



Bazı Yaygın İnsektisitlerin Domates (*S. lycopersicon L.*) Bitkisinde Lipid Peroksidasyon ve Antioksidatif Sistem Üzerine Etkileri

Effects of Some Common Insecticides on Lipid
Peroxidation and Antioxidative System in Tomato
(*S. lycopersicon L.*)

Sümevra YAKAR¹, Atilla Levent TUNA²

¹Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla
• sumeyrayakar@gmail.com • ORCID > 0000-0001-8953-2967

²Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Muğla
• tuna@mu.edu.tr • ORCID > 0000-0001-5123-0031

Makale Bilgisi / Article Information

Makale Türü / Article Types: Araştırma Makalesi / Research Article

Geliş Tarihi / Received: 25 Mart / March 2022

Kabul Tarihi / Accepted: 07 Ocak / January 2023

Yıl / Year: 2023 | Cilt - Volume: 38 | Sayı - Issue: 1 | Sayfa / Pages: 81-98

Atıf/Cite as: Yakar, S., Tuna, A.L. "Bazı Yaygın İnsektisitlerin Domates (*S. lycopersicon L.*) Bitkisinde Lipid Peroksidasyon ve Antioksidatif Sistem Üzerine Etkileri" Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi, 38(1), Şubat 2023: 81-98.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Atilla Levent TUNA

Yazar Notu / Author Note: "Bu çalışma, ilk yazarın Yüksek Lisans Tezinden kısmi olarak derlenmiş ve Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon Birimince (13-25) desteklenmiştir."

BAZI YAYGIN İNSEKTİSİTLERİN DOMATES (*S. LYCOPERSICON L.*) BİTKİSİNDE LİPİD PEROKSİDASYON VE ANTİOKSİDATİF SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

ÖZ:

Günümüzde entansif tarımda pestisit kullanımı yüksek düzeydedir. Bu kimyasalların bitkilerde morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden oldukları da gösterilmiştir. Muğla İli ülkemizde yoğun bir sera potansiyeline sahiptir ve pestisit kullanımı da üst düzeydedir. Bu çalışmada, Imidacloprid, Abamectin ve Acetamiprid etken maddeli insektisitlerin sera domatesinde potansiyel oksidatif stres izlerini araştırmak ve lipid peroksidasyon düzeyi ile antioksidatif sistemin uyarılma derecesini ortaya koymak yoluyla bitkinin strese yanıtını belirlemek amaçlanmıştır. İsektisit uygulamalarına bağlı olarak, prolin, klorofil ve malondi-aldehit (MDA) ile oksidatif stres durumunda bitkinin antioksidatif yanıtını belirlemek amacıyla süperoksit dismutaz (SOD), peroksidaz (POX) ve katalaz (CAT) spesifik enzim aktiviteleri belirlenmiştir. Bulgularımıza göre Imidacloprid , kontrole göre MDA ve prolin kapsamını arttırmış ancak antioksidatif sistemi uyararak kontrole göre 200 ve 400 µl L⁻¹ dozlarında POX ve SOD enzim aktivitelerini yükseltmiştir. Abamectin MDA kapsamını kontrole göre tüm dozlarda, prolin kapsamını ise ilk 2 dozda arttırmış, buna karşın antioksidatif sistem uyarılarak tüm enzim aktivitelerinde artış kaydedilmiştir. Acetamiprid ise özellikle 0.3 g L⁻¹ konsantrasyonda prolin kapsamını aşırı derecede uyararak lipid peroksidasyon düzeyinin baskılanmasına sebebiyet vermiştir. Elde edilen veriler, her 3 insektisit de domates bitkisinde prolin ve lipid peroksidasyonu arttırarak antioksidatif sistemin uyarılmasına neden olduğunu göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: İsektisit, Lipid Peroksidasyon, Imidacloprid, Abamectin Acetamiprid.



EFFECTS OF SOME COMMON INSECTICIDES ON LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDATIVE SYSTEM IN TOMATO (*S. LYCOPERSICON L.*)

ABSTRACT

Today, pesticide use in intensive agriculture is at high levels. It has also been shown that these chemicals cause morphological, physiological and biochemical changes in plants. Muğla Province has an intense greenhouse potential in our

country and pesticide use is at a high level. In this study, it was aimed to investigate the potential oxidative stress traces of Imidacloprid, Abamectin and Acetamidiprid active ingredient insecticides in greenhouse tomato plant and to determine the plant's response to stress by revealing the level of lipid peroxidation and the degree of stimulation of the antioxidative system. Depending on the insecticide applications, the specific enzyme activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX) and catalase (CAT) were analyzed in order to determine the antioxidative response of the plant in case of oxidative stress with proline, chlorophyll and malondialdehyde (MDA). According to our findings, Imidacloprid increased MDA and proline levels compared to the control, but increased the POX and SOD enzyme activities at 200 and 400 μL^{-1} doses compared to the control by stimulating the antioxidative system. Abamectin increased the MDA content in all doses and the proline content in the first 2 doses compared to the control, however, all enzyme activities were increased by stimulating the antioxidative system. Acetamidiprid, on the other hand, caused the suppression of lipid peroxidation level by excessively stimulating the proline content, especially at a concentration of 0.3 g L^{-1} . The data obtained show that all 3 insecticides cause stimulation of the antioxidative system by increasing proline and lipid peroxidation in tomato plant.

Keywords: Insecticides, Lipid Peroxidation, Imidacloprid, Abamectin Acetamidiprid.



1. GİRİŞ

Dünya üzerindeki tarım alanları, günümüzde sınırlanmış olmasına karşın; artan nüfusun ve nitelikli tarımsal ürün arama eğilimindeki insanoğlunun gereksinimlerini karşılamak için, birim alandan daha fazla ve daha verimli ürün elde etmek adeta bir zorunluluk olmuştur. Tüm bu çabalar kuşkusuz, ürün artışını birkaç kata kadar yükseltmekte ancak birçok sorunu da beraberinde getirmektedir. Bilinçli ve etkili bitki koruma önlemleri alınmadan entansif tarımın (modern yöntemlerle yapılan, verimi yüksek tarım) yapılabilme olasılığı yoktur. Fakat doğru kullanılmadıklarında; kültür bitkilerinde en önemli stres kaynaklarından biri olmalarının yanı sıra, toprağa, yer altı sularına, denizlere, atmosfere ve de tüm canlılara besin zinciri yolu ile ulaşan zirai mücadele amaçlı bu biyositler tüm ekosistemin canlılığını ve devamlılığını biyobirikim sonucu tehdit etmektedirler (Dağ, 2000; Durmuşoğlu ve ark., 2010). Tarımsal uygulamalarda pestisitler önemli bir girdi kaynağı ve bileşendir. Tarımsal ürünlerde olası kalıntılar izin verilen limitlerin altında olmalıdır. İlaçlamada önerilen pestisit uygulama dozları aşıldığında, biyo çeşitlilik açısından potansiyel risk oluşmaktadır. Bu nedenle, son zamanlarda pestisit kalıntılarının minimuma indirilmesi amacıyla yıkama işlemi başta olmak

üzere duyarlılık söz konusudur. Bir araştırmada hasattan sonra biberlerin; çeşme suyu, sitrik asit, asetik asit çözeltileri ve ultrasonik banyo ile yıkama uygulamalarından (2 ve 5 dakika boyunca) geçirilmesiyle ve yıkama süreleri arttıkça kalıntı miktarının da azaldığı saptanmıştır. Kalıntı analizleri, QuEChERS analiz yöntemiyle yapılmıştır (Çatak ve ark., 2020).

Türkiye’de 2019 yılında örtü altında 790 bin dekar alanda 7.8 milyon ton sebze üretilmiştir. Ülkemiz örtüaltı varlığı bakımından dünyada ilk dört ülke arasında Avrupada ise İspanya’nın ardından ikinci sırada yer almaktadır. Örtüaltı sebze üretiminde Antalya % 48’lik payla (3.8 milyon ton) birinci sıradadır. Bu ilimizi sırasıyla, Mersin % 16 (1.2 milyon ton), Adana % 13 (1 milyon ton) ve Muğla % 9 (690 bin ton) illeri takip etmektedir. Bu 4 ildeki toplam örtü altı üretim yaklaşık 6.7 milyon ton ile toplam örtüaltı üretiminin yaklaşık % 86’sını oluşturmaktadır. Muğla ilinde toplam örtü altı alan miktarı 39 bin da ile ülkemizde 4. sırada yer almaktadır. Domates örtü altında üretilen sebzelerin, toplamda % 49’unu oluşturmaktadır (Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019).

Sistemik pestisitler, iletim dokuları vasıtasıyla bitkinin tüm organlarına ulaşabilen pestisitlerdir. İlaçlamadan çok kısa bir süre sonra bitki tarafından tamamen emilirler. Yapraktan uygulanan pestisit kalıntısına köklerde rastlanabilir. Pestisit tüketiminin fazla olması sadece gıda güvenliği ve ekonomik açıdan zarar oluşturmakla kalmamakta, bunlar çeşitli mekanizmalar ile su kaynaklarına ulaşmaktadır. Kullanım kolaylığı, çevreden etkilenmemeleri (yağmur gibi dış etkilerden), etkinliklerinin yüksek oluşu vb. nedenlerle avantajları fazla olan bu pestisitlerin, dezavantajları da fazladır. Örneğin, zararlıların bu pestisitlere dayanıklılıkları daha fazla olmaktadır. Ayrıca sistemik etkili pestisitlerin, bilinçsiz kullanımı genel canlı sağlığı açısından da önemli bir risk faktörüdür (Doğan ve Karpuzcu, 2019). Sistemik Imidacloprid, tarla ve bahçe bitkileri için Dünyada en çok kullanılan insektisitlerden biridir. Bu nörotoksik madde, özellikle mısır, ayçiçeği ve kolza için genellikle tohum kaplama olarak kullanılır. Nikotinerjik nöronal yolda bir tıkanmaya neden olarak böceğin sinir sistemindeki uyarıların iletilmesine müdahale eder (Bonmatin ve ark., 2005). Acetamiprid, neonikotinoid grubuna ait bir insektisittir. Organik fosforlu insektisitlere direnç geliştirmiş böceklerle etkin mücadelede benzersiz bir etki tarzına sahiptir (Gupta ve Gajbhiye, 2007). Makrosiklik bir lakton olan Abamectin ise, toprak mikroorganizması *Streptomyces avermitilis*’in bir türünden elde edilen en çok kullanılan “Avermectin”lerden biridir. Deneysel hayvan çalışmalarına dayanarak, Abamectin alınımı takiben tüm dokulara ve ana organlara hızla yayılır. Ek olarak, histopatolojik çalışmalar Abamectin’in nöral, hepatorenal ve üreme sistemlerinde ciddi hasarlara neden olduğunu göstermiştir. Toprakta kalıcılığı ise azdır. Bu etken maddelerin tümünün bitkiye alınımını kolay ve bilinen toksisiteleri orta derecelidir (Macar, 2020).

Kimyasal savaşım çoğunlukla direkt olarak bitkide stres kaynağı olabilir. Stres, bitkide büyüme ve gelişmeyi olumsuz etkilemekle kalmayıp, ürün ve kaliteyi de inhibe etmektedir. Böylesi bir durumda metabolizmadaki normal miktarından fazla üretilen reaktif oksijen türleri; DNA, protein ve lipid gibi yaşamsal biyolojik molekülleri okside edebilir böylece membran gibi bazı önemli bitki dokularında bozulmalar ve hasarlar meydana gelebilmektedir. Özellikle membran lipidlerinin reaktif oksijen türleriyle yükseltgenmesi yoluyla bozulmasına ve permeabilitele-
rinin artmasına neden olan lipid peroksidasyon olayı, en tehlikelidir ve bitkiler bu şartlar altında reaktif oksijen türlerini de-toksifiye edebilmek için antioksidatif savunma yanıtını kullanır (Koç ve Üstün, 2008). Stres; önemli fizyolojik ve metabolik değişimlere yol açarak, üründe nitelik ve nicelik kaybına ve bitkinin ölümüne yol açabilmektedir. Stres etmenlerinin oluşturduğu zarar bitkinin çevreye genetik adaptasyon derecesine bağlı olarak değişir. Stres ve strese tolerans kavramları birbirleriyle yakından ilişkilidir. Stres toleransı bitkinin uygun olmayan ortam koşulları ile başa çıkabilme potansiyelidir. Strese dayanıklılık mekanizması bitkilerde iki şekilde etkili olur. Bitkiler ya geliştirdikleri önleyici mekanizmalarla stres faktörlerinin etkinliğini önlemekte ya da tolerans mekanizmalarıyla onlara karşı koyarak yaşamlarını sürdürmektedirler (Taiz ve Zeiger, 2008).

Bitkiler için temel bileşenlerden olan oksijen; moleküler oksijenin (O_2), suya (H_2O) indirgenmesi yoluyla enerji kaynağı oluşturmaktadır. Oksijenin indirgenmediği durumlarda ise biyolojik molekülleri okside edebilen reaktif oksijen türleri oluşmaktadır. Bitkinin normal gelişim sürecinde metabolik faaliyetler sonucunda ikincil maddeler olarak sentezlenirler ancak detoksifikasyon mekanizması ile aralarındaki denge sayesinde zararlı etki oluşturmazlar. Reaktif oksijen türleri (ROS), radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla ya da atom veya moleküle bir elektron ilavesiyle oluşurlar. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da onlardan elektron alabildiklerinden organizmada indirgeyici veya yükseltgeyici olarak davranırlar. Hücrelerde bilinen başlıca ROS'ler; singlet oksijen (1O_2), süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot -}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH^{\cdot}) olup normal koşullarda hücredeki düzeyleri sürekli olarak denge halindedir (Koç ve Üstün, 2008; Karabulut ve Gülay, 2016).

Bitkiler oksidatif stres altında yaşamlarını devam ettirebilmek ve stresle başa çıkabilmek için ROS'un kontrolü ve detoksifikasyonunu sağlayan antioksidatif savunma yanıtlarını kullanırlar. Bu koruma sistemi çalışmadığı ya da yeterli olmadığı zaman bitki hücrelerinde ölüm hemen gerçekleşir. Antioksidantlar düşük konsantrasyonlarda oksidasyon yapabilen ve diğer bir substratın oksidasyonunu azaltan (elektron aktarımıyla) veya engelleyen yani oksidasyona karşı mücadele eden maddelerdir (Büyük ve ark., 2012). Hücresel savunmada çok önemli bir yeri olan enzimatik antioksidantlar: süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon peroksidaz (GPX) ve katalaz (CAT) olarak bilinmektedir. Enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidantlar, hücredeki lokalizasyonlarına ve rol-

lerine göre farklılık göstermektedirler. Stres altındaki canlıların genelinde olduğu gibi bitkilerde de stres karşısında serbest oksijen radikallerini zararsız bileşiklere dönüştüren antioksidant miktarları ve antioksidant enzim aktiviteleri yüksek olduğunda, o bitkiler oksidatif zararlanmaya karşı daha dayanıklı olmaktadırlar (Mehdy, 1994). Örneğin; bir enzimatik antioksidan olan SOD'un ifadesindeki artışların biyotik ve abiyotik strese bağlı oluşan oksidatif strese başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığı sürdürmesine katkı sağlamada önemli rolleri olduğu ileri sürülmüştür. *Morus alba* L. (dut), *Cicer arietinum* L. (nohut) ve *S. lycopersicon* L. (domates) gibi birçok bitkide çeşitli stres koşulları altında gerçekleştirilen çalışmalarda SOD aktivitesinde artışlar meydana geldiği gözlenmiştir (Harinasut ve ark., 2003; Gapinska ve ark., 2008). Yüksek bitkilerde tanımlanmış çok sayıda CAT izozimi; *Hordeum vulgare*'de (arpa), *Helianthus annuus* L.'de (ayçiçeği), *Brassica oleracea* L. 'de (karnabahar) ve *Zea mays* L.'da (mısır) çalışılmıştır ve elde edilen veriler neticesinde enzimin farklı stres koşulları ile farklı bitkilerde değişik düzeylerde koruma sağladığı gözlenmiştir (Polle ve ark., 1992; Azevedo ve ark., 1998).

Lipit peroksidasyonu olgusu: diğer pek çok stres çeşidi etkisiyle de görülen bir olgu olup, membran bütünlüğünün bozulması ve hücrenin hasar görmesi anlamına gelir. Daha önceki pek çok bilimsel çalışma lipit peroksidasyonunun da dahil olduğu belirli parametreler ile bitkinin stres karşısında savunma yanıtı olarak kullanıldığı antioksidatif sistemi konu almıştır. Serbest oksijen radikallerinin zararlarından en çok etkilenen hücre elemanları membran lipitleridir. Oksidatif stres, özellikle polyansatüre (doymamış) yağ asitlerinin peroksidasyonu ile kendini gösterir. Çoklu doymamış yağ asidi zincirindeki metilen gruplarından bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile peroksidasyon başlamaktadır. Lipit peroksidasyonu sonucu lipit radikalleri oluşur, bu radikaller bir araya gelerek konjuge dienleri oluştururlar. Devam eden oksidasyon ile bu dienler de parçalanır ve MDA (malondialdehit) bu zincirde ara ürün olarak ortaya çıkar. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek; membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına, plazma membranında permeabilite artışına ve hasara neden olarak nihayetinde enzim aktivitesinde değişime yol açar (Jablonska-Trypuc, 2017).

Lipit peroksidasyonunu başlatan ilk radikal, hidroksil radikalidir. Lipit peroksidasyonu; membran yapı ve bütünlüğünün bozulması, oluşan serbest radikallerin, çeşitli hücre bileşenleri üzerine etkisi ve son ürünlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olmaktadır. Lipit peroksidasyonu bir zincir tepkimesi şeklinde başlar ve daha ileri peroksidasyonu başlatacak serbest radikaller için sürekli bir kaynak niteliğindedir. Kendi kendini devam ettiren bu zincir reaksiyonların hücre membranına hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile oluşan lipit radikali (L) dayanıksızdır ve bir dizi spontan değişikliğe uğrayarak oluşan konjuge-dienler daha stabildir. Lipit radikalinin moleküler oksijen ile reaksiyona girmesi sonucu lipit peroksit radikali (LOO•) meydana

na gelmektedir. Bu radikaller de membran yapısındaki diğer çoklu doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumunu sağlar ve kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidro-peroksitlerine (LOOH) dönüştürür. Lipit hidro-peroksitlerden, fenton tipi bir reaksiyonla aldehit ve alkanlar oluşur. Lipit peroksidasyonu sonucunda ortaya çıkan çeşitli aldehitlerden en iyi bilinenleri malondialdehit (MDA)'dir (Jablonska-Trypuc, 2017).

Bu çalışma, Muğla yöresinde sera domatesi bitkisinde (*Solanum lycopersicon* L.) en çok kullanılan insektisitlerden bazıları ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın amacı: bölgede yaygın kullanılan 3 farklı insektisit sera domatesi bitkisinde neden olduğu olası oksidatif stres izlerini, lipit peroksidasyon ve antioksidatif savunma sisteminin yanıtını araştırmaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Çalışmanın Planlama, Yetiştirme ve Uygulama Aşamaları

Bu çalışma, Muğla-Menteşe'de Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi'ne ait açık sera alanında düzenlenmiş ve Manyla F₁ çeşidi sırk domates fideleri (*Solanum lycopersicon* L.) kullanılmıştır. Çalışmada sistemik etkili 3 ayrı insektisit türevi kullanılmıştır. Muğla İli; Ortaca, Fethiye ve Dalaman İlçelerindeki zirai ilaç bayileri, üreticiler ve Tarım İl Müdürlüğü ile yapılan görüşmeler sonucunda, bölgede en çok satılan ve kullanılan 3 insektisit belirlenmiş ve denemede kullanılmıştır (Çizelge 1). Bunlar:

- 1. Abamectin (AB) (Syngenta; AGRIMEC)**, (Macrocyclic lactone insektisitler grubundan), C₄₈H₁₂O₁₄ Farelerde oral LD₅₀: 11 mg kg⁻¹, önerilen doz: 25 mL 100 L su⁻¹
- 2. Acetamiprid (AC) (Sumitomo; MOSPILAN)**, (Pyridilmethylamine nicotinoid insektisitler grubundan), C₁₀H₁₂CIN₄ Farelerde oral LD₅₀: 185 mg kg⁻¹, önerilen doz: 30 g 100 L su⁻¹
- 3. Imidacloprid (IM) (Bayer; CONFIDOR)**, (Nitroguanidine nicotinoid insektisitler grubundan), C₉H₁₀CIN₅O₂ Farelerde oral LD₅₀: 450 mg kg⁻¹, önerilen doz: 20 mL 100 L su⁻¹

Çizelge 1. Çalışmanın deneme planı**Table 1.** Trial plan of the study

K*	Kontrol
AB1**	250 µl L-1
AB2	500 µl L-1
AB3	1000 µl L-1
K	Kontrol
AC1***	0.3 g L-1
AC2	0.6 g L-1
AC3	1.2 g L-1
K	Kontrol
IM1****	200 µl L-1
IM2	400 µl L-1
IM3	800 µl L-1

*(K): Kontrol; sadece sulama suyu

** (AB): Abamectin önerilen doz: 25 mL 100 L-1

*** (AC): Acetamiprid önerilen doz: 30 g 100L-1

**** (IM): Imidacloprid önerilen doz: 20 mL 100 L-1

Etken madde sembollerinin yanındaki rakamlar uygulanan farklı dozları gösterir.

3 farklı insektisit x kontrol dahil 4 uygulama grubu x 3 tekrür olmak üzere toplam 36 adet 10 L hacimli plastik saksı kullanılmıştır. Bunun yanı sıra 10 adet yedek saksı bulundurulmuştur. Saksıların tümü ilaçlamalar sırasında oluşabilecek kontaminasyonu önleme amacıyla aralarında 20'şer cm bırakılarak yerleştirilmiş ve her bir grup kendi içinde etiketlenerek nizami şekilde sıralanmıştır.

Saksılar 2:1 v v⁻¹ oranında torf ve dere kumu ile 1 kg 15:15:15+Zn kompoze gübre homojen şekilde karıştırılarak doldurulmuştur. Nisan ayının son haftasında fidelerin dikimleri yapılmış ve ilk sudan sonra iki gün ara ile ortalama 300-700 mL su verilmiştir. Fidelerin boylanmaya başladığı Mayıs ayının üçüncü haftasında ise fideler askıya alınmıştır. Mayıs sonu itibariyle bahçe tipi 2 L kapasiteli basınçlı-plastik el pülverizatörleriyle ilk insektisit uygulaması yapılmıştır. Her insektisit etken maddesi için ayrı pülverizatör kullanılmıştır. Islanabilir toz formülasyondaki Acetamiprid için her bir grubun ilacı etiketli küçük plastik poşetlerde kullanıma hazır hale getirilmiştir. Abamectin ve Imidacloprid etken maddeli diğer insektisitler ise mikropipet yardımı ile etiketli küçük plastik şişelere alınmış ve uygulamaya hazır hale getirilmiştir. İlaçlama işlemi sabahın erken saatlerinde rüzgarsız havada yapılmış, yapraklara homojen dağılacak şekilde uygulama yapılmıştır. Daha son-

rasında ise her 10 günde bir zararlı popülasyonundaki dağılım gözlenmek suretiyle ilaçlamalar tekrar edilmiş, toplam dört uygulama yapılmıştır. Haziran ayı son haftası itibariyle yapılan dördüncü insektisit uygulamasının ardından Temmuz ayının ilk haftasında hasada gidilmiştir. Hasat esnasında her uygulama grubunu temsil edebilecek şekilde rastgele yaprak örnekleri toplanarak numaralandırılmış poşetler içerisinde laboratuvara getirilmiş ve saf suyla yıkandıktan sonra biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere dipfrizde -20 0C'de buzdolabı poşetleri içerisinde muhafaza edilmiştir.

2.2. Uygulanan Analiz Yöntemleri

Toplanan örneklerin analizleri Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü laboratuvarında yürütülmüştür. Lipit peroksidasyon (MDA: Malondialdehit) analizi, süperoksit dismutaz (SOD: EC 1.15.1.1) aktivite analizi, peroksidaz (POX: EC 1.11.1.7) aktivite analizi, katalaz (CAT: EC 1.11.1.6) aktivite analizi ve ayrıca klorofil ve prolin kapsamı laboratuvar şartlarında belirlenmiştir.

Prolin Analizi için 0.5 g yaş yaprak örneği % 3'lük sülfosalisilik asit ile parçalanmış ve filtre edilmiştir. Asetik asit ve ninhidrin reagent eklenen örnekler 1 saat 100°C'de su banyosunda tutulmuş ve reaksiyon buzda sonlandırılmıştır. Ardından 4 mL toluen eklenerek, 520 nm'de spektrofotometrede optik yoğunlukları belirlenmiş ve prolin standartlarıyla karşılaştırılarak hesaplama yapılmıştır (Bates ve ark., 1973). Toplam klorofil tayini Strain ve Svec (1966) yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. 0.5 gr yaprak örneği % 80'lik aseton ile ekstrakte edilerek 5 dakika 3.000 devirde santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmından 4 mL çekilip, üzerine tekrar 12 mL aseton eklenmiştir. Nihai solüsyonda spektrofotometrede 645 ile 663 nm dalga boylarında okuma yapılmıştır.

Enzim ekstraksiyonu ve belirlenmesi amacıyla, +4°C ortam koşulunda 0.5 g yaprak materyali 5 mL 50 mM fosforik bufferde (pH:7) homojenize edilmiştir. Sonra +4°C 10.000 g'de santrifüj edilmiş ve elde edilen süpernatant enzim kaynağı olarak kullanılmıştır. SOD enzim aktivitesinin belirlenmesinde Beauchamp ve Fridovich (1971), nitroblue tetrazoliumun fotokimyasal azalmayı inhibe etme yeteneğinin ölçümü ile analiz edilmiştir. Reaksiyon karışımı (3.0 mL) 50 mM fosfat buffer (pH:7.8), 13 mM L-methionine, 75 µM nitroblue tetrazolium, 0.1 mM EDTA, 2 µM riboflavin ve 0.1 mL enzim ekstraktı içerecek şekilde hazırlanmış ve riboflavin en son eklenerek test tüpleri bir ışık kaynağına (30 W floresan lambaları) yerleştirilmiştir. 30 dakika reaksiyon süresinden sonra absorbans UV-VIS spektrofotometrede 560 nm'de ölçülmüştür. POX aktivitesinin belirlenmesi, Chance ve Maehly (1995) metoduna göre guaiacol oksidasyonu kullanılarak yapılmıştır. 50 mM fosfat buffer (pH:6.5), 13 mm guaiacol, 100-200 mL enzim ekstraktı ve 5 mM H₂O₂ içeren 3 mL reaksiyon karışımı kullanılmıştır. H₂O₂ eklendikten sonra 30 saniye içerisinde, 2 dakika boyunca 470 nm'deki absorbans yükselişi kaydedilmiştir (Lee ve Lin, 1995). Spesifik enzim aktivitesi enzim unit/çözünebilir protein cinsinden

belirlenmiştir. Lipit peroksidasyonu seviyeleri Sresty ve Rao (1999)'e göre malondialdehit (MDA) ölçümü yapılarak saptanmıştır. MDA tayini tiyobarbitürik asit reaksiyonu kullanılarak belirlenmiştir. 0.5 g yaprak örneği 10 mL % 0.1'lik TCA (trikloroasetik asit) içinde homojenize edildikten sonra santrifüj edilmiş ve 4 mL % 20 TCA (trikloroasetik asit) içinde hazırlanmış % 0.5'lik TBA (tiyobarbitürik asit) eklenmiştir. Elde edilen karışım 95°C'de 30 dk su banyosunda bekletildikten sonra reaksiyon buzda sonlandırılmıştır. CAT enzim aktivitesi Bergmeyer ve ark. (1970) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. H₂O₂'nin miktarında oluşan azalma 240 nm'de gösterdiği maximum absorbanstaki düşüşle belirlenmiştir. 1mL'lik son hacme sahip kuvartz küvetlerdeki reaksiyon karışımı; 0.1 mM EDTA, 50 mM Na-fosfat tamponu (pH:7), distile su ve % 0.3 H₂O₂'den oluşmaktadır. Reaksiyon boyunca absorbansta oluşan düşüş 180 sn boyunca takip edilmiştir. CAT aktivitesi dakikada harcanan µmol H₂O₂ olarak ifade edilmiştir.

2.3. İstatistik Analiz

Uygulamalar arasında karşılaştırma yapılmadan önce, normalite ve varyans homojenitesini belirlemek için sırasıyla, Shapiro-Wilk ve Bartlett testleri uygulanmıştır. Elde edilen ölçümler arasındaki farklılıklar ise tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ile sınanmıştır. İstatistiksel farklılığın belirlendiği durumlarda, Tukey HSD (Tukey's honestly significant difference test) testi analize dâhil edilmiştir.

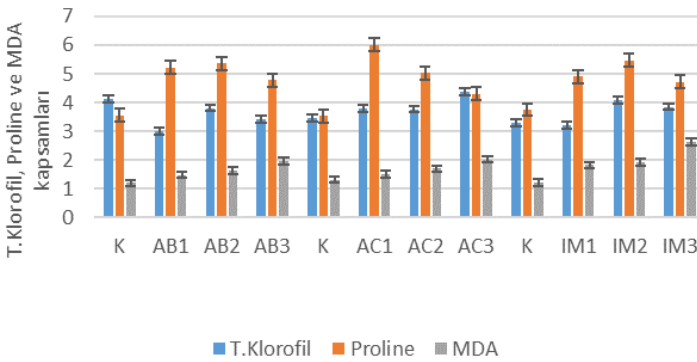
3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1 İnsektisit Uygulamalarının Toplam Klorofil, Prolin ve MDA Düzeylerine Etkisi

Abamectin uygulanan grupta toplam klorofil kapsamı yönünden kontrole göre istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmemiştir. Tüm konsantrasyon gruplarında, bitkilerin toplam klorofil içerikleri kontrol grubu bitkilerinden daha düşüktür. En düşük toplam klorofil içeriği 250 µl/L uygulama yapılmış gruptadır. Kontrol bitkilerine göre toplam klorofil içeriğinde % 27'lik düşüş tespit edilmiştir. Abamectin uygulaması yapılmış tüm domates bitkilerinde, her bir konsantrasyon grubunda, prolin kapsamları kontrol grubuna göre istatistiki olarak artmıştır (p<0.05). Fakat bu artış 1000 µl L⁻¹ uygulama yapılmış bitkilerde, kontrole göre % 34'lik oran ile diğer grup bitkilerine göre bir miktar daha az olmuştur. Maksimum prolin içeriğine ise kontrole göre % 51 artış ile 500 µl/L Abamectin uygulanmış domates bitkilerinde rastlanmıştır. Bitkilerde MDA düzeyleri her üç konsantrasyon için de, Abamectin uygulamaları ile kontrole karşılaştırıldığında istatistiki olarak anlamlı artış göstermiştir (Şekil 1). En yüksek artış ise kontrole göre % 64'lik artış ile 1000 µl L⁻¹ Abamectin uygulaması ile tespit edilmiştir. Görünüşe göre Abamectin, membran lipitlerini oksidasyona uğratmış ve hücrede hasara sebep olmuştur.

Acetamiprid uygulamalarının tümü, bitkilerde kontrole göre fotosentetik pigment kapsamlarını arttırmış olup, hiçbir artış kontrole göre anlamlı bulunmamıştır. Dahası farklı konsantrasyon uygulamaları yapılmış domatesler, kendi aralarında da istatistiki anlamlılıkta bir fark göstermemişlerdir. Prolin kapsamı incelendiğinde, 0.3 ve 0.6 g/L grubunda prolin kapsamı sırası ile kontrole göre % 69 ve % 42 farkla anlamlı şekilde artarken, 1.2 g L⁻¹ uygulama yapılmış bitkilerde ise % 21'lik bir artış görülmüş fakat istatistiki açıdan anlamlı farka rastlanmamıştır. Tüm Acetamiprid uygulamaları kontrole göre MDA miktarını anlamlı olarak arttırmıştır. Sonuçlar konsantrasyon artışı ile pozitif korelasyon göstermiştir. 1.2 g L⁻¹ konsantrasyonda Acetamiprid uygulanmış bitkilerde kontrol bitkilerine göre % 54 oranında MDA artışı görülmüştür.

Imidacloprid grubunda ise, kontrol grubu ile uygulamalar arasında önemli bir fark görülmemiştir. Imidacloprid'in 200 µl L⁻¹ uygulandığı bitkilerde kontrol grubuna oranla bir miktar azalış gözlenirse de, diğer grupların toplam klorofil kapsamı kontrole göre daha yüksektir. En yüksek toplam klorofil içeriği kontrole göre % 24'lük artış ile 400 µl L⁻¹ uygulama yapılmış grupta tespit edilmiştir. Imidacloprid uygulamasında, prolin kapsamı, önerilen dozda (200 µl L⁻¹ uygulama yapılmış bitkilerde % 30 artarken, 400 µl L⁻¹ konsantrasyonda, kontrole göre % 45 artmıştır. Imidacloprid'in 800 µl L⁻¹ konsantrasyonunda ise kontrole göre anlamlı olmayan % 25'lik bir artış mevcuttur (Şekil 1). Oksidatif stres ve devamında lipid peroksidasyon olgusunun metabolizma ürünü olarak kabul edilen MDA bakımından, kontrol grubuna göre konsantrasyona bağlı lineer bir artış söz konusudur ve istatistiki olarak anlamlıdır (p<0.05). Önerilenin dört katı konsantrasyonda (800 µl L⁻¹) Imidacloprid uygulaması yapılmış bitkilerde, kontrol bitkilerine göre MDA içeriğinde % 115 artış saptanmıştır.



Şekil 1. İnsektisitlerin toplam klorofil, prolin ve MDA düzeylerine etkisi

Figure 1. Effect of insecticides on total chlorophyll, proline and MDA level

Pestisitlerin uygulanma süreçlerinde her ne kadar hedef patojenlere karşı mücadelede başarı kazanılıp, tarımsal ürün verim ve kalitesinde artış sağlansa da, özellikle “patojen direnci ve reçetesiz pestisit kullanımı nedeniyle” kültür bitkilerinde abiyotik stres faktörlerine de sıkça rastlanmakta ve bu durum dolaylı olarak bitkisel üretimde verim ve kaliteyi olumsuz etkilemektedir.

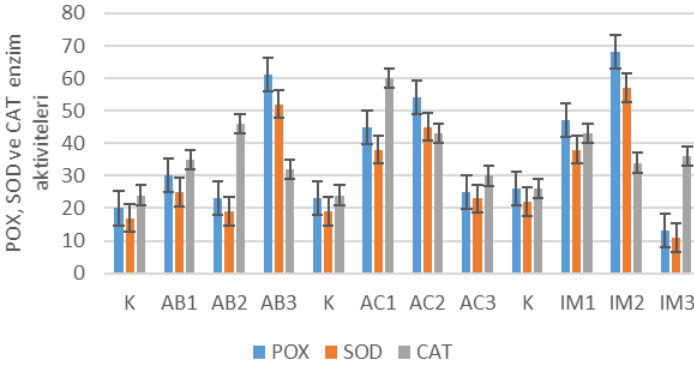
Bu husus, özellikle pestisit kullanımının yaygınlaştığı son 10 yılda bilimsel ilgi odağı haline gelmiştir. Örneğin, *Zea mays* L. (mısır)'da Pyriproxyfen etkili maddeli insektisit uygulamasının potansiyel etkilerini belirlemek amacıyla düzenlenen bir çalışmada, *Zea mays* L. tohumları, kontrollü koşullar altında 72 saat süreyle Pyriproxyfen konsantrasyonları (0.1-0.2-0.4-0.6 ppm) ile muamele edilmiştir. Elde edilen verilere göre; insektisit konsantrasyonu arttıkça antosiyanin dışındaki fotosentetik pigment içerikleri azalmış, ancak antioksidatif adaptasyon olarak prolin birikimi artmıştır. Bu çalışma, Pyriproxyfen'in aşırı ve kontrolsüz kullanımının bazı morfolojik, anatomik, fizyolojik ve metabolik süreçleri indükleyerek fitotoksik etkilere yol açtığını göstermektedir (Coşkun ve ark., 2015). Diğer yandan Yıldıztekin (2012) ise, domates fidelerine uygulanan 30 cc 100 L⁻¹ Spinosad ve 35 cc 100 L⁻¹ Etoxazole etken maddeli insektisitler neticesinde bitkide klorofil-a, klorofil-b ve toplam klorofil miktarlarında genel fakat anlamlı olmayan bir artıştan, prolin kapsamında ise anlamlı bir artıştan bahsetmiştir. Dereboylu ve ark. (2019) çalışmalarında sera koşullarında yetiştirilen hıyar (*Cucumis sativus* L.) bitkilerine farklı konsantrasyonlarda (önerilen doz; 0.4 mL L⁻¹ önerilen dozun iki katı; 0.8 mL L⁻¹ ve üç katı; 1.2 mL L⁻¹ Cypermethrin etken maddeli insektisit uygulanmıştır. Kontrole kıyasla toplam klorofil kapsamında x3 grubunda düşüş görülürken, prolin, absisik asit ve indol-3 asetik asit kapsamalarında ise artış saptanmıştır. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda uygulanan insektisit hıyar bitkilerinde abiyotik stres yarattığı, metabolizmayı bozduğu, büyümeyi ve gelişmeyi olumsuz etkilediği belirlenmiştir.

Tort ve ark. (2004) çalışmalarında, Cyprodinil etkili maddeli fungusitin 60 ve 120 g 100L⁻¹ konsantrasyonları ile toplam klorofil değerleri kontrole göre artmış, 180 g 100 L⁻¹ konsantrasyonunda ise kontrol seviyesinin altına düşmüştür. Ancak bu artış ve azalışlar, kontrole göre istatistiksel olarak önemli bulunmamış olup bizim elde ettiğimiz sonuçlarla örtüşmektedir. Mishra ve ark. (2011) tarafından yapılan bir çalışmada ise, *Vigna unguiculata* L. (börülce) bitkisine Dimethioate etkili maddeli insektisiti uygulanmış, enzimatik olmayan antioksidatif savunma cevabı araştırılmıştır. Yüksek konsantrasyon (200 ppm) Dimethioate uygulanmış bitkilerde prolin içeriğinde % 60 artış gözlenmiştir. 50 ve 100 ppm uygulamalar ise prolin içeriğini sırasıyla % 13 ve % 53 oranında arttırmıştır. MDA kapsamalarında da konsantrasyona bağlı lineer artış gözlenmiştir. Bu veriler çalışmamızı destekler niteliktedir. Song ve ark. (2007) bir çalışmalarında Chlorotoluron uygulanmış (0-25 mg kg⁻¹) topraklarda, *Triticum aestivum* L. (buğday) bitkilerini kültüre almışlardır. Bitkide plazma membran lipitlerinde peroksidasyon meydana gelmiştir.

Chlorotoluron artışı ile TBARS (Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri)'de artış saptanmıştır. Yine Chlorotoluron etkili kök ve yapraklarda endojen prolin düzeyinin kontrole göre anlamlı ölçüde arttığı, köklerin ise kimyasala daha duyarlı olduğu gözlenmiştir.

Zhang ve ark. (2011) Omethoate stresi altında *Triticum aestivum* L. (buğday) fidelerinde yüksek konsantrasyonlarda (5 ve 10 g L⁻¹) MDA lineer olarak artmış, ilk hasatta kontrole oranla sırası ile % 41 ve % 146 artış bildirilmiştir. Çalışmada en yüksek prolin kapsamları 5 g L⁻¹ uygulamalarda bildirilmiştir. Prolin kapsamları ilk hasatta 1-5 ve 10 g L⁻¹ uygulama yapılmış bitkilerde kontrole göre sırası ile % 93, % 480 ve % 273 artış göstermiştir. Bulgular çalışmamız ile yüksek oranda uyum içindedir.

3.2. İnsektisit Uygulamalarının POX, SOD ve CAT Enzim Aktivitelerine Etkisi



Şekil 2. İnsektisitlerin POX, SOD ve CAT enzim aktivite seviyelerine etkisi

Figure 2. Effect of insecticides on POX, SOD and CAT enzyme activities levels

Abamectin uygulamaları domates (*Solanum lycopersicon* L.) bitkilerinde anti-oksidadif savunma sisteminde görev alan POX, SOD ve CAT enzim aktivitelerini uyarmıştır. Abamectin etken maddeli insektisit, 1000 µl L⁻¹ konsantrasyonda uygulandığı grupta, POX spesifik enzim aktivitesini kontrole göre % 205 arttırdığı saptanmıştır. Tüm konsantrasyonlarda bitkilerde POX enzim aktivitelerinde bir artış mevcut olmasına karşın yalnız 1000 µl L⁻¹ Abamectin uygulanmış bitkilerde maksimum ve istatistiki anlamlılık düzeyinde artış gözlenmiştir (p<0.05). Ayrıca minimum POX aktivitesine, önerilenin 2 katı (500 µl L⁻¹) Abamectin uygulanmış bitkilerde rastlanmıştır. SOD enzim aktivitesi de POX aktivitesi ile paralel sonuç vermiştir. Maksimum artış 1000 µl L⁻¹ uygulamada görülmüş ve kontrole kıyasla

% 205 artış tespit edilmiştir. Fakat spesifik SOD aktivitesi, deneme boyunca POX aktivitesine göre bir miktar daha düşük seviyede seyretmiştir. CAT enzim aktivitesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında önerilen konsantrasyon ($250 \mu\text{L}^{-1}$) Abamectin uygulaması ile % 43'lük ve önerilen konsantrasyonun iki katı konsantrasyon uygulaması ($500 \mu\text{L}^{-1}$) ile % 91'lik anlamlı lineer artış göstermiştir. Önerilen konsantrasyonun dört katının uygulandığı ($1000 \mu\text{L}^{-1}$) bitkilerde ise CAT aktivitesi açısından kontrolle karşılaştırıldığında istatistiki açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 2).

Acetamiprid'in farklı konsantrasyonlarının uygulandığı bitkilerde antioksidatif enzim aktiviteleri incelendiğinde; POX aktivitesi ile ilgili olarak 0.3 ve 0.6 g L⁻¹ in-sektisit uygulanmış bitkilerde kontrol grubu bitkilerine göre anlamlı artış saptanmıştır ($p < 0.05$). Maksimum konsantrasyon grubunda (1.2 g L⁻¹) ise kontrol grubu bitkilerine göre POX aktivitesinde anlamlı bir fark olmamasına rağmen, ılımlı bir artış saptanmıştır. SOD aktivite değerleri POX aktiviteleri ile paralel sonuç vermiştir. Fakat SOD aktivitesi, deneme boyunca POX aktivitesinden bir miktar daha düşük seviyede seyretmiştir. SOD ve POX enzimleri maksimum aktivitelerine önerilenin iki katı konsantrasyonda (0.6 g L⁻¹) Acetamiprid uygulanmış grupta ulaşmışlardır. Hem POX hem de SOD enzimleri, kontrole göre % 132'lik bir aktivite artışı göstermiştir. CAT aktivitesi ise, hem önerilen konsantrasyon grubunda (0.3 g L⁻¹) hem de önerilenin iki katı konsantrasyonda Acetamiprid uygulanmış grupta (0.6 g/L) kontrol bitkilerine göre anlamlı artışla kendini göstermiştir. Önerilen konsantrasyon (0.3 g L⁻¹) uygulanan bitkilerdeki CAT aktivite değerleri diğer konsantrasyonlardan da anlamlı şekilde fazla bulunmuştur. Kontrole göre önerilen konsantrasyon grubunda % 147'lik CAT aktivite artışı belirlenmiştir. Önerilen konsantrasyonda uygulama yapılmış grubu, önerilenin iki katı konsantrasyon (0.6 g L⁻¹) uygulanmış grup izlemiştir. Önerilenin dört katı konsantrasyonda (1.2 g L⁻¹) Acetamiprid uygulanmış bitkilerle kontrol grubu bitkiler arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmazken, önerilenin dört katı konsantrasyon grubu (1.2 g L⁻¹) bitkilerinde CAT aktivitesi, diğer konsantrasyonlardaki CAT aktivitelerinden istatistiki anlamlı olarak daha düşük değerlerde bulunmuştur.

Imidacloprid'in $200 \mu\text{L}^{-1}$ konsantrasyonunda, bitkilerde POX aktivitesi kontrole göre % 77 oranında artarken, $400 \mu\text{L}^{-1}$ konsantrasyonunda ise kontrole göre % 157 oranında istatistiki açıdan anlamlı olarak artmıştır ($p < 0.05$). $800 \mu\text{L}^{-1}$ uygulaması ise spesifik POX aktivitesini kontrole göre % 51 oranında istatistiki açıdan anlamlı şekilde azaltmıştır. SOD aktivitesi sonuçları POX aktivitesi sonuçları ile paraleldir. Imidaclopridin 200 ve $400 \mu\text{L}^{-1}$ konsantrasyonları SOD aktivitesini anlamlı şekilde arttırırken, $800 \mu\text{L}^{-1}$ uygulaması ile bitkilerde kontrole göre % 51 oranında istatistiki anlamlılığa azalış tespit edilmiştir. Bitkilerde antioksidatif eşik bu konsantrasyonda aşılmış olabilir. CAT aktivitesi ise Imidacloprid'in tüm konsantrasyonlarında artmıştır. Imidacloprid'in 200 ve $800 \mu\text{L}^{-1}$ uygulanması ile CAT aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, $400 \mu\text{L}^{-1}$ uygulama yapıl-

mış bitkilerde bu artışın kontrole göre istatistiki bir anlamlılığı belirlenmemiştir (Şekil 2).

Bitkiler maruz kaldıkları çevresel stres faktörleriyle baş edebilmek ve stres sonucu sentezlenen serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonunu sağlamak amacıyla antioksidatif kapasitelerini aktive etmek zorundadırlar. Bu enzimatik antioksidanlar metabolik hasarın önlenmesinde oldukça önemli bir fonksiyon üstlenmişlerdir. Konu halen güncelliğini sürdürmektedir. Örneğin, pestisit kaynaklı stres, hücre metabolizması, biyokimyasal ve diğer fizyolojik aktiviteler üzerindeki zararlı etkilerden sorumlu yüksek seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROS) yoluyla hedef olmayan bitkileri etkilemekte ve bitki antioksidan savunma sistemini harekete geçirmektedir (Shakir ve ark., 2018). Nitekim, yaygın kullanılan Emamectin benzoate, Alpha-cypermethrin ve Imidacloprid insektisitlerinin domates bitkisinde oksidatif strese etkisi araştırılmıştır. Verilerin analizi, yüksek konsantrasyonlarda pestisit uygulamasının ROS (reaktif oksijen türleri) seviyelerini önemli ölçüde yükselttiğini ve TBARS (Lipid peroksidasyonunun bir yan ürünü olan tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri) oluşumuyla membran hasarına neden olduğunu, kontrole kıyasla hem kök hem de sürgün dokularında hücre hasarını artırdığını ve hücre canlılığını azalttığını ortaya koyarak, pestisit kaynaklı oksidatif stresle başa çıkmak için, daha yüksek dozlarda pestisitlere maruz kalan bitkilerde antioksidan seviyelerinde önemli bir artış gözleendiği belirlenmiştir. Birlikte ele alındığında, bu sonuçlar, önerilen dozun üzerinde pestisit uygulanmasının oksidatif stres durumunu tetikleyebileceğini ve hedef olmayan konukçu bitkilerde oksidatif hasarlara neden olabileceğini kuvvetle öngörmektedir (Shakir ve ark., 2018). Yine, *Capsicum annuum*'da Metaflumizone etkili maddeli insektisit uygulamasının etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada, Metaflumizone (1.2-2.4-4.8 mM) uygulamalarının etkileri incelenmiştir. Elde edilen verilere göre yüksek dozda Metaflumizone uygulaması; toplam klorofil ve karotenoid içeriklerinde azalmaya, APX, GST, GR aktiviteleri ile GSH, MDA ve prolin içeriklerinde bir artışa sebep olmuştur (Kaya, 2019). Diğer bir çalışmada da, 1-10 mM Atrazine etkili maddeli herbisit uygulanmış *Pisum sativum* L. (bezelye) bitkisinde çok kullanılan bu yasaklı herbisit, subletal ve uzun süreli etkileri araştırılmıştır. 20 gün sonunda lipit peroksidasyon artışı gözlenmiş ve süreç sonunda CAT ve SOD aktiviteleri inhibe olmuştur. POX aktivitesi ise kontrole göre artış göstermiştir (Ivanov ve ark., 2013). Chloropyrifos ve Malathion uygulanmış patlıcan ve domates bitkileri ile yapılmış bir diğer çalışmada ise pestisitler, SOD ve POX aktivitelerini anlamlı derecede uyarılmış ve konsantrasyona bağımlı olarak lineer artış gözlenmiştir (Nasrabadi ve ark., 2011). Yıldıztekin (2012)'de domates (*Solanum lycopersicon* L.) fidelerine uygulanan 30 cc 100 L⁻¹ Spinosad ve 35 cc 100 L⁻¹ Etoxazole etkili maddeli insektisitler neticesinde SOD miktarında artış bildirmiştir. POX enzim aktivitesinde kontrole göre belirgin fark gözlenmemiştir. CAT aktivitesi bakımından tüm konsantrasyonlarda istatistiki olarak önemli sayılmayacak düzeylerde artışlar rapor edilmiştir.

Bu çalışma da SOD değerleri bakımından bizim çalışmamızı desteklemiştir. Fakat POX ve CAT aktivite sonuçları çalışmamız ile paralel değildir.

Zhang ve ark. (2011), Omethoate insektisit/akarisit stresi altındaki *Triticum aestivum* L. (buğday) fidelerini incelemiştir. Pestisit uygulama sonrasında bitkiler 1, 3, 5 ve 7. gün sonunda hasat edilmiştir. Bulgulara göre, SOD ve POX aktiviteleri sürgünlerde artan Omethoate konsantrasyonları ile doğrusal artış göstermiştir. Maksimum SOD aktivitesi, 7. günde 5 g L^{-1} uygulama yapılmış bitkilerde rapor edilmiştir. CAT aktivitesi 0.1 g L^{-1} Omethoate uygulaması ile çarpıcı biçimde artmıştır. 7. günde yapılan analizlerde tam 16 kat CAT aktivite artışı bildirilmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, birçok noktada bizim elde ettiğimiz sonuçlarla uyum içerisindedir. Çalışmamızı destekler nitelikte olan diğer bir çalışma ise Song ve ark. (2007) tarafından Chlorotoluron etkili maddeli herbisit uygulanmış ($0-25 \text{ mg kg}^{-1}$) topraklarda, *Triticum aestivum* L. (buğday) bitkileri ile gerçekleştirilmiştir. Köklerde maksimum spesifik SOD aktivitesi 25 mg kg^{-1} Chlorotoluron uygulanmış bitkide saptanırken, yaprakta maksimum spesifik SOD aktivitesi ise 15 mg kg^{-1} uygulanmış bitkide gözlenmiştir. Bu çalışmada Chlorotoluron uygulamalı fidelerde koruyucu enzimler arasından, genellikle SOD aktif olmuştur. POX ve CAT total enzim aktiviteleri de köklerde anlamlı artış göstermiştir. Bir başka çalışmada patlıcan ve domates bitkilerine uygulanan Chloropyrifos ile Malathion etkili maddeli insektisitleri, her iki bitkide SOD ve POX aktivitelerini anlamlı derecede uyarılmış ve konsantrasyona bağımlı olarak lineer artış gözlenmiştir. Artışın strese tolerans mekanizmalarında adaptasyondan kaynaklanmış olabileceği ileri sürülmüştür. Bulgular çalışmamız için de yüksek konsantrasyonlarda azalan SOD ve POX değerleri ile zıt sonuçlar vermiş olsa da, genel anlamda çalışmamızı destekler niteliktedir (Nasrabadi ve ark., 2011). Diğer bir çalışmada, Deltamethrin etkili maddeli insektisit etkisindeki 45 günlük soya fasulyesinde (*Glycine max* L.) antioksidatif yanıt sistemi incelendiğinde; lipit peroksidasyonunun ve prolin içeriğinin arttığı bildirilmiştir. Enzimatik antioksidantlardan SOD aktivitesinin ise kontrole oranla önemli derecede arttığı gözlenmiştir. CAT, artan konsantrasyonlarla inhibe olmuştur. Yani; Deltamethrin, CAT üzerinde konsantrasyona bağımlı ve güçlü negatif korelasyon etkisine sahip olmuştur. Maksimum CAT aktivitesi ise çiçeklenme aşamasında % 0.2 Deltamethrin uygulaması yapılmış soyada görülmüştür. Bu çalışma da bizim çalışmamıza paralel kısımları mevcut olan bir çalışmadır (Bashir ve ark., 2007).

4. SONUÇ

Çalışmamızda uygulanan insektisit konsantrasyonlarına bağlı olarak prolin miktarındaki anlamlı artışlar ile birlikte MDA'nın lineer artışı oksidatif stresi ve toksite sonucu membranlarda lipit peroksidasyonu işaret etmektedir. Bunların yanında bitkinin strese karşı tepki niteliğinde antioksidatif sistemini kullandığı

sonuçlar da açıkça ortaya çıkmıştır. POX ve SOD'un belirli savunma görevlerinde işbirliği içinde çalıştığı sonuçlarımızda belirgindir. Fakat en yüksek insektisit konsantrasyonunda bitkilerde bu enzimlerin aktivitelemi göreceli olarak azalmıştır. CAT ise önerilen konsantrasyon Imidacloprid uygulaması ile maksimum aktivite göstermiştir. Sebep kimi araştırmacıların benzer çalışmalarında bahsettikleri bağımsız hücresel ve doku hasarı sonucu düşük CAT aktivitesinin temel faktör oluşu olabilir. Bitkide SOD ve POX un korumakla görevli olduğu, antioksidatif savunma eşiği bu noktada reaktif oksijen türlerince aşılmış olabilir ve görünüşe göre, CAT ya da başka enzimler bu noktada kilit görev alıyor olabilirler.

Abamectin uygulanmış domateslerde prolin miktarındaki artışın sebebi: stres koşullarında salgılanmasındaki uyarılma, serbest O₂ radikallerinin de-toksifikasyonuna katılması ve stres koşullarına dayanıklılıkta önemli rol oynayan koruyucu özelliğe sahip azot içerikli bir iminoasit olması olabilir. Abamectin ile muamele edilen domates bitkisinde antioksidatif enzimlere ve MDA miktarı artışına bakılırsa, yüksek konsantrasyon uygulamasında bitkiler oksidatif strese girmişlerdir. Görünüşe göre Abamectin, membran lipitlerini oksidasyona uğratmış ve hücrede hasara sebep olmuştur. POX, SOD ve CAT enzimleri işbirliği içinde, stres durumunda serbest oksijen radikallerine karşı bitkiyi korumaktadırlar.

Acetamiprid uygulaması ile prolin ve MDA artışları oksidatif stresi kanıtlamakta, antioksidatif enzimlerin aktifliği de bu durumdan kaynaklanmaktadır ve muhtemel olarak bu enzimler savunmada birlikte görev alıyor olabilirler. nerilenin dört katı konsantrasyonda Acetamiprid uygulanmış bitkilerle ilgili olarak, MDA artışı, toksik insektisit birikimi sebebiyle daha fazla oksidatif hasar ve buna cevaben yüksek lipit peroksidasyonun göstergesidir.

Kullanılan insektisitler arasında, MDA bulguları ışığında özellikle membranda lipit peroksidasyonu ve stres hasarı bakımından yorum yapılacak olunur ise, domates bitkilerine en çok Imidacloprid zarar vermiş olabilir. Sonuçlar ışığında pestisitleri en az riskle en çok fayda prensibine göre bilinçli ve reçeteli kullanmanın ve bunun için ruhsatlı ve amaca uygun pestisitleri doğru zamanda, doğru konsantrasyonda ve kullanım koşullarına uygun olarak bu konuda eğitim almış uzman görüşü doğrultusunda uygulamanın önemi bir kez daha yinelenmiştir. Genel olarak, domates bitkisinde strese karşı bir tolerans mekanizmasının varlığından bahsedilebilir. Prolin ile osmoregülasyon sağlanırken, oksidatif hasarlanmadan ise antioksidatif enzimleri sayesinde domates bitkileri kendilerini belirli bir seviyeye kadar koruyabilmişlerdir. Bunlara rağmen stresin biyolojik moleküllerde membran hasarına yol açtığı söylenebilir.

Çıkar Çatışması:

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan eder.

Etik:

Bu çalışma etik kurul onayı gerektirmez.

Yazar Katkı Oranları:

Çalışmanın Tasarlanması (Design of Study): SY (%40), ALT (%60)

Veri Toplanması (Data Acquisition): SY (%70), ALT (%30)

Veri Analizi (Data Analysis): SY (%60), ALT (%40)

Makalenin Yazımı (Writing up): SY (%20), ALT (%80)

Makalenin Gönderimi ve Revizyonu (Submission and Revision): SY (%20), ALT (%80)

KAYNAKLAR

- Azevedo, R.A., Alas, R.M., Smith, R.J., Lea, P.A., 1998. Response of antioxidant enzymes to transfer from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation, in leaves and roots of wild-type and catalase-deficient mutant of barley. *Physiologia Plantarum*, 104(2): 280-292. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040217.x>.
- Bashir, F., Mahmooduzzafar, T.O., Siddiqi, M.I., 2007. The antioxidative response system in *Glycine max* (L.) Merr. exposed to Deltamethrin, a synthetic pyrethroid insecticide. *Environmental Pollution*, 147(1): 94-100. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2006.08.013>.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44, 276-287.
- Bergmeyer, H.U., Gawehn, K., Grassl, M., 1970. Enzyme. In: *Methoden der enzymatischen analyse*, hrsg. von Bergmeyer, H.U., Bd. II, S.388-483. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie.
- Bonmatin, J.M., Marchand, P.A., Charvet, R., Moineau, I., Bengsch, E.R., Colin, M.E., 2005. Quantification of imidacloprid uptake in maize crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(13): 5336-5341. doi: 10.1021/jf0479362
- Büyük, İ., Soydam-Aydın, S., Aras, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hijyen Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(2): 97-110. doi: 10.5505/TurkHijyen.2012.40316.
- Chance, M., Maehly, A.C., 1955. Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764-817.
- Coşkun, Y., Kılıç, S., Duran, R.E., 2015. The effects of the insecticide Pyriproxyfen on germination, development and growth responses of maize seedlings. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(1b): 278-284.
- Çatak, H., Polat, B., Tiryaki, O., 2020. Farklı yıkama uygulamaları ile kapa biberlerde pirimiphos-methyl kalıntısının giderilmesi. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 35, 97-105. doi: 10.7161/omuanajas.646733.
- Dağ, S., 2000. Türkiye' de tarım ilaçları endüstrisi ve geleceği. V. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 17-21 Ocak 2000, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara, Bildiriler kitabı 2. cilt s. 933-958.
- Dereboylu, A.E., Uğuz, U., Tort, N.Ş., 2019. Cypermethrin etken maddeli bir insektisit *Cucumis sativus* L. üzerine morfolojik ve fizyolojik etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1): 39-47. doi: 10.21597/jst.422815.
- Doğan, F.N., Karpuzcu, M.E., 2019. Türkiye'de tarım kaynaklı pestisit kirliliğinin durumu ve alternatif kontrol tedbirlerinin incelenmesi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 25(6): 734-747. doi: 10.5505/pajes.2018.53189

- Durmuşoğlu, E., Tiryaki, O., Canhilal, R., 2010. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve dayanıklılık sorunları. VII. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 11-15 Ocak 2010, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara, Bildiriler Kitabı 2: 589-607.
- Gapinska, M., Sklodowska, M., Gabara, B., 2008. Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 11-18. doi: 10.1007/s11738-007-0072-z
- Gupta, S., Gajbhiye, V.T., 2007. Persistence of acetamiprid in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78, 349-352. doi:10.1007/s00128-007-9097-7
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., Charoensataporn, R., 2003. Salinity effects on antioxidant enzymes in *Mulberry* cultivar. *Science Asia*, 29, 109-113.
- Ivanov, S., Shopova, E., Kerchev, P., Sergiev, I., Miteva, L., Polizoev, D., Alexieva, V., 2013. Long-term impact of sublethal Atrazine perturbs the redox homeostasis in pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Protoplasma*, 250, 95-102. doi: 10.1007/s00709-012-0378-6
- Jablonska-Trypuc, A., 2017. Pesticides as inducers of oxidative stress. *Reactive Oxygen Species*, 3(8): 96-110. doi:10.20455/ros.2017.823
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016. Serbest radikaller. M.A.K.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1): 50-59.
- Kaya, A., 2019. Eş zamanlı uygulanan insektisit ve tuz streslerinin biber bitkisinde (*Capsicum annum* L.) bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkileri. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 12(3): 1601-1612. doi:10.18185/erzifbed.622294.
- Koç, E., Üstün, A.S., 2008. Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 24(1-2): 82-100.
- Lee, T.M., Lin, Y.H., 1995. Changes in soluble and cell wall-bound peroxidase-activities with growth in anoxia-treated rice (*Oryza-sativa* L.) coleoptiles and roots. *Plant Science*, 106(1): 1-7. doi:10.1016/0168-9452(94)04053-J
- Macar, T.K., 2020. Investigation of cytotoxicity and genotoxicity of abamectin pesticide in *Allium cepa* L. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 2391-2399. doi:10.1007/s11356-020-10708-0
- Mehdy, M.C., 1994. Active oxygen species in plant defense against pathogens. *Plant Physiology*, 105(2): 467-472. doi: 10.1104/pp.105.2.467.
- Mishra, V., Mishra, P., Srivastava, G., Prasad, S.M., 2011. Effect of Dimethoate and UV-B irradiation on the response of antioxidant defense systems in cowpea (*Vigna unguiculata* L.) seedlings. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(2): 118-123. doi:10.1016/j.pestbp.2011.02.003
- Nasrabadi, M., Ghayal, N., Dhupal, K.N., 2011. Effect of Chloropyrifos and Malathion on antioxidant enzymes in tomato and brinjal. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2, 202-209.
- Polle, A., Chakrabarti, K., Chakrabarti, S., Seifert, F., Schramel, P., Rennenberg, H., 1992. Antioxidants and manganese deficiency in needles of Norway spruce (*Picea abies* L.) trees. *Plant Physiology*, 99(3): 1084-1089. doi:10.1104/pp.99.3.1084.
- Sresty, T.V.S., Rao, K.V.M., 1999. Ultrastructural alterations in response to zinc and nickel stress in the root cells of pigeonpea. *Environmental and Experimental Botany*, 41(1): 3-13. doi: 10.1016/S0098-8472(98)00034-3
- Shakir, S.K., Irfan, S., Akhtar, B., 2018. Pesticide-induced oxidative stress and antioxidant responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) seedlings. *Ecotoxicology*, 27, 919-935. doi:10.1007/s10646-018-1916-6
- Song, N.H., Yin, X.L., Chen, G.F., Yang, H., 2007. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide Chlorotoluron in soils. *Chemosphere*, 68(9): 1779-1787. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.03.023
- Strain, H.H., Svec, W.A., 1966. Extraction, separation, estimation, and isolation of the chlorophylls. In: *The chlorophylls*, 21-66. Ed. by L. P. Vernon and G.R. Seely, New York: Academic Press.
- Taiz, L., Zeiger, E., 2008. *Plant Physiology*, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc., California, U.S.A., 591-620 p.
- Tarım ve Orman Bakanlığı, 2019. <https://www.tarimorman.gov.tr/Konular/Bitkisel-Uretim/Tarla-Ve-Bahce-Bitkileri/Ortu-Alti-Yetistiricilik> (Erişim tarihi: 29.11.2022).
- Tort, N., Öztürk, İ., Tosun, N., 2004. Fungisit uygulamalarının domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.)'in anatomik yapısı ve fizyolojisi üzerine etkisi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2): 111-122.
- Yıldıztekin, M., 2012. Bazı bor bileşiklerinin ve yaygın kullanılan pestisitlerin domates bitkisinin (*L. esculentum*) fizyolojik ve biyokimyasal özellikleri üzerine etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 100s, Muğla.
- Zhang, B., Chu, G., Wei, C., Ye, J., Li, Z., Liang, Y., 2011. The growth and antioxidant defense responses of wheat seedlings to Omethoate stress. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 100(3): 273-279. doi: 10.1016/j.pestbp.2011.04.012.