

2,4-D (Diklorofenoksiasetik Asit) HERBİSİTİ UYGULANAN KİL VE KUM BÜNYELİ TOPRAKTA KATALAZ AKTİVİTESİ VE KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ

İmanverdi EKBERLİ*

Nalan KARS

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü, Samsun/Türkiye
*iman@omu.edu.tr

Geliş Tarihi: 23.06.2011

Kabul Tarihi: 02.02.2012

ÖZET: Kil ve kum bünyeli topraklara artan düzeylerde (0.5 ppb, 1 ppb ve 2 ppb) 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) herbisit uygulanmasının toprakların katalaz enzim aktivitesi ve reaksiyonunun kinetik parametreleri (V_{max} , K_m ve V_{max}/K_m) üzerine etkisi araştırılmıştır. Toprakların nem içerikleri deneme süresince her gün tartılarak maksimum su kapasitesinin %40'ı seviyesine tamamlanmıştır. Enzim reaksiyonuna ait kinetik parametreler, denemenin 15., 30., 45., 60., 75., ve 90. günlerinde alınan toprak örneklerinin farklı substrat konsantrasyonlarındaki zamana bağlı katalaz enzim aktiviteleri belirlenerek hesaplanmıştır. Topraklara artan düzeylerde ilave edilen 2,4-D herbisitinin katalaz aktivitesinde meydana getirdiği değişimlerde dozlar arasında farklılıklar bulunmaz iken, inkübasyon dönemleri arasında önemli farklılıklar ($P<0,01$) saptanmıştır. Her iki toprakta da inkübasyonun 15. gününde en yüksek katalaz aktivitesi seviyesi belirlenmiştir. Kil bünyeli toprakta denemenin 30. gününde, kum bünyeli toprakta ise 45. gününde katalaz aktivitesinde önemli azalmalar meydana gelmiş ve bu dönemlerden sonra katalaz aktivitesindeki değişimler istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Kil bünyeli toprakta V_{max} , K_m , V_{max}/K_m parametrelerinin kontrol, 0.5 ppb, 1 ppb ve 2 ppb 2,4-D uygulamaları için ortalama değerleri sırasıyla 0.785; 1.016; 0.923; 0.888 ml O₂ g⁻¹ sn⁻¹; 2.608; 3.464; 2.953; 2.697 ml O₂ g⁻¹; 0.428; 0.410; 0.418; 0.463 sn⁻¹ olarak, kum bünyeli toprakta ise 0.201; 0.211; 0.298; 0.232 ml O₂ g⁻¹ sn⁻¹; 0.422; 0.355; 0.629; 0.255 ml O₂ g⁻¹; 0.839; 1.832; 1.103; 1.462 sn⁻¹ olarak saptanmıştır.

Anahtar Sözcükler: enzim, substrat, pestisit, inkübasyon, kinetik parametreler, Michaelis- Menten denklemi

INVESTIGATION OF CATALASE ACTIVITY AND KINETIC PARAMETERS OF CLAY AND SAND TEXTURED SOILS WITH 2,4-D (Dichlorophenoxyacetic acid) HERBICIDE APPLIED

ABSTRACT: Effects of increasing dose applications (0.5 ppb, 1 ppb and 2 ppb) of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) herbicide on changes in catalase enzyme activity and kinetic parameters (V_{max} , K_m and V_{max}/K_m) in clay and sand textured soil were investigated depending on substrate concentrations. Moisture contents of the soils were completed to 40% of maximum moisture holding capacity by weighing them daily. Kinetic parameters of enzyme activity were calculated using the enzyme activities in different substrate concentrations of the soil samples taken 15., 30., 45., 60., 75. and 90. days of the experiment. In increasing applications of 2,4-D herbicide, significant differences ($P<0,01$) were determined among the incubation periods while effect of increasing doses on catalase enzyme activity was not significant. The highest catalase activity in both clay and sand textured soils was determined in 15 days of incubation. Catalase activities in clay and sandy soil decreased after 30 and 45 days of incubation, respectively. After these days, changes in catalase activities were found to be non significant statistically. While the mean values of V_{max} , K_m , V_{max}/K_m parameters in control, 0.5 ppb, 1 ppb and 2 ppb 2,4-D applications for clay soil were 0.785; 1.016; 0.923; 0.888 ml O₂ g⁻¹ sec⁻¹; 2.608; 3.464; 2.953; 2.697 ml O₂ g⁻¹; 0.428; 0.410; 0.418; 0.463 sec⁻¹, respectively, these values for sandy soil were determined to be 0.201; 0.211; 0.298; 0.232 ml O₂ g⁻¹ sec⁻¹; 0.422; 0.355; 0.629; 0.255 ml O₂ g⁻¹; 0.839; 1.832; 1.103; 1.462 sec⁻¹, respectively.

Key words: enzyme, substrate, pesticide, incubation, kinetic parameters, Michaelis-Menten Equation

1. GİRİŞ

Günümüzde tarım alanında kullanılmakta olan pestisitler büyük ölçüde, sentetik kimyasallar olup, yapısal olarak doğal organik bileşiklerle benzerlikler de göstermektedirler. Bu nedenle, pestisitlerin bir kısmı mikroorganizmalar ve bunlar tarafından sentezlenen enzimlerin aracılık ettiği süreçler ile ayrıştırılabilmektedirler (Mercadier ve ark., 1997; Fuentes ve ark., 2010). Öte yandan bazı pestisitler, yapısal özelliklerinden kaynaklanan farklılıktan dolayı hem mikroorganizmalar tarafından hem de enzimatik süreçler ile parçalanmamakta veya çok az parçalanmaktadır. Aynı zamanda bazı pestisitler ise, toprak mikroorganizmaları tarafından C ve enerji kaynağı olarak kullanılmakta ve CO₂'e kadar oksitlenmektedirler (Soulas, 1982; Madigan ve Martinko, 2010).

Toprak reaksiyonu, toprak organik madde kapsamı, sıcaklık ve havalanma gibi toprak özellikleri pestisitlerin toprakta parçalanmasında önemli rol oynamaktadır (Bending ve ark. 2006; Larsbo ve ark. 2009). Bu nedenle pestisitlerin toprakta kalış süreleri yaklaşık olarak verilmektedir. Pestisitlerin toprakta parçalanmaları sadece mikrobiyolojik yollar ile olmamakta, aynı zamanda buharlaşma ve yıkanma gibi süreçlerle topraktan uzaklaşmakta veya fotokimyasal ve kimyasal yollar ile de ayrışabilmektedir (Klopffer, 1992; Chiron ve ark. 2000). Bununla beraber, pestisitler toprak içerisinde koloidal kil, organik madde veya kalsit ile demir alüminyum oksitlere tutulabilmektedir (Harris ve ark. 1994; Gaultier ve ark. 2008). Bu durum ise, pestisitlerin organizma içerisine girişini sınırlandırmaktadır (Aurelia, 2009; Wang ve ark., 2009; Demirci ve Elibüyük, 2010). Pestisitlerin toprak mikroorganizmalarının gelişmelerine ve onların

2,4 D'nin topraktaki katalaz aktivitesi ve kinetiği

sürdüğü biyokimyasal olaylar ile mikrobiyal orijinli enzimlerin aktiviteleri üzerine olan etkileri ve yan etkileri çok değişik şekilde olabilmektedir. Bu etkiler, mikrobiyal aktivite ile enzimatik reaksiyonları uyarıcı yada engelleyici yönde etkileyebileceği gibi her hangi bir etkide göstermeyebilir (Rath ve ark. 1998). Pestisitlerin toprak mikroorganizmaları ve enzimatik süreçler üzerinde meydana getireceği etkide pestisit molekülünün niteliği (uçuculuk ve çözünürlük özelliği, kimyasal yapısı, formülasyon şekli ve uygulama dozu) ile toprak özellikleri (organik madde kapsamı, bünye, pH ve nem içeriği) belirleyici rol oynamaktadır (Sannino ve Gianfreda, 2001; Spark ve Swift, 2002).

Tarımda yabancı otlar ile mücadele amacına yönelik olarak kullanılan herbisitler de, genel olarak diğer tüm pestisitler gibi hem topraktaki mikrobiyal popülasyonu, bunların aracılık ettiği biyokimyasal süreçleri hem de mikrobiyal orijinli enzim aktivitelerini büyük oranda etkilemektedir. Olson ve Lindwall (1991), toprağa 2, 5, 10, 20, 50 ve 100 ppm düzeylerinde 2,4-D uygulayarak yürüttükleri laboratuvar çalışmasında, toprağa yüksek dozda 2,4-D herbisiti uygulamasının mikrobiyal aktiviteyi azalttığını belirlemişlerdir. Buna karşın, Lewis ve ark. (1978), 2 farklı toprağa uygulanan bazı herbisitlerin toprakların mikrobiyal aktivitesi üzerine etkilerini laboratuvar şartlarında araştırdıkları çalışmada, herbisitlerin (trifluralin, linuron ve metribuzin) toprak solunumu ve dehidrogenaz aktivitesini, hem siltli killi tın hem de kumlu tın bünyeli toprakta etkilemediğini belirlemişlerdir. Denemelerde ayrıca, bu herbisitlerin topraklara ilavesi ile alg popülasyonunu engellemediği buna karşın, topraktaki kükürtün sülfata oksidasyonunun ise arttığı saptanmıştır. Niewiadomska ve Sawicka (2002), bazı pestisitlerin nitrogenaz aktivitesi, toprak mikroorganizma sayıları ile hibrit kaba yonca verimi üzerine etkisini araştırdıkları tarla ve saksı denemelerinde, Sinorhizobium meliloti aktivitesi ile nitrogenaz enzim aktivitesini, nodülasyonu, bitkiye ait kök gelişimi ve bitkisel verimi azalttığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmada ayrıca, herbisit ve fungusit uygulamalarının yonca plantasyonlarındaki toprak mikroorganizma sayısını başlangıçta engellediğini, daha sonraları ise uyardığını belirlemişlerdir.

Toprakların enzimatik reaksiyonlarına ait kinetik ve termodinamik özellikler, hem toprak özelliklerine bağlı olarak değişmekte hem de topraklara ilave edilen pestisit, organik materyal gibi tarımsal pratiklerden büyük ölçüde etkilenmektedirler. Trasar-Cepeda ve ark. (2006), üç farklı bünyeli (tınlı, kumlu-tın ve kumlu-killi-tın) toprakta farklı sıcaklıklardaki (5, 18, 27, 37, 57 ve 70°C) üreaz, BBA-proteaz, kasein-proteaz, β -glukosidaz, invertaz, CM-sellüloz, arilsülfataz, dehidrogenaz ve katalaz enzim aktiviteleri ile bu enzimlere ait termodinamik parametreleri araştırdıkları çalışmada, en düşük enzim aktivitelerinin düşük organik madde içeriğine sahip olan topraklarda bulunduğunu belirlemişlerdir.

Dehidrogenaz enzimi tarafından katalizlenen reaksiyonda 70°C'ye kadar olan sıcaklık artışıyla birlikte ürün oluşumunda artış olduğunu, katalaz aktivitesinin 37°C' den sonra etkilenmediğini belirlemişlerdir.

Topraktaki enzim aktivitesinin kinetik analizi, toprakların ekoloji genetik özelliklerine bağlı olarak, enzim aktivitesi ile ilgili tepkimelerin yönü ve hızının belirlenmesinde önemlidir. Enzim reaksiyonlarında ürün oluşum hızını (V_{max}), enzim-substrat kompleksinin dayanıklılığını (K_m), enzim-substrat kompleksinin oluşum ve dağılımını (V_{max}/K_m) gösteren kinetik parametreler, toprak özellikleri ile çevresel faktörlerin enzim reaksiyonlarının her bir aşamasındaki etkisini ifade etmektedir (Khaziev, 1982; Dalal, 1985; Huang ve Shindo, 2000; Masciandaro ve ark., 2000; Kızılkaya ve ark., 2007; Kızılkaya ve Ekberli, 2008). Ekberli ve ark. (2006), killi tın bünyeli bir toprak için, farklı substrat konsantrasyonlarında (0, % 1, %2, %4, %6, %8 ve %10), farklı sıcaklıklarda (0, 10, 20, 30, 40 ve 50°C) ve farklı inkübasyon periyotlarında (0, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 saat) toprakta belirlenen üreaz aktivitesi ile termodinamik ve kinetik (V_{max} , K_m ve V_{max}/K_m) parametreleri belirlemek amacıyla yürüttükleri çalışmada, reaksiyon hızının %10 substrat konsantrasyonuna ulaştığında dengeye geldiği, en yüksek V_{max} , K_m ve V_{max}/K_m değerlerin 40 ve 50°C'de bulunduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada, kil ve kum bünyeli toprağa artan düzeylerde ilave edilen 2,4-D (Diklorofenoksiasetik Asit) herbisitinin katalaz aktivitesi ve bu enzime ait kinetik parametreler (V_{max} , K_m , V_{max}/K_m) üzerine etkisi laboratuvar koşullarında belirlenmiştir.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

Denemede kullanılan kil bünyeli toprak örneği, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme arazisinden (N 41°21.881', E 36°11.338'), kum bünyeli toprak örneği ise Samsun iline bağlı Bafra ilçesinin tarım arazisinden (N 41°30.377', E 35°50.249') 0-20 cm'lik toprak derinliğinden alınmıştır. Alınan toprak örneği gölgede kurutulduktan sonra dövülmüş, 2 mm'lik elekten geçirilmiştir. Denemede kullanılan 2,4-D (2,4-Diklorofenoksiasetik asit) herbisiti ise OMÜ Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümünden temin edilmiştir. Toprağın bünyesi hidrometre yöntemine göre (Bouyoucos, 1951); toprak reaksiyonu (pH) 1:1 toprak: su karışımında cam elektrodlu pH metre ile (Peech, 1965), elektriksel iletkenlik değerleri ($EC_{25^\circ C}$) EC metre ile (Brower ve Wilcox, 1965); kireç kapsamı ($CaCO_3$) Scheibler kalsimetresinde (Hızalan ve Ünal, 1966); organik madde Walkey-Black (Walkey, 1946); toplam azot (N) ise Kjeldahl yöntemine göre (Bremner, 1965) belirlenmiştir.

2.1. İnkübasyon Denemesi

İnkübasyon denemesi tesadüf parselleri deneme desenine göre 3 paralel olarak kurulmuştur. Bu amaçla, hava kurusu toprak örneğinin 250 gr'lık miktarları plastik saksılara konulmuş, üzerlerine 0.5; 1.0 ve 2.0 ppb dozlarında 2,4-D herbisit ilavesi yapılmıştır. Uygulanan dozlar bu herbisit Türkiye'deki uygulama dozlarına göre seçilmiştir (Anonymous, 2010). Herbisit ilavesi yapılmayan saksılar kontrol olarak kabul edilmiştir. Saksılardan eksilen su miktarı her gün eklenerek nem düzeyi maksimum su tutma kapasitesinin %40'ı seviyesinde tutulmuştur. İnkübasyon denemesi toplam 90 gün sürmüş ve toplam 144 saksıdan [2 (toprak) x 3 (paralel) x 4 (kontrol + 3 doz) x 6 (inkübasyon dönemi)] oluşmuştur.

İnkübasyonun 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerinde saksılardan alınan toprak örneklerinin katalaz enzim aktivitesi (EC 1.11.1.6) Beck (1971)' e göre hacimsel olarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 5 gr toprak örneği üzerine 10 ml fosfat tampon (pH 7) ve 5 ml %3'lük substrat (H₂O₂) çözeltisi ilave edilmiştir. 3 dakika sonunda laboratuvar sıcaklığında (20°C) açığa çıkan O₂ miktarı hacimsel olarak belirlenmiştir. Her analiz 3 paralelli yapılmış ve elde edilen bulgular "ml O₂ gr⁻¹ kuru toprak" olarak ifade edilmiştir.

2.2. Kinetik Parametreler

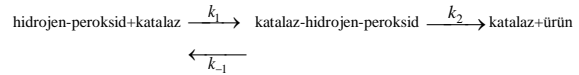
Katalaz enziminin, topraktaki hidrojen peroksidi su ve oksijene parçalaması,

Katalaz
 $2\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ reaksiyonu ile gerçekleşmektedir. Hidrojen peroksidin katalaz enzimiyle hidrolizinin kinetik parametrelerinin belirlenmesi amacıyla, 90 günlük deneme periyodu boyunca denemenin 15, 30, 45, 60, 75 ve 90. günlerinde saksılardan alınan toprak örneklerinde farklı inkübasyon zamanları (0.25; 0.50; 0.75; 1.0; 2.0;..., 39 dakika) ile substrat olarak kullanılan hidrojen peroksidin (H₂O₂) %0, %1, %2, %4, %6, %8, %10, %15, %20, %25 ve %30 olmak üzere 11 farklı konsantrasyonunda katalaz aktivitesi tayinleri yapılmıştır. V_{max}, K_m kinetik parametrelerin saptanması amacıyla Michaelis- Menten denkleminin [$v = V_{\max}[S] / (K_m + [S])$] Lineweaver-Burk tarafından linearize edilmiş aşağıdaki ifadesinden kullanılmıştır (Tabatabai ve Bremner, 1971; Tabatabai, 1973; Dalal, 1985; Atkins 1998; Ekberli ve Kızılkaya, 2006):

$$1/v = (K_m/V_{\max}) 1/[S] + 1/V_{\max}$$

Burada, v- enzim reaksiyonunun başlangıçtaki hızı, ml O₂ gr⁻¹sn⁻¹; [S] – substrat (H₂O₂) konsantrasyonu, %; V_{max}- reaksiyonun maksimum başlangıç hızı, ml O₂ g⁻¹ sn⁻¹; K_m-Michaelis sabiti, ml O₂ g⁻¹dir. 1/v ve 1/[S] arasındaki doğrusal regresyon ilişkisinde 1/[S] = 0'daki başlangıç ordinatı 1/V_{max} olup, K_m/V_{max} eğiminden ise K_m bulunmaktadır.

Michaelis-Menten denkleminde göre enzim reaksiyonunun hızına etki eden faktörler (enzim konsantrasyonu, başlangıç substrat konsantrasyonu, enzim inhibitörleri, sıcaklık, pH, basınç vb.), enzim substrat kompleksi (ESK)'nin oluşumunu (K_m) ve dağılım hızını (V_{max}= k₂[F]₀) (burada, [F]₀- enzim toplam konsantrasyonu, k₂-ESK'nın ürün ve enzime dağılmasının hız sabitesidir) ifade eden parametrelerin her birine ayrı ayrı etki yapmaktadır. Aynı zamanda, bu faktörler hem K_m hem de V_{max} üzerine birlikte etki edebilmektedir. Bu nedenle K_m ve V_{max} parametreleri, belirli koşullar altında belli enzim-substrat kompleksini karakterize etmektedir. Şematik olarak,



(burada, k₁- ESK oluşumunun hız sabitesi; k₋₁- ESK'nin tekrar başlangıçtaki maddelere dönüşümünün hız sabitesidir.) biçiminde gösterilen hidrojen peroksidin su ve oksijene dönüşüm sürecinin "sabit kinetik" bakımından irdelenmesi sonucunda, K_m parametresinin üç hız sabitesinin fonksiyonu olarak ortaya çıkabileceği varsayılmaktadır: K_m=(k₋₁+k₂)/k₁; k₁/k₋₁). Substrat çok az miktarda bulunduğu zaman k₂<<k₋₁ olarak, K_m parametresi esas itibariyle substrat-enzim kompleksi oluşumunun hız sabitesine (k₁) bağlı olmaktadır. Bu durumda, V_{max} ise enzim konsantrasyonuna bağlı olup, ESK dağılımının hız sabitesini (k₂) belirlemektedir (Dalal, 1985; Tinoco ve ark., 1995).

Michaelis sabiti (K_m), ESK'nın dayanıklılığını ifade etmektedir. ESK'nın dayanıklılığı ile K_m değeri arasında ters bir ilişki vardır. K_m değeri düşük olduğunda ESK'nın dayanıklılığı yüksek, K_m değeri büyük olduğunda ise ESK'nın dayanıklılığı düşüktür. V_{max}/K_m, toprakta ESK'nın meydana gelmesi ile bu kompleksten ürün oluşumunun karşılaştırılmasını ifade etmektedir. Bu oranın yüksek oluşu, ESK'nın dağılımının oluşumuna göre daha çabuk olduğunu göstermektedir (Tabatabai ve Bremner 1971; Tabatabai 1973).

Deneme sonucunda elde edilen bulgulara ait istatistiksel analizler SPSS 10.1 paket programında yapılmış ve elde edilen sonuçlar Yurtsever (1984) tarafından bildirildiği şekilde değerlendirilmiştir.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Deneme Topraklarının Bazı Fiziksel Ve Kimyasal Özellikleri

Araştırmada kullanılan toprak örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Kil bünyeli toprak tuzsuz, hafif asit reaksiyonlu, kireçsiz olup, organik madde kapsamı yeterli, toplam azot içeriği çok düşüktür. Kum bünyeli toprak ise tuzsuz, alkalın reaksiyonlu, orta kireçli olup, organik

2,4 D'nin topraktaki katalaz aktivitesi ve kinetiği

madde kapsamı ve toplam azot içeriği çok düşük seviyededir.

Çizelge 1. Toprakların bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri

	Kil (C) bünyeli toprak	Kum (S) bünyeli toprak
Kil (%)	50	1.87
Silt (%)	25	2.76
Kum, %	25	95.37
Organik madde (%)	3.68	0.41
Kireç (CaCO ₃) (%)	-	9.3
pH (1:1)	6.5	8.2
EC (1:1) (dSm ⁻¹)	0.24	0.10
Toplam azot (N) (ppm)	450	150
C/N	47.55	16

3.2. Topraklara 2,4-D Herbisitinin Uygulanmasında Katalaz Enzim Aktivitesinin Değişimi

Farklı bünyeye sahip topraklara 2,4-D herbisitinin uygulanmasında, toprakların katalaz aktivitesindeki değişimlerin toprakların tekstürüne bağlı olarak önemli farklılıklar gösterdiği saptanmıştır. Kil bünyeli toprağa artan düzeylerde ilave edilen 2,4-D herbisitinin farklı inkübasyon dönemlerinde toprakların katalaz aktivitesinde meydana getirdiği değişimler de, dozların katalaz aktivitesine etkisi önemsiz seviyede iken, inkübasyon dönemleri arasında önemli farklılıklar ($P<0.01$) belirlenmiştir (Şekil 1A). İnkübasyonun 15. gününde en yüksek katalaz aktivitesi seviyesi belirlenmiş iken, denemenin 30. gününde katalaz aktivitesinde önemli azalmalar meydana gelmiş, bu dönemden sonra katalaz aktivitesinde meydana gelen değişimler ise, istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur. Aynı şekilde, kum bünyeli toprağa artan düzeylerde ilave edilen 2,4-D herbisitinin katalaz aktivitesinde meydana getirdiği etkilerde ise, dozlar arasında farklılıklar bulunmaz iken, inkübasyon dönemleri arasında önemli farklılıklar ($P<0.01$) saptanmıştır (Şekil 1B). En yüksek katalaz aktivitesi inkübasyonun 15. gününde saptanmış iken inkübasyonun ilerleyen dönemlerinde katalaz aktivitesinde azalmalar meydana gelmiş ve inkübasyonun 45. gününe değin bu azalmalar devam etmiştir. 45. günden sonra katalaz aktivitesinde meydana gelen değişimlerin istatistiksel açıdan önemsiz seviyede bulunduğu belirlenmiştir. Genel olarak her iki toprakta en yüksek katalaz aktivitesi seviyesinden sonra meydana gelen değişimler stabil olmamaktadır.

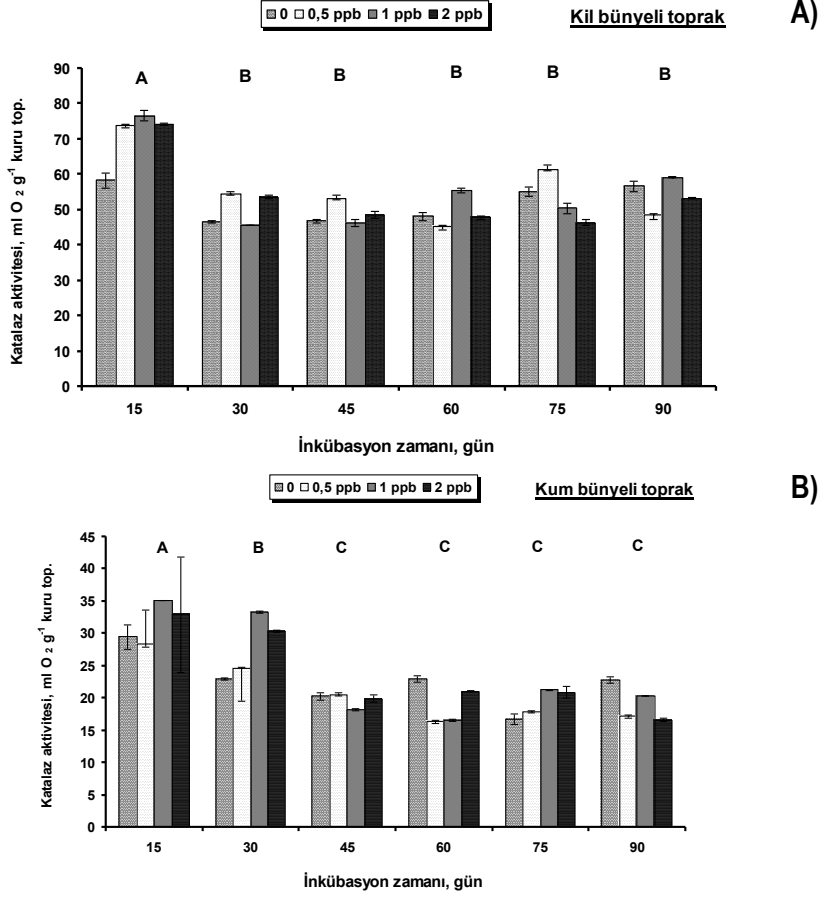
Topraklara 2,4-D herbisitinin uygulanmasında bu topraklardaki katalaz aktivitesindeki değişimlerde önemli farklılıklar belirlenmiş, tüm inkübasyon dönemleri ile tüm uygulama dozlarında en yüksek katalaz aktivitesi seviyeleri kil bünyeli toprakta ortaya çıkmış iken, en düşük katalaz aktivitesi seviyeleri ise kum bünyeli toprakta olduğu saptanmıştır. Bu durum kuşkusuz toprağın hem kil içeriğindeki farklılıklardan hem de besin maddesi ve ortamdaki mevcut mikrofloradan kaynaklanabilmektedir. Toprakların kil içeriğindeki artış o toprağın yüzey alanının fazlalığı ve

kilin taşıdığı negatif elektrik yükünden dolayı çok çeşitli materyalleri daha sıkı bir şekilde tutabileceğini de ortaya koymaktadır (Nichols and Grismer, 1997). Ancak, sorbsiyon kapasitesi yüksek olan kil bünyeli toprakta metal iyonları ile diğer organo-mineral bileşikler tutulabilmesine karşın 2,4-D herbisitinin kil tarafından adsorbsiyonu oldukça sınırlıdır. Özellikle uygulanan herbisit konsantrasyonu arttıkça toplam içerisinde adsorbe olan miktar azalmaktadır (Johnson ve ark., 1995). Dolayısıyla, kil bünyeli topraklar genellikle, gübreleme gibi her hangi bir kültürel işlemin yapılmadığı durumda besin maddelerinin alınabilir konsantrasyonlarını daha fazla içermektedir. Ayrıca, denemede kullanılan kil bünyeli toprak aynı zamanda kum bünyeli toprağa oranla daha yüksek seviyede organik madde içermektedir. Kil bünyeli topraktaki bu durum, hem topraklarda bulunan mikroorganizmalar için besin maddesi kaynağının bu toprakta daha fazla bulunduğunu hem de aerob organizmaların değerlendirilmesinde önemli bir kriter olan katalaz aktivitesinin (Glinsky ve ark., 1986; Kızılkaya ve ark., 2004) daha fazla bulunduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalar toprakların mikroorganizma popülasyonunun artışına bağlı olarak katalaz aktivitesinin (Kızılkaya ve ark., 1998) ve artan mikrobiyal faaliyete bağlı olarak 2,4-D'nin mikrobiyal bozulmasının da arttığını ortaya koymuştur (Foster ve Mckercher, 1973).

Özellikle kil bünyeli toprakta 30. gün ve kum bünyeli toprakta 45. günden sonra katalaz aktivitesinde meydana gelen değişimlerin önemsiz olduğu saptanmıştır. Yapılan çalışmalar (Que Hee ve Sutherland, 1981; Ou 1984; Han ve New, 1994) 2,4-D herbisitinin toprakta kalıcılık süresinin toprak ve çevre şartlarına göre değişmekle beraber çok kısa olduğunu ortaya koymuştur. Tu ve ark. (2001), iklimsel koşullara göre değişmekle beraber, 2,4-D herbisitinin yarılanma ömrünün toprakta ortalama 10 gün olduğunu, soğuk havalarda ve toprak neminin yetersizliği durumunda bu sürenin uzayabileceğini bildirmiştir. Denemede hem kil hem de kum bünyeli toprağa artan düzeylerde uygulanan 2,4-D herbisitinin özellikle inkübasyonun başında kontrole göre katalaz aktivitesini artırdığı, inkübasyonun ilerleyen dönemlerinde ise azalttığı saptanmış, ancak meydana gelen bu değişimler istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Tu ve ark. (2001), 2,4-D'nin düşük konsantrasyonları canlı organizmanın RNA, DNA ve protein sentezini uyarabildiğini, kontrolsüz hücre bölünmesine ve gelişmesine yol açabildiğini, diğer taraftan yüksek konsantrasyonları ise hücre bölünmesini ve gelişmesini engelleyerek organizmanın ölümünün meydana gelebileceğini bildirmiştir. Yapılan çalışmalar ile pestisitlerin toprak mikrobiyal popülasyonu ile mikroorganizmaların katalazlediği süreçler üzerinde meydana getirdiği etkilerin çok değişkenlikler gösterdiği saptanmıştır (Olson ve Lindwall, 1991; Kızılkaya, 2000). Pestisitler, toprak mikroorganizmaları üzerinde uyarıcı veya engelleyici yönde etki gösterebileceği gibi her

hangi bir etki de göstermeyebilmektedir. Pestisitlerin mikrobiyal populasyon ve aktivite üzerinde meydana getireceği etkiler, pestisitlerin uygulama dozuna, formülasyonuna, uygulama şekline bağlı olarak değişebileceği gibi, toprak özelliklerine göre de büyük oranda farklılıklar gösterebilmektedir (Sylvestre ve

Fournier, 1979; Haktanır, 1989). Bu çalışmada, kil ve kum bünyeli iki farklı toprağa artan dozlarda uygulanan 2,4-D herbisitinin katalaz aktivitesi üzerine oluşturduğu etkide, uygulama dozları arasında önemli farkların bulunmadığı saptanmıştır.



Şekil 1. Topraklara uygulanan 2,4-D herbisitinin artan dozlarının 90 günlük inkübasyon periyodu boyunca farklı bünyeli topraklarda katalaz enzim aktivitesinin değişimi (Aynı harfle gösterilen ortalamalar arasında $P < 0.01$ olasılıkla farklılık yoktur). A) Kil bünyeli toprak B) Kum bünyeli toprak

3.3. Farklı Substrat Konsantrasyonları İle Katalaz Aktivitesi Arasındaki İlişkiler

Topraklara artan dozda uygulanan 2,4-D herbisitinin 90 günlük inkübasyon periyodu boyunca katalaz enziminin kinetiği üzerine etkilerinin saptanması amacıyla, artan substrat konsantrasyonlarında ve belirli zamanlardaki katalaz aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir (Çizelge 2 ve 3). Herbisit tüm uygulama dozlarında her bir toprakta substrat konsantrasyonu arttıkça katalaz aktivitesinin de arttığı saptanmıştır. Kil bünyeli toprakta maksimum katalaz aktivitesi inkübasyon dönemleri arasında değişkenlik gösterir iken, kum bünyeli toprağa uygulanan 1 ve 2 ppb'lik 2,4-D uygulamasında tüm H_2O_2 konsantrasyonlarında maksimum katalaz aktivitesi 15. günde belirlenmiştir. Bu durum denemede kullanılan toprakların kil kapsamı, havalanma durumu, ortamdaki mevcut mikroflora ve toprakların kilden kaynaklanan adsorpsiyon kapasitesi ile ilgili olabilir.

3.4. Topraklara 2,4-D Herbisitini Uygulanmasında Katalaz Enzimine Ait Kinetik Parametrelerin Değişimi

Kil ve kum bünyeli toprağa artan düzeylerde 2,4-D herbisiti uygulanmasında farklı substrat konsantrasyonları ile başlangıç reaksiyon hızları (v , $mlO_2 g^{-1} sn^{-1}$) arasındaki ilişki Şekil 2 ve 3'de verilmiştir. Her iki kontrol toprağı ve 2,4-D'nin tüm uygulama dozlarında, hidrojen-peroksidin başlangıç reaksiyon hızı substratın fonksiyonu olup, bu ilişki hiperbolik biçimdedir. Aynı zamanda, substrat konsantrasyonunun artışına bağlı olarak reaksiyonun başlangıç hızının arttığı saptanmıştır. Khaziev ve Agafarova (1976); Khaziev (1982); Kızılkaya ve Ekberli (2008), toprak enzimlerine ait kinetik parametrelerin değerlendirilmesinde, reaksiyonun başlangıç hızı ile substrat konsantrasyonu arasındaki ilişkinin hiperbolik biçimde olduğunu belirlemişlerdir.

Kontrol ve farklı düzeylerde 2,4-D uygulanmış kil ve kum bünyeli toprakların kinetik parametrelerinin

2,4 D'nin topraktaki katalaz aktivitesi ve kinetiği

belirlenmesinde kullanılan Michaelis-Menten eşitliğinin lineerize edilmiş biçimi olan Lineweaver-Burk eğrileri ve doğrusal regresyon ilişkileri uygun olarak Şekil 4 ve 5' de, katalaz + hidrojen-peroksit reaksiyonunun bu ilişkilere göre hesaplanan kinetik parametreleri ise Çizelge 4 ve 5'de verilmiştir.

Kil ve kum bünyeli toprakta kontrol uygulamasında en yüksek V_{max} , inkübasyonun 30. gününde ortaya çıkmış ve sırasıyla 0.724 ve 0.291 $mlO_2 g^{-1}sn^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Kum bünyeli toprakla karşılaştırıldığında, daha yüksek organik maddeye sahip olan kil bünyeli toprakta V_{max} değerinin yüksek olması gösterir ki, reaksiyonun ikinci aşaması, yani, ESK'nin enzim ve ürüne dağılması düşük organik maddeye sahip topraklarda daha düşük hızla gerçekleşmektedir. Tüm inkübasyon döneminde kil bünyeli toprakta K_m değerleri daha yüksek olmaktadır. Bu ise kil bünyeli toprakta ESK'nin dayanıklılığının daha düşük olduğunu göstermektedir. V_{max}/K_m değerleri kil bünyeli toprakta dar, kum bünyeli toprakta ise geniş aralıkta

değişmektedir. Bu durum, killi toprakta ESK'nin dayanıklılığının düşük olmasından kaynaklanabilir.

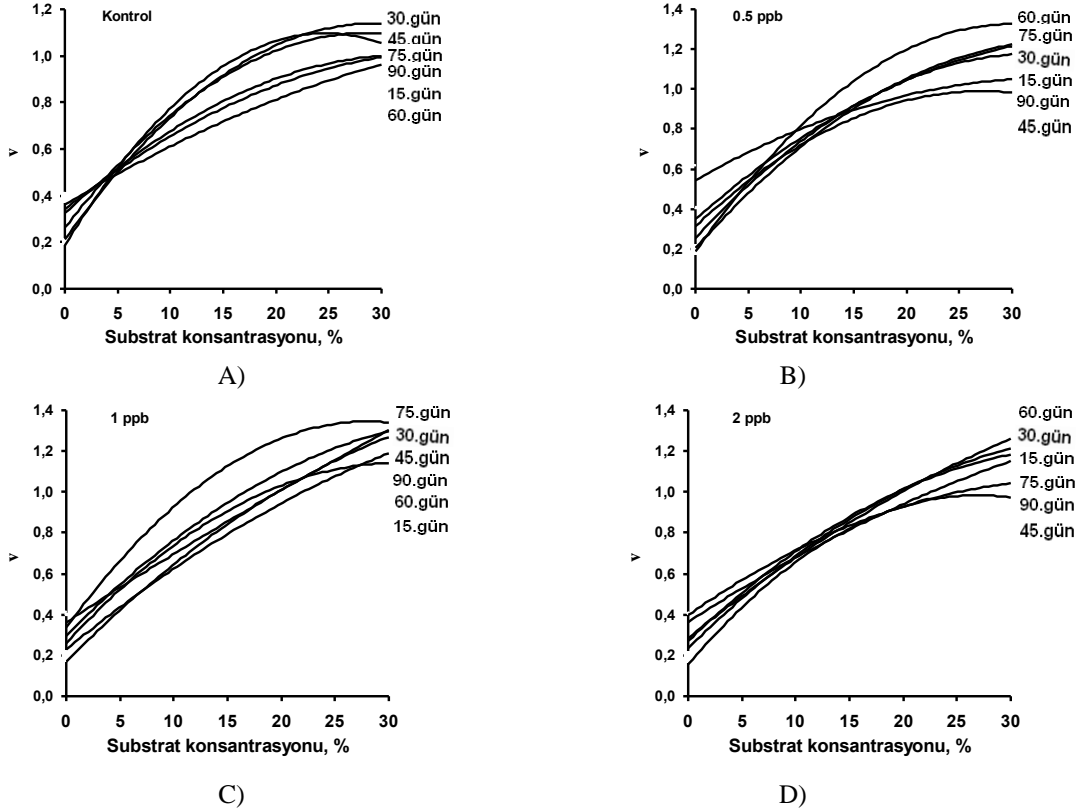
Kil bünyeli toprağa 2,4-D herbisitinin uygulanmasında, V_{max} önemli oranda değişiklikler göstermiş, 0.5 ppb dozunda en yüksek V_{max} inkübasyonun 75. gününde, 1 ppb dozunda 60. gününde ve 2 ppb dozunda ise 15. gününde elde edilmiştir. İnkübasyon dönemlerine ait V_{max} değerlerinin ortalamasına göre ise, 2,4-D herbisiti uygulamasının kontrol ile karşılaştırıldığında V_{max} 'ı artırdığı, ancak doz artışına bağlı olarak V_{max} 'da genel olarak azalmaların olduğu belirlenmiştir. En yüksek V_{max} 0.5 ppb dozunda elde edilir iken en düşük V_{max} kontrol uygulamasında saptanmıştır. Bu durum, kontrol ile karşılaştırıldığında kil bünyeli toprağa 2,4-D herbisiti uygulanması sonucunda reaksiyon hızı ve ürün oluşum hızının daha çabuk olduğunu, buna karşın toprağa uygulanan 2,4-D herbisitinin uygulama dozunun artması durumunda ürün oluşum hızının azaldığını ortaya koymaktadır.

Çizelge 2. Kil bünyeli toprağa 2,4-D herbisit uygulamasında 90 günlük inkübasyon periyodu boyunca farklı substrat konsantrasyonlarındaki katalaz aktivitesi

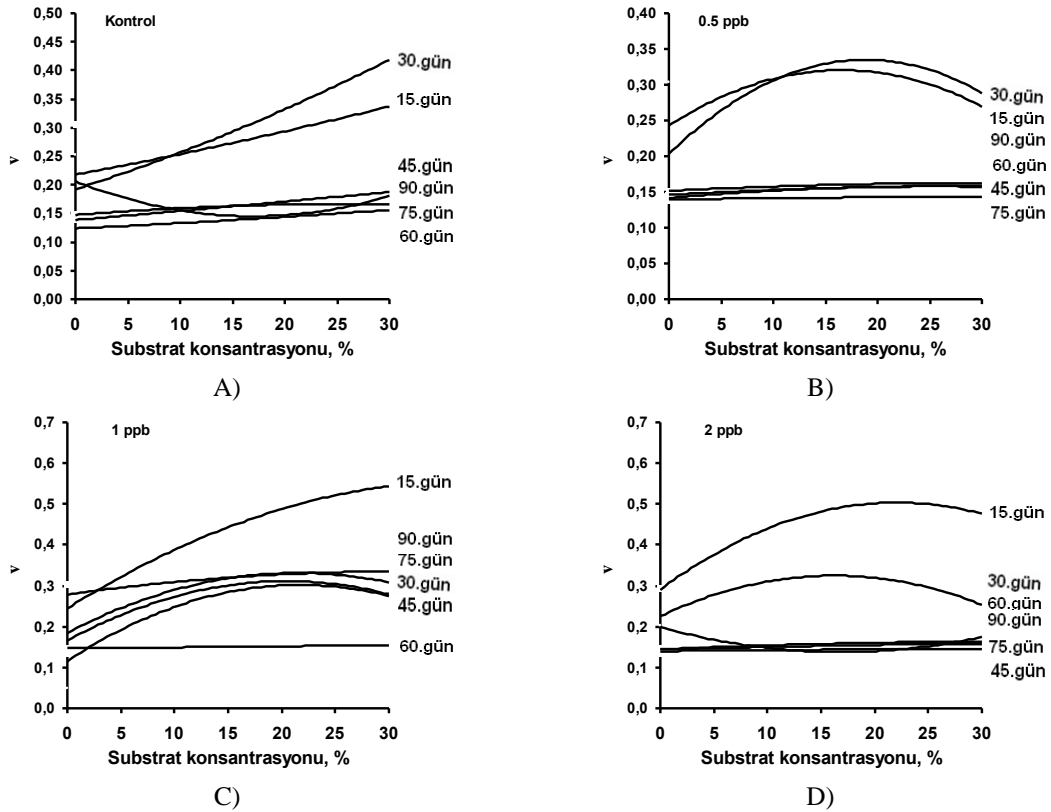
[S]	Katalaz aktivitesinin değişim aralığı, $ml O_2 g^{-1}$				Maksimum katalaz aktivitesinin elde edildiği inkübasyon dönemi, gün			
	0 ppb	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	0 ppb	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb
0	3.0-45.0	5.6-49.4	6.0-76.9	5.9-63.3	15.	15.	15.	15.
1	6.1-71.1	6.1-88.3	6.1-101.4	5.9-82.0	15.	15.	15.	15.
2	6.0-95.0	6.0-104.6	5.9-120.1	5.9-117.0	75.	15.	15.	15.
4	8.8-142.0	8.9-138.5	8.9-144.3	8.8-153.6	15.	15.	15.	15.
6	9.0-190.5	11.2-179.8	9.1-187.2	8.8-179.6	30.	60.	15.	15.
8	11.8-223.3	11.9-212.2	11.8-238.9	11.8-233.8	30.	75.	15.	15.
10	15.0-264.8	12.1-279.2	11.9-261.8	14.6-293.7	75.	30.	30.	15.
15	15.4-345.9	12.3-345.0	17.7-362.8	15.2-334.6	45.	75.	60.	45.
20	18.2-429.0	15.3-437.5	18.3-456.5	18.2-437.5	60.	60.	60.	45.
25	19.6-515.1	15.3-521.6	21.2-503.8	16.7-519.9	90.	60.	60.	90.
30	18.4-557.9	15.4-573.1	21.2-579.9	20.2-566.4	90.	60.	15.	60.

Çizelge 3. Kum bünyeli toprağa 2,4-D herbisit uygulamasında 90 günlük inkübasyon periyodu boyunca farklı substrat konsantrasyonlarındaki katalaz aktivitesi

[S]	Katalaz aktivitesinin değişim aralığı, $ml O_2 g^{-1}$				Maksimum katalaz aktivitesinin elde edildiği inkübasyon dönemi, gün			
	0 ppb	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb	0 ppb	0,5 ppb	1 ppb	2 ppb
0	2.3-30.3	2.2-31.6	2.2-32.5	2.2-29.0	15.	30.	15.	30.
1	4.2-38.1	2.2-41.1	2.2-51.4	2.1-40.8	15.	15.	15.	15.
2	4.2-40.9	2.2-44.8	2.2-61.9	2.8-48.9	15.	15.	15.	15.
4	4.3-46.0	4.3-53.7	4.2-68.9	2.1-69.3	30.	15.	15.	15.
6	4.3-52.8	2.2-63.9	4.3-78.5	2.1-73.7	30.	15.	15.	15.
8	4.3-61.8	4.2-63.1	4.3-72.5	4.4-86.7	30.	15.	15.	15.
10	4.4-64.4	2.2-67.1	4.3-75.8	4.4-91.6	30.	30.	15.	15.
15	4.4-68.8	4.2-70.0	4.3-70.4	4.4-101.0	30.	30.	15.	15.
20	4.5-73.7	4.2-71.3	4.3-81.4	4.4-112.8	30.	15.	15.	15.
25	4.3-77.5	4.3-56.3	4.3-70.9	6.4-109.4	30.	30.	15.	15.
30	4.3-84.6	4.3-61.9	4.3-65.0	6.4-105.3	30.	15.	15.	15.

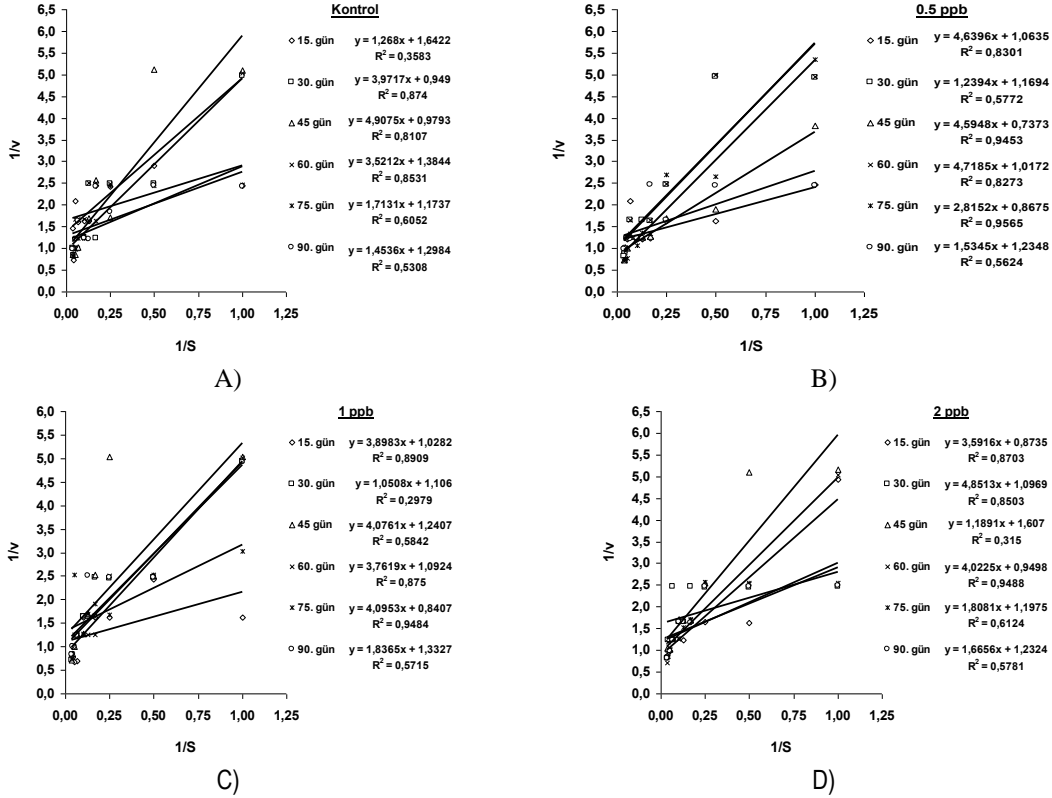


Şekil 2. Kil bünyeli toprağa artan düzeylerde 2,4-D herbisiti uygulamasında katalaz + hidrojen-peroksit reaksiyonunun başlangıç hızı (v , $\text{mL O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ sn}^{-1}$) ile substrat konsantrasyonu arasındaki ilişkiler, A) kontrol; B) 0,5 ppb; C) 1 ppb; D) 2 ppb 2,4-D dozu

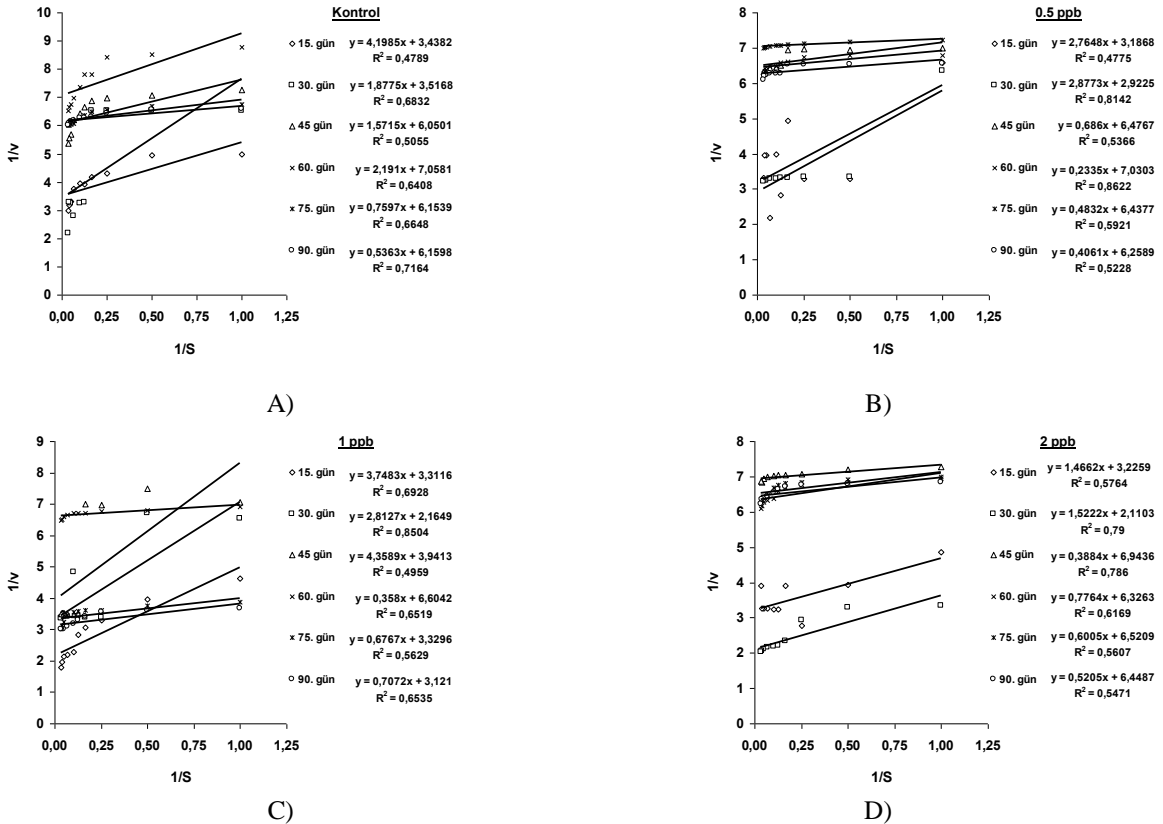


Şekil 3. Kum bünyeli toprağa artan düzeylerde 2,4-D herbisiti uygulamasında katalaz + hidrojen-peroksit reaksiyonunun başlangıç hızı (v , $\text{mL O}_2 \text{ g}^{-1} \text{ sn}^{-1}$) ile substrat konsantrasyonu arasındaki ilişkiler, A) kontrol; B) 0,5 ppb; C) 1 ppb; D) 2 ppb 2,4-D dozu

2,4 D'nin topraktaki katalaz aktivitesi ve kinetiği



Şekil 4. Ters koordinatlarında (1/v ve 1/S), kil bünyeli toprağa farklı dozlarda 2,4-D herbisiti uygulamasında, katalaz + hidrojen-peroksit reaksiyonunun başlangıç hızı ile substrat konsantrasyonu arasındaki fonksiyonel ilişkiler, A) kontrol; B) 0,5 ppb; C) 1 ppb; D) 2 ppb 2,4-D dozu



Şekil 5. Ters koordinatlarında (1/v ve 1/S), kum bünyeli toprağa farklı dozlarda 2,4-D herbisiti uygulamasında, katalaz + hidrojen-peroksit reaksiyonunun başlangıç hızı ile substrat konsantrasyonu arasındaki fonksiyonel ilişkiler, A) kontrol; B) 0,5 ppb; C) 1 ppb; D) 2 ppb 2,4-D dozu

Çizelge 4. Farklı dozlarda ve 90 günlük inkübasyon periyodunda 2,4-D herbisiti uygulanmış kil bünyeli toprağın kinetik parametrelerinin değerleri

2,4-D Uygulama Dozu	Kinetik Parametreler	İnkübasyon dönemi, gün						Ortalama
		15	30	45	60	75	90	
Kontrol	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.724	1.054	1.021	0.722	0.867	0.770	0.785
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	1.275	4.185	5.011	2.544	1.513	1.120	2.608
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.568	0.252	0.204	0.284	0.573	0.688	0.428
0.5 ppb	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.855	0.940	1.153	0.983	1.356	0.810	1.016
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	1.060	4.363	3.245	4.639	6.232	1.243	3.464
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.807	0.216	0.355	0.212	0.218	0.652	0.410
1 ppb	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.904	0.973	0.806	1.190	0.750	0.915	0.923
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	0.950	3.791	3.285	4.871	1.378	3.444	2.953
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.952	0.257	0.245	0.244	0.544	0.266	0.418
2 ppb	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	1.145	0.622	0.912	1.053	0.835	0.759	0.888
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	4.112	0.740	4.423	4.235	1.510	1.164	2.697
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.279	0.841	0.206	0.249	0.553	0.652	0.463

Çizelge 5. Farklı dozlarda ve 90 günlük inkübasyon periyodunda 2,4-D herbisiti uygulanmış kum bünyeli toprağın kinetik parametrelerinin değerleri

2,4-D Uygulama Dozu	Kinetik Parametreler	İnkübasyon dönemi, gün						Ortalama
		15	30	45	60	75	90	
Kontrol	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.284	0.291	0.165	0.142	0.162	0.162	0.201
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	0.534	1.221	0.260	0.310	0.121	0.087	0.422
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.532	0.238	0.635	0.458	1.339	1.832	0.839
0.5 ppb	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.314	0.342	0.154	0.155	0.142	0.160	0.211
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	0.868	0.985	0.106	0.075	0.033	0.065	0.355
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.362	0.347	1.453	2.067	4.303	2.462	1.832
1 ppb	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.462	0.302	0.254	0.151	0.300	0.320	0.298
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	1.054	1.132	1.106	0.054	0.203	0.227	0.629
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.438	0.267	0.230	2.796	1.478	1.410	1.103
2 ppb	V_{max} (mlO ₂ g ⁻¹ sn ⁻¹)	0.310	0.474	0.144	0.158	0.153	0.155	0.232
	K_m (mlO ₂ g ⁻¹)	0.455	0.721	0.056	0.123	0.092	0.081	0.255
	V_{max}/K_m (sn ⁻¹)	0.681	0.657	2.571	1.285	1.663	1.914	1.462

Benzer şekilde, tüm inkübasyon dönemlerinin ortalama verileri dikkate alındığında, 2,4-D herbisiti uygulamasının K_m değerlerini artırdığı ve en yüksek K_m 'nin 0.5 ppb uygulama dozunda, en düşük K_m 'nin ise kontrolde elde edildiği belirlenmiştir. V_{max} 'da olduğu gibi, 2,4-D uygulama dozu arttıkça K_m 'nin ortalama değerlerinde de azalmalar meydana gelmektedir. Bu durum ise, kil bünyeli toprağa 2,4-D uygulanması sonucunda katalaz enzimine ait enzim-substrat kompleksinin dayanıklılığının kontrole göre daha düşük olduğu, bunun sonucunda da ürün oluşumunun daha fazla olduğunu ifade etmektedir. Yani, topraklara araştırmada kullanılan düzeylerde 2,4-D uygulanması sonucunda, daha fazla ürün elde edilmekte, en yüksek ürün ise 0,5 ppb düzeylerinde olmaktadır.

V_{max}/K_m oranları ise tüm inkübasyon dönemlerinin ortalama verilerine göre, en yüksek 2 ppb uygulama düzeyinde elde edilmiş iken, bunu sırası ile 0.5 ppb 2,4-D uygulama dozu, kontrol ve 1ppb 2,4-D uygulama dozu takip etmektedir. Bu durum ise, 2 ppb uygulama dozunda enzim-substrat kompleksinin dağılımının oluşumuna göre daha çabuk olduğunu göstermektedir.

Kum bünyeli toprağa 2,4-D herbisitinin uygulanması sonucunda, V_{max} önemli oranda değişiklikler göstermiş, en yüksek V_{max} 2 ppb uygulama dozunda inkübasyonun 30. gününde, 1 ppb uygulama dozunda 15. gününde ve 0.5 ppb uygulama dozunda ise 30. gününde elde edilmiştir. İnkübasyon dönemlerine göre, V_{max} değerlerinin ortalama dikkate alındığında, 2,4-D herbisiti uygulamasının kontrole göre V_{max} 'ı artırdığı, fakat 2 ppb dozunda V_{max} değerlerinin genellikle azaldığı saptanmıştır. Ancak, tüm 2,4-D uygulamalarındaki V_{max} düzeyleri kontrole göre daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir. En yüksek V_{max} 2 ppb dozunda elde edilirken en düşük V_{max} kontrol uygulamasında saptanmıştır. Bu ise, kontrol ile karşılaştırıldığında kum bünyeli toprağa 2,4-D herbisiti uygulanması sonucunda reaksiyon hızı ve ürün oluşum hızının daha çabuk olduğunu ifade etmektedir.

Tüm inkübasyon dönemlerine ait ortalama K_m değerleri dikkate alındığında, 2,4-D herbisiti uygulaması ile kontrol değerleri arasında farklıklar belirlenmiş, en yüksek K_m 1 ppb uygulama dozunda, en düşük K_m ise 2 ppb uygulama dozunda belirlenmiştir. Bu ise, kum bünyeli toprağa 1 ppb 2,4-

2,4 D'nin topraktaki katalaz aktivitesi ve kinetiği

D herbisit uygulanması sonucunda katalaz enzimine ait enzim-substrat kompleksinin dayanıklılığının kontrole göre daha düşük olduğunu ve ürün oluşumunun daha fazla olduğunu ifade etmekte olup, en az ürün 2 ppb uygulama dozunda elde edilmiştir.

İnkübasyon dönemlerinin ortalama verilerine göre, tüm 2,4-D uygulama düzeylerinde belirlenen V_{max}/K_m oranlarının kontrolden daha yüksek olduğu saptanmış, en yüksek V_{max}/K_m 0.5 ppb uygulama dozunda, en düşük V_{max}/K_m oranı ise kontrolde elde edilmiştir. Bu ise, 0.5 ppb uygulama dozunda enzim-substrat kompleksinin dağılımının, bu kompleksin oluşumuna göre daha çabuk olduğunu ortaya koymaktadır.

4. SONUÇ

Tarımsal alanda herbisitlerin sürekli olarak kullanımı, herbisitleri makro ve mikro biyolojik ortamın oluşumuna ve değişimine devamlı olarak etki edebilen ekolojik faktöre dönüştürmüştür. Bu nedenle, herbisitlerin topraktaki biyolojik olaylara etkisinin incelenmesi önem taşımaktadır. Bu çalışmada, artan dozlarda 2,4-D herbisitinin kil ve kum bünyeli toprağa uygulanmasında, katalaz enzim aktivitesi ile kinetik parametrelerdeki değişimler 90 günlük inkübasyon denemesi ile belirlenmiştir. 2,4-D herbisitinin topraklara uygulanması sonucunda hem katalaz aktivitesi hemde kinetik parametrelerin önemli düzeyde etkilendiği, bu duruma 2,4-D uygulama dozu ve toprak bünyesinin etki sağladığı saptanmıştır.

2,4-D herbisitinin katalaz enzim aktivitesi üzerindeki etkisinin toprak tekstürü ile önemli ilişkisinin olduğu belirlenmiş, en yüksek katalaz enzim aktivitesi kil bünyeli toprakta saptanmıştır. Katalaz enzim aktivitesinin yüksek olması kil bünyeli toprakta aerob mikroflora populasyonundaki fazlalığı göstermektedir. 2,4-D uygulama dozunun ise katalaz aktivitesi üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Katalaz enzim aktivitesini 2,4-D herbisitinin başlangıçta her iki toprakta artırdığı, ilerleyen inkübasyon dönemlerinde ise azalttığı saptanmıştır. Kil ve kum bünyeli toprağın her birinde maksimum katalaz enzim aktivitesi inkübasyonun 15. gününde belirlenmiştir. Bu durum 2,4 D'nin toprak mikroorganizmaları tarafından C ve enerji kaynağı olarak kullanılmasından, CO₂'e kadar oksitlenmeye imkan veren elektron vericisi olmasından dolayı aerob mikrobiyal aktiviteyi artırmasıyla ilgili olabilir. İnkübasyonun ilerleyen dönemlerinde katalaz aktivitesinde meydana gelen azalmalar 2,4-D herbisitinin mineralizasyonu sonucu ortaya çıkan toksiditeden kaynaklanabilir.

Enzim reaksiyonu kinetik parametrelerinin değerlendirilmesi enzim-substrat kompleksi ve ürün oluşumu arasındaki ilişkilerin gösterilmesine imkan sağlamaktadır. Kil ve kum bünyeli toprağa 2,4-D herbisit uygulamasının, inkübasyon süresinin ve substrat konsantrasyonunun V_{max} , K_m , V_{max}/K_m gibi kinetik parametreleri etkilediği belirlenmiştir. İnkübasyon döneminde hem kontrolde hem de herbisit

uygulanmasında, kinetik parametrelerdeki değişimlerin stabil olmadığı saptanmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre, topraklara 2,4-D uygulamasının aerob organizma populasyonunda meydana getirdiği etkiden dolayı ürün oluşum hızı da artmaktadır. Bu durum, 2,4-D herbisitinin sadece aerob organizmaları etkilemediği, bunun yanı sıra bunların faaliyetleri sonucu açığa çıkan O₂'nin oluşum hızını da etkilediğini ortaya koymaktadır. Böylece 2,4-D'nin önerilen dozda kullanılması durumunda hem katalaz aktivitesi hem de bunun sonucu olarak O₂ oluşum hızı da artmaktadır. Bu ise tarımsal açıdan, özellikle yüzey topraklarında kök solunumu için gerekli O₂'nin temini açısından önemlidir.

5. TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezinin bir kısmı olan bu araştırmanın yürütülmesine yapmış olduğu katkılarından dolayı Ondokuz Mayıs Üniversitesi Ziraat Fakültesi Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Rıdvan KIZILKAYA'ya teşekkür ederiz.

6. KAYNAKLAR

- Atkins, P.W. 1998. Physical Chemistry, Sixth Edition. Oxford University Press UK.
- Anonymous, 2010. Ruhsatlı Bitki Koruma Ürünleri. T.C. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara, s: 82-93.
- Aurelia, O. 2009. Study of the effect of some pesticides on soil microorganisms. Proceedings of International Symposia Risk Factors for Environment and Food Safety & Natural Resources and Sustainable Development, Faculty of Environmental Protection, November 6-7, 2009, Oradea. pp. 1086-1089.
- Beck, T.H. 1971. Die messung der katalasen aktivität von böden. Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde, 130: 68-81.
- Bending, G.D., Lincoln, S.D., Edmondson, R.N. 2006. Spatial variation in the degradation rate of the pesticides isoproturon, azoxystrobin and diflufenican in soil and its relationship with chemical and microbial properties. Environmental Pollution, 139(2): 279-287.
- Bouyoucos, G.J. 1951. A recalibration oh hydrometer method for making mechanical analysis of soil. Agronomy Journal, 43: 434-438.
- Bremner, J.M. 1965. Total nitrogen. In C.A. Black, D.D.Evans, J.L. White, L.E. Ensminger, F.E. Clark (Eds). Method of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. Agronomy 9, ASA, Madison, Wisconsin, USA, 1149-1176.
- Brower, C.A., Wilcox, L.V. 1965. Soluble salts. In C.A. Black, D.D.Evans, J.L. White, L.E. Ensminger, F.E. Clark (Eds). Method of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. Agronomy 9, ASA, Madison, Wisconsin, USA, 933-951.
- Chiron, S., Fernandez-Alba, A., Rodriguez, A., Garcia-Calvo, E. 2000. Pesticide chemical oxidation: state-of-the-art. Water Research, 34(2): 366-377.
- Dalal, R.C. 1985. Distribution, salinity, kinetic and thermodynamic characteristics of urease activity in a

- vertisol profile. Australian Journal of Soil Research, 23(1): 49 – 60.
- Demirci, F., Elibüyük İ., Ö. 2010. Degradation of pesticides in soil. International Soil Science Congress on “Management of Natural Resources to Sustain Soil Health and Quality”. May 26-28, 2010. Ondokuz Mayıs University, Samsun-Turkey. pp. 989-998.
- Ekberli, İ., Kızılkaya, R. 2006. Catalase enzyme and its kinetic parameters in earthworm *L. terrestris* casts and surrounding soil. Asian Journal of Chemistry, 18(3): 2321 - 2328.
- Ekberli, İ., Kızılkaya, R., Kars, N. 2006. Urease Enzyme and Its Kinetic and Thermodynamic Parameters in Clay Loam Soil. Asian Journal of Chemistry, 18 (4): 3097-3105.
- Foster, R.K., Mc Kercher, R.B. 1973. Laboratory incubation studies of chlorophenoxyacetic acids in chernozemic soils. Soil Biology and Biochemistry 5, 333-337.
- Fuentes, M.S., Benimeli, C.S., Cuzzo, S.A., Amoroso, M.J. 2010. Isolation of pesticide-degrading actinomycetes from a contaminated site: Bacterial growth, removal and dechlorination of organochlorine pesticides. International Biodeterioration & Biodegradation, 64(6): 434-441.
- Gaultier, J., Farenhorst, A., Cathcart, J., Goddard, T. 2008. Degradation of [carboxyl-¹⁴C] 2,4-D and [ring-U-¹⁴C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content. Soil Biology and Biochemistry, 40(1): 217-227.
- Glinsky, J., Stepniewska, Z., Brzezinska, M. 1986. Characterization of the dehydrogenase and catalase activity of the soils of two natural sites with respect to the soil oxygenation status. Polish Journal of Soil Science 2, 47–52.
- Haktanır, K. 1989. Pestisitlerin ve ağır metallerin topraktaki biyolojik olaylar üzerine etkileri. Türkiye Çevre Sorunları Vakfı Yayınları, s.5-15, Ankara.
- Han, S.O., New, P.B. 1994. Effect of water availability on degradation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) by soil microorganisms. Soil Biology and Biochemistry 26, 1689-1697.
- Harris, G.L., Nicholls, P.H., Bailey, S.W., Howse, K.R., Mason, D.J. 1994. Factors influencing the loss of pesticides in drainage from a cracking clay soil. Journal of Hydrology, 159(1-4): 235-253.
- Hızalan, E., Ünal, H. 1966. Toprakta önemli kimyasal analizler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 278: 5-7.
- Huang, Q., Shindo, H. 2000. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase. Soil Biology & Biochemistry, 32: 1885–1892.
- Johnson, W.G., Lavy, T.L., Gbur., E.E. 1995. Sorption, mobility, and degradation of triclopyr and 2,4-D and four soils. Weed Science 43, 678-684.
- Kızılkaya, R. 2000. The effects of herbicides 2,4-D on total bacteria and *Bacillus cereus* var. *mycoides* growth in soil. Proceedings of International Symposium on Desertification. 13-17 June 2000. Konya-Turkey. p. 541-546.
- Kızılkaya, R., Aşkın, T., Bayraklı, B., Sağlam, M. 2004. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals. European Journal of Soil Biology 40, 95-102.
- Kızılkaya, R., Ekberli, İ. 2008. Determination of the effects of hazelnut husk and tea waste treatments on urease enzyme activity and its kinetics in soil. Turk. J. Agric. For., 32 (4): 299-310.
- Kızılkaya, R., Ekberli, İ., Kars, N., 2007. Tütün Atığı ve Buğday Samanı Uygulanmış Toprakta Üreaz Aktivitesi ve Kinetiği. Tarım Bilimleri Dergisi, 13(3): 186-194.
- Kızılkaya, R., Kızılgöz, İ., Arcak, S., Kaptan, H., Rakıcioğlu, S., 1998. Microbiological properties of soils of Harran Plain. M. Şefik Yeşilsoy International Symposium on Arid Region Soil. 21-24 September 1998. Menemen-İzmir-Turkey. p. 569-574.
- Khaziev F. K. 1982. Ecological research of soil enzyme activity. Nauka Press, Moscow. 203 pp.
- Khaziev, F.Kh., Agafarova, Y.M. 1976. Michaelis constant of soil enzymes. Soviet Soil Science, 8: 150-157.
- Klöpffer, W. 1992. Photochemical degradation of pesticides and other chemicals in the environment: a critical assessment of the state of the art. Science of The Total Environment, 123-124: 145-159.
- Larsbo, M., Stenström, J., Etana, A., Börjesson, E., Jarvis, N.J. 2009. Herbicide sorption, degradation, and leaching in three Swedish soils under long-term conventional and reduced tillage. Soil and Tillage Research, 105(2): 200-208.
- Lewis, J.A., Papavizas, G.C., Hora, T.S. 1978. Effect of some herbicides on microbial activity in soil. Soil Biology and Biochemistry, 10 (2): 137-141.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2010. Mikroorganizmaların biyolojisi (Çeviri editörü: Cumhuriyet Çökmüş). Palme yayınları: 532: 647-655.
- Masciandaro, G., Ceccanti, B., Ronchi, V., Bauer, C. 2000. Kinetic parameters of dehydrogenase in the assessment of the response of soil to vermicompost and inorganic fertilisers. Biol. Fertil. Soils, 32:479–483.
- Mercadier, C., Vega, D., Bastide, J. 1997. Iprodione degradation by isolated soil microorganisms. FEMS Microbiology Ecology, 23(3): 207-215.
- Nichols, J.R., Grismer, M.E. 1997. Measurement of fracture mechanics parameters in silty-clay soils. Soil Science 162, 309-322.
- Niewiadomska, A., Sawicka A. 2002. Effect of Carbendazim, Imazetapir and Thiram on Nitrogenase Activity, Number of Microorganisms in Soil and Yield of Hybrid Lucerne (*Medicago media*). Polish Journal of Environmental Studies, 11(6): 737-744.
- Olson, B.M., Lindwall, C.W. 1991. Soil microbial activity under chemical fallow conditions: effects of 2,4-D and glyphosate. Soil. Biol. Biochem., 23(II): 1071-1075.
- Ou, L.T., 1984. 2,4-D degradation and 2,4-D degrading microorganisms in soils. Soil Science 137, 100-107.
- Peech, M. 1965. Hydrogen activity. In C.A. Black, D.D.Evans, J.L. White, L.E. Ensminger, F.E. Clark (Eds). Method of soil analysis, Part 2, Chemical and microbiological properties. Agronomy 9, ASA, Madison, Wisconsin, USA, 914-925.
- Que Hee, S.S., Sutherland, R.G. 1981. The Phenoxyalkanoic Herbicides, Volume I: Chemistry, Analysis, and Environmental Pollution. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, 319 pp.
- Rath, A.K., Ramakrishnan, B., Rath, A.K., Kumaraswamy, S., Bharati, K., Singla, P., Sethunathan, N. 1998. Effect of pesticides on microbial biomass of flooded soil. Chemosphere, 37(4): 661-671.
- Sannino, F., Gianfreda, L. 2001. Pesticide influence on soil enzymatic activities. Chemosphere, 45: 417-425.
- Soulas, G. 1982. Mathematical model for microbial degradation of pesticides in the soil. Soil Biology and Biochemistry, 14(2): 107-115.

2,4 D'nin topraktaki katalaz aktivitesi ve kinetiği

- Spark, K.M., Swift R.S. 2002. Effect of Soil Composition and Dissolved Organic Matter on Pesticide Sorption. *The Science of the Total Environment*, 298: 147-161.
- Syvestre, G.S., Fournier, J.C. 1979. Effects of pesticides on the soil microflora. *Advances in Agronomy*. Academic Press. Inc. 31, 63-72.
- Tabataba, M.A. 1973. Michaelis constant of urease in soils and soil fraction. *Soil Science Society America Proceedings*, 37: 707-710.
- Tabataba, M.A., Bremner, J.M. 1971. Michaelis constant of soil enzymes. *Soil Biol. and Biochem.*, 3:317-323.
- Tinoco, Jr.I., Sauer, K., Wang J.C. 1995. *Physical chemistry: principles and applications in biological sciences*, 3rd ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, USA, s. 418-456.
- Trasar-Cepeda, C., Gil-Sotres, F., Leiros, M.C. 2007. Thermodynamic parameters of enzymes in grassland soils from Galicia, NW Spain. *Soil Biol. and Biochem.*, 39: 311-319.
- Tu, M., Hurd, C., Randall, M.J. 2001. *Weed Control Methods Handbook: Tools and Techniques for Use in Natural Areas, Wildland Invasive Species Program, The Nature Conservancy.*
- Walkey, A. 1946. A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Sci.*, 63: 251-263.
- Wang, Y., Wu, C., Wang, X., Zhou, S. 2009. The role of humic substances in the anaerobic reductive dechlorination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid by *Comamonas koreensis* strain CY01. *J. of Hazardous Materials*, 164: 941-947.
- Yurtsever, N. 1984. *Deneysel İstatistik Metodlar*. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizm. Genel Müd. Yayınları, Ankara.