıştır; G6PD aktivitesi ise her iki grupta da önemli bir değişiklik göstermemiştir. Fetus karaciğerinde ICD aktivitesi özellikle 2. grupta azalma göstermiştir. Fetus kalbinde ICD aktivitesi 1. grupta önemli ölçüde artmış; önceki hiçbir dokuda önemli değişiklikler göstermeyen malat dehidrogenazın (MD) fetus kalbinde her iki grupta da önemli ölçüde aktivitesinde azalma ortaya

çıkıştır. Fetüs beyninde ölçülen enzim aktivitelerinde ise ICD için her iki grupta da artış; G6PD ve MD aktivitelerinde ise sadece 2. grupta bir artışın söz konusu olduğu belirtilmektedir (Daruich ve ark., 2001).

El Demerdash (2001) yaptığı in vitro çalışmada glifosatın ALT, AST ve LDH, ALP aktivitesini inhibe ettiğini ve asit fosfataz (AcP) aktivitesini etkilemediğini saptamıştır. In vitro çalışmalar glifosat'ın, paraquat ve kadmium klorid (CdCl<sub>2</sub>)'in serum AChE, LDH, AST, ALT, alkalın fosfataz (AIP) aktiviteleri üzerinde değişimlere yol açtığı gösterilmiştir. Glifosat'ın IC50 değeri AChE, LDH, AST, ALT, ve AIP enzimlerinde sırası ile (enzim aktivitesinin %50 sini 1 saat, 37 derecede inhibe eden miktarı) 714.3, 750, 54.2, 270.8, ve 71.4 mM olarak hesaplanmıştır.

Benedetti ve ark. (2004) Glifosat-Biocarb ile yaptıkları sub-kronik uygulama sonucunda, 75 gün süren ve 2 günde bir üç değişik doz (4.87, 48.7 ve 487 mg/kg) Glifosat-Biocarb uygulanan hayvanların ALT ve AST aktiviteleri ölçülmüştür. Karaciğer hasarının biyolojik belirteci olarak kullanılan bu iki enzim miktarlarını kontrol gruplarına karşı değerlendirmiştir. 487 mg/kg Glifosat-Biocarb uygulanan hayvan grubunda ALT aktivitesi kontrole göre yaklaşık 2 kat; AST aktivitesi ise kontrole göre yaklaşık 1.5 kat artış gösterdiği saptanmıştır. Karaciğer dokusunun histolojik incelemesinde lokal olarak toplanmış ve sayıca kontrol grup hayvan karaciğerine göre Kuppfer hücrelerinde artma gözlemlenmiştir. Retikülin yapısında kalınlaşma ve sayıca artma da diğer tespit edilen histolojik bulgudur.

13 haftalık fare ve sıçan deneylerinde %99 saflığında 0, 3125, 6250, 12500, 25000, 50000 ppm glifosat uygulanan hayvanlarda değişiklikler izlenmiştir. Farelerde 50000 ppm glifosat uygulanan grubun her iki cinsinde de vücut ağırlığında azalma kaydedilmiştir. 6250 ppm uygulama grubu hayvanlarında paratid bezinde lezyonlar saptanmıştır. Sıçanlarda vücut ağırlığında azalma erkeklerde 25000 ppm uygulama grubunda; 50000 ppm uygulama grubunda ise her iki cinsiyette görülmüştür. Alkalın fosfataz ve alanin aminotransferaz aktivitesinde 6250 ppmlik erkek; 12500 ppmlik dişi gruplarında artış olduğu, ayrıca 25000 ve 50000 ppmlik uygulama gruplarında sperm sayısında da azalma tespit edilmiştir (Chan & Mahler, 1992; JMPR, 2004).

Sprague-Dawley sıçanları ile 26 haftalık çalışmada, teknik glifosat verilen sıçanlara 3 ayrı doz (3. 10, 32 mg/kg glifosat) uygulanarak kontrol ve glifosat uygulanan gruplarda hayatta kalma, dış görünüm, hematoloji, kan biyokimyası ve organ ağırlıklarındaki değişiklik kaydedilmemiş ve değişik organlar histolojik olarak incelenmiştir. Histolojik incelemeler sonucunda testiste tümör oluşum oranı anlamlı şekilde artmıştır (JMPR, 2004).

Gebeliklerinin 6 ila 19 günleri arasında her gün teknik glifosat uygulanan sıçanlarda yumuşak dışkılama, diare, hırıltılı soluk alıp-verme, kırmızı burun, aktivitelerde yavaşlama, ölüm oranında artış (25 deneğin 6'sı deney bitmeden ölmüştür), büyümede gecikme, hayatta kalan fetüs sayısında azalma fetüs ossifikasyonunda azalma tespit edilmiştir (JMPR, 2004).

14 gün boyunca 2500, 3500, 5000, 7000 ve 9900 mg/kg glifosat uygulanan Wistar sıçanların; uygulama sonunda sırası ile 1/10, 1/10, 3/10, 8/10, 10/10 hayvanda ölüm oranı saptanmıştır. Uygulama ile ilişkili bedensel işlevlerde bozukluk, kas titremesi, kırmızı burun akıntısı, yumuşak dışkı, uyuşukluk gibi klinik belirtiler tüm gruplarda saptanmıştır (Heenehan ve ark., 1979a; JMPR, 2004).

4 haftalık teknik glifosat ile yapılan çalışmada Sprague-Dawley soyuna ait 5 erkek ve 5 dişi sıçan üzerinde glifosat'ın etkisi araştırılmıştır. 0, 30000, 40000 ve 50000 ppm (0, 1500, 2000 ve 2500 mg/kg'a eş) dozları deneklere uygulanmıştır. Çalışma sonuna kadar sıçanlarda ölüm görülmemiştir. Vücut ağırlık kazanımında anlamlı bir azalma yüksek dozda her iki eşeyde görülmüş olsa da tüm uygulama grup ve eşeylerde vücut ağırlık kazanımında azalma tespit edilmiştir. 40000 ve 50000 ppm grubu erkeklerde günlük besin tüketiminde azalma ilk hafta sonunda tespit edilmiş, dişilerde ise kontrol grubuna benzer sonuçlar çalışma boyunca elde edilmiştir. Yumuşak dışkılama ve/veya diare çalışma sırasınca görülen klinik belirtiler olmuştur (Reyna &Thake, 1989; JMPR, 2004).

Glifosatın karaciğer ve barsaklardaki ilaç metabolizasyon enzim aktivitesi üzerine etkisi sıçanlarda çalışılmış, iki haftalık mide içi glifosat uygulaması karaciğer sitokrom P-450 monooksijenaz aktivitesi ile barsak aril hidrokarbon hidrolaz aktivitesinde azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir (Hietanen, ve ark 1983).

Sprague-Dawley soyuna ait sıçanlarla yapılan bir deneyde, deneklere günlük 0, 50, 250, 1000 ve 2500 mg/kg teknik glifosat uygulanmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da az ama sürekli bir vücut ağırlığında azalma yüksek doz uygulanan gruplarda not edilmiştir. Gruplar arasında su-besin tüketimi ya da hematolojik değişiklikler belirlenmemiştir. Yüksek doz uygulanan erkek sıçanların plazma ALT ve ALP aktivitelerinde; dişi sıçanlarda ise ALT ve total bilirubinde artış tespit edilmiştir. Ayrıca plazma fosfat konsantrasyonu 1000 ve 2500 mg/kg'lık uygulama gruplarına ait erkek sıçanlarda artış göstermiştir. Organ ağırlıklarında ise herhangi bir farklılık gruplar arasında görülmemiştir (Atkinson ve ark., 1989; JMPR, 2004).

Oliveira ve ark. (2007)'i Roundup® uyguladıkları ördek (*Anas platyrhynchos*) üreme sistemini inceledikleri çalışmalarında glifosat uygulanan ördeklerin vücut ve testis ağırlığında kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik saptamamışlardır. 5 ve 100 mg/kg Roundup® uygulanan hayvanların plasma testosteron seviyelerinde %90 azalma; 5 mg/kg Roundup® uygulanan hayvanlarda ise plasma estradiol seviyesinde anlamlı azalmalar rapor edilmiştir. Her iki dozda seminifer tübül epitelyumu ile doku arası boşluk oranında azalma (%4-%5); seminifer tübül lümeninde artış (%20-%22) herbisit uygulanmasından sonra görülmüştür. 100 mg/kg Roundup® uygulanması epididimal bölgenin hacimsel oranında değişikliğe neden olmuştur. Çalışma sonunda doza bağlı Roundup® uygulamasının erkek üreme sistemi morfofizyolojisi üzerinde bozulmaya yol açtığı belirtilmiştir. Epitelyumal vakuolizasyon çalışma sonunda bulunan diğer bulgudur.

Genotoksik ajanların sitojenik etkilerinin araştırılması sırasında kardeş kromatid değişimi çoğunlukla biyoindikatör olarak kullanılmaktadır. Sivikova ve ark. (2006) sığır periferik lenfosit kültüründe, glifosatın sitojenik etkilerini göstermek üzere yaptıkları çalışmada, 560 – 1120 µmol/l glifosat uygulanan grupta kromozom bozukluklarında kontrol gruplarına göre artış olduğu ancak istatistiksel olarak bu artışın önemli olmadığı saptanmıştır. Aynı çalışmada kardeş kromatid değişim sıklığında glifosat uygulamasının 24 üncü saatinde anlamlı değişiklikler kaydedilmiştir.

Üretici raporları insan sağlığına zararlı etkisinin olmadığını belirtmiş olsa da; Sivikova ve ark., (2006) nın yaptıkları epidemiyolojik çalışmalarda göz ve deri tahrişi, baş ağrısı, kalp basıncında artma, mide bulantısı, gibi birçok klinik belirtiler glifosat ürünleri ile uğraşanlarda rapor edilmiştir. Diğer yandan Kolpin ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada glifosat uygulamasından kısa süre sonra çiftçilerin idrarlarında glifosat kalıntıları tespit etmişlerdir. Glifosat bazlı herbisit kullanan bazı tarım işçilerinin üreme ile ilgili problemleri rapor edilmiştir (Savitz ve ark. 1997; Acquavella ve ark., 2004), glifosatın memeliler üzerine etkileri hala soru işareti olmakla beraber bazı enzim aktivitelerini etkilediği düşünülmektedir (Daruich ve ark. 2001; Williams ve ark. 2000).

Vietnam'da havadan uçak ile herbisit spreyleme görevinde bulunan hava kuvvetleri mensuplarında karaciğer işlevlerini yitirme riski daha fazla oranda bulunmuştur (Hernandez ve ark. 2006).

Tükrük bezi lezyonları, boğaz epitelinde yangı, insan kan hücrelerinde DNA hasarı, sıçanlarda sperm sayısında azalma, tavşan sperm anomalisi oranında artış, tiroid kanserinde ve karaciğer tümöründe artma glifosat-bazlı ürünlerin uygulanması sonucu görülen bazı olumsuz etkilerdir. Çoğu çiftçi olan hamile kadınlar ile yapılan çalışmalarda düşük oranında artış, erken doğum ve non-Hodgkin's lenfoma glifosata maruz kalınması sonucu görülen bazı belirtiler olarak rapor edilmiştir (<http://www.mindfully.org/>,2006).

Tayvan'da 1988 – 1995 yılları arasında gerçekleşen 131 glifosat-sülfektan herbisit zehirlenme olayı incelendiğinde; en çok rastlanılan belirti boğaz ağrısı (%79.5) olarak kaydedilmiştir. Kusarak ya da kusmasız bulantı (%73.8), lökositosis (%68), düşük serum bikarbonat miktarı (%48.1), asidozis (%35.8) hastalarda tespit edilmiştir. Bu hastaların 11'i ölmüştür. Çalışmalar sonucunda glifosat'ın damar genişletici etkisinin olduğu ve ölümlere bu özelliğin neden olabileceği rapor edilmiştir (Chan ve ark., 2007).

## **2. 5. Alanin Amino Transferaz (ALT) , Aspartat Amino Transferaz (AST)**

Bu iki enzim glutamati oluşturmak için aspartat veya alaninin amino grubunun geri dönüşümlü olarak  $\alpha$ -ketoglutarata transferini sağlarlar. Kofaktör olarak piroksidal fosfata ihtiyaç duyarlar. AST karaciğer dışında kalp ve iskelet kasında; ALT ise karaciğer dışında böbrekte de bulunur. Hepatositlerde AST'nin %80'i mitokondrilerde bulunmaktadır. ALT ise ekstra-mitokondrial yerleşimlidir. Hafif karaciğer hasarının olduğu ve mitokondrial membranın sağlam kalıp hücre membranının bütünlüğünün bozulduğu durumlarda sitoplazmik ALT ve AST seruma salınır. Eğer ağır karaciğer hasarı var ve hem sitoplazmik hem de mitokondrial membran hasar gördüyse mitokondrial AST de kana geçer ve AST/ALT oranında yükseklik görülür. AST/ALT oranı normalde 1'e eşittir. ALT ve AST nin karaciğer hücre nekrozuna neden olan durumlarda, toksik şok sendromu ve ilaca bağlı hasarlarda miktarı artar (Adam ve Ardiçoğlu, 2002).

## **2. 6. Laktat Dehidrogenaz (LDH)**

LDH, tüm vücut dokularında bulunur. Dokudaki hücresel hasarlar ve şok durumunda serumda miktarı artar (Adam ve Ardiçoğlu, 2002).

## **2. 7. Kreatinin**

Kreatinin, kas metabolizması için çok önemli bir moleküldür. Fosfokreatinin sentezi sırasında yüksek enerjili fosfat deposu olarak görev görürler. Renal fonksiyon bozukluğunda (akut veya kronik) serumda miktarı artar (Adam ve Ardiçoğlu, 2002).

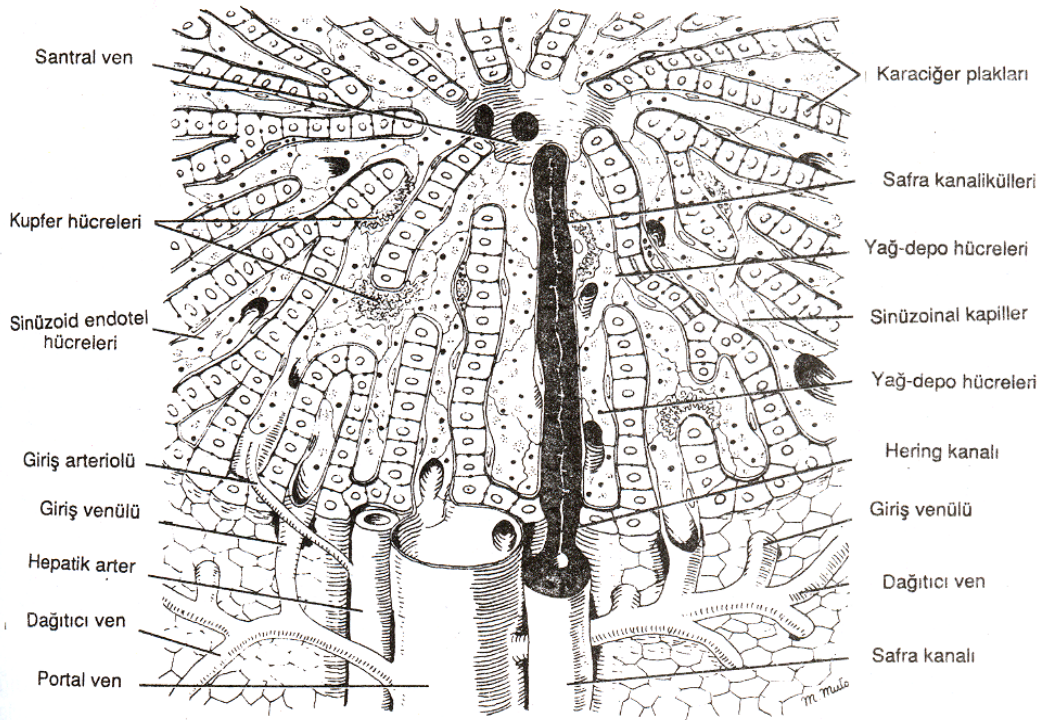
## **2. 8. Total Kolesterol ve Serum Lipoproteinleri (LDL, HDL)**

Vücuttaki kolesterolün sadece küçük bir miktarı diyetle alınan kolesteroldür. Esas olan karaciğer ve diğer hücrelerde üretilen kolesteroldür. Karaciğer hastalıkları, intra- ve ekstra-hepatik kolestaz kronik böbrek yetmezliği durumlarında serumda miktarı artarken; a-lipoprotein eksikliğine bağlı olarak ve hepatosellüler nekroz da

miktarı azalır. Serum lipoproteinleri düşük yoğunluklu (LDL) ve yüksek yoğunluklu (HDL) lipoproteinler olarak serum da bulunur. Karaciğerde sentezlenen LDL şeklinde lipidlerin dokulara taşınması ve dokularda sentezlenen HDL şeklinde karaciğere geri taşınmasını sağlar. Stres durumlarında miktarları artar (Adam ve Ardiçoğlu, 2002).

## 2. 9. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer, deri hariç, vücudun en büyük organı ve en büyük bezidir. Diyaframın altında abdominal boşlukta yerleşmiştir. Karaciğerin dolaşım sistemindeki yeri, metabolitlerin biriktirilip taşınması ve toksik maddelerin detoksifikasyonu için çok uygundur. Altıgen şeklinde düzenlenen karaciğer fonksiyonel birimi olan hepatositler paralel dizilerek merkezden dışarı doğru aralarında boşluklar olan sinüzoidler oluşur. Hepatositler arasında fagositik Kupffer hücreleri yerleşiktir. Karaciğerin parankima hücreleri hepatositler hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonludur. Birçok kimyasalın metabolizmasından, değiştirilmesinden ve dışarı atılır hale gelmesinden sorumludur (Junqueira ve ark.,1993). Karaciğerin yapısı şekil 1.5 de verilmiştir.



Şekil 2.5. Karaciğerin şematik yapısı

### **3-GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3. 1. GEREÇ**

##### **3. 1. 1. Sıçanlar**

Glifosat-Roundup®'in oluşturabileceği toksik etkilerin gösterilmesi amacıyla yapılan bu çalışmada, deney hayvanı olarak 30 adet erkek ve 30 adet dişi yetişkin Sprague-Dawley, 129–230 g. sıçanlar kullanılmıştır. Deney hayvanları, Başkent Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Deney süresince Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarında tutulan sıçanlar, standart pellet sıçan yemi ile beslenmiş, dinlendirilmiş çeşme suyu verilmiştir.

##### **3. 1. 2. Kimyasallar**

Araştırmanın temelini oluşturan Glifosat-Roundup®'in, %78.5 oranında glifosat ve sürfektan içeren ticari formu kullanılmıştır.

Glifosat'ın Fizyokimyasal Özellikleri:

Buhar basıncı:  $< 10^{-5}$  (25°C)

Erime sıcaklığı: 185 °C (199 °C'de bileşimi bozulur)

Sudaki çözünürlüğü: 10.1 g/L (20 °C)

MS 9-5 Veteriner amaçlı biyokimya kitleri ile ALT, AST, LDL, HDL, total kolesterol ve kreatinin ölçümleri için Valtek; LDH ölçümü için Audit markalı kitler kullanılmıştır.

#### **3. 2. YÖNTEM**

##### **3. 2. 1. Ortam Koşulları**

Deney süresince laboratuvarın ortam sıcaklığı  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  aralığında tutulmuştur, nispi nem ortalaması %45–50 olacak şekilde ayarlanmıştır; 12 saatlik aydınlık/karanlık periyodu uygulanmıştır.

### 3. 2. 2. Uygulama Çalışmaları

Deney süresi 1 aylık ve 3 aylık iki ayrı dönemden ve 3 gruptan oluşturulmuştur. Her grupta 5 erkek ve 5 dişi sıçan yer almıştır ve hayvanlar her kafeste 5 adet olmak üzere polietilen kafeslere yerleştirilmiştir.

1.Grup Kontrol Grubu: Bu gruptaki hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenmiş ve hiçbir uygulama yapılmamıştır. (1 aylık grup)

2.Grup %1'lik glifosat Grubu: Bu gruptaki hayvanlara pipet yardımı ile oral olarak %1'lik glifosata eş değer 56 mg/kg Roundup® uygulaması yapılmıştır. (1 aylık grup)

3.Grup %10'luk glifosat Grubu: Bu gruptaki hayvanlara pipet yardımı ile oral olarak %10'lik glifosata eş değer 560 mg/kg Roundup® uygulaması yapılmıştır. (1 aylık grup)

4.Grup Kontrol Grubu: Bu gruptaki hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenmiş ve hiçbir uygulama yapılmamıştır. (3 aylık grup)

5.Grup %1'lik glifosat Grubu: Bu gruptaki hayvanlara pipet yardımı ile oral olarak %1'lik glifosata eş değer 56 mg/kg Roundup® uygulaması yapılmıştır. (3 aylık grup)

6.Grup %10'luk glifosat Grubu: Bu gruptaki hayvanlara pipet yardımı ile oral olarak %10'lik glifosata eş değer 560 mg/kg Roundup® uygulaması yapılmıştır. (3 aylık grup)

### 3. 2. 3. Glifosat-Roundup® Toksikite Çalışmaları

1. Tüm deney gruplarının yem ve su miktarları her gün aynı saat diliminde kaydedilmiştir.

2. Sıçan vücut ağırlıkları her hafta aynı gün tartılarak kaydedilmiştir.

3. Uygulama gruplarına verilecek olan glifosat-Roundup® günlük olarak hazırlanmıştır ve sıçanların vücut ağırlıklarına göre uygun miktarlarda pipet yardımı ile oral olarak her gün uygulanmıştır.

4. Deney süresi bitiminde hayvanlar önce eter ile bayıltılmıştır. Boyunları kırıldıktan hemen sonra kalplerinden enjektör ile kanları alınmış, alınan kan örneklerinden EDTA lı olanlar hematolojik incelemelere tabi tutulmuştur. Diğer örneklerin serumları ayrılmıştır ve serum ALT, AST, LDH, HDL, LDL, total kolesterol ve

kreatinin değerleri Valtek ve Audit kitler kullanılarak Shimadzu CL-770 marka spektrofotometrede ölçülmüştür.

5. Karaciğer, böbrek, dalak ve kalp ağırlıkları ölçülmüştür ve histolojik incelemesi yapılacak olan karaciğer doku parçaları tespit için buine alınmıştır.

### **3. 2. 4. İstatistiksel Değerlendirmeler**

Grup ortalamaları arasındaki istatistiksel açıdan anlamlı farklılıklar tek yönlü varyans analizi ile test edilmiştir. Grup çiftleri arasındaki istatistiksel anlamlı farklılığı araştıran test olarak Hochberg's GT2 adlı Post Hoc. testi kullanılmıştır. Örneklem büyüklüğü arasındaki farklılığın düzeyleri açısından bu test tercih edilmiştir. Varyans analizi ile birlikte, varyansların homojenliğini sınamaya olanak veren Levene testi kullanılmıştır. Bu testin sonucuna göre çalışmadaki tüm değişkenlere ait gruplar açısından varyansların homojen olduğu gözlenmiştir.

## **4. BULGULAR**

Çalışmanın başlangıcından itibaren, kontrol ve uygulama gruplarına ait hayvanların vücut ağırlıkları, tükettikleri yem ve su miktarları düzenli olarak kaydedilmiştir. Çalışma sonuçlandırılmadan önce kontrol ve uygulama gruplarındaki sıçanlar, vücut ağırlıkları tespit edilmek amacı ile tartılmışlardır. Deney bitiminde ise hayvanlar servikal dislokasyon ile öldürülerek hematolojik incelemeler için kanları EDTA'lı tüplere, serum analizleri için ayrı tüplere alınmış daha sonra iç organları çıkartılmış ve ağırlıkları kaydedilmiştir. Her gruptaki hayvanların organ ağırlık ortalamaları ile vücut ağırlık ortalamalarının oranı hesaplanmıştır. Organlarda morfolojik incelemeler sonucunda önemli bir değişiklikler görülmemiştir.

### **4. 1. Klinik Belirtiler**

Çalışmamızda uygulama yapılan sıçanlarda yumuşak dışkılama, diare, hırıltılı soluk alıp-verme, kırmızı burun, aktivitelerde yavaşlama not edilmiştir. Abdomen kısımda kıl dökülmesi, uygulama grubuna ait sıçanlarda bıyık uzunluğunda göreceli olarak azalma gözlemlenmiştir.

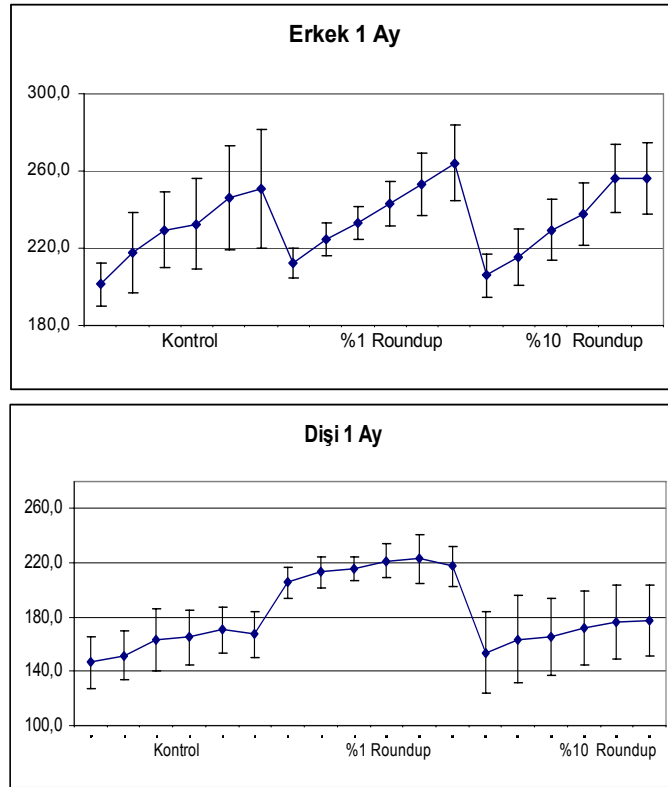
### **4. 2. Vücut Ağırlığı, Yem-Su Alınımındaki Değişiklikler**

Deney başlangıcından deney sonuna kadar olan sürede ağırlıkları alınan sıçanların toplam vücut ağırlık değişimleri Çizelge 4. 1 – 4. 2 ve Şekil 4. 1 – 4. 2 de; deney süresince kazanılan net ağırlık değişimi ise Çizelge 4. 3 ve Şekil 4. 3 de verilmiştir.

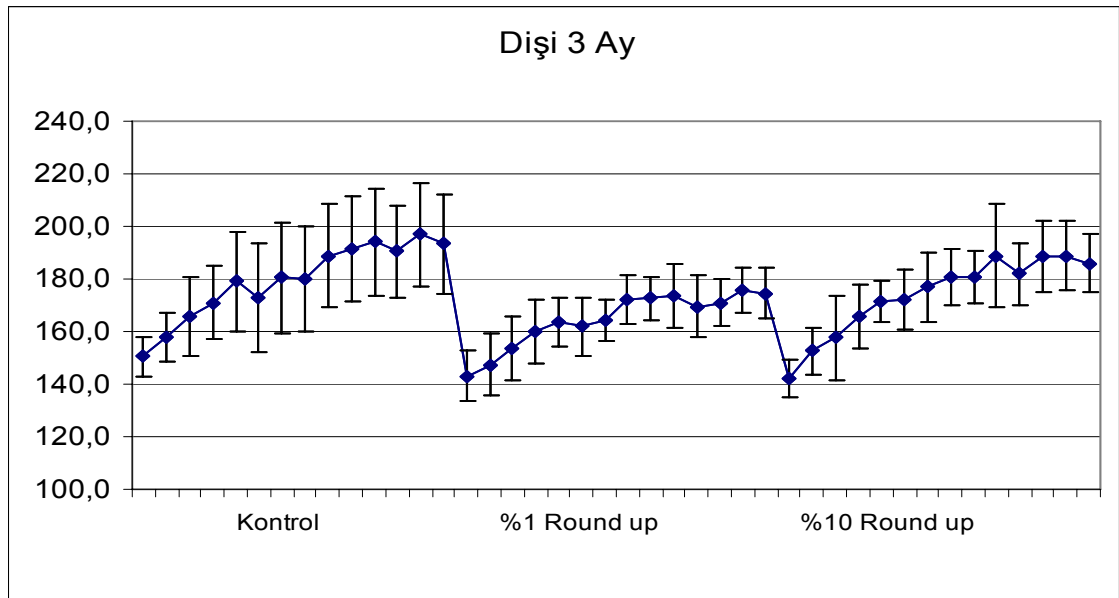
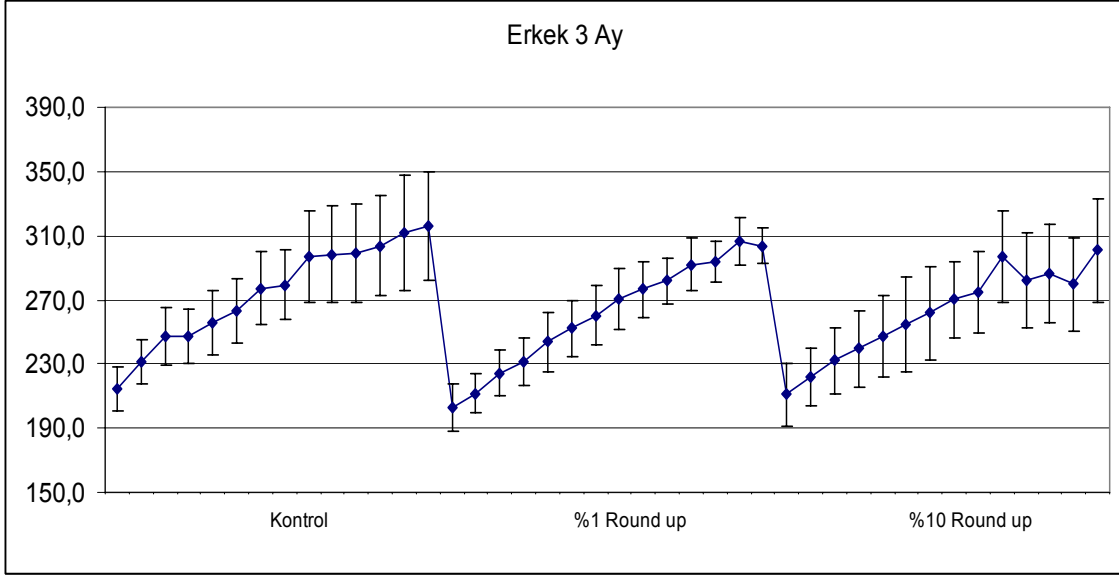
Çizelge 4. 1, Şekil 4. 1 ve 4. 2 incelendiğinde 1 ve 3 aylık uygulama sonucunda erkek ve dişi sıçanlarda vücut ağırlık değişimlerinde benzer dalgalanma gösterdiği görülmektedir.

Çizelge 4. 1. Bir aylık kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulama gruplarına ait erkek ve dişi sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri (gr)

	1 Ay Erkek	1 Ay Dişi
Kontrol	201,2 ±11,3	146,4 ±18,8
	217,8 ±20,7	151,8 ±18,2
	229,4 ±19,7	163,2 ±22,9
	232,6 ±23,7	165,2 ±19,9
	246,2 ±27,1	170,4 ±17,4
	250,6 ±30,7	167,2 ±16,9
%1 Roundup	212,2 ±7,8	205,8 ±11,5
	224,6 ±8,6	213 ±11,0
	233,2 ±8,5	215,2 ±8,8
	243,2 ±11,5	221,6 ±12,5
	252,8 ±16,1	223 ±17,8
	264,2 ±19,6	217,4 ±15,1
%10 Roundup	205,8 ±11,5	153,6 ±30,0
	215,4 ±14,5	163,4 ±32,1
	229,6 ±16,1	165,6 ±28,5
	237,8 ±15,9	172 ±27,6
	256,2 ±17,9	176,4 ±27,1
	256,2 ±18,5	177,2 ±26,1



Şekil 4. 1. Bir ay kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri



Şekil 4. 2. Üç ay kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri

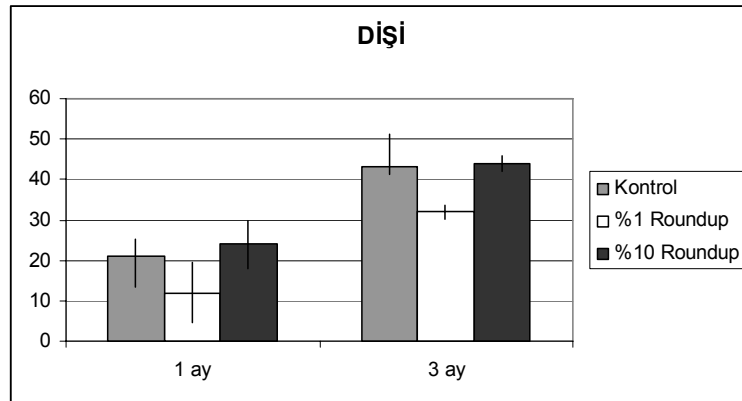
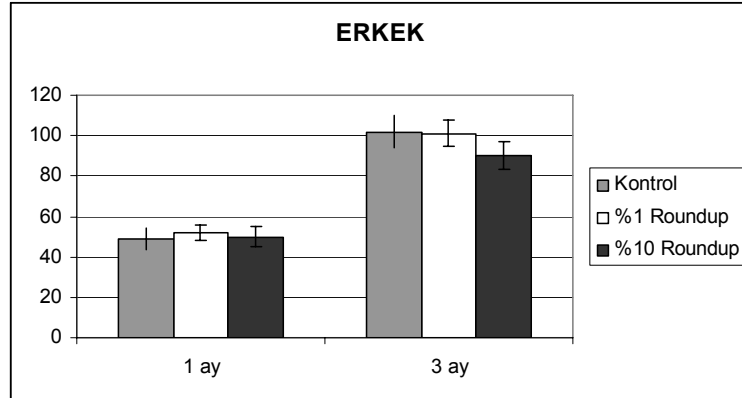
Çizelge 4. 2. Üç aylık kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulama gruplarına ait erkek ve dişi sıçanların haftalık vücut ağırlığı değişimleri (gr)

	3 Ay Erkek	3 Ay Dişi
Kontrol	214,4 ±14,0	150,4 ±7,5
	231,2 ±13,5	157,8 ±9,3
	247,4 ±17,9	165,6 ±14,9
	247,4 ±16,7	171,0 ±14,2
	255,8 ±20,1	179,0 ±19,2
	263,4 ±19,9	173,0 ±20,5
	277,4 ±22,3	180,4 ±21,1
	279,2 ±21,8	179,8 ±20,0
	296,8 ±28,8	188,8 ±19,7
	298,2 ±30,2	191,2 ±20,1
	298,8 ±30,8	194,2 ±20,4
	303,8 ±31,3	190,6 ±17,5
	311,8 ±35,7	196,8 ±20,0
	316,4 ±33,8	193,4 ±19,0
%1 Roundup	202,8 ±15,0	143,0 ±9,6
	211,6 ±12,2	147,4 ±12,0
	224,4 ±14,4	153,8 ±12,2
	231,4 ±15,2	160,0 ±12,2
	243,8 ±18,2	163,8 ±9,2
	252,2 ±17,6	162,0 ±11,1
	260,4 ±18,1	164,4 ±7,6
	270,4 ±18,7	172,0 ±9,2
	276,4 ±17,2	172,6 ±8,3
	281,8 ±14,5	173,6 ±12,3
	292,2 ±15,9	169,4 ±11,8
	293,8 ±12,4	171,0 ±9,1
	306,4 ±14,9	175,8 ±8,7
	303,8 ±11,2	174,6 ±9,9
%10 Roundup	210,8 ±19,2	142,4 ±7,1
	221,8 ±18,2	152,6 ±9,0
	232,0 ±20,4	157,6 ±16,1
	239,4 ±23,9	165,6 ±12,1
	247,0 ±25,1	171,4 ±7,9
	254,6 ±29,7	172,2 ±11,5
	261,6 ±28,8	176,8 ±13,3
	270,2 ±23,7	181,0 ±10,8
	274,8 ±25,7	181,0 ±10,0
	296,8 ±28,8	188,8 ±19,7
	282,2 ±30,0	182,0 ±11,8
	286,2 ±30,8	188,8 ±13,5
	279,6 ±29,4	188,8 ±13,1
	300,8 ±32,5	186,0 ±11,0

Çizelge 4. 3 ve Şekil 4. 3 incelendiğinde 1 ve 3 aylık uygulama sonucunda, erkek ve dişi sıçanlarda kazanılan vücut ağırlığında 1 aylık erkek sıçan uygulama gruplarında kontrole benzer dalgalanmalar görülmüştür. 3 aylık %10 erkek uygulama grubu erkekleri kazanılan vücut ağırlıkları kontrole göre azalma göstermiştir. 1 aylık dişi gruplarında ise; %1 uygulama grubunda azalma %10 uygulama grubunda artma tespit edilmiştir. 3 ay %1 dişi uygulama grubunda kontrol grubuna göre azalma tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 3. Kontrol, %1, %10 Roundup gruplarının deney başlangıcı ile deney sonu arasındaki erkek ve dişi sıçanların kazanılan vücut ağırlıkları (gr)

	Erkek		Dişi	
	1 ay	3 ay	1 ay	3 ay
Kontrol	49, 4 ±5,5	102,0 ±7,8	20, 8 ±4,4	43,0 ±8,4
%1 Roundup	52,0 ±3,9	101,0 ±6,6	11, 6 ±7,5	31, 6 ±1,7
%10 Roundup	50, 4 ±5,2	90,0 ±6,7	23, 6 ±5,9	43, 6 ±2,0

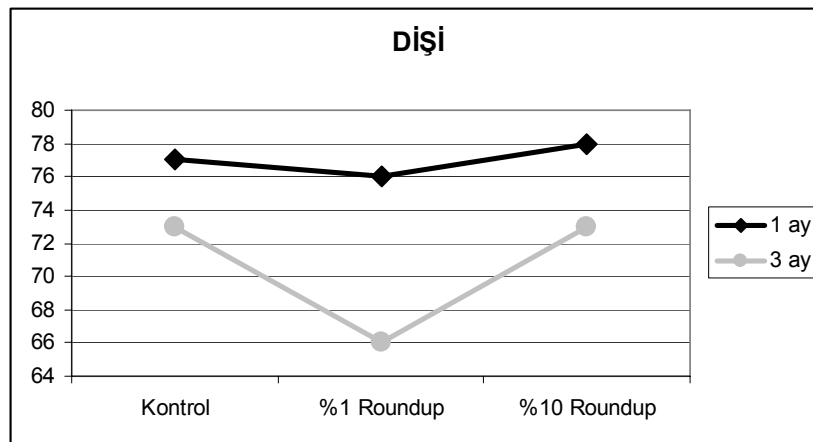
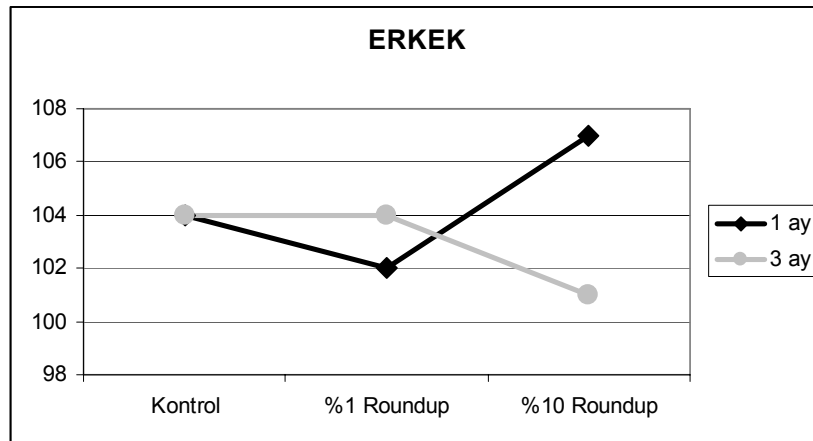


Şekil 4. 3. Kontrol, %1, %10 Roundup gruplarının deney başlangıcı ile deney sonu arasındaki erkek ve dişi sıçanların vücut ağırlık değişimleri

Roundup® uygulanan 1 aylık erkek sıçan gruplarında yem tüketim miktarında değişimler görülse de bunlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 3 ay %10 uygulama grubu erkek sıçanlarda kontrol grubuna göre azalma bulunmuştur. Dişi uygulama gruplarında %1 lik gruplarda azalma görülürken %10 luk gruplarda %1 lik gruplara göre artma tespit edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait ortalama yem tüketim miktarları Çizelge 4. 4 ve Şekil 4. 4 de verilmiştir.

Çizelge 4. 4. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan sıçanların deney süresince ortalama yem tüketim miktarı (gr)

	Erkek		Dişi	
	1 ay	3 ay	1 ay	3 ay
<b>Kontrol</b>	<b>104</b>	<b>104</b>	<b>77</b>	<b>73</b>
<b>%1 Roundup</b>	<b>102</b>	<b>104</b>	<b>76</b>	<b>66</b>
<b>%10 Roundup</b>	<b>107</b>	<b>101</b>	<b>78</b>	<b>73</b>

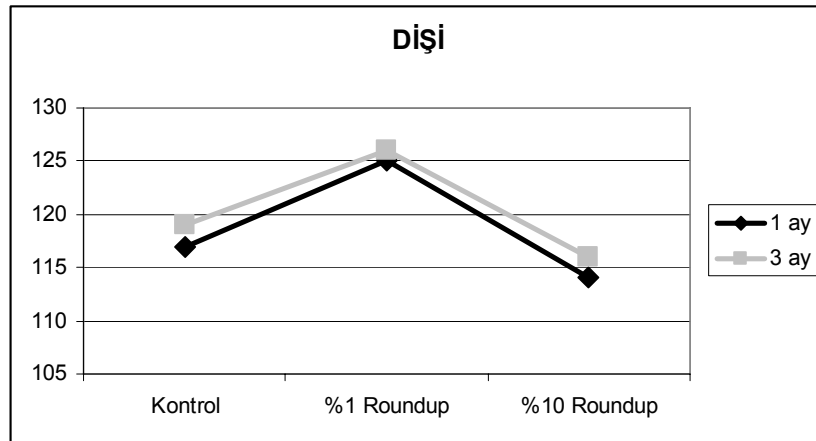
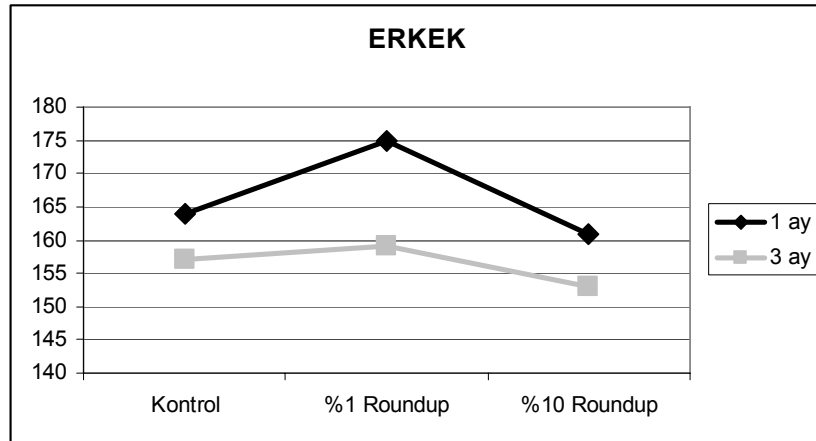


Şekil 4. 4. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların ortalama yem tüketimi miktarları (gr)

Roundup® uygulanan 1 ay %1 lik erkek sıçanların su tüketiminde artış, %10 luk erkek sıçanlarda azalma görülmüştür. 3 aylık uygulama grubu erkek sıçanlarda da benzer bir dalgalanma görülmüştür. Dişi sıçanların her iki doz ve sürede de benzer bir tablo sergilediği belirlenmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait ortalama su tüketim miktarları Çizelge 4. 5 ve şekil 4. 5 te verilmiştir.

Çizelge 4. 5. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan sıçanların deney süresince ortalama su tüketimi miktarları (ml)

	Erkek		Dişi	
	1 ay	3 ay	1 ay	3 ay
<b>Kontrol</b>	<b>164</b>	<b>157</b>	<b>117</b>	<b>119</b>
<b>%1 Roundup</b>	<b>175</b>	<b>159</b>	<b>125</b>	<b>126</b>
<b>%10 Roundup</b>	<b>161</b>	<b>153</b>	<b>114</b>	<b>116</b>



Şekil 4. 5. Kontrol, %1, %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların 1 ve 3 aylık ortalama su tüketimi miktarları (ml)

### **4. 3. Doku Ağırlığı / Vücut Ağırlığı İlişkisi**

Deney süresince uygulanan %1 ve %10'luk Roundup®'ın sıçan organ ağırlığında değişikliğe yol açıp açmadığının tespiti için ölçülen karaciğer, böbrek, dalak ve kalp ağırlıkları Çizelge 4. 6 da, doku ağırlıklarının vücut ağırlığına oranı Çizelge 4. 7 de verilmiştir. Çizelge 4. 7 de verilen doku ağırlığı/ vücut ağırlığı referans değerlere uygun bulunmuştur.

Çizelge 4. 6 incelendiğinde %1 bir ay, %1 ve %10 üç aylık erkek sıçan karaciğerlerinde kontrole göre büyüme, dişilerde ise %10 bir aylık uygulama grubunda artış, 3 aylık uygulama gruplarında azalma bulunmuştur. Böbrek, dalak, kalp ağırlıklarında değişimler görülse de istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler saptanmamıştır.

Çizelge 4. 6. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların doku ağırlıkları ve vücut ağırlıkları (gr)

			KARACİĞER	BÖBREK	DALAK	KALP	VÜCUT AĞIRLIĞI
	Kontrol	Erkek	8,47±1,15	0,91±0,13	0,69±0,07	0,79±0,09	250,60±30,66
		Dişi	6,53±1,15	0,63±0,03	0,46±0,07	0,61±0,08	167,20±16,87
1 Ay	%1 Roundup	Erkek	9,09±0,78	0,91±0,05	0,73±0,13	0,80±0,06	260,20±19,59
		Dişi	6,36±0,52	0,61±0,04	0,53±0,07	0,61±0,04	217,40±15,13
	%10 Roundup	Erkek	7,98±0,38	0,91±0,07	0,67±0,10	0,79±0,07	256,20±18,47
		Dişi	7,50±0,31	0,73±0,07	0,64±0,11	0,64±0,02	177,20±26,05
3 Ay	%1 Roundup	Erkek	9,98±0,76	1,05±0,10	0,68±0,14	0,84±0,02	303,80±11,23
		Dişi	5,85±0,54	0,61±0,04	0,39±0,04	0,59±0,07	174,60±9,86
	%10 Roundup	Erkek	10,77±1,47	1,03±0,13	0,61±0,13	0,84±0,07	300,80±32,45
		Dişi	6,02±0,44	0,67±0,05	0,49±0,05	0,60±0,07	186,00±11,05

Çizelge 4. 7. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların doku ağırlıklarının vücut ağırlıklarına (gr / gr) oranları

			KARACİĞER	BÖBREK	DALAK	KALP
Kontrol	Erkek		0.034	0.004	0.003	0.003
	Dişi		0.039	0.004	0.003	0.004
1 Ay	%1 Roundup	Erkek	0.034	0.003	0.003	0.003
		Dişi	0.030	0.003	0.003	0.003
	%10 Roundup	Erkek	0.031	0.003	0.003	0.003
		Dişi	0.042	0.004	0.003	0.004
3 Ay	%1 Roundup	Erkek	0.033	0.003	0.002	0.003
		Dişi	0.033	0.003	0.002	0.003
	%10 Roundup	Erkek	0.036	0.003	0.002	0.003
		Dişi	0.033	0.004	0.003	0.003
REFERANS DEĞERLERİ*						
			0.03	0.004	0.002	0.004

\* Waynfort ve Flecknell (1994)

#### 4. 4. Serum Enzim Değerleri

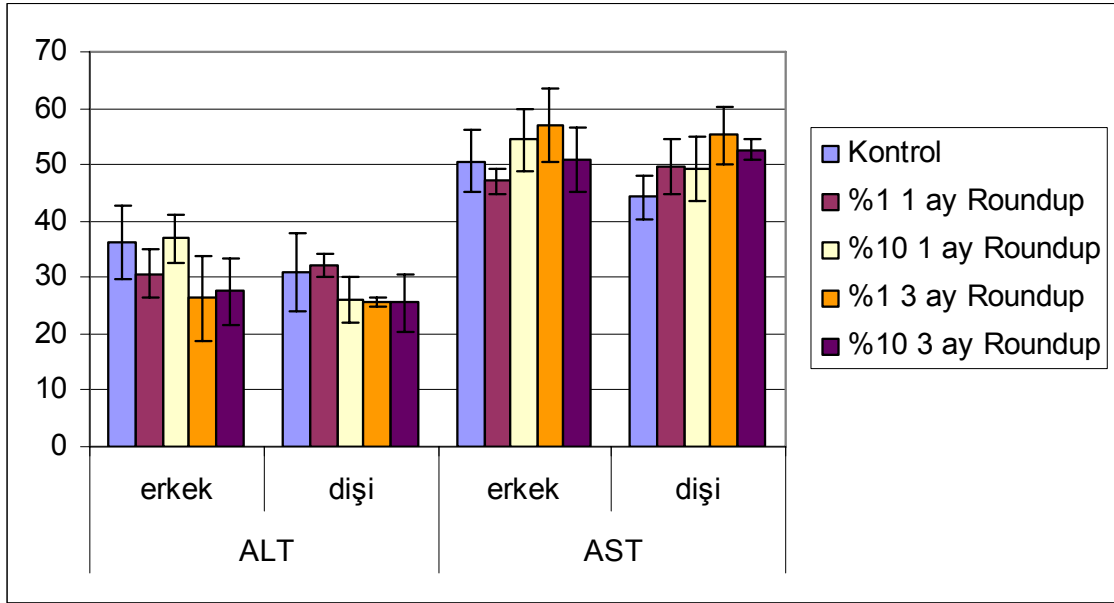
Kontrol, %1 ve %10 Roundup® uygulamasının serumda enzim kitleri kullanılarak elde edilen değerler izelge 4. 8 ve Şekil 4. 6, 4. 7, 4. 8, 4. 9, 4. 10. 4. 11 de verilmiştir.

Çizelge 4. 8 incelendiğinde %1 bir ay, %1 ve %10 üç aylık uygulama gruplarına ait erkek sıçanların ALT aktivitesinde azalma tespit edilmiştir. %10 bir ay, %1 ve %10 üç aylık uygulama gruplarına ait dişi sıçanların ALT miktarlarında azalma tespit edilmiştir. AST aktivitesinde ise %1 bir aylık erkek sıçan uygulama grubu dışındaki gruplarda artış; %10 bir ay dişi sıçan uygulama grubu dışındaki gruplarda da artış tespit edilmiştir. LDL aktivitesi erkek sıçanların üç aylık uygulama gruplarında artış, dişilerde bir aylık uygulamalarda azalma; üç aylık uygulamalarda artış görölmüştür. HDL aktivitesi bir aylık erkek uygulama gruplarında azalmış, üç aylık erkek uygulama gruplarında artmıştır. Dişilerde ise tüm uygulama gruplarında artma saptanmıştır. Total kolesterol erkek sıçanlarda %1 lik uygulama gruplarında hem bir ay hem de üç ayda azalırken %10 luk gruplarda artmıştır. Dişi sıçanlarda ise %1 bir ay ve %10 üç aylık gruplarda azalırken %10 bir ay ve %1 üç aylık gruplarda artmıştır. LDH aktivitesi tüm gruplarda artış göstermiştir. Kreatinin değerlerinde erkek ve dişi sıçanlar benzer artış ve azalma göstermiştir. %10 bir ay ve %1 üç aylık gruplar artış gösterirken %10 üç ay grupları azalmıştır. Değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

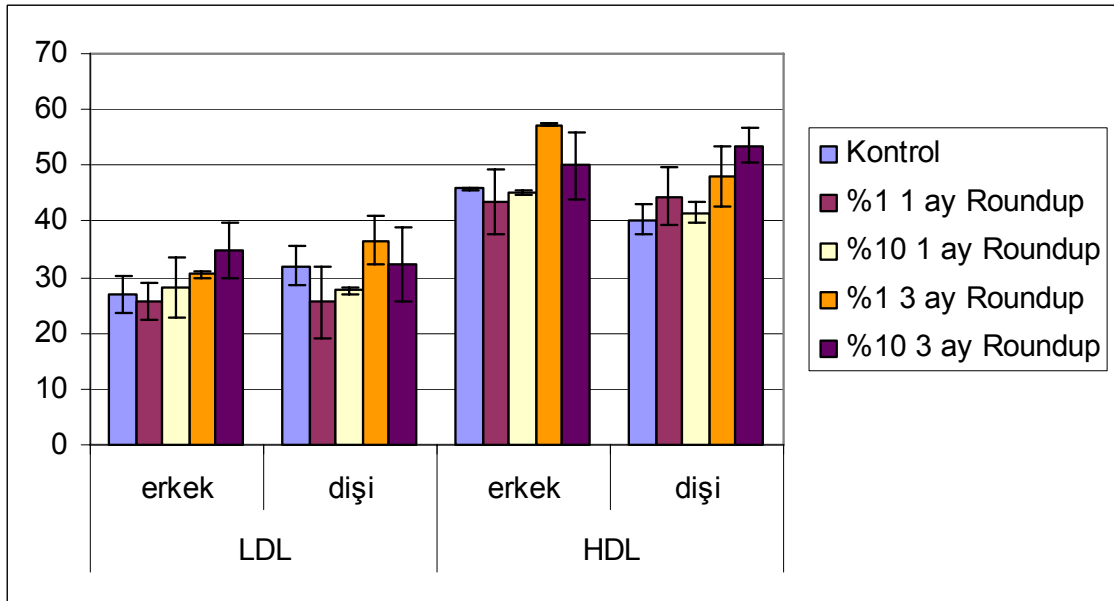
Çizelge 4. 8. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serum analiz sonuçları

			ALT (IU/L)	AST (IU/L)	LDH (IU/L)	LDL mg/dl	HDL mg/dl	T. KOL. mg/dl	Kreatinin (mg/dl)
	Kontrol	♂	36,1±6,5	50,5±5,5	501,4±67,5	26,9±3,25	45,8±0,25	44,6±5,1	0,44±0,09
		♀	31,0±6,8	44,3±3,9	561,8±69,4	32,0±3,45	40,3±2,65	40,3±3,6	0,39±0,08
1 ay	%1 Roundup	♂	30,7±4,1	47,1±2,2	567,7±66,7	25,7±3,5	43,6±5,8	46,3±2,5	0,45±0,06
		♀	32,2±2,1	49,5±4,9	645,5±66,4	25,5±6,3	44,5±5,2	47,4±1,0	0,40±0,00
	%10 Roundup	♂	36,9±4,4	54,4±5,5	539,4±64,7	28,2±5,3	45,1±0,5	46,2±2,3	0,48±0,04
		♀	26,2±4,1	49,2±5,8	573,8±61,5	27,6±0,5	41,5±1,9	43,0±5,3	0,48±0,04
3 ay	%1 Roundup	♂	26,3±7,5	56,9±6,4	684,4±63,1	30,5±0,7	57,3±0,3	42,9±1,6	0,50±0,12
		♀	25,5±0,8	55,2±5,1	690,0±68,6	36,5±4,3	48,1±5,4	46,6±5,2	0,43±0,10
	%10 Roundup	♂	27,5±5,9	50,9±5,6	605,7±60,8	34,7±5,0	50,0±5,9	46,9±3,4	0,40±0,07
		♀	25,5±5,1	52,6±1,8	568,4±69,9	32,4±6,6	53,6±3,0	48,8±5,4	0,30±0,0
<b>Sıçan referans Değerleri**</b>									
			<b>26-37</b>	<b>40-53</b>	<b>63-573</b>	<b>27.2</b>	<b>20-54</b>	<b>36-100</b>	<b>0.5-1.4</b>

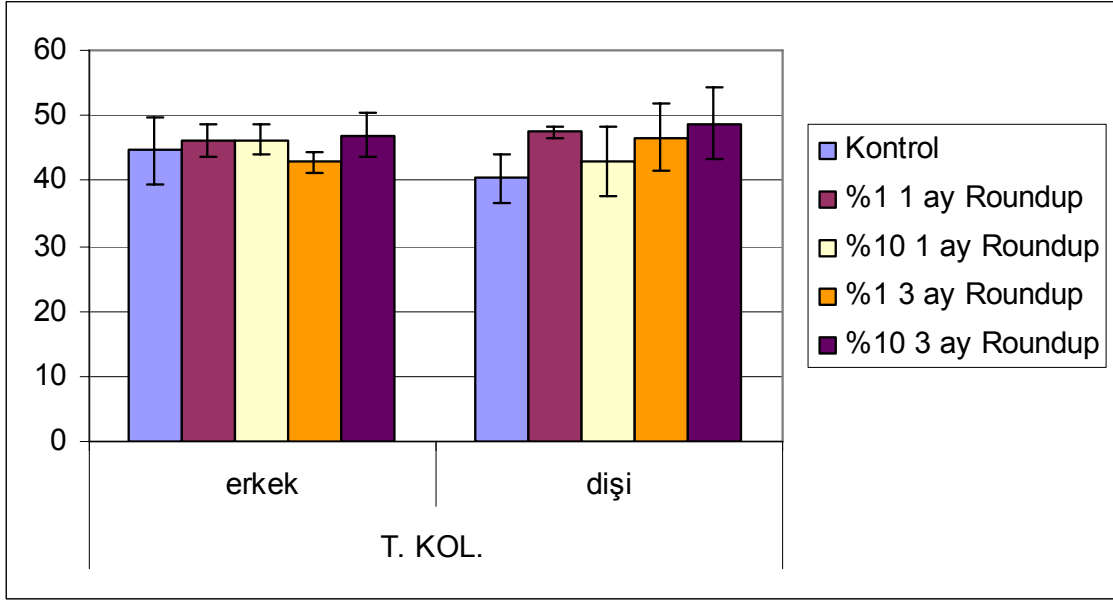
\*\*Thrall (2004).



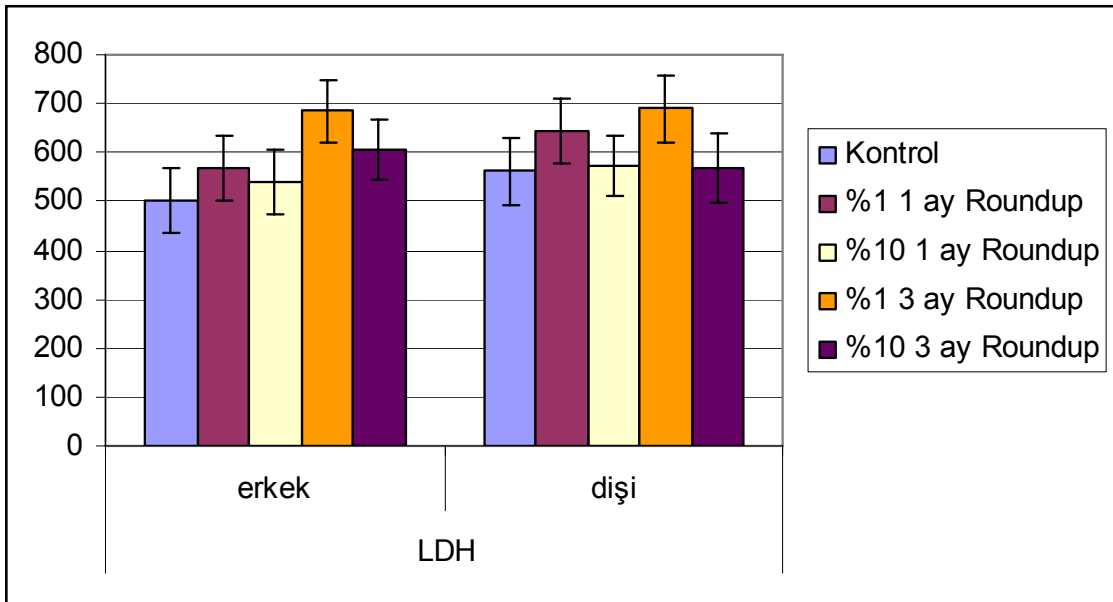
Şekil 4. 6. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki ALT ve AST (IU/L) değerleri



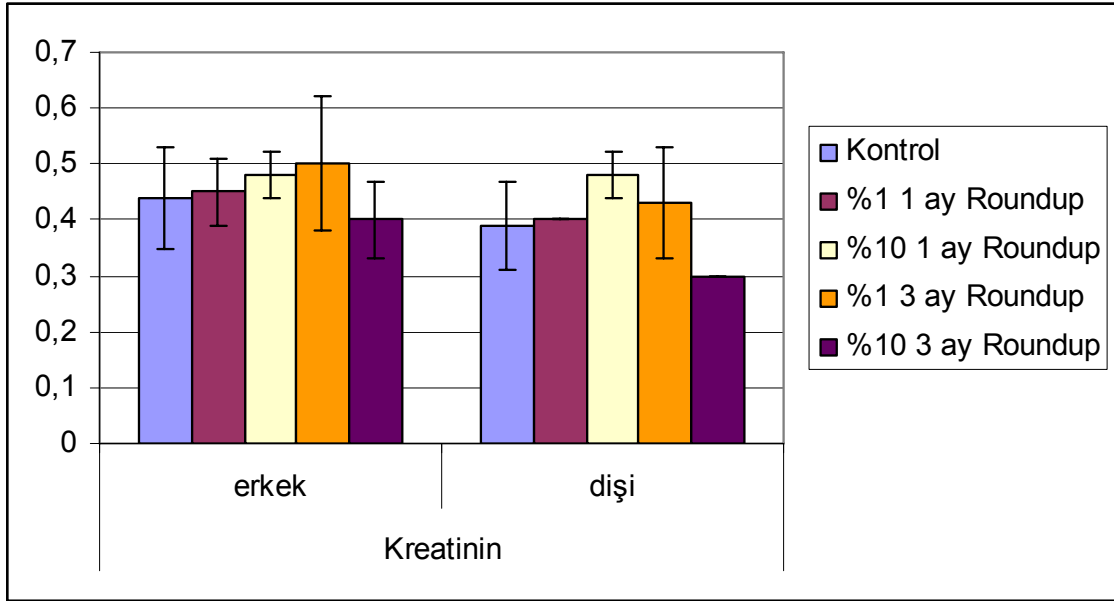
Şekil 4. 7. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki LDL ve HDL (mg/dl) değerleri



Şekil 4. 8. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki T. KOL (mg/dl) değerleri



Şekil 4. 9. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki LDH (IU/L) değerleri

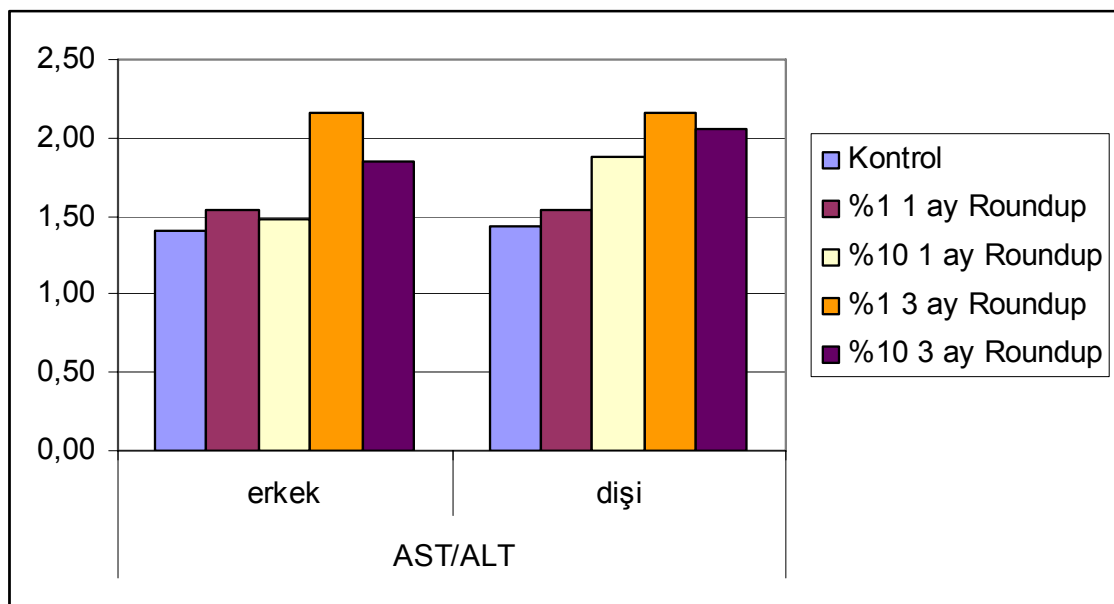


Şekil 4. 10. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların serumlarındaki kreatinin (mg/dl) değerleri

Çizelge 4. 9. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan sıçanların AST/ALT değerleri

	AST/ALT			AST/ALT	
	Kontrol	AST/ALT		Kontrol	AST/ALT
Erkek	Kontrol	1,40	Dişi	Kontrol	1,43
	%1 1 ay Roundup	1,53		%1 1 ay Roundup	1,54
	%10 1 ay Roundup	1,47		%10 1 ay Roundup	1,68
	%1 3 ay Roundup	2,16*		%1 3 ay Roundup	2,16*
	%10 3 ay Roundup	1,85*		%10 3 ay Roundup	2,06*

\* Kontrol grubundan  $p < 0.05$  seviyesinde göre istatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 11. Kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların AST/ALT değerleri

Üç ay süre ile %1 ve %10 Roundup® uygulanan erkek ve dişi sıçanlarda ve %1 bir ay Roundup® uygulanan dişi sıçanlarda kontrole göre AST/ALT değerlerinde artış olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.9, Şekil 4.10). Üç ay süre ile %1 ve %10 Roundup® uygulanan erkek ve dişi sıçanlarda sadece  $p<0.05$  seviyesinde göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

#### **4. 5. Hematolojik İncelemeler**

Kontrol, %1 ve %10 Roundup® uygulanan sıçanların kan hücreleri, hemoglobin, hemotokrit ve diğer kan sayımı sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4. 10 ve 4. 11 de verilmiştir. Çizelgeler incelendiğinde kontrol ve Roundup® uygulama gruplarında lökosit, eritrosit, yüzde lenfosit, yüzde granülosit oranlarında önemli değişimler saptanmamıştır. Parametreler de görülen değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çizelge 4.10. 1 ay süre ile kontrol, %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların kan parametreleri

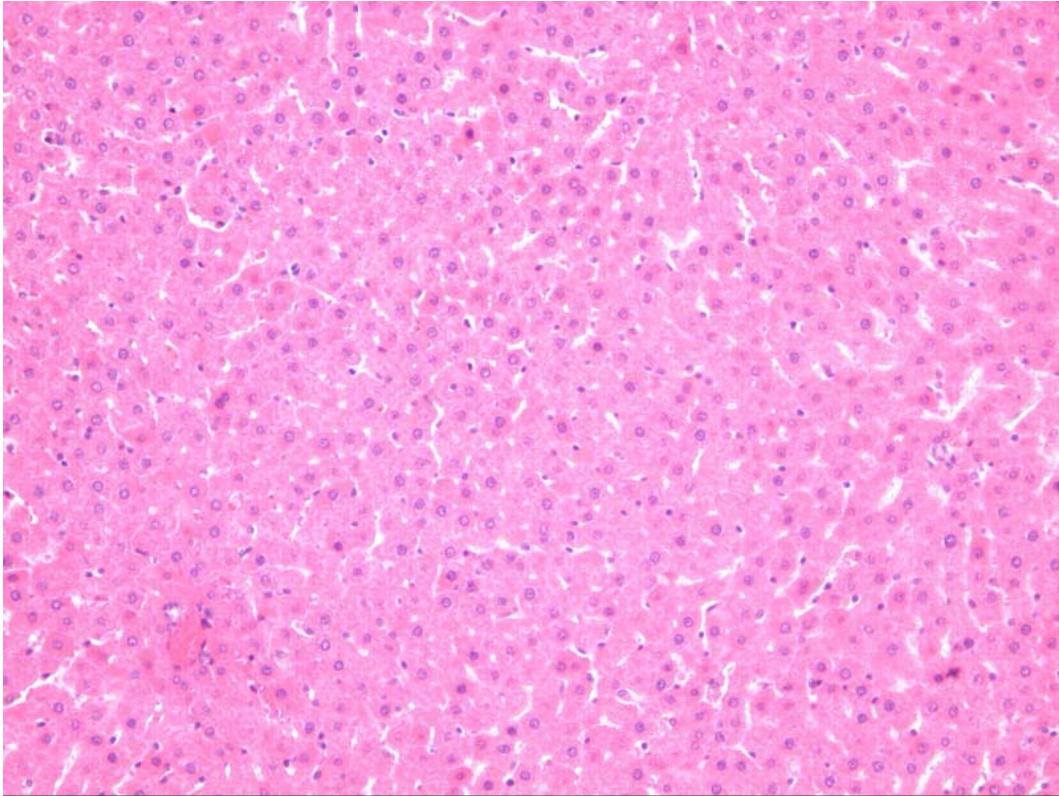
	1 Ay					
	Kontrol		%1 Roundup		%10 Roundup	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
WBC	9,44 ±1,20	6,66 ±0,84	8,68 ±1,35	6,76 ±1,03	8,32 ±0,89	6,57 ±1,21
LYM%	86,18 ±2,58	84,83 ±0,72	83,52 ±2,51	86,08 ±2,48	82,76 ±3,63	86,54 ±3,96
MON%	4,72 ±0,81	5,57 ±1,07	5,52 ±1,15	5,22 ±0,89	5,6 ±1,02	4,94 ±1,25
NGR%	6,62 ±1,88	6,97 ±0,75	7,42 ±1,82	5,5 ±1,40	8,5 ±1,47	5,22 ±1,09
RBC	7,92 ±0,62	7,1 ±0,40	7,8 ±0,64	7,22 ±0,47	8,0 ±0,44	7,0 ±0,22
MCV	52,96 ±1,89	55,8 ±3,31	56,86 ±2,12	50,46 ±1,96	54,6 ±2,24	49,44 ±1,92
HCT	41,88 ±2,73	39,53 ±0,25	38,48 ±2,76	36,36 ±1,76	42,72 ±2,96	37,78 ±1,77
MCH	15,96 ±0,53	16,3 ±0,60	15,82 ±1,07	16,44 ±0,87	14,9 ±1,05	16,48 ±0,31
MCHC	30,14 ±0,93	29,27 ±1,75	33,82 ±2,03	32,64 ±1,57	29,64 ±1,83	32,78 ±0,77
HB	12,6 ±0,62	11,6 ±0,62	12,3 ±0,55	11,84 ±0,28	13,6 ±0,79	11,04 ±0,44
THR	764,6 ±43,6	770,67 ±66,1	703,8 ±47,6	823,0 ±41,7	748,0 ±35,1	721,2 ±55,0
MPV	6,34 ±0,98	5,1 ±0,10	6,12 ±1,25	5,46 ±0,18	6,12 ±0,83	5,6 ±1,28
PCT	0,32 ±0,16	0,37 ±0,06	0,46 ±0,23	0,38 ±0,05	0,38 ±0,29	0,37 ±0,16
PDW	9,2 ±1,19	7,6 ±0,26	10,32 ±1,66	8,4 ±0,59	9,54 ±1,46	9,4 ±1,6

Çizelge 4.11. 3 ay süre ile kontrol ve %1 ve %10 Roundup uygulanan erkek ve dişi sıçanların kan parametreleri

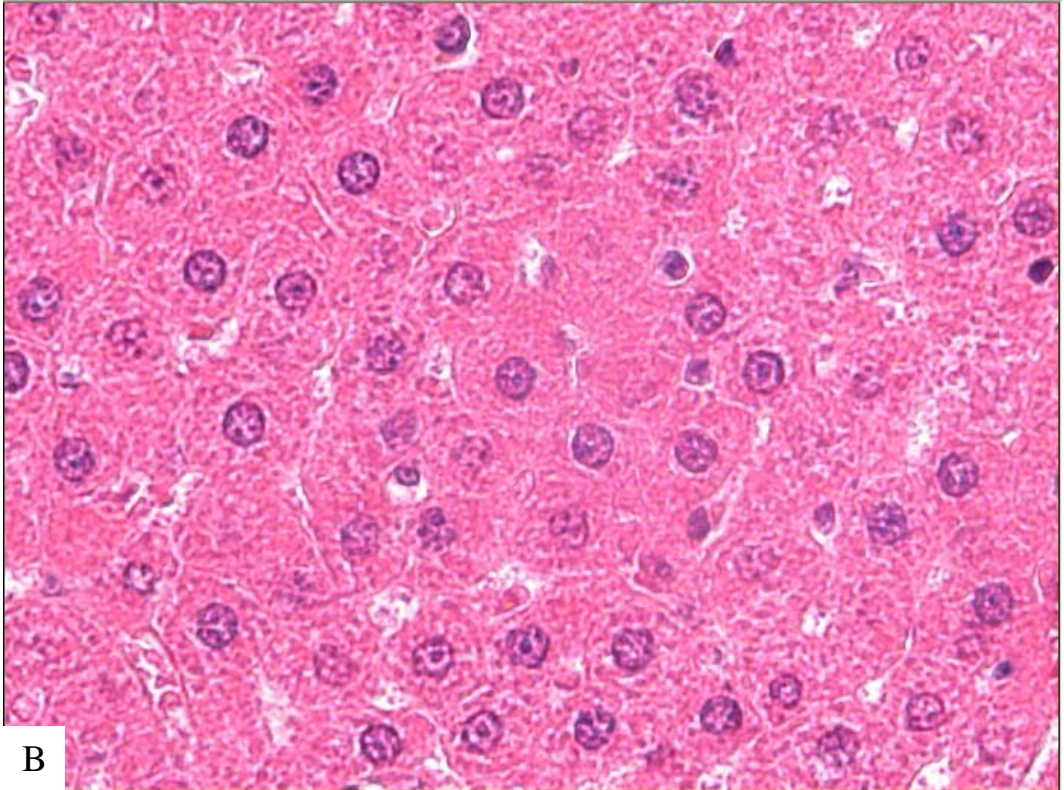
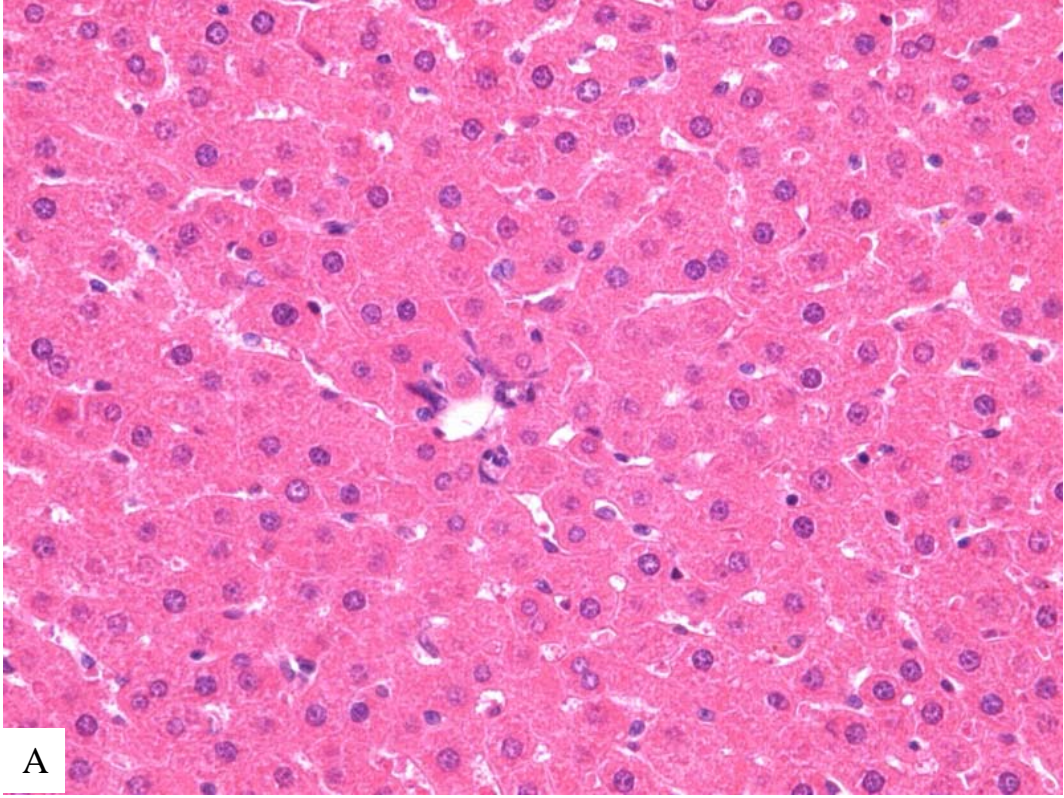
3 Ay						
	Kontrol		%1 Roundup		%10 Roundup	
	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi	Erkek	Dişi
WBC	9,44 ±1,20	6,66 ±0,84	9,58 ±0,04	6,68 ±0,45	9,90 ±1,45	6,41 ±0,73
LYM %	86,18 ±2,58	84,83 ±0,72	85,65 ±5,24	86,30 ±8,88	84,80 ±7,40	84,32 ±3,65
MON %	4,72 ±0,81	5,57 ±1,07	4,58 ±0,66	5,06 ±1,00	4,54 ±0,59	5,04 ±0,71
NGR %	6,62 ±1,88	6,97 ±0,75	7,38 ±5,74	6,64 ±8,12	7,76 ±7,25	7,24 ±3,34
RBC	7,92 ±0,62	7,1 ±0,40	7,77 ±0,58	7,27 ±0,38	7,72 ±0,56	7,53 ±0,10
MCV	52,96 ±1,89	55,8 ±3,31	53,58 ±1,61	56,40 ±1,25	54,34 ±1,06	55,20 ±1,96
HCT	41,88 ±2,73	39,53 ±0,25	41,67 ±3,82	39,44 ±2,38	41,92 ±3,08	39,28 ±0,69
MCH	15,96 ±0,53	16,3 ±0,60	15,90 ±0,39	16,38 ±0,36	15,88 ±0,54	15,95 ±0,48
MCHC	30,14 ±0,93	29,27 ±1,75	30,10 ±0,55	29,92 ±1,02	30,01 ±1,23	29,29 ±0,94
Hb	12,6 ±0,62	11,6 ±0,62	12,5 ±1,29	11,3 ±0,63	12,32 ±0,83	11,08 ±0,29
THR	764,6 ±43,6	770,67 ±66,1	754,75 ±42,0	779,80 ±40,4	796,20 ±54,3	783,20 ±39,8
MPV	6,34 ±0,98	5,1 ±0,10	6,54 ±0,29	5,14 ±0,31	6,4 ±0,10	5,12 ±0,37
PCT	0,32 ±0,16	0,37 ±0,06	0,39 ±0,26	0,39 ±0,04	0,42 ±0,23	0,40 ±0,16
PDW	9,2 ±1,19	7,6 ±0,26	7,78 ±0,63	6,82 ±0,37	7,34 ±0,18	7,54 ±0,96

#### 4. 6. Histolojik İncelemeler

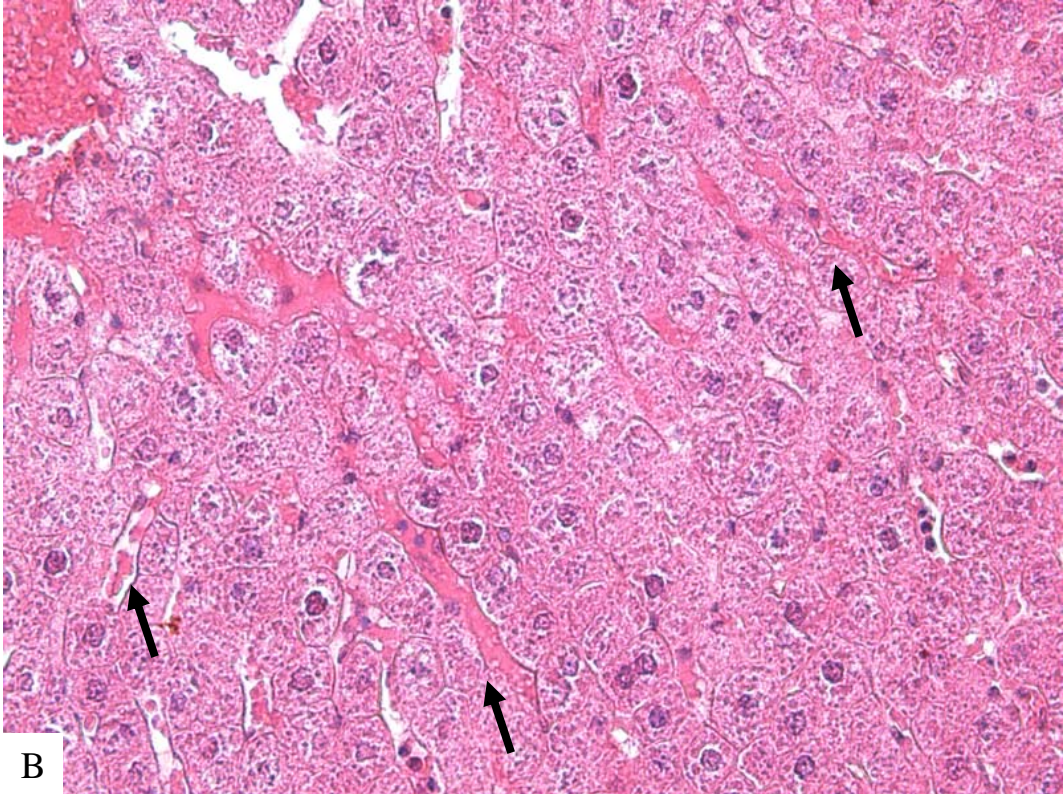
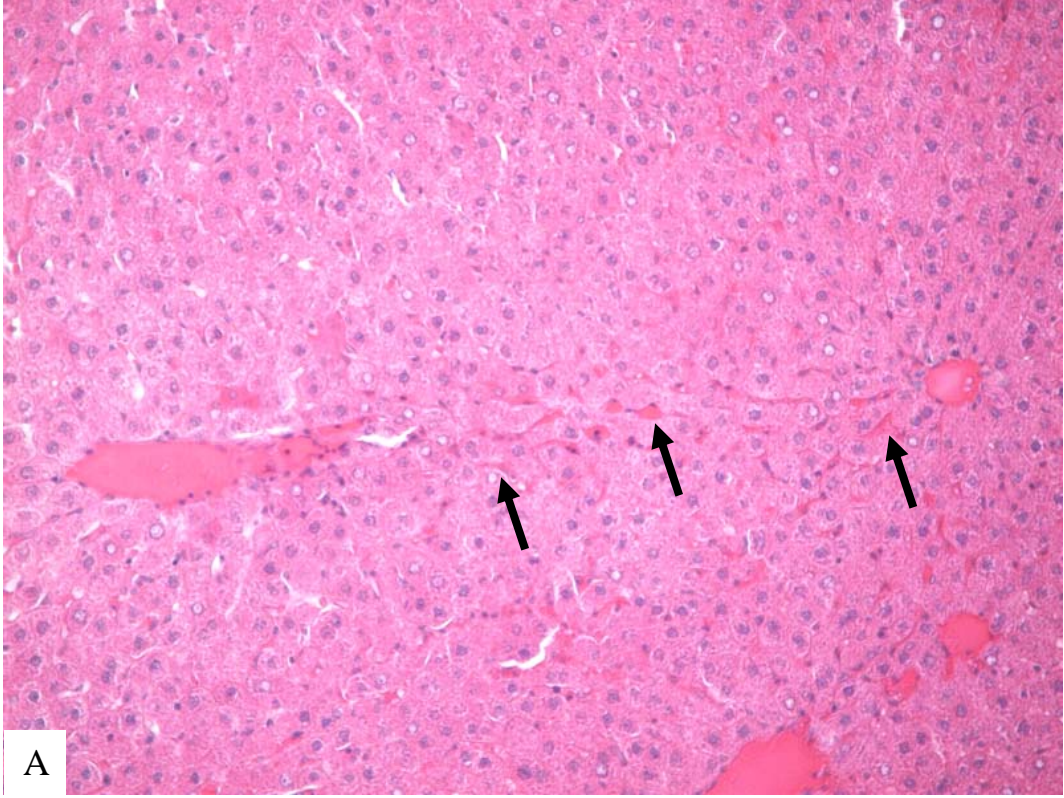
Karaciğer dokularının incelenmesi sonucunda; mononükleer hücre infiltrasyonu, konjesyon, apoptotik hepatositler ve hepatositlerde sitoplazmada erime en çok rastlanılan bulgulardır. Tüm uygulama gruplarında kontrol ile kıyaslandığında uygulamaya bağlı histopatolojik hasarlar ortaya çıkmıştır (Resim 4.1- 4.12). Tüm uygulama gruplarında görülen mononükleer hücre infiltrasyonu ve konjesyon uygulaması yapılan kimyasalın doku hasarına yol açtığını göstermektedir.



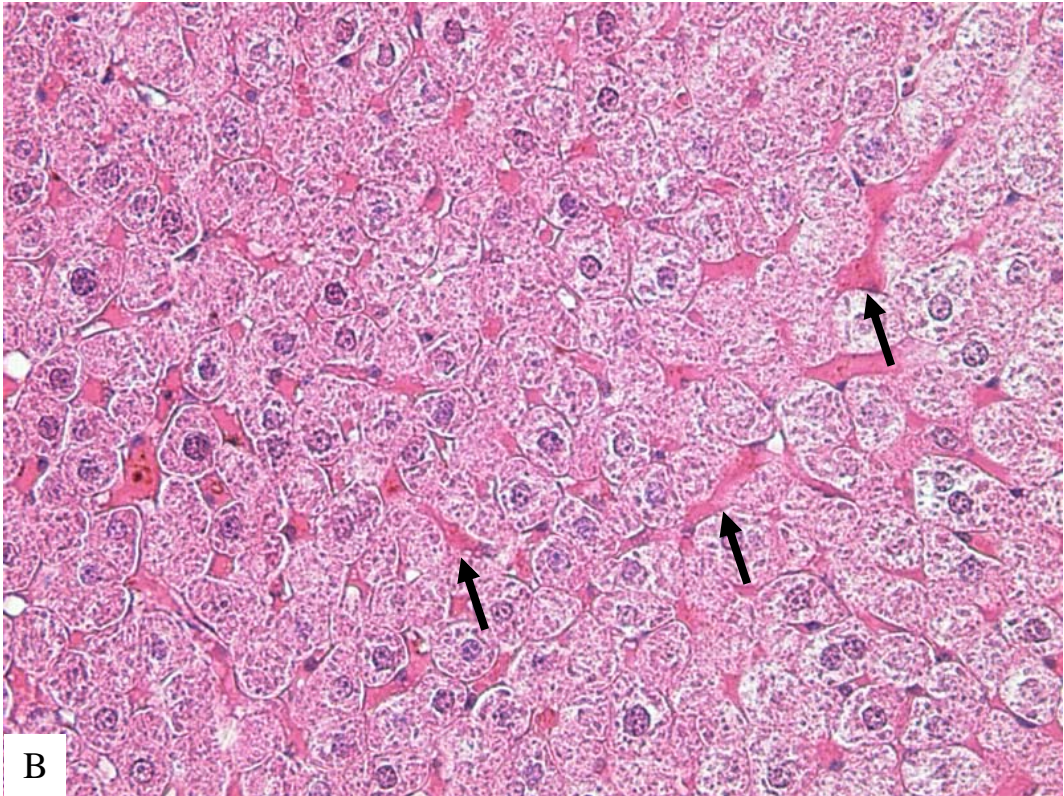
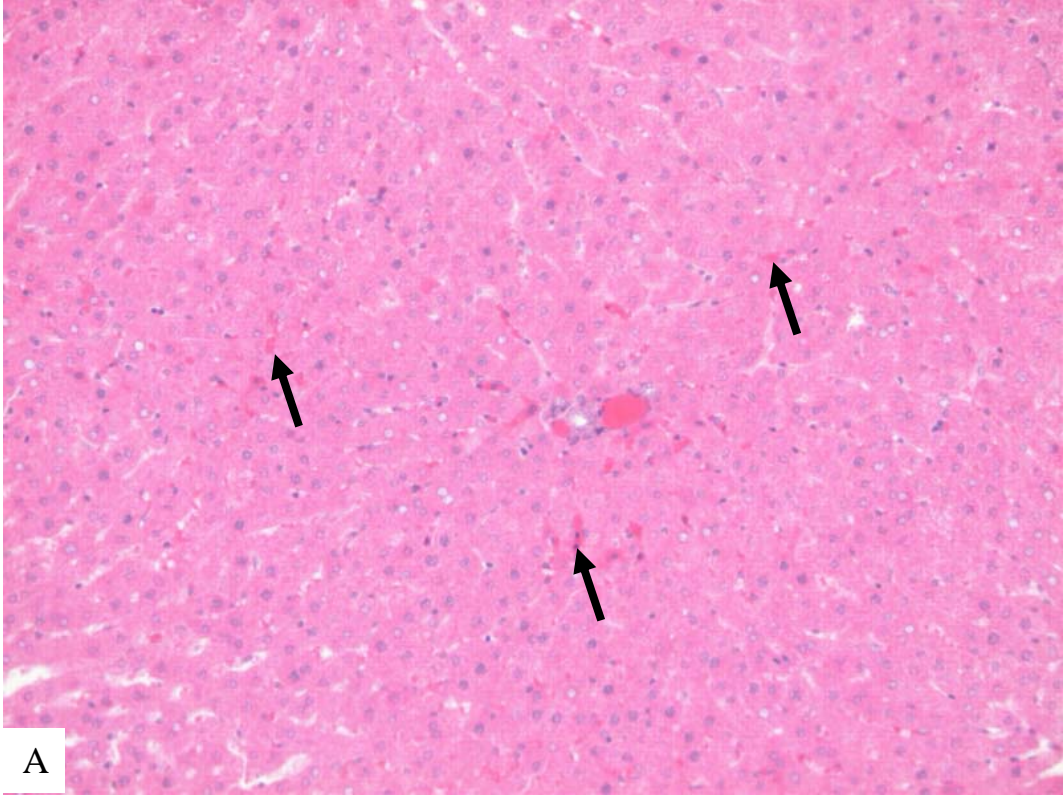
Resim 4. 1. Kontrol grubuna ait sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusu (100X)



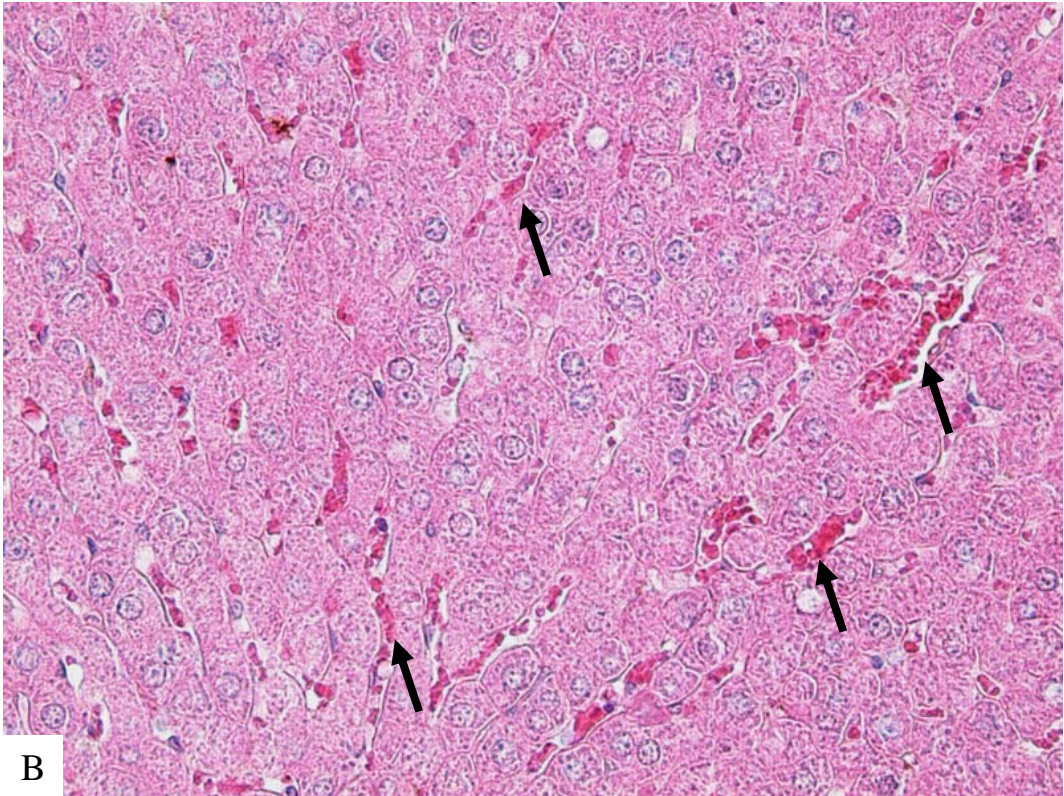
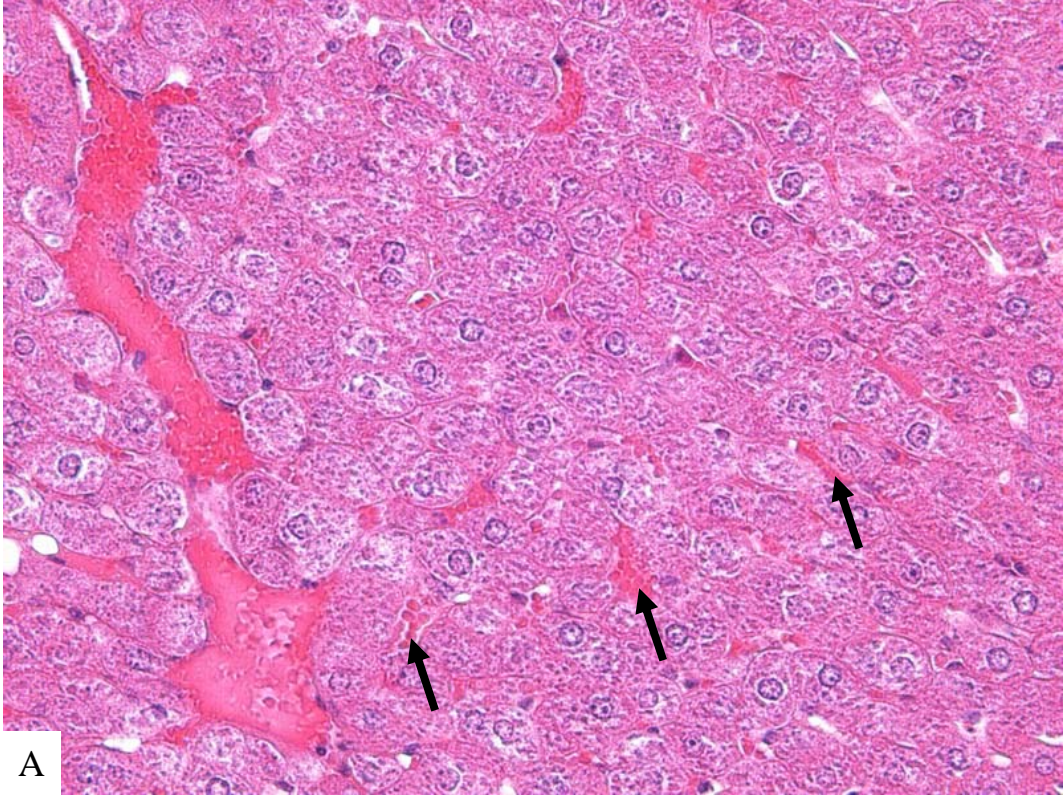
Resim 4. 2. Kontrol grubuna ait sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusu  
A- 200x ; B- 400x



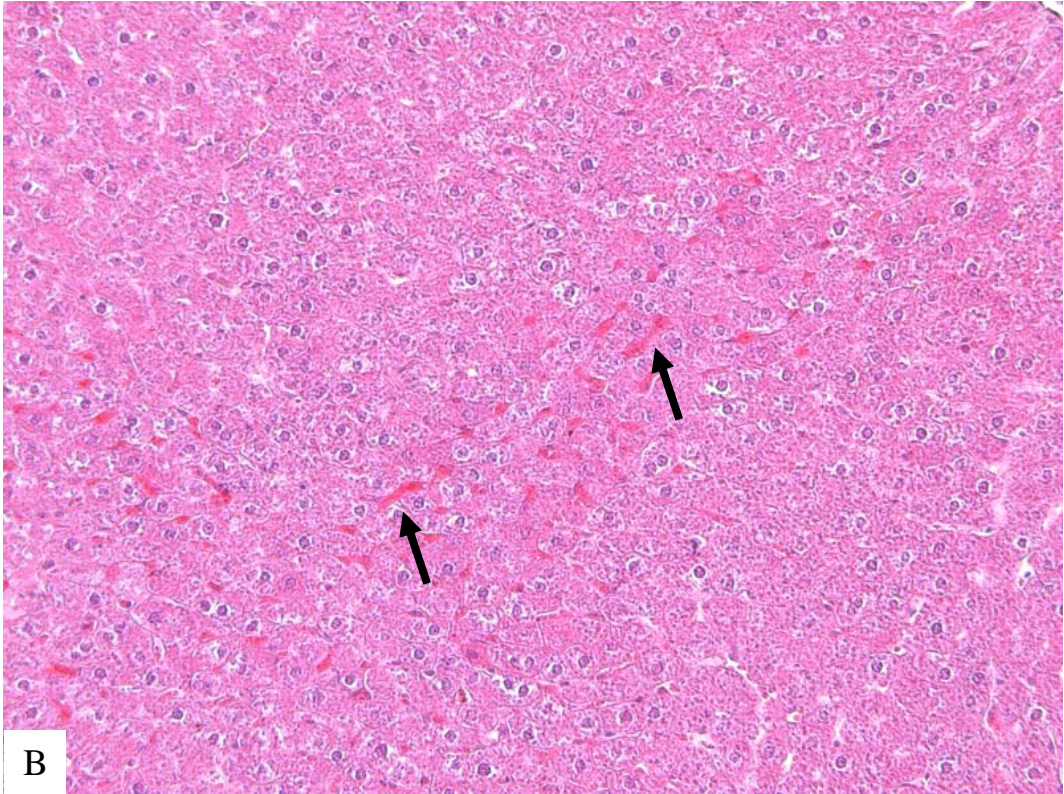
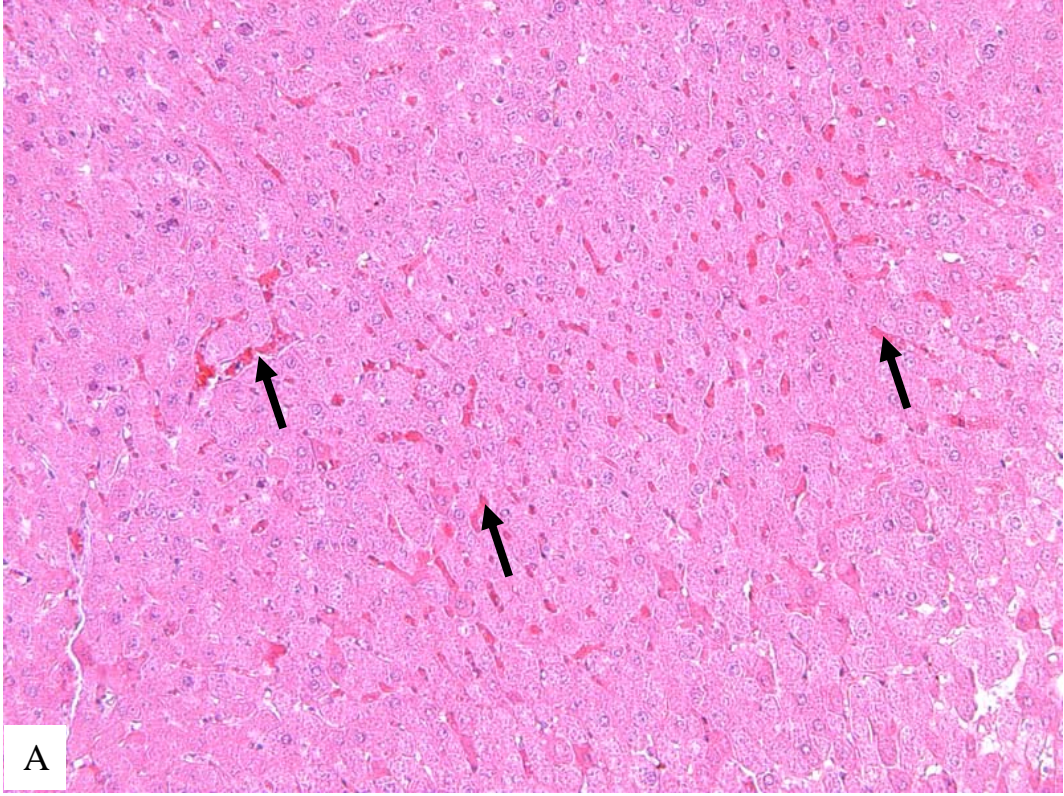
Resim 4. 3. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) B- 1 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x)



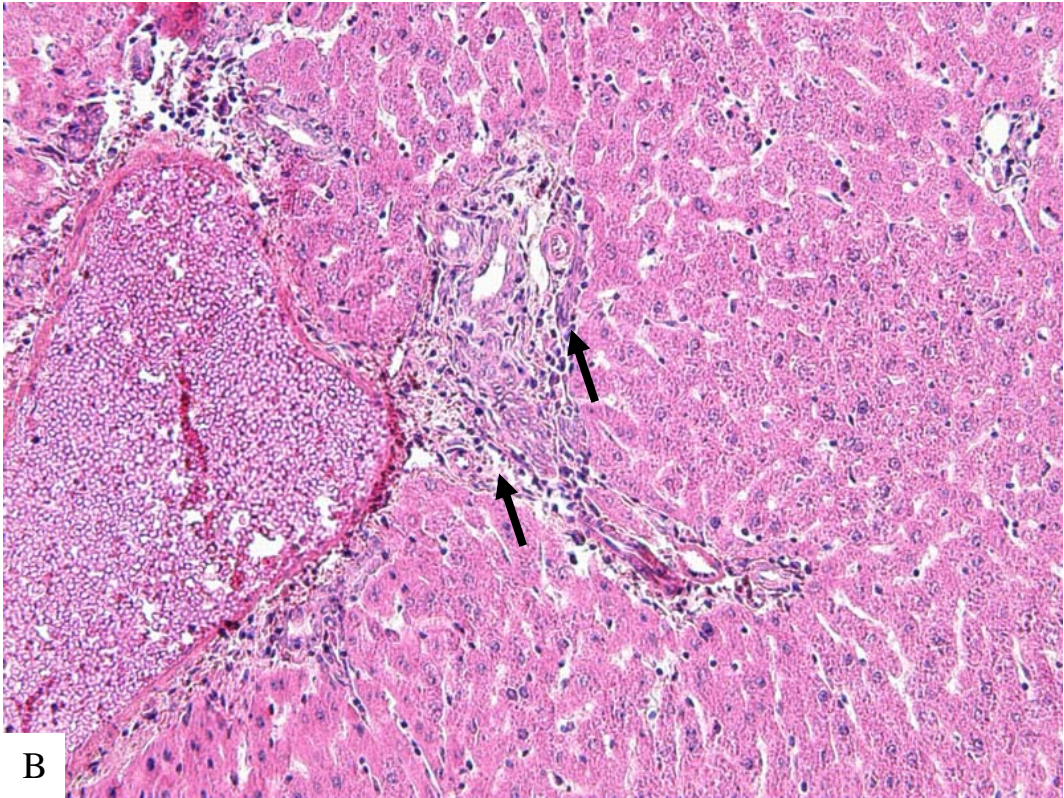
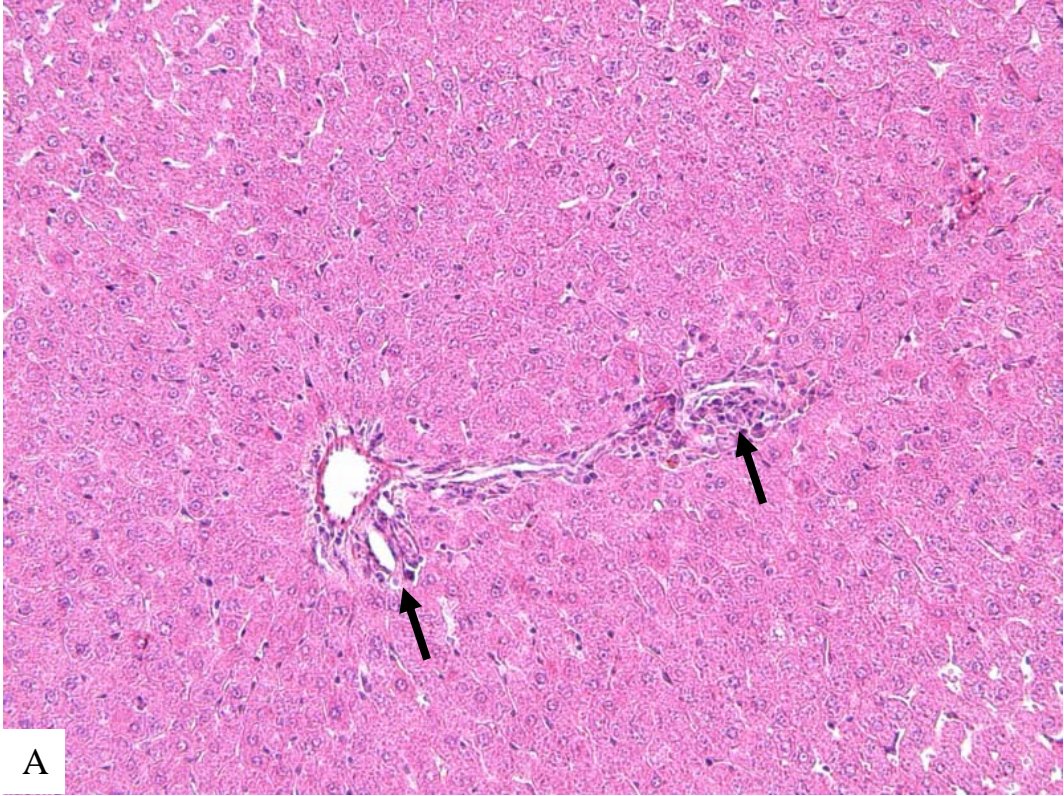
Resim 4. 4. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) B- 1 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x)



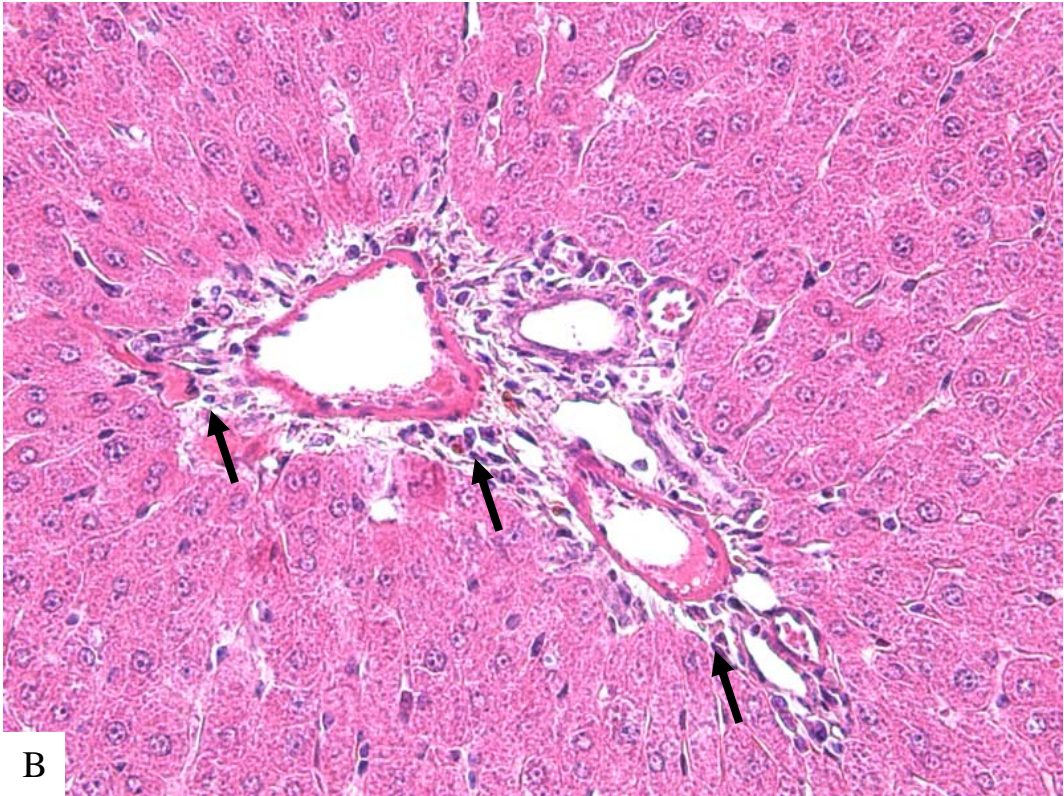
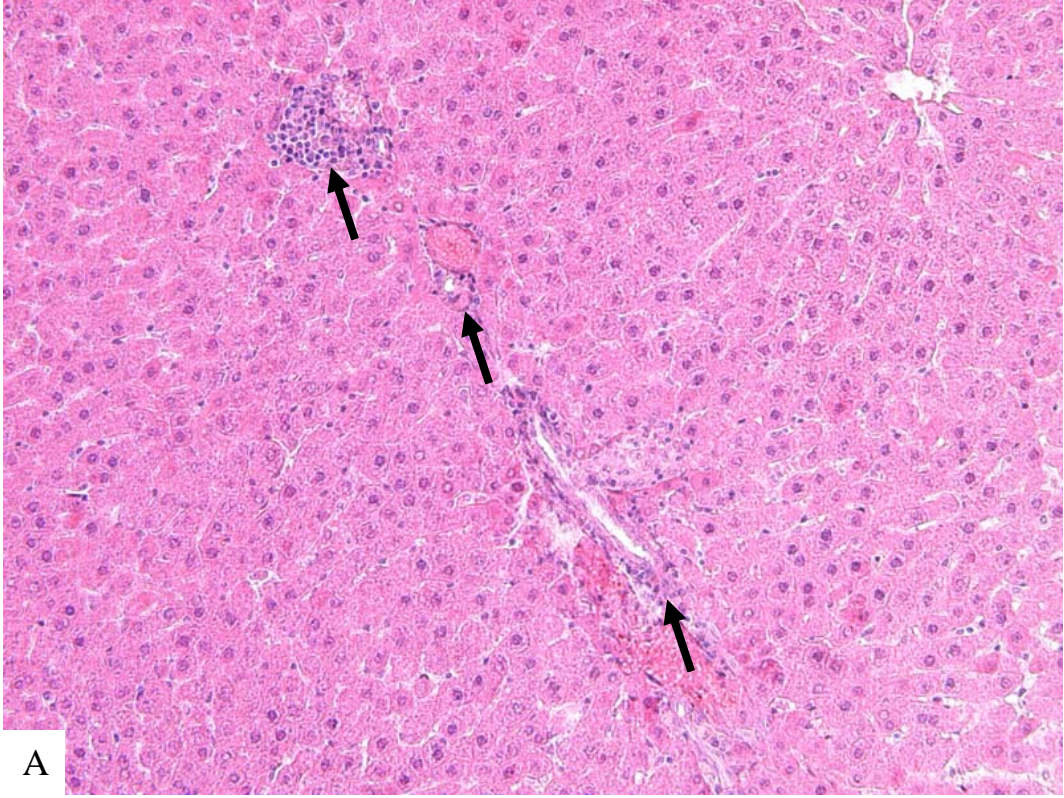
Resim 4. 5. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (200x)



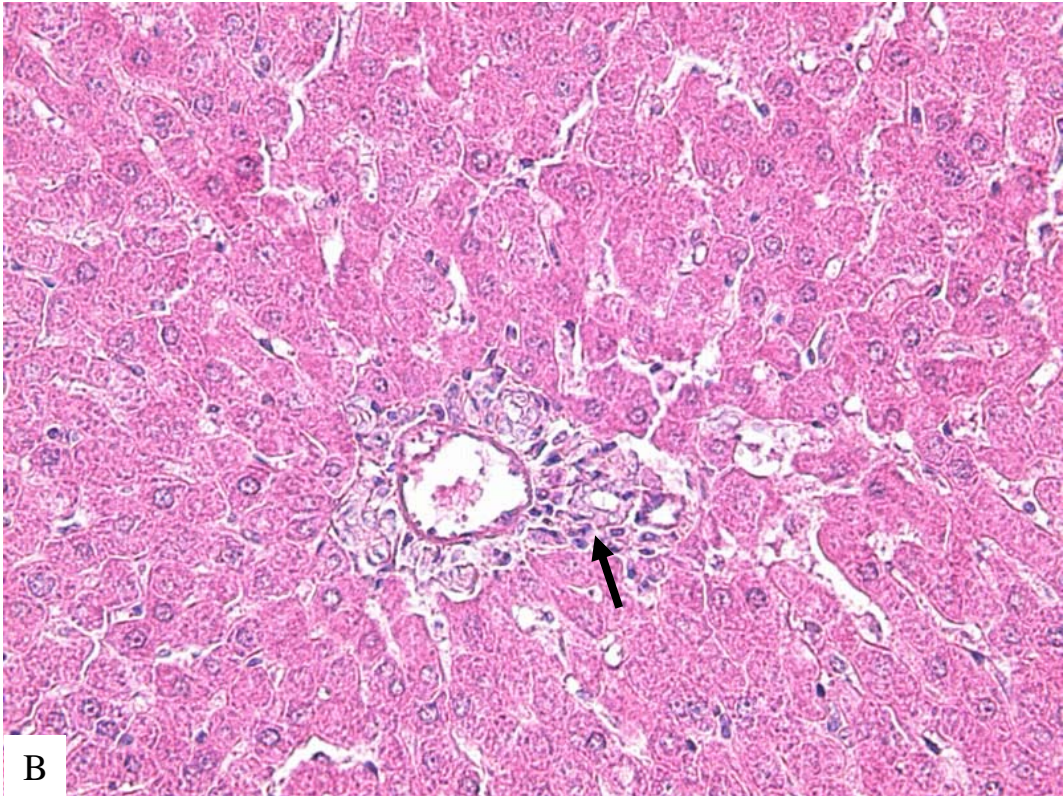
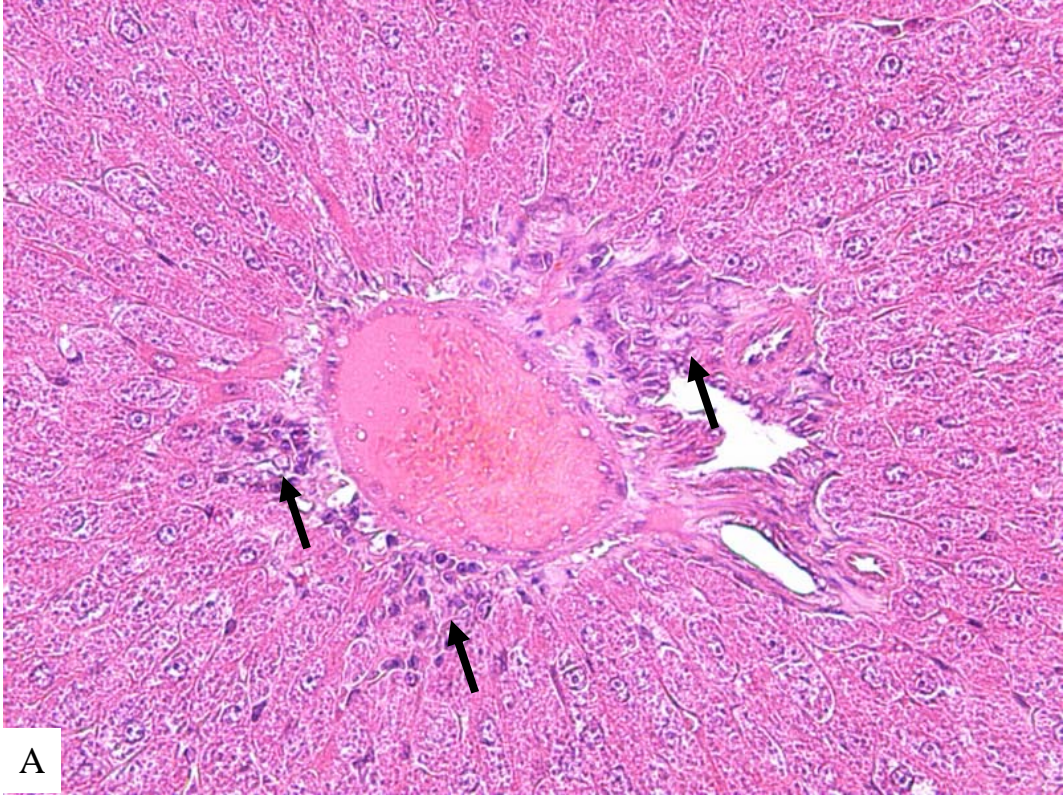
Resim 4. 6. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda konjesyon (100x)



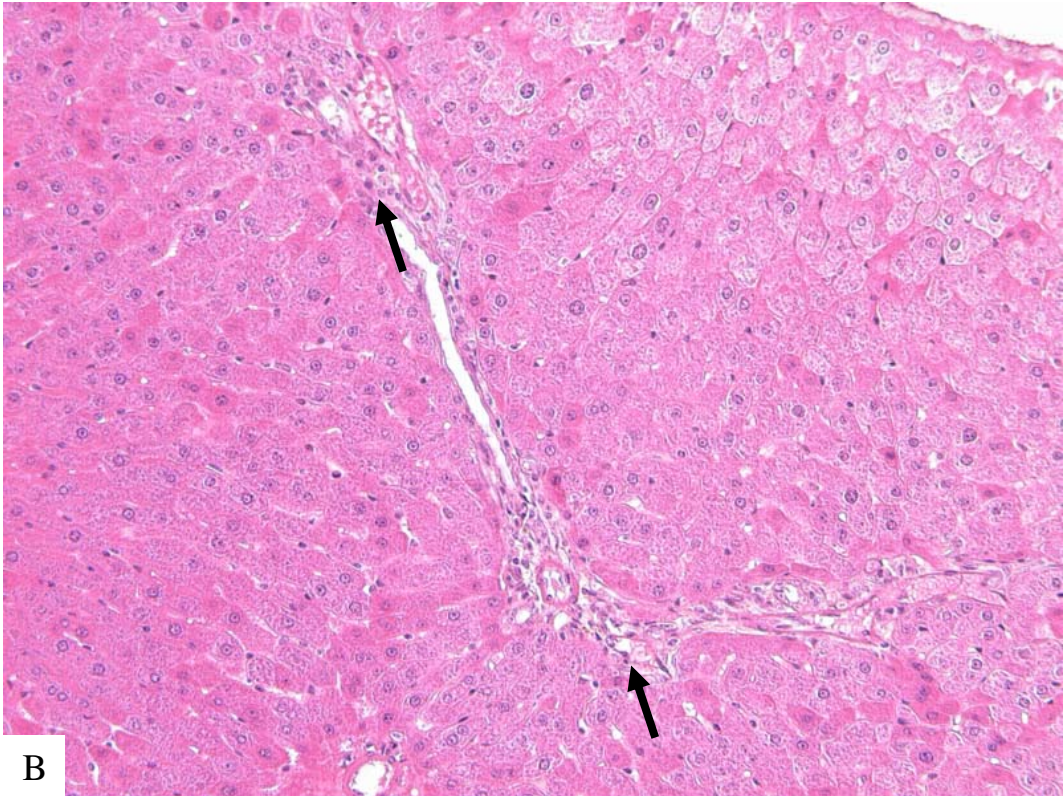
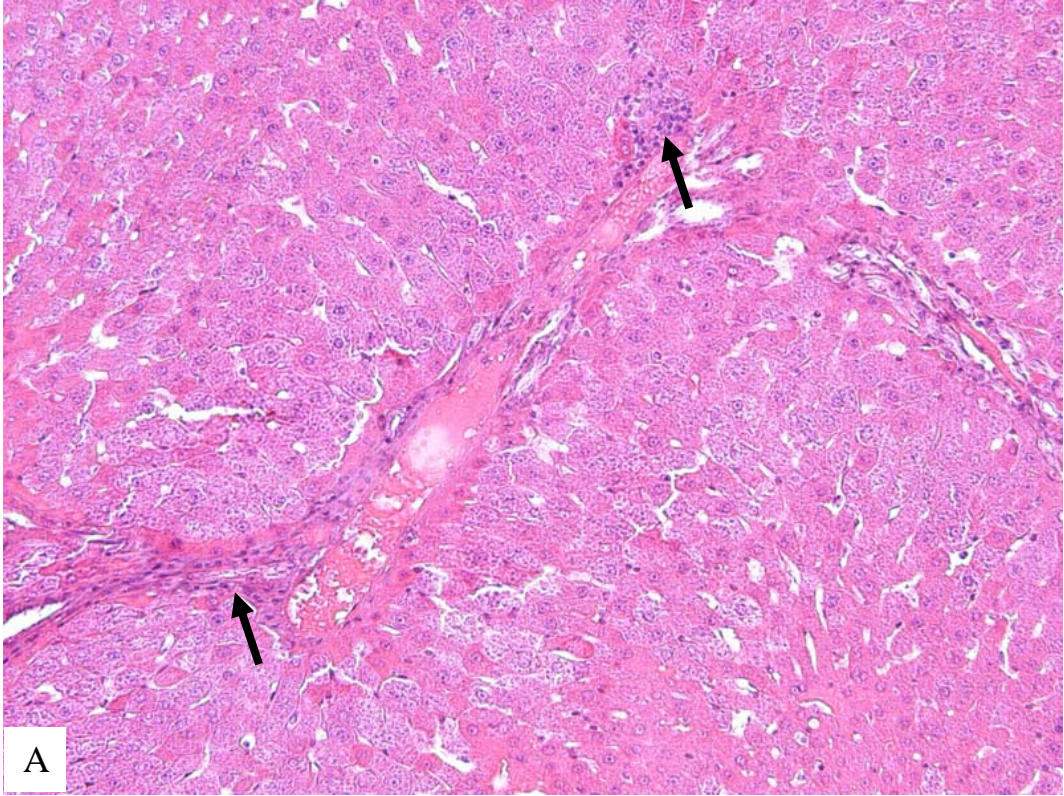
Resim 4. 7. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (100x) B- 1 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (100x)



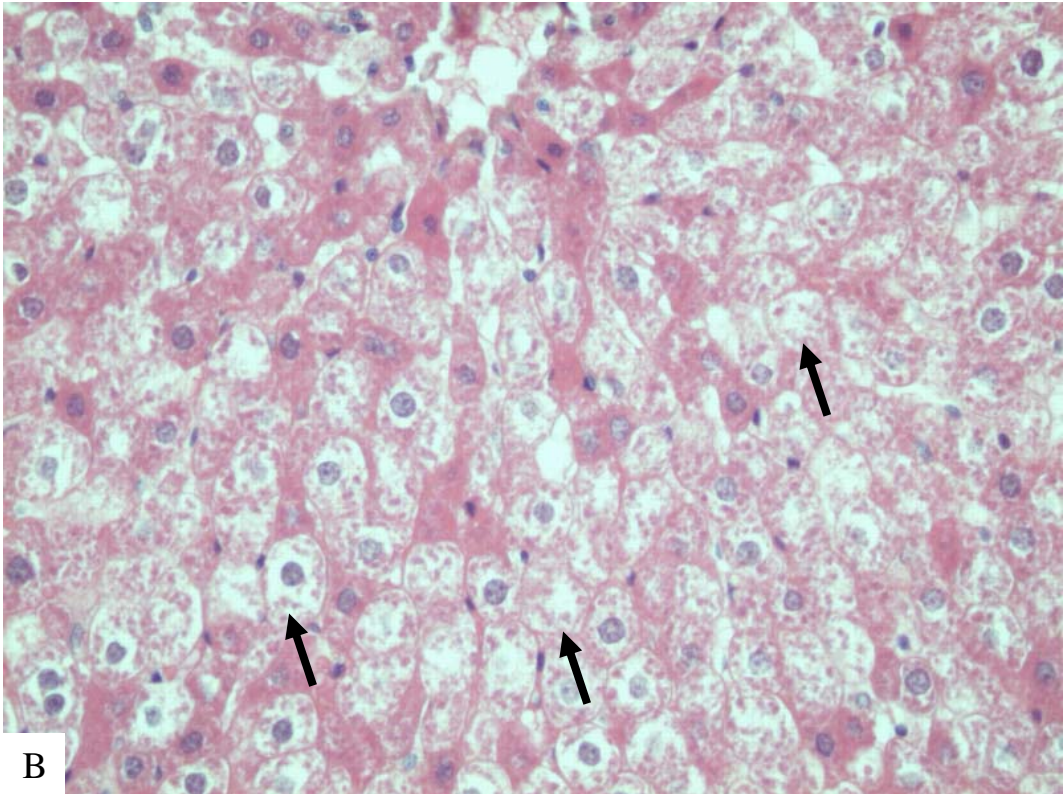
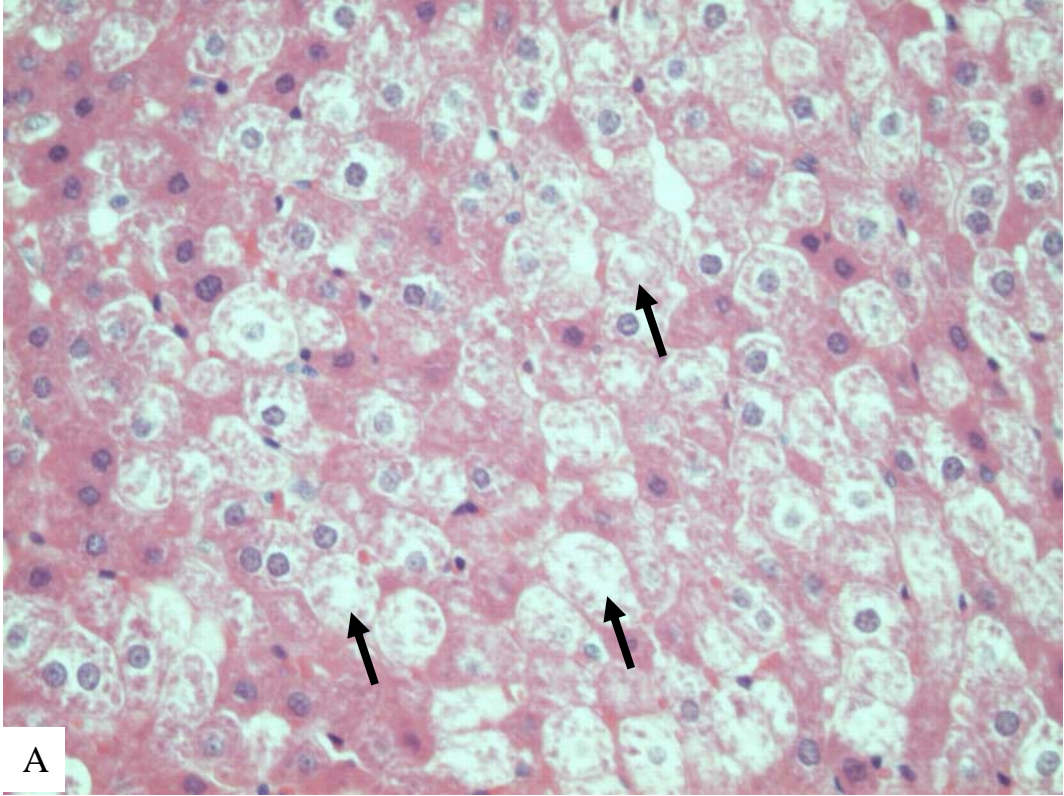
Resim 4. 8. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (100x) B- 1 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (200x)



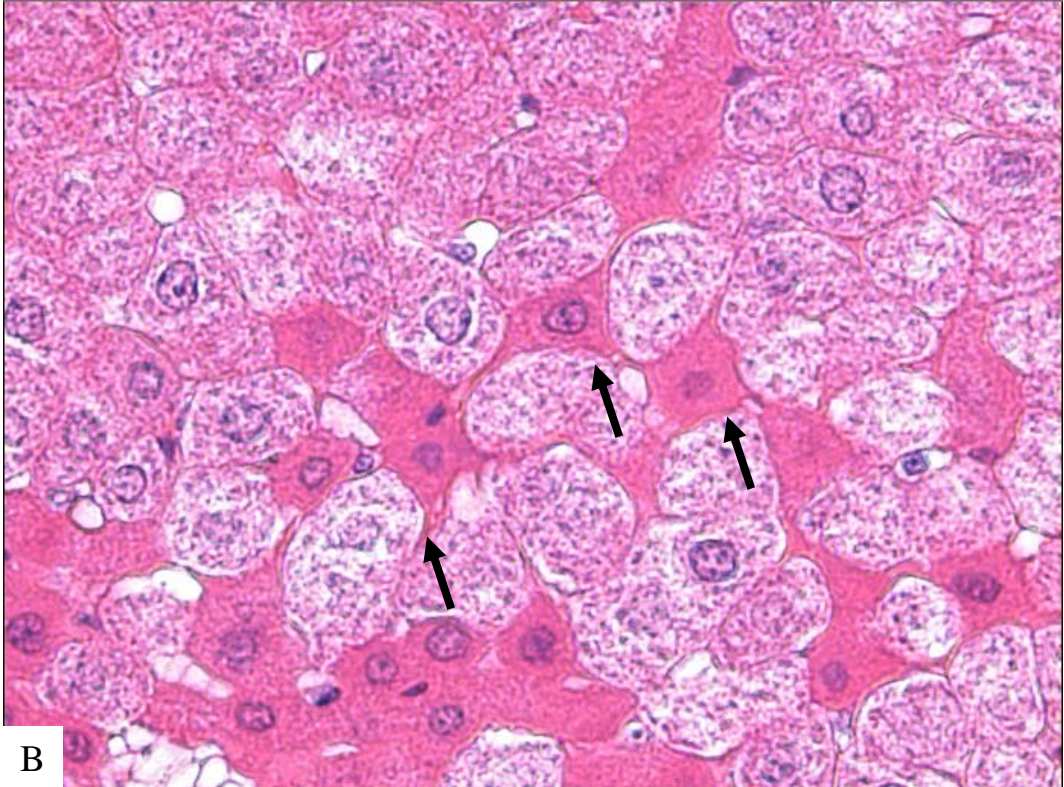
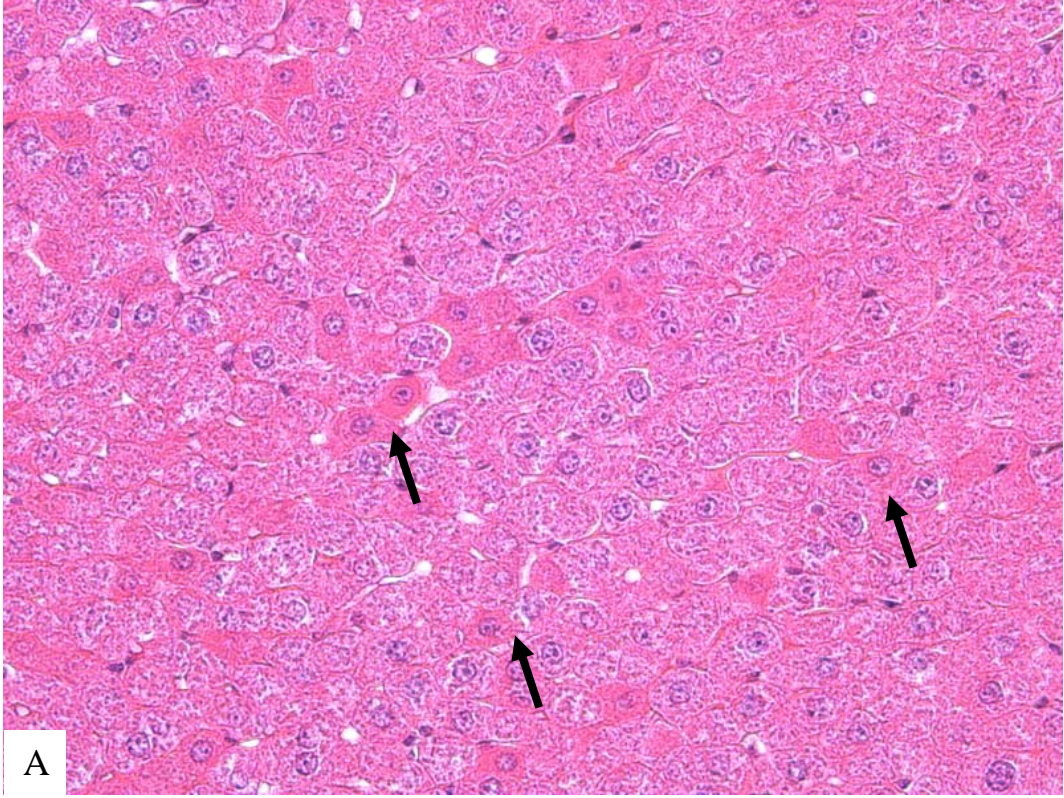
Resim 4. 9. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (200x)



Resim 4. 10. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (100x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda mononuklear hücre infiltrasyonu (100x)



Resim 4. 11. A- 1 aylık %1 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda sitoplazmik erime (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda sitoplazmik erime (200x)



Resim 4. 12. A- 3 aylık %1 Roundup uygulanan dişi sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda apoptotik hücre (200x) B- 3 aylık %10 Roundup uygulanan erkek sıçanların H&E ile boyanmış karaciğer dokusunda apoptotik hücre (400x)

## 5-TARTIŞMA

Organikfosfatlı bir herbisit olan glifosat, glisin ve fosfometil içeren zayıf bir organik asittir. Tarımsal ve diğer alanlarda yabancı otlara karşı yaygın kullanıma sahip sistemik bir herbisittir (Daruich ve ark., 2001). Tarımsal alanlarda glifosat uygulaması eğer havadan uçaklar ile yapılırsa, uygulama alanında ve dışındaki hedef olmayan canlıları da etkileyebilmektedir. Kaliforniya'da yapılan çalışmalarda, glifosat uygulama alanının 800 metre ötesinde dahi glifosat tespit edildiği için glifosat uygulaması yerleşim alanlarına 75-750 m uzaklarda olması önerilmiştir.

Bu çalışmada dişi ve erkek sıçanlara LD<sub>50</sub> değerinin %1 (56 mg/kg) ve %10 (560 mg/kg) luk miktarı sıçanlara oral yol ile uygulanarak memelilerde olası toksik etkiler araştırılmıştır. Bu amaçla deney süresince sıçanların davranışları, total vücut ağırlıkları, yem ve su tüketimleri kaydedilmiştir. Deney sonunda morfolojik incelemeler yapılmış ve organ ağırlıkları ölçülmüştür. Diğer yandan, hematolojik etki için kan sayımı yapılmış ve serumda ALT, AST, LDH enzim aktiviteleri ile T-kolesterol, LDL, HDL miktarları ölçülmüş ve karaciğerler histopatolojik olarak incelenmiştir.

Birçok çalışmada rapor edildiği gibi çalışmamızda da Roundup® uygulanan sıçanlarda yumuşak dışkılama, diare, hırıltılı soluk alıp-verme, kırmızı burun, aktivitelere yavaşlama not edilmiştir. Abdomen kısmında kıl dökülmesi, uygulama grubuna ait sıçanlarda bıyık uzunluğunda göreceli olarak azalma gözlemlenen diğer bulgulardır. Benzer bulgular Heenehan ve ark. (1979a) ve Reyna & Thake (1989) in teknik glifosat ile yaptıkları çalışmalarında da belirtilmiştir. Bıyık uzunluğunda gözlediğimiz kısalma diğer araştırmalarda belirtilmemiştir.

Çalışmamız sonunda vücut ağırlık değişimlerinde değişiklikler bulunmuş olsa da bunlar istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler değildir. Benzer değişiklikler Atkinson ve ark (1989)'nın çalışmasında da gözlenmiş ve istatistiksel olarak anlamsız farklılıklar rapor edilmiştir. Perry ve ark.'nın (1991a) çalışmaları glifosatın vücut ağırlığında değişikliğe yol açmadığını gösteren bir diğer çalışmadır. Chan & Mahler (1992) çalışmalarında 50000 ppm glifosat uyguladıkları hayvanların vücut

ağırlığında azalma tespit etmişlerdir ancak çalışmamızda uygulanan dozlar bu doza göre çok daha düşük miktarda olduğu için bir fark bulunmamıştır.

Roundup® uygulanan erkek ve dişi sıçan gruplarında yem tüketim miktarında değişiklikler görülse de bunlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu bulgular Atkinson ve ark (1989) ve Atkinson ve ark (1993a)'nın sonuçları ile benzerdir. Aynı zamanda Reyna & Thake (1989) tarafından yapılan çalışmada uygulanan 1500 ve 2000 mg/kg lık glifosat yem tüketim miktarlarında değişikliğe yol açtığını belirtmektedir. Perry ve ark. (1991a) uyguladıkları 30, 300, 1000 mg/kg lık glifosat yem tüketim miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe yol açmadığını bildirmektedir.

Uygulama yapılan sıçanların su tüketimlerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler kaydedilmemiştir. Benzer sonuçlar Atkinson ve ark (1993a) ve Perry ve ark. (1991a) tarafından farklı miktarlarda glifosat uygulamaları ile yaptıkları çalışmalarda da rapor edilmiştir.

Çalışmamızda karaciğer, böbrek, dalak, kalp ağırlıkları ile doku ağırlığı / vücut ağırlığı oranı hesaplanmıştır. Doku ağırlığı / vücut ağırlığı oranı referans değerlere uygun bulunmuştur. Perry ve ark. (1991b)'nin çalışması da benzer bir sonucu rapor etmiştir.

Bu çalışmada %1 bir ay, %1 ve %10 üç aylık uygulama gruplarına ait erkek sıçanların ortalama serum ALT enzim aktivitesinde azalma tespit edilmiştir. %10 bir ay, %1 ve %10 üç aylık uygulama gruplarına ait dişi sıçanların ortalama serum ALT enzim aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir. Ortalama serum AST enzim aktivitesinde ise %1 bir aylık erkek sıçan uygulama grubu dışındaki gruplarda artış; %10 bir ay dişi sıçan uygulama grubu dışındaki gruplarda da artış tespit edilmiştir. Değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Atkinson ve ark. (1989), Hernandez ve ark. (2006) ve Benedetti ve ark. (2004)'nin çalışmalarının aksine çalışmamızda ALT değerlerinde azalma tespit edilmiştir. Aynı çalışmalarda belirtilen ortalama serum AST değerlerinde artış çalışmamızda da tespit edilse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

AST/ALT oranı normalde 1'e eşittir. ALT ve AST'nin karaciğer hücre nekrozuna neden olan durumlarda, toksik şok sendromu ve ilaca bağlı hasarlarda miktarı artar. Ortalama AST/ALT oranı çalışmamızdaki 3 aylık uygulama grubuna ait hem erkek hem de dişi sıçanlarda istatistiksel olarak anlamlı artışa neden olmuştur. Bu bulgular karaciğerde hem hücrelerde hem de mitokondriyal zarlarda hasar olduğunu göstermektedir. Roundup® uygulanan balıklarda karaciğer hepatositlerinde miyelin benzeri yapılar, mitokondrionlarda büyüme ve mitokondrion iç zarının görünmez hale geçmesi gibi sitotoksik etkiler rapor edilmiştir (Peixoto, 2005).

Ortalama serum LDH değerleri tüm uygulama gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiş bu artış dokuda hücresel hasarı işaret etmektedir. Bu bulgular histolojik kesitlerde görülen sitopatolojik değişiklikler ile uyumludur. Hepatositlerin hücre zarında bir değişiklik olmamakla birlikte sitoplazmik hasar ve fokal nekrozlar ile mononükleer hücre infiltrasyonu ve toksik etkiye bir yanıt olan apoptotik hücrelerin görülmesi de bu bulguyu desteklemektedir.

Vücuttaki kolesterolün sadece küçük bir miktarı diyetle alınan kolesteroldür. Esas olan karaciğer ve diğer hücrelerde üretilen kolesteroldür. Karaciğer hastalıkları, intra- ve ekstra-hepatik kolestaz kronik böbrek yetmezliği durumlarında kan serumunda miktarı artarken; a-lipoprotein eksikliğine bağlı olarak ve hepatosellüler nekroz da miktarı azalır (Adam ve Ardıçoğlu, 2002). Ortalama total kolesterol miktarı %1 bir ay ve %1 üç ay erkek; %1 bir ay ve %10 üç ay dişi Roundup® uygulama gruplarında kontrol grubuna göre azalma, %1 üç ay ve %10 üç ay erkek; %10 bir ay ve %1 üç ay dişi Roundup® uygulama gruplarında kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Bu artışların dokuda görülen hasarla uyumlu olduğu düşünülebilir.

Serum lipoproteinleri düşük densiteli (LDL) ve yüksek densiteli (HDL) lipoproteinler olarak serum da bulunur. Karaciğerde sentezlenen LDL şeklinde lipidlerin dokulara taşınmasını ve dokularda sentezlenen lipoproteinler HDL şeklinde lipidlerin karaciğere geri taşınmasını sağlar. İncelemelerimiz sonucunda %1 1 ay erkek; %1 1 ay ve %10 1 ay dişi sıçanların serum ortalama LDL değerlerinde azalma; diğer uygulama gruplarında ise artış tespit edilmiştir. Ortalama HDL değerlerinde ise %1

ve %10 1 aylık erkek ve %10 1 ay dişi uygulama grupları kontrol grubuna göre azalırken diğer gruplarda artış göstermiştir. Bu durum Roundup®'ın serum lipoproteinleri üzerinde etkili olduğunu ve hücrelerde LDL lerin serbest radikaller üreterek lipid peroksidasyonuna neden olabileceğini düşündürmektedir. Nitekim, Roundup®'ın hücre zarında lipid peroksidasyonuna neden olabileceğini Beuret ve ark. (2005) glifosat ile yaptıkları çalışmalarda belirtmektedirler.

Kreatinin, kas kreatininin enzimatik olmayan dehidrasyonu ile oluşur. Serbest kreatinin vücutta tekrar kullanılmadığı için kreatinin son atık üründür. Çalışmamızda serum ortalama kreatinin değerlerindeki değişim; %1 1 ay ve %10 3 ay erkek ile %10 3 ay dişi uygulama gruplarında azalma; diğer gruplarda artış şeklinde tespit edilmiştir. Böbrek fonksiyon bozukluğunda (akut veya kronik) serumda miktarının arttığı belirtilmektedir (Adam ve Ardıçoğlu, 2002).

Kontrol ve Roundup® uygulama gruplarında lökosit, eritrosit, yüzde lenfosit, yüzde granülosit oranlarında önemli değişmeler saptanmamıştır. Bu bulgular Perry ve ark. (1991a), (1991b), Atkinson ve ark. (1993a ve 1993b) çalışmalarının glifosat ile yaptıkları hematolojik ve biyokimyasal çalışmalardaki sonuçlar ile benzerdir.

Benedetti (2004) çalışmalarında karaciğer dokusunun histolojik incelemesinde lokal olarak toplanmış ve sayıca kontrol grubu sıçan karaciğerine göre artma göstermiş Kuppfer hücreleri gözlemlemiştir. Retikülin yapısında kalınlaşma ve sayıca artma da diğer tespit edilen histolojik bulgudur. Bu çalışmada Benedetti (2004)'nin çalışmalarına ek olarak mononükleer hücre infiltrasyonu, konjesyon, apoptotik hepatositler, fokal nekrozlar ve hepositlerde sitoplazmik erime en çok rastlanılan bulgulardır. Tüm uygulama gruplarında görülen mononükleer hücre infiltrasyonu ve konjesyon uygulaması yapılan kimyasalın doku hasarına yol açtığını göstermektedir. Bunun sonucu olarak karaciğerin metabolizasyon kapasitesini %1 ve %10'luk Roundup® uygulanmasının etkileyebileceği düşünülebilir. Bu uygulama dozlarında ve süresinde histopatolojik bulgular tespit edilse de kan parametrelerinde ve serum analizlerinde önemli sayılabilecek düzeyde anlamlı değişiklikler bulunmamıştır.

Yaygın bir kullanıma sahip olan glifosat ve sürfektan içerikli Roundup®'ın sadece yabancı otlara değil memeli karaciğer dokusunda da hasar meydana getirdiği çalışmalarımız sonunda gösterilmiştir. Memeliler üzerine etkili olan bu kimyasalın kullanımı sırasında zaman zaman doz aşma olasılığı ve bitkilerde belli bir süre kalıcı olması düşünülerek bu zararlarının bilinerek gerekli önlemlerin alınmasından sonra kullanılması ve uygulanmasının kullanıcıların sağlığı açısından önemli olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Acquavella J.F, Bruce, H., Alexander, B.H., Mandel, J.S., Gustin, C., Baker, B., 2004, Glifosat biomonitöring for farmers and their families: results from the farm family exposure study. *Environ Health Perspect* 112, 321–326.
- Adam, B. , Ardiçoğlu, Y. 2002, Klinik biyokimya Analiz Metodları, Atlas Kitapçılık Ankara.
- Aishah, A., Alini, M., Hayati, A.R., Muhammed, A.A.,1997, The Oral Intratracheal Toxicities Of Roundup And Its Components To Rats. *Vet Human Toxicol* 39 (3).
- Araujo, A.S.F., Monteiro, R.T.R., Abarkeli, R.B., 2003, Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere* 52, 799-804.
- Atkinson, C., Perry, C.J., Hudson, P., Snodgrass, E. (1989) Glyphosate: 4 week dietary toxicity study in rats. Unpublished report No. 5626, IRI project No. 437462.
- Atkinson, C., Martin, T., Hudson, P., Robb, D. (1993a) Glyphosate: 104 week dietary carcinogenicity study in mice. Unpublished report No. 7793, IRI project No. 438618.
- Atkinson, C., Strutt, A.V., Henderson, W., Finch, J., Hudson, P. (1993b) Glyphosate: 104 week combined chronic feeding/oncogenicity study in rats with 52 week interim kill (results after 104 weeks.). Unpublished report No. 7867, IRI project No. 438623.
- Baylis, A.D., 2000, Why glyphosate is a global herbicide: strenghts, weakness and prospects. *Pest Manag Sci* 56, 299-308.
- Benedetti, A.L., Vituri, C.D.L., Trentin, A.G., Domingues, M.A.C., Silva, M.A., 2004, The Effects of Sub-chronic exposure of Wistar rats to the Herbicide Glifosat-Biocarb. *Toxicology Letters* 153, 227-232.
- Beuret, C.J., Zirulnik, F., Gimenez, M.S., 2005, Effect of the Herbicide Glifosat on Liver Lipoperoxidation in PregnantRats and Their Fetuses. *Reproductive Toxicology* 19, 501-504.
- Brewster, D.W, Warren, J., Hopkins, W.E. II. , 1991, Metabolism of glifosat in Sprague-Dawley rats: tissue distribution, identification, and quantitation of glifosat-derived materials following a single oral dose. *Fundam Appl Toxicol.* 17, 43–51.
- Busse, M.D., Ratcliff, A.W. , Shestak, C.J., 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial

- communities. *Soil Biol. Biochem.* 33 12–13, pp. 1777–1789.
- Chan, Y.C. , Chang, S.C. , Hsuan, S.L., Chien, M.S. , Lee, W.C., Kang, J.J. , Wang, S.C., Liao, J.W., 2007, Cardiovascular effects of herbicides and formulated adjuvants on isolated rat aorta and heart. *Toxicology in Vitro* 21 595-603.
- Chan, P.O., Mahler, J.F. (1992) NTP technical report on toxicity studies of glyphosate (CAS No. 1071-83-6) administered in dosed feed to F344/N rats and B6C3F1 mice. National Toxicology Program Toxicity Report Series No. 16, 92-3135.
- Chen, Y., Wu, F., Lin, Y., Deng, N., Bazhin, N., Glebov, E., 2007, Photodegradation of glyphosate in the ferrioxalate system. *Journal of Hazardous Materials*, In Press.
- Cox, C. , 2004, Herbicide factsheet, *Journal of pesticide reform* 24, 4.
- Cox, C. , 1996, Glyphosate, Part 2: Human Exposure and Ecological Effects.  
<http://www.panna.org/resources/pestis/PESTIS.1996.129.html>.
- Dallegrave, E., Mantase, F.D., Coelho, R.S., Pereira, J.D., Dalsanter, P.R., Langeloh, A. , 2003, The Teratogenic Potential Of The Herbicide Glifosat-Roundup In Wistar Rats. *Toxicology Letters* 142, 45-52.
- Daruich, J., Zirulnik, F., Gimenez, M.S. , 2001, Effect of the herbicide glifosat on enzymatic activity in pregnant rats and their fetuses. *Environ Res.* 85, 226–231.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005. Türkiye’de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 3-7 Ocak 2005, Ankara.
- El-Demerdash, F.M., Yousef, M.I., Elagamy, E.I. , 2001, Influence of paraquat, glyphosate, and cadmium on the activity of some serum enzymes and protein electrophoretic behavior (in vitro). *J Environ Sci Health B.* 36(1), 29-42.
- Gluszczak, L. G., Miron, D.S., Crestani, M., Fonseca, M.B., Pedron, F.A., Duarte, M.F., Vieira, V.L.P., 2006, Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 65, 237-241.
- Glyphosate Facts:, 1993. US-EPA R.E.D.
- GlyphosateFactsheet,2006,<Http://www.cetos.org/criticalhabitat/glyphosate.pdf>.

Glyphosate Factsheet, 2006, <http://www.mindfully.org/Pesticide/Roundup®-Glifosat-Factsheet-Cox.htm>

Haney, R.L., Senseman, S.A., Hons, E.M., Zuberer, D.A., 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Sci.* 48, pp. 89–93.

Heenehan, P.R. (1979a) Acute oral toxicity study in rats. Compound: glyphosate technical. Unpublished report No. BDN-77-428, Bio/dynamics project No. 4880-77.

Hernandez, A.F., Gomez, M.A., Perez, V., Garcia-Lario, J.V., Pena, G., Gil, F., Lopez, O., Rodrigo, L., Pino, G., Pla, A., 2006, Influence of exposure to pesticides on serum components and enzyme activities of cytotoxicity among intensive agriculture farmers. *Environmental Research* 102, 70-76.

Hietanen, E., Linnainmaa, K., Vainio, H., 1983. Effects of phenoxyherbicides and glyphosate on the hepatic and intestinal biotransformation activities in the rat *Acta Pharmacologica et Toxicologica* 53, 103-112.

Jiang, J., Lucy, C.A., 2006, Determination of glyphosate using off-line ion Exchange preconcentration and capillary electrophoresis-laser induced fluorescence detection. *Talanta* 72, 113-118.

JMPR, 2004, Pesticide residues in food.  
[http://www.who.int/ipcs/publications/jmpr/draft\\_jmpr\\_2004\\_monograph.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/jmpr/draft_jmpr_2004_monograph.pdf)

Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley R.O., 1993, *Temel Histoloji* (çev: Prof. Dr. Yener Aytekin), Barış Kitabevi, İstanbul.

Khrolenko, M.V., Wiczorek, P.P., 2005, Determination of glyphosate and its metabolite aminomethylphosphonic acid in fruit juices using supported-liquid membrane preconcentration method with high-performance liquid chromatography and UV detection after derivatization with p-toluenesulphonyl chloride. *Journal of Chromatography A* 1093, 111-117.

Kjaer, et al. 2004, Glyphosate and AMPA in drinking water.  
[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/chemicals/glyphosateampa290605.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/glyphosateampa290605.pdf)

Kolpin, D.W., Thurman, E.M., Lee, E.A., Meyer, M.T., Furlong, E.T., Glassmeyer, S.T., 2006, Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Science of The Total Environment* 354, 191-197.

Mamalian toxicity of glyphosate, 2005. [www.ems.org](http://www.ems.org)

Mary Anna Thrall (2004) *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins, pp 424, pp 464.

- Mitchell, D.G., Chapman, P.M., Long, T.J., 1987, Acute toxicity of Roundup and Rodeo herbicides to rainbow trout, chinook, and coho salmon. *Bull Environ Contam Toxicol.* 39, 1028–1035.
- Monsanto Annual Report, 2001,  
[http://www.monsanto.com/monsanto/content/media/pubs/2001/2001-Monsanto\\_Annual\\_Report.pdf](http://www.monsanto.com/monsanto/content/media/pubs/2001/2001-Monsanto_Annual_Report.pdf)
- Oliveira, A.G., Teles, L.F., Hees, R.A., Mahecha, G.A.B., Oliveira, C.A., 2007, Effects of the herbicide Roundup on the epididymal region of drakes *Anas platyrhynchos*. *Reproductive Toxicology* 23, 182-191.
- Peixoto, F., 2005, Comparative effects of the Roundup and glyphosate on mitochondrial oxidative phosphorylation. *Chemosphere* 61, 1115-1122.
- Perry, C.J., Atkinson, C., Strutt, A., Henderson, W., Hudson, P. (1991a) Glyphosate: 13 week dietary toxicity study in rats. Unpublished report No 7136, IRI project No. 437876.
- Perry, C.J., Atkinson, C., Strutt, A., Hudson, P., Jones, M. (1991b) Glyphosate: 13 week dietary toxicity study in mice. Unpublished report No 7024, IRI project No. 437918.
- Rapalmira, E.N. , 2001, Aerial Fumigation over Illicit Crops Is Most Certainly Dangerous – Approaching the Issue. [www.mammacoca.org](http://www.mammacoca.org).
- Reyna, M.S., Thake, D.C. (1989) Range finding study of glyphosate administered in feed to Sprague-Dawley rats. Unpublished report No. ML-88-272, study No. 88181.
- Santos, B.M., Gilreath, J.P., Camile, E.E., Siham, M.N., 2007, Effects of sublethal glyphosate rates on fresh market tomato. *Crop Protection* 26, 89-91.
- Savitz, D.A., Arbuckle, T., Kaczor, D. , Curtis K.M. , 1997, Male pesticide exposure and pregnancy outcome. *Am J Epidemiol.* 146, 1025–1036.
- Sivikova, K., Dianovsky, J., 2006, Cytogenetic effect of technical glyphosate on cultivated bovine peripheral lymphocytes. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 209, 15-20.
- Soso, A.B. , Barcellos, L.J.G. , Ranzai-Paiva, M.J., Kreutz, L.C. , Quevedo, R.M. , Anziliero, D. , Lima, M. , Silva, L.B. , Ritter, F. , Bedin, A.C. , Finco, J.A. , 2007, Chronic exposure to sub-lethal concentration of a glyphosate-based herbicide alters hormone profiles and affects reproduction of female Jundiá (*Rhamdia quelen*). *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23, 308-313.
- Stout, L.D. , Ruecker, F.A. (1990) Chronic study of glyphosate administered in feed to albino rats. Unpublished report No. MSL-10495, job/project No. ML-87-148/EHL 87122.

- Stratton, G.W., Stewart, K.E., 1992. Glyphosate effects on microbial biomass in a coniferous forest soil. *Environ. Toxicol. Water Qual.* 17 3, pp. 223–236.
- Tate, T.M., Spurlock, J.O., Christian, F.A., 1997, Effect of glyphosate on the Development of *Pseudosuccinea columella* snails. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33, 286-289.
- Thrall, M.A. , 2004, *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins, pp 424, pp 464.
- Toxicity of glyphosate, 2004. <http://www.pesticide.org>
- Tsui, M.T.K., Chu, L.M., 2003, Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effect of environmental factors. *Chemosphere* 52, 1189-1197.
- Veiga, F., Zapata, J.M., Marcos, M.L.F., Alvarez, E., 2001, Dynamics of glyphosate and aminomethylphosphonic acid in a forest soil in Galicia, north-west Spain. *The Science of The Total Environment* 271, 135-144.
- Walsh, L.P, McCormick, C, Martin, C, Stocco, D.M. , 2000, Roundup inhibits steroidogenesis by disrupting steroidogenic acute regulatory (StAR) protein expression. *Environ Health Perspect.* 108, 769–776.
- Wardle, D.A., Parkinson, D., 1990. Effects of three herbicides on soil microbial biomass and activity. *Plant Soil* 122, pp. 21–28.
- Waynfort, H.B., Flecknell P.A. (1994) *Experimental and Surgical Technique in the Rat* Second ed. Academic Pres, London. Pp 346.
- Williams, G.M., Kroes, R., Munro, I.C., 2000, Safety Evolution and Risk Assesment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glifosat, for Humans. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 31, 117-165.
- Woodburn, A.T., 2000, Glyphosate: production, pricing and use worldwide. *Pest Manag Sci* 56, 309-312.

## **ÖZGEÇMİŞ**

Adı Soyadı : Sinan Çağlar

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Yılı : 28. 01. 1982

Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise 1996 - 2000

Lisans 2000 - 2004

Yabancı Dil: İngilizce

İş Tecrübesi: