

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ZETA-CYPERMETHRİN İNSEKTİSİTİNİN *Chlamydomonas reinhardtii* (MİKRO YEŞİL ALG) VE *Lemna minor* (SUCİMEĞİ) ÜZERİNE FİTOTOKSİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Özlem YILMAZ

DOKTORA TEZİ

ORDU-2018

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Özlem YILMAZ tarafından hazırlanan ve Doç. Dr. Beyhan TAŞ danışmanlığında yürütülen “Zeta-cypermethrin İnektisitinin *Chlamydomonas reinhardtii* (Mikro Yeşil Alg) ve *Lemna minor* (Su Mercimeği) Üzerine Fitotoksik Etkilerinin Araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 07/12/2017 tarihinde oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Beyhan TAŞ

Başkan : Prof. Dr. Arif GÖNÜLÖL
Biyoloji Bölümü, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

İmza: 

Üye : Prof. Dr. Ahmet ALTINDAĞ
Biyoloji Bölümü, Ankara Üniversitesi

İmza: 

Üye : Doç. Dr. Beyhan TAŞ
Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü,
Ordu Üniversitesi

İmza: 

Üye : Doç. Dr. Evren TUNCA
Deniz Bilimleri ve Teknolojisi Mühendisliği Bölümü,
Ordu Üniversitesi

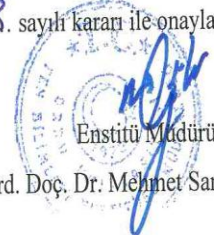
İmza: 

Üye : Yrd. Doç. Dr. Mutlu SÖNMEZ ÇELEBİ
Kimya Bölümü, Ordu Üniversitesi

İmza: 

ONAY:

08/01/2018 tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 12/01/2018. tarih ve 2018./18. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Enstitü Müdürü

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.


Özlem YILMAZ

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

ZETA-CYPERMETHRİN İNSEKTİSİTİNİN *Chlamydomonas reinhardtii* (MİKRO YEŞİL ALG) VE *Lemna minor* (SU MERCİMEĞİ) ÜZERİNE FİTOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Özlem YILMAZ

Ordu Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı, 2017
Doktora Tezi, 138s.

Danışman: Doç. Dr. Beyhan TAŞ

Modern tarımın tamamlayıcı bir bileşeni olan pestisitler çevreye uygulanan en zararlı kimyasallardandır. Pestisitler yerüstü sularında kirletici etki yapabilecek unsurlardan biridir. Karadeniz Bölgesi'nde en önemli tarımsal ürün olan fındıkta zararlılar ile mücadelede sentetik piretroid grubu insektisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüzeysel sulara karışan kimyasal maddelerden ilk etkilenecek olan canlı grubu algler ve makrofitlerdir. Bu canlılar sucul ekosistemin sağlığı için biyoindikatördür, aynı zamanda suyu biyolojik yolla arıtlarlar. Bu çalışmada, fındık kurdu (*Curculio nucum* L.) zararlısı ile mücadelede yaygın kullanılan sentetik piretroid grubu insektisit zeta-cypermethrinin mikroalglerden *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard (Chlorophyta, Chlorophyceae) ve yüzen yapraklı su bitkisi *Lemna minor* L. (Lemnaceae) türlerinin büyümesi üzerine etkisi ve biyoremediasyonu biyodenezlerle incelenmiştir. Pestisit üç farklı dozda (150 ppb, 300 ppb, 600 ppb) ve dört farklı zaman dilimi için (24, 48, 72, 96. saat) kontrollü olarak uygulanmıştır. Büyüme performansı sayım ve klorofil-*a* analizi ile kalıntı pestisit analizi sıvı kromatografisi- kütle/kütle spektrometresi (LC-MS/MS) ile ölçülmüştür. Türlerin morfolojik yapılarındaki değişiklikler ise taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile gözlenmiştir. *C. reinhardtii* ve *L. minor* türlerinde düşük doz pestisit (150 ppb) nütrient etkisi yapmış (hormesis), ancak yüksek dozlarda (300-600 ppb) pestisit toksik etki göstererek gelişimi kısıtlamıştır. Analiz sonuçları, türlerdeki bozunma oranının ortama uygulanan pestisit konsantrasyonları ile korelasyonlu olduğunu göstermektedir. LC-MS/MS sonuçlarında, en yüksek pestisit absorpsiyon değeri 300 ppb'lik test ortamında 96. saatte *C. reinhardtii* türünde hesaplanmıştır (% 98.2). *L. minor* türünde ise bu oranlar daha düşüktür (% 35.4-95.9). Yüksek doz pestisit uygulamasında da (600 ppb) benzer biçimde mikro yeşil algin pestisit uzaklaştırma kapasitesi su mercimeğine göre oldukça yüksektir (% 92.8-98.3). Sonuç olarak, büyüme performansı ve morfolojik yapıda pestisit konsantrasyonunun artışına bağlı olarak *C. reinhardtii* türünde dış çeperlerde parçalanma, hücre çapında azalma ve şekil bozuklukları; *L. minor* türünde ise yapraklarda küçülme, çeperde ve stomalarda parçalanma tespit edilmiştir. Düşük doz pestisit uygulamaları her iki türde de belirgin bir toksik etki göstermemiştir. Biyodenezin ilk zaman diliminde absorblanan pestisit bir kısmı ilerleyen zaman dilimlerinde tekrar ortama salınmıştır. Özellikle orta ve yüksek dozda pestisit uygulanan test gruplarında *L. minor* türünün pestisit salınım profili daha belirgindir.

Anahtar Kelimeler: Biyosorpsiyon, Fitoremediasyon, Pestisit, Sentetik organik kirletici, Toksik ajan, Biyoremediasyon

ABSTRACT

INVESTIGATING ON PHYTOTOXIC EFFECTS OF THE ZETA-CYPERMETHRIN INSECTICIDE ON *Chlamydomonas reinhardtii* (MICRO GREEN ALGA) AND *Lemna minor* (DUCKWEED)

Özlem YILMAZ

University of Ordu
Institute for Graduate Studies in Science and Technology
Department of Biology, 2017
PhD Thesis, 138p.

Supervisor: Assoc. Prof. Beyhan TAŞ

Pesticides, an integral component of modern agriculture, are the most harmful chemicals applied to the environment and can pollute the surface waters. Synthetic pyrethroid insecticides are widely used in the hazelnuts which are the most important agricultural product in the Black Sea Region in Turkey. One of the first species that will be affected by the chemical substances in surface waters are algae and macrophytes. These species are bioindicators for the health of the aquatic ecosystem and they biologically purify the water. In this study, the effect of synthetic pyrethroid insecticide zeta-cypermethrin that is widely used in combating hazelnut (*Curculio nucum* L.) pests on the growth of a microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard (Chlorophyta, Chlorophyceae) and floating leafy water plant *Lemna minor* L. (Lemnaceae), and its bioremediation have been studied using bioassays. The pesticide was administered in three different doses (150, 300, and 600 ppb) and four different time zones (24, 48, 72, and 96 h). Growth performance was measured by counting, and chlorophyll-*a* analysis and residual pesticide analysis using liquid chromatography tandem-mass spectrometry (LC-MS/MS). Changes in the morphological structures of the species were observed by scanning electron microscopy (SEM). In *C. reinhardtii* and *L. minor* species, low dose pesticide (150 ppb) had a nutrient effect (hormesis), but at high doses (300-600 ppb) it had a toxic pesticide effect which restricted their development. The results of the analysis indicated that the rate of degradation in the species correlated with the pesticide concentrations applied to the species. In the LC-MS/MS results, the highest pesticide absorbance value was calculated (96.2 %) in the *C. reinhardtii* strain at 96 hours in the 300 ppb test medium. In *L. minor*, these rates were lower (35.4-95.9 %). In the case of high dose pesticide application (600 ppb), micro green algae pesticide removal capacity was quite high (92.8-98.3 %) compared to *L. minor*. As a result, we detected degradation in outer walls, decrease in cell size and deformities of *C. reinhardtii* species due to an increase in pesticide concentration. In *L. minor* species, shrinkage on leaves and fragmentation on walls and stomata were observed. Low dose pesticide applications did not indicate any significant toxic effect in both species. Some of the pesticide absorbed in the first period of biodegradation was re-released in the later periods. The pesticide release profile of the *L. minor* strain was more prominent in the test groups, especially in those with moderate and high doses of pesticide.

Key Words: Biosorption, Phytoremediation, Pesticide, Synthetic organic pollutant, Toxic agent, Bioremediation

TEŞEKKÜR

Çalışma konusunun belirlenmesinde ve çalışmanın hazırlanma sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Beyhan TAŞ'a göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Doktora süresi boyunca bana büyük destek veren ve yanımda olan kıymetli arkadaşlarım Serdar YEDİER, Gülşah KESKİN KURUCU, Seda KONTAŞ ve Seval KONTAŞ YEDİER'e teşekkür ederim.

Öğrenim hayatım boyunca sayısız fedakârlıkta bulunarak, maddi ve manevi desteklerini asla esirgemeyen sevgili annem Emine YILMAZ ve babam Mehmet YILMAZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (ODÜ/BAP) tarafından AP-1708 nolu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
ÇİZELGELER LİSTESİ	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR	X
EK LİSTESİ	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Anlam ve Önemi.....	9
1.2. Genel Bilgiler.....	12
1.2.1. Pestisitler ve Genel Özellikleri.....	12
1.2.2. Pestisitlerin Tarihçesi ve Kullanımı.....	16
1.2.3. Pestisitlerin Hedef Olmayan Organizmalar ve Çevre Üzerine Etkisi.....	18
1.2.4. Pestisitlerin Sınıflandırılması.....	23
1.2.5. Dünyada ve Türkiye’de Pestisit Kullanımı.....	25
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	29
3. MATERYAL ve YÖNTEM	45
3.1. Materyal.....	45
3.1.1. Kullanılan kimyasallar.....	45
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Pestisit ve Genel Özellikleri.....	45
3.1.3. Kullanılan Cihazlar.....	46
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Algler ve Genel Özellikleri.....	47
3.2. Yöntem.....	49

3.2.1.	Fizikokimyasal Parametreler.....	49
3.2.2.	Biyodenyey.....	49
3.2.2.1.	Kültür Ortamlarının ve Biyodenyeyin Hazırlanması.....	49
3.2.2.2.	Hücre Sayımı.....	53
3.2.2.3.	Fotosentetik Pigment Analizi.....	54
3.2.2.4.	Kuru Madde Analizi.....	55
3.2.2.5.	Biyosorpsiyon Deneyi.....	56
3.2.3.	Pestisit Birikim Miktarının LC-MS/MS Cihazı Kullanılarak Ölçümü.....	58
3.2.4.	İstatiksel Analizler.....	59
3.2.5.	Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle İncelenmesi.....	59
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI	60
4.1.	Fizikokimyasal Parametreler.....	60
4.2.	Biyodenyey.....	65
4.2.1.	Hücre Sayımı.....	65
4.2.2.	Fotosentetik Pigment Analizi.....	67
4.2.3.	Kuru Madde Analizi.....	71
4.2.4.	Biyosorpsiyon Deneyi.....	73
4.2.5.	Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle İncelenmesi.....	75
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ	84
6.	KAYNAKLAR	106
	EKLER	125
	ÖZGEÇMİŞ	136

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	Cypermethrin için tatlı su uzun vadeli verilerin ($\mu\text{g/L}$) kümülatif dağılım fonksiyonu.....	3
Şekil 1.2.	Cypermethrin için tatlı su kısa vadeli verilerin ($\mu\text{g/L}$) kümülatif dağılım fonksiyonu.....	4
Şekil 3.1.	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> mikroskop görüntüsü.....	47
Şekil 3.2.	<i>Lemna minor</i> (su mercimeği) görüntüsü.....	49
Şekil 3.3.	LC-MS/MS cihazının çalışma prensibi.....	58
Şekil 3.4.	Taramalı elektron mikroskobu (SEM).....	59
Şekil 4.1.	<i>L. minor</i> içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki pH değişimi.....	61
Şekil 4.2.	<i>L. minor</i> içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki TDS (mg/L) değişimi.....	62
Şekil 4.3.	<i>L. minor</i> içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki iletkenlik ($\mu\text{S/cm}$) değişimi.....	62
Şekil 4.4.	<i>C. reinhardtii</i> içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki pH değişimi.....	64
Şekil 4.5.	<i>C. reinhardtii</i> içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki TDS (mg/L) değişimi.....	64
Şekil 4.6.	<i>C. reinhardtii</i> içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki iletkenlik ($\mu\text{S/cm}$) değişimi.....	65
Şekil 4.7.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki hücre miktarının zamana bağlı değişimi.....	66
Şekil 4.8.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil- <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) miktarının zamana bağlı değişimi.....	68
Şekil 4.9.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil- <i>a</i> ($\mu\text{g/mL}$) miktarının zamana bağlı değişimi.....	69
Şekil 4.10.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil- <i>b</i> ($\mu\text{g/mL}$) miktarının zamana bağlı değişimi.....	70
Şekil 4.11.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki karotenoid miktarının ($\mu\text{g/mL}$) zamana bağlı değişimi.....	71
Şekil 4.12.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki kuru ağırlık miktarları (mg/mL).....	72
Şekil 4.13.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki yaş ve kuru ağırlığın pestisit miktarına bağlı değişimi.....	73
Şekil 4.14.	<i>L. minor</i> ve <i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki pestisit miktarının zamana bağlı değişimi ve ortamdan uzaklaştırılma yüzdeleri.....	75
Şekil 4.15.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i>	76
Şekil 4.16.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i>	76
Şekil 4.17.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i>	77
Şekil 4.18.	Deneyin 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i> kontrol grubu.....	77
Şekil 4.19.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i>	78
Şekil 4.20.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i>	79
Şekil 4.21.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i>	79

Şekil 4.22.	Deneyin 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i> kontrol grubu.....	80
Şekil 4.23.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>L. minor</i>	80
Şekil 4.24.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>L. minor</i>	81
Şekil 4.25.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>L. minor</i>	81
Şekil 4.26.	Deneyin 72. saatinde <i>L. minor</i> kontrol grubu.....	81
Şekil 4.27.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>L. minor</i>	82
Şekil 4.28.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>L. minor</i>	82
Şekil 4.29.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>L. minor</i>	83
Şekil 4.30.	Deneyin 96. saatinde <i>L. minor</i> kontrol grubu.....	83



ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	Türkiye’de yıllara göre pestisit tüketimi (Ton).....	27
Çizelge 3.1.	Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları.....	46
Çizelge 3.2.	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i> P.A.Dangeard 1888’in sistematigi.....	47
Çizelge 3.3.	TAP besin çözeltisi.....	51
Çizelge 3.4.	Hoagland besin ortamı.....	53
Çizelge 4.1.	<i>L. minor</i> içeren deney setlerinde pH, TDS ve iletkenliğin 96 saat boyunca değişimi.....	60
Çizelge 4.2.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney setlerinde pH, TDS ve iletkenliğin 96 saat boyunca değişimi.....	63
Çizelge 4.3.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki hücre miktarları...	65
Çizelge 4.4.	<i>L. minor</i> ’un büyüme oranları ve inhibisyon yüzdeleri.....	67
Çizelge 4.5.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil- <i>a</i> ($\mu\text{g/L}$) miktarları.....	68
Çizelge 4.6.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil- <i>a</i> miktarları ($\mu\text{g/mL}$).....	69
Çizelge 4.7.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil- <i>b</i> miktarları ($\mu\text{g/mL}$).....	70
Çizelge 4.8.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki karotenoid miktarları ($\mu\text{g/mL}$).....	71
Çizelge 4.9.	<i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki kuru ağırlık miktarları (mg/mL).....	72
Çizelge 4.10.	<i>L. minor</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki 96. saatin sonundaki kuru ağırlık miktarları (mg).....	73
Çizelge 4.11.	<i>L. minor</i> ve <i>C. reinhardtii</i> içeren deney ve kontrol setlerindeki pestisit miktarının zamana bağlı değişimi ve ortamdaki uzaklaştırılma yüzdeleri.....	74

SİMGELER ve KISALTMALAR

EC ₅₀	: Etkili konsantrasyon 50
L	: Litre
LC ₅₀	: Öldürücü (letal) konsantrasyon 50
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi - Kütle - Kütle Spektrometresi
mg/L	: Miligram/Litre
ppb	: Milyarda bir kısım (Parts per billion) (μg çözünen/Litre çözelti)
ppm	: Milyonda bir kısım (Parts per million) (mg çözünen/Litre çözelti)
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope)
TDS	: Toplam Çözünmüş Katı Madde Miktarı (Total Dissolved Solids)
$\mu\text{g/L}$: Mikrogram/Litre
$\mu\text{S/cm}$: mikro Siemens/santimetre

EK LİSTESİ

<u>EK No</u>		<u>Sayfa</u>
EK 1.	1 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	125
EK 2.	2 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	125
EK 3.	5 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	125
EK 4.	10 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	126
EK 5.	20 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	126
EK 6.	50 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	126
EK 7.	100 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	127
EK 8.	200 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı.....	127
EK 9.	Zeta-cypermethrin standartlarının kalibrasyon eğrisi.....	127
EK 10.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	128
EK 11.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	128
EK 12.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	128
EK 13.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	129
EK 14.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	129
EK 15.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	129
EK 16.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	130
EK 17.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	130

EK 18.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	130
EK 19.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	131
EK 20.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	131
EK 21.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>L. minor</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	131
EK 22.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	132
EK 23.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	132
EK 24.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	132
EK 25.	150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	133
EK 26.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	133
EK 27.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	133
EK 28.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	134
EK 29.	300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	134
EK 30.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	134
EK 31.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	135
EK 32.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	135
EK 33.	600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde <i>C. reinhardtii</i> türüne ait LC-MS/MS kromatogramı.....	135

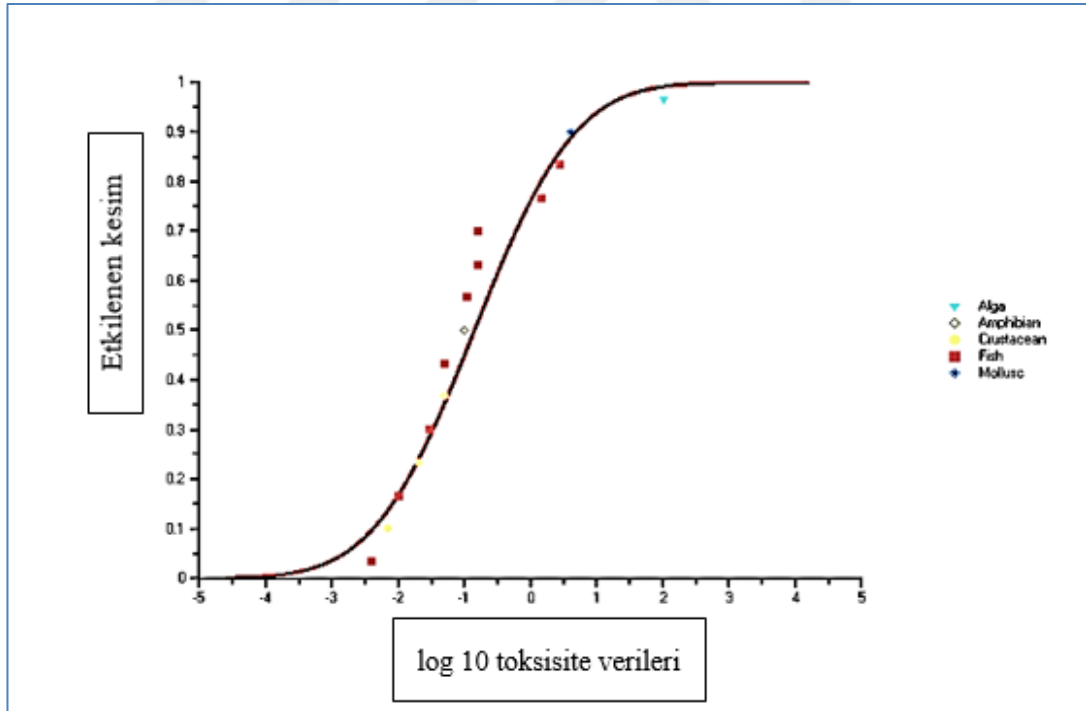
1. GİRİŞ

Çevrenin korunması ve sürdürülebilirlik için gösterilen temel problemlerden biri su kaynaklarının pestisit kalıntılarıyla kontaminasyonudur (Brooks ve Roberts, 1999). Pestisitler ve gübreler gibi zirai kimyasallar dünya çapında bitki üretimini artırmak için kullanılır. Bu maddeler iyi düzenlenmiş olsun ya da olmasın sudaki ortamlarda kirletici maddeler olarak kabul edilir. Tarım arazisi üzerinde pestisitlerin yaygın kullanımını genellikle tatlı sularda ve kıyı ortamlarında onların varlığına yol açar ve bu zehirli maddelerin topraklardan su kütlelerine nakli, su yoluyla ve atmosferden doğrudan çökelme olmak üzere iki ana mekanizmanın sonucudur (Gaggi ve ark., 1995). Pestisitler, çevreye uygulanan en zararlı kimyasallardandır. Göl, nehir, akarsu ve diğer yüzey sularını içeren akuatik sistemlerde yaygın olarak bulunmaktadır (Gilliom, 2007). Tarımsal faaliyetlerde bitki sağlığı ürünlerinin kullanılması nedeniyle sürekli yüzey akışı yoluyla su ortamlarına pestisit deşarj edilmektedir ve suda önemli kirlenme nedenidir (Klöppel ve ark., 1997). Pestisitlerin sudaki besin ağının tabanındaki fitoplankton ve zooplanktonik organizmalara geçişi, sucul ekosistemlerdeki pestisitlerin kalıcılığını artırabilir ve yüksek trofik seviyelerde olumsuz etkilere neden olabilir (DeLorenzo ve ark., 2002). Kirleticilerin suda yaşayan organizmalar ve ekosistemler üzerinde olumsuz etkilere sahip olduğu iyi bilinmektedir (He ve ark., 2005). Aşırı ve bilinçsiz kullanım sonucu artan pestisit tüketimi insan sağlığı açısından da çeşitli sorunların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Pestisitlerin hedef dışı organizmalar üzerindeki olumsuz etkileri büyüktür. Uygulanan pestisitlerin % 85-90'ı hedef canlılara ulaşamamaktadır (Nirmal Kumar ve ark., 2010). Havaya ve suya yayılarak, kimyasalların kullanıldığı yerden uzaklarda yaşayan bitki, hayvan ve insanlara zarar verebilir (Daly ve ark., 2007). Pestisit ile yüzey sularının kirlenmesinin fitoplankton, epifiton ve makrofit popülasyonları üzerinde doğrudan toksik etkileri olduğu da bildirilmiştir (Peterson ve ark., 1994; Cuppen ve ark., 1997). Biyolojik zarlar ve dokular bu kimyasalları kolaylıkla absorbe edebilmekte (He, 1994) ve çeşitli dokuların metabolizmalarını ve enzimlerini etkileyerek birçok fizyolojik ve biyokimyasal değişime neden olmaktadır (Kamalaveni ve ark., 2001). Kimyasalların sudaki biyotaya etkisi; konsantrasyon, toksisite, çözünürlük, biyoyararlanım ve maruz kalma süresinin yanı sıra maruz kalan organizmaların

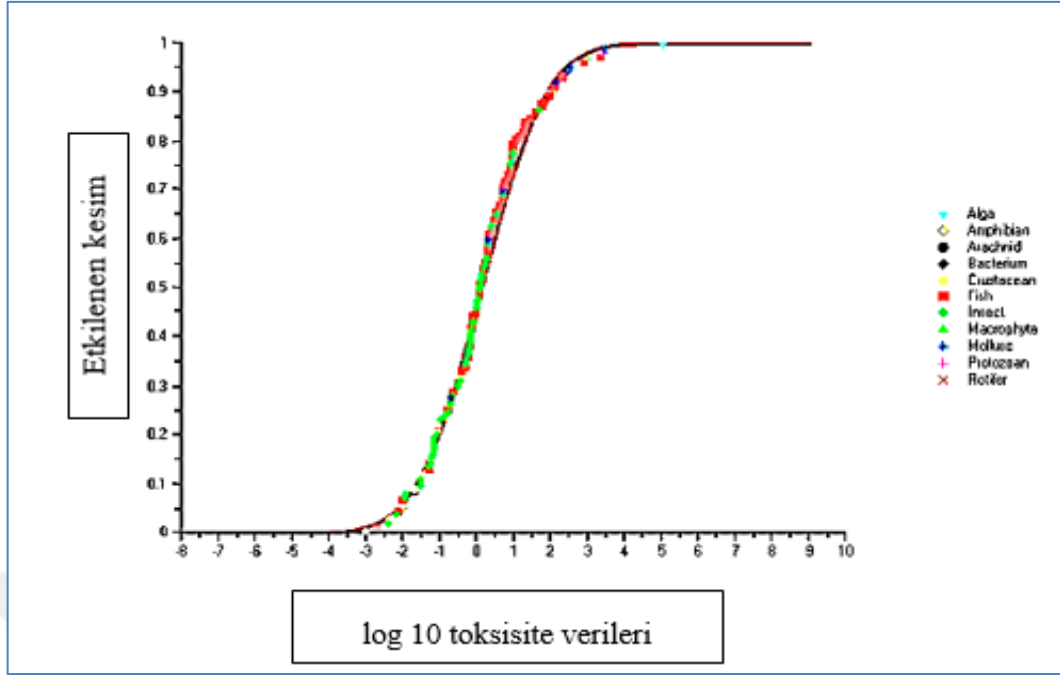
hassasiyetine de bağıdır. Sonuç olarak, akut (tipik olarak < 7 gün) ve kronik (tipik olarak > 7 gün) ölümcül ve subletal etkiler ayırt edilebilir. Suda çözünürlüğe bağı olarak, kirletici alım yolları (örneğin solungaç dokusu yoluyla veya gıda alımıyla) ekotoksikolojik etkilerini büyük ölçüde değıştirebilir (Werner ve ark., 2002). Besin organizmalarının tükenmesi gibi dolaylı etkiler, yüksek trofik seviyelerde türleri önemli ölçüde etkileyebilir (Hamers ve Krogh, 1997; Hooper ve ark., 2003). Bu tepkiler her zaman klasik doz-yanıt eğrilerini takip etmez, bu nedenle monotonik olmayan doz yanıt kalıpları (diğer bir deyişle, düşük dozlarda ortaya çıkan etkiler) dikkate alınmalı ve çevresel kalite standartlarının (EQS) veya ölçütlerin türetilmesi ve risk değıerlendirmesi yapılmalıdır (Vandenberg ve ark., 2012). Risk değıerlendirmesi, mevcut yönetmeliklerin koruma hedeflerine ulaşılması için önemli bir araçtır, ancak ilgili kimyasallar için risk değıerlendirmeleri yapabilme özelliğı, genellikle etkin verilerin eksikliğı nedeniyle zaman alıcı ve masraflı olmaktadır. Buna ek olarak, kimyasalların ve diğer stres kaynaklarının (fiziksel, biyolojik) ve kimyasal karışımların birleşik etkilerini değıerlendirmedeki yararlılığı sınırlıdır. Örneğın, 1990'lü yıllarda ABD çapında yapılan bir araştırmada, 4 000'den fazla akarsu su örneğının % 50'sinden fazlasının altı veya daha fazla pestisit içerdiğı belirlenmiştir (Gilliom ve ark., 1999).

Dünyanın tüm agro ekosistemlerinde XX. yüzyılın ortalarından beri modern tarımın tamamlayıcı bir bileşeni olarak pestisitler yaygın olarak kullanılmaktadır. Türkiye'de tarım ilaçları (pestisit) kullanımında, en önemli grubu insektisit (% 47) oluşturmakta, bunu herbisitler (% 24) ve fungusitler (% 16) izlemektedir (Turabi, 2007). Satışı en çok yapılan insektisit gruplarından biri ise sentetik piretroidlerdir. Piretroidler tarımsal ve kentsel alanlarda kullanılmaktadır. Piretroidlerin ortaya çıkışı oldukça endişe vericidir, çünkü bunların sucul organizmalara, özellikle de sedimentte yaşayan canlılara karşı oldukça toksik olduğı bilinmektedir (Hill, 1989). Sentetik piretroidler memelilerden daha fazla balıklar ve diğer akuatik organizmalar için toksiktirler (Reddy ve Bashamohideen, 1989). Hidrofobiklikleri nedeniyle, piretroidler doğal sularda bulunan partiküler maddeye emilme eğilimi gösterirler ve tipik olarak sedimentte saptanırlar (Laskowski, 2002). Sentetik piretroidler nörotoksiktir (Vijverberg ve Van den Bercken, 1990). Memeli vücudunda birikmezler ve memeliler üzerinde oldukça az etki bırakırlar; kuşlar için de yüksek güvenlik katsayısına sahiptir,

fakat sucul omurgasızlara ve balıklara karşı yüksek oranda toksiktir (Moore ve Waring, 2001; Kumar ve ark., 2010). Sentetik piretroidler gereğinden fazla kullanıldıkları zaman, birbirleriyle tepkimeye girerler ve sudaki hedef olmayan canlılara, bilhassa balık ve artropodlara toksik etki yaparlar. Bu olumsuz etkileri nedeniyle çevresel bir tehdit oluşabilmektedir (Moore ve Waring, 2001; Solomon ve ark., 2001). Bunların en önemlileri arasında cypermethrin, lambda cyhalothrin, tralomethrin, zeta-cypermethrin ve alpha-cypermethrin yer almaktadır (Ahioglu, 2008). İdeal bir pestisit, yalnızca hedef organizmayı etkileyen, kalıcı olmayan ve çevresel etkileri zararlı olmayan kimyasal madde olması arzulanır. Ancak, birçok pestisit hedef dışı organizmalarda doğrudan toksik etki göstermemekle birlikte, ekosistemde taşınmakta ve ekosistemde toprağa ve su kaynaklarına direkt bulaşarak, hedef dışı organizmalara doğrudan ya da hedef dışı organizmalara kalıntılar ya da kalıcı bileşikler şeklinde bulaşarak zararlı olabilmektedir. Cypermethrin için tatlı su uzun ve kısa vadeli verilerin ($\mu\text{g/L}$) kümülatif dağılım fonksiyonu Şekil 1.1 ve Şekil 1.2’de verilmiştir (Crane ve ark., 2007).



Şekil 1.1. Cypermethrin için tatlı su uzun vadeli verilerin ($\mu\text{g/L}$) kümülatif dağılım fonksiyonu (Crane ve ark., 2007)



Şekil 1.2. Cypermethrin için tatlı su kısa vadeli verilerin ($\mu\text{g/L}$) kümülatif dağılım fonksiyonu (Crane ve ark., 2007)

Sentetik pestisit kullanımının çevrede oluşturabileceği riskler ve endişeler sonucu yapılan araştırmalar, fizikokimyasal özellikleri nedeniyle kalıcı özelliğe sahip olan sentetik ilaçların, çok sayıda kuş ve balık ölümlerine neden olduğu, besin zincirinin en sonunda bulunan insanlara daha da yoğunlaşmış bir şekilde ulaştığını göstermiştir. Bu nedenle bazı ülkelerde kullanımlarına kısıtlamalar getirilmiş, bazı ülkelerde ise tamamen yasaklanmıştır (Yıldız ve ark., 2005).

Nüfus artışı ve beraberinde yoğunlaşan tarımsal faaliyetler nedeniyle pestisitlerin ekosistemlerdeki konsantrasyonları giderek artmaktadır. Kullanılan pestisitlerin sulama sularına ya da yağmur sularına karışıp tekrar göl veya akarsulara geri döndükleri ve besin zincirinin her basamağındaki canlılarda birikime ve ölümlere sebep olduğu bilinmektedir. Pestisit kirliliği bu sebeple büyük önem teşkil etmektedir ve bu sorunun çözümü için alternatif yöntemler geliştirilmelidir. Çevresel kirliliğin ortadan kaldırılmasında canlı organizmaların (alg, bitki, bakteri vb.) kullanılması “biyoremediasyon” olarak adlandırılmakta ve bu teknolojilerde temel olarak kirliliğin *in situ* temizlenmesi hedeflenmektedir (Kösesakal, 2011). Mikroorganizmalar (bakteri, protozoon, alg vb.) besin döngüsünün sağlanması, dekompozisyon gibi kritik görevleri yerine getiren sucul ekosistemin önemli üyeleridir. Doğrudan veya dolaylı

yollarla sucul ekosisteme ulaşan pestisitlerin bu mikrobiyal türler üzerindeki zararlı etkileri, sırasıyla besin döngüsünde yer alan diğer organizmaları da etkilemektedir. Örneğin, fitoplanktonik türlerin makromoleküler yapısının değişmesi veya koloni yapısındaki değişimler zooplankton otlayıcılarının büyüme oranlarını etkileyebilir. Bir yandan pestisitlerin akut ve kronik toksik etkilerine maruz kalabilen mikroorganizmaların diğer yandan bu kimyasalları bünyelerinde biriktirme, detoksifiye ve metabolize etme özellikleri vardır (DeLorenzo ve ark., 2001).

“Fitoremediasyon” toprak, sediment, yerüstü ve yeraltı suyunda bulunan kirleticilerin arıtımında çevresel ortamları tahrip eden fiziksel iyileştirme yöntemlerine alternatif olarak gösterilen yeni bir teknolojidir. Fitoremediasyonun en önemli avantajları etkin, kolay ve ucuz bir yöntem olmasıdır. Kontamine sulardan metallerin ve pestisitlerin uzaklaştırılması için fizikokimyasal yöntemler pahalıdır ve bu maddelerin sulardaki konsantrasyonu az olduğu için de etkisizdir. Bu nedenle biyolojik yöntemler geleneksel arıtım yöntemlerine bir alternatif olarak daha çok ilgi çekmektedir. Doğal arıtma diğer arıtma yöntemleri ile karşılaştırıldığında fazla insan gücü gerektirmeyen, işletilmesi kolay ve minimum enerji gereksinimi olan bir arıtma yöntemidir. Kirletilmiş çevreyi temizlemek için etkili bir biyoteknolojik yaklaşım olarak çevresel kirleticileri detoksifiye etmek ve parçalamak için mikroorganizmaların kullanılmasını içeren biyoremediasyon giderek artan bir ilgi görmektedir. Genel olarak, biyolojik giderme yaklaşımları, besin maddesi uygulaması, havalandırma ve ekim yoluyla uygun bozulma maddelerinin eklenmesi gibi uygun çevresel değişiklikleri içermektedir. Biyoremediasyon, geleneksel kimyasal ve fiziksel arıtma teknolojilerine, özellikle de seyreltilmiş ve yaygın kirleticilere göre birçok avantaj sunmaktadır. *In situ* muamele bu teknolojinin en cazip avantajlarından biridir (Iwamoto ve Nasu, 2001).

Su içinde biyolojik arıtım işlemleri için hidrofitlerin (primer ve sekonder su bitkileri) bazı avantajları vardır. Hidrofitler hızlı büyüme oranı nedeniyle ortamdaki maddelerin alımında oldukça iyi bir potansiyele sahiptir. Dolayısıyla, pestisitlerin kullanıldıkları ortamda, o ortamın güvenliğinin değerlendirilmesinde önemli bir indikatör olarak karşımıza çıkmaktadırlar. Primer su bitkileri olan algler, sucul ekosistemin vazgeçilmez unsurlarıdır. Balıkların ve omurgasız hayvanların da dahil olduğu diğer organizmalara gıda sağlayarak oksijen ve organik maddelerin çoğunu üretirler. Algler

üzerindeki zehirli kimyasal etkiler bir ekosistemin yapısını ve işlevini doğrudan etkileyebilir, bu da oksijen tükenmesine ve birincil üretkenliğin azalmasına neden olur (Çetin ve Mert, 2006). Bazı pestisitler algler üzerinde; zooplankton, suyu filtre ederek beslenen omurgasızlar ve balıklar gibi organizmalardan daha yüksek toksisiteye sahiptir (Kreutzweiser ve ark., 1998; Milam ve ark., 2000).

Mikroalgler, hem tatlısu hem de deniz ortamlarına dağılmış, organizasyon ve yaşam alanlarında çeşitlilik gösteren, fototrofik ökaryotik mikroalgler ve prokaryotik siyanobakteriler olarak geniş bir organizma kategorisini oluşturur (Lee, 2008). Mikroalglerin biyoçeşitliliği yaklaşık 200 000 - 800 000 tür olarak tahmin edilmektedir ve bu türlerden yaklaşık 50 000'i tanımlanmıştır (Starckx, 2012). Aşırı ve zorlu yaşam alanlarına uyum sağlamadaki eğilimleri ve muazzam çeşitlilikleri atıksu arıtımında mikroalg tabanlı teknolojiler geliştirmek için umut vericidir (Fouilland, 2012).

Mikroalgler ve vasküler su bitkileri pestisitlerin biyolojik birikiminin yanı sıra çevresel bazı kirleticilerin biyo-transformasyonunu sağlayabilme kapasitesine de sahiptirler. Su kütlelerinin antropojenik değişkenlerinden olan pestisitlerin mikroalgler tarafından akümüle edildiği bilinmektedir. Mikroalgler hücre zarlarında pestisitlerin adsorpsiyonu ve depolanmasına aracılık eden lipidler veya yağ damlacıklarına sahiptirler (Guanzon ve ark., 1996). Mikroalglerin membran bileşenleri depolama ürünleri, metabolitler ve enerji kaynakları olarak lipid ve yağ asitleri içerirler. Birçok alg türünün lipid içeriği lipofilik organik kirleticinin trofik transferi için bir giriş noktası sağlar. Algler, organik bileşikleri biyosorblayabilir ve hidrofobik, polar olmayan bileşikler için de bir afiniteye sahiptir (Casserly ve ark., 1983).

Su bitkileri, kirleticilerin çoğuna duyarlı olduklarından, kimyasal maddelerin su ortamındaki etkilerinin belirlenmesinde biyodeny organizması olarak kullanılmaktadırlar. "Biyodeny", ortam koşullarına benzer koşullarda laboratuvarda yapılan deneylerdir. Günümüzde alglerin ve yüksek yapılı su bitkilerinin atıksulardaki çeşitli kirleticilerin arıtımına etkileri ile ilgili çalışmaların sayısı giderek artmakla beraber bu çalışmalar özellikle ağır metal absorpsiyon kapasiteleri üzerine yoğunlaşmıştır. Pestisitlerin hidrofobikler üzerindeki etkilerini inceleyen biyodenylerde genellikle *Chlorella*, *Scenedesmus* gibi yeşil algler ve su mercimeği türleri kullanılmıştır. Algler sucul ortamlarda ototrof biyomasında büyük bolluk

oluşturmaktadır ve akuatik toksikoloji çalışmaları için mantıklı bir seçimidir (Wetzel, 2001).

Tatlısu algleriyle yapılan toksisite testleri, 1900'lü yılların başından bu yana belirli aralıklarla yürütülmüştür, ancak 1970'lerin başlarına kadar standart test yöntemleri uygulanmıştır. Ticari kimyasalların, endüstriyel ve belediye atıklarının, tehlikeli atıkların, sızıntı suyunun ve kontamine tortu elütriatlarının fitotoksik etkilerini belirlemek için kullanılabilir çeşitli test yöntemleri bulunmaktadır. Olası kirleticilerin fitotoksisite testleri ile ilgili güncel bilimsel bilgiler, bir kaç tatlısu yeşil alg türü için laboratuvar toksisite testlerinden elde edilen sonuçlara dayanmaktadır. Makrofitler, laboratuvar toksisite testlerinde, evsel ve endüstriyel atık suyun biyoremediyatörleri ve kirletilmiş ortamların yerinde biyomonitörleri olarak test türüne göre daha sık kullanılmaktadır. Su mercimeği, çoğu toksisite testinde kullanılan temsilci makrofit olmuştur ve bu rol için uygunlukları değerlendirilmeye devam etmektedir (Lewis, 1995). Düzenli ekotoksikolojik çalışmalarda hedef olmayan türlerden yeşil algler ve su mercimeği (*Lemna minor* L.) model olarak kullanılan sucül türlerdendir (Wang, 1990; Lewis, 1995). Yüzen yapraklı makrofit *L. minor*, birçok sucül ortamın doğal bileşenidir. Bu bitki küçük boyutu, hızlı büyüme oranı, vejetatif üreme, çok sayıda kirleticiye duyarlılığı ve kültürünün kolaylığı nedeniyle ekotoksikolojik çalışmalar için uygun bir model olarak kabul edilmektedir (Wang, 1990; Kanon-Boule ve ark., 2009). *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae) mikroskobik bir yeşil algdır ve su sisteminde bol olan biyokaynaklardan biridir. Bu tür çeşitli abiyotik streslere tolerans ve toksikoloji çalışmaları için sık sık kullanılan tek hücreli önemli bir ökaryotik modeldir (Wang ve ark., 2007; Wei ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2011). Bu organizmalar, oksijen ve biyokütle üretiminin önemli bir bölümünü oluşturan fitoplanktonun önemli bir bileşenidir. Tek hücreli algler sudaki birincil üreticiler oldukları için, yüksek ekolojik önem taşırlar. Bu organizmalar üzerindeki olumsuz etkiler zooplankton ve balık da dahil olmak üzere yüksek trofik seviyeleri olumsuz şekilde etkiler ve böylece tüm ekosistemi rahatsız eder. Dolayısıyla, antropojenik bileşiklerin yeşil algler üzerindeki etkileri iyice değerlendirilmelidir (Nestler, 2012). Alglerin ve vasküler su bitkilerinin daha çok ağır metaller ve besin maddeleri ile kirlenmiş suyun fitoremediasyonunda çok iyi birikim kapasitelerine sahip olduğu ve verimlilik gösterdiği yönünde çalışmalar yapılmıştır. Bununla birlikte,

pestisit fitoremediasyonu ile ilgili çalışmalar çok azdır. Son zamanlarda, Lemnaceae türlerinin etkin bir şekilde kirli sudan pestisit uzaklaştırmak için iyi bir aday olarak değerlendirilebilir olduğu gösterilmiştir (Gao ve ark., 2000; Fujisawa ve ark., 2006; De Carvalho ve ark., 2007; Olette ve ark., 2008; Dosnon-Olette ve ark., 2009; 2010). Pestisitlerin algler üzerine olan etkileri ve bunun sonuçlarını görmeye yönelik yapılan çalışmalar XX. yüzyılın sonlarında başlamıştır. Aldrin, dieldrin, endrin, lindane, carbaryl ve chlordane içeren pestisitler üzerinde yapılan biyosorpsiyon çalışmalarında bu pestisitlerin algler tarafından ortamda uzaklaştırıldığı gösterilmiştir (Klekner ve Kosaric, 1992). Yapılan çalışmalar, farklı mikroalg türlerinin pestisitlere karşı farklı hassasiyetlere sahip olduğunu da göstermiştir (Solomon ve ark., 1996). Alglerin yanıtının, pestisitlerin kullanılan konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiği, genellikle türler arasında ve test edilmiş alg bölümleri arasındaki duyarlılığın oldukça geniş olduğu belirtilmiştir (Priyadarshani ve ark., 2011). Son zamanlarda, bitki kök tüyleri veya diğer mikroorganizmalar kullanılarak atık toksik organik kirleticilerin temizlenmesi ya da bozulması için alternatif biyolojik yöntemlerin (fitoremediasyon) gelişimi dikkat çekmektedir (Angelini ve ark., 2011). Mikroalglerin atık sudaki inorganik besin maddelerini (azot ve fosfor) kullanma kabiliyeti, atık su arıtım proseslerinde yararlı bir biyolojik giderme aracı olmasını sağlar. Birçok yeşil mikroalg türü, atık su arıtma sisteminde, çözünür organik bileşiklere karşı yüksek toleranslarından dolayı yaygın olarak kullanılır (Oswald ve ark., 1953; Oswald, 1998). Mikroalgler pestisitlerin biyoakümüleyonunu sağlayabileceği gibi aynı zamanda bu çevresel kirleticilerin bir kısmını biyotransforme edebilir (Kobayashi ve Rittman, 1982).

Fitoremediasyon saha uygulamalarını çalıştırmadan önce, pestisit toksisitesi ve su bitkilerinin giderim verimine kirletici yük ve bitki yoğunluğunun etkisini biyodeneylemlerle anlamak oldukça önemlidir. Bu çalışmada, pestisitlerle kirlenmiş suyu biyolojik yöntemlerle primer (mikroalg) ve sekonder su bitkilerini (vasküler bitki) kullanarak arıtmak, akut toksisiteyi belirlemek, hidrofitlerin duyarlılık ve uzaklaştırma verimi üzerine pestisit konsantrasyonu ve başlangıçtaki populasyon yoğunluğuna etkisini değerlendirmek ve fitoremediasyonda hidrofitlerin potansiyel güvenilirliğini değerlendirmek için biyodeneylemler yapılmıştır. Önerilen yöntemler, enerji gerektirmeyen, ucuz yöntemler olup, yeşil teknoloji olarak adlandırılmaktadır.

1.1. Çalışmanın Anlam ve Önemi

Çalışma ile pestisitlerin sulardan temizlenmesinde alglerin ve makrofitlerin kullanımının diğer yöntemlere göre ideal bir alternatif oluşturabileceği, bu yöntemin geliştirilmesiyle doğal ortamda da başarı sağlanabileceği ve pestisitlerle kirlenmiş su kaynaklarının ve atıksuların iyileştirilmesi için yerinde arıtım teknolojilerine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, araştırma bulguları il ve ilçe tarım müdürlükleri ile paylaşılarak, hedef dışı organizmalar, insan sağlığı ve çevre üzerinde pestisit kullanımının etkileri hakkında farkındalığı artırmak ve bilgilendirme yönünde katkı sağlaması da hedeflenmektedir.

Çalışma kapsamında, Karadeniz Havzası sularında potansiyel bir risk teşkil eden piretroid insektisit türünün hedef dışı canlılardan olan hidrofitlelere etkisi ve biyolojik arıtımda kullanılabilme potansiyeli tespit edilmeye ve insektisitlerin su ekosistemine etkileri kontrollü biyodenyelerle anlaşılmaya çalışılmıştır. Planlanan araştırmalar, üç ana hedef kapsamında uygulanmıştır:

- Sentetik piretroid insektisit zeta-cypermethrinin farklı konsantrasyonlarının hidrofitlelerin bolluk ve üremeleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Pestisitlerin çeşitli alg türlerine etkileri ile ilgili ülkemizde bazı çalışmalar bulunmakla birlikte zeta-cypermethrinin algler ve diğer su bitkileri üzerine etkileri ile Türkiye’de henüz bir araştırma bulunmamaktadır.
- Organizmaların insektisitlere tepkisi türe özgü olsa da türlerin farklı yaşam ortamlarına adaptasyonları tepkilerinin farklılaşmasına neden olabilir. Çalışmada kullanılacak olan farklı taksonomik gruptaki organizmaların değişen ortam koşullarına verebilecekleri tepkilerin anlaşılmasına bütüncül bir yaklaşım getirecektir.
- Tatlısu ekosisteminin önemli elemanlarından ve biyodenyelerde model organizmalardan olan *C. reinhardtii* ve *L. minor* türlerinin ağır metal biyoabsorpsiyonu dışında pestisit biyoabsorpsiyonundaki rolü henüz yeterince bilinmemektedir. Çalışma kapsamında, bu türlerin pestisit fitoremediasyonundaki potansiyel rolünün tespit edilmesine katkı sağlayacaktır.

Günümüzde iklim değişikliği, nüfus artışı, çevre kirliliği vb. pek çok sorun sürdürülebilir su yönetimi hedeflerine ulaşmayı olumsuz etkilemektedir. Çevre bilincinin artması ile insan sağlığının, çevrenin ve biyolojik çeşitliliğin korunması tüm

çalışmalarda ön plana çıkmaktadır. Su kaynaklarının kalitesindeki değişimlerin doğru tahmini ve bu değişimlere ilişkin adaptasyon süreçlerinin sağlıklı bir şekilde planlanması için gerekli yöntem ve süreçlere ilişkin araştırmaların yapılması ülkemiz açısından büyük önem taşımaktadır. Çalışmanın tehlikeli madde gruplarından olan insektisitlerin sucul ekosistemin ilk halkasını oluşturan hidrofıtların gelişimi üzerine etkisi, su ortamındaki durumlarının belirlenmesi, çevresel kalite standartlarının geliştirilmesine yönelik ekotoksikolojik veri eksikliğinin giderilmesi, tarım alanlarında aşırı pestisit kullanılmasından kaynaklanan kirliliği iyileştirme yöntemlerinin geliştirilmesine katkıda bulunacağı düşünölmektedir.

Günümüz modern tarımında pestisitlerin kullanılması kaçınılmazdır. Hemen bütün insektisitler spesifik olmadıkları için sadece hedef organizmaları öldürmez, omurgalı ve omurgasız diğer organizmaları da etkileyerek, ekosistemin yapısının ve türlerin sayılarının değişmesi gibi uzun dönemli etkileri söz konusudur. Pestisitler biyosfere girdikleri andan itibaren çevre, bitki ve diğer canlılarda giderek artan miktarlarda birikirler. Bu nedenle, farklı taksonomik gruplardan seçilecek organizmaların test edilmesiyle belirlenecek pestisit biyokonsantrasyonu ve toksisitesi sucul ortamların ekolojik yönden tehlike değerlendirilmelerinde önemli bir kriterdir. Zirai mücadele uygulamalarında, pestisit tüketiminin azaltılması, agro-ekosistem analizi ve sürdürülebilir tarımsal üretim dikkate alınarak mücadele uygulamalarının yapılması bir zorunluluk haline almıştır. Bu durum sonucunda başta biyolojik mücadele olmak üzere, kimyasal mücadeleye alternatif yöntemlere ve tüm yöntemlerin bütünleşmesine, diğer bir ifade ile entegre mücadeleye daha çok önem verilmeye başlanmıştır. Pestisitlerin kendisinin ya da toksik dönüşüm ürünlerinin hedef olmayan yerleri veya organizmaları kontamine etmesi istenmediğinden tüm bu olayların bilinmesi ve incelenmesi önem taşımaktadır.

Su bitkileri, pestisitlerin kullanıldıkları ortamda, o ortamın güvenliğinin değerlendirilmesinde önemli bir indikatördür. Buldukları su ortamları ile doğrudan temas halinde olduklarından su ortamındaki kirleticileri alarak bünyelerinde biriktirebilirler ve bu sayede ortamın kirlilik seviyesi hakkında bilgi verebilirler. Dolayısıyla, biyokullanılabilirliğinin izlenmesinde ve toksik etkilerin belirlenmesinde kullanılabilirler.

Tarımda en temel sorunlardan biri pestisitlerin geleneksel olarak aşırı ve uygunsuz kullanımınıdır. Çalışmada kullanılacak olan insektisit Karadeniz Bölgesi'nde en önemli tarım ürünü olan fındıkta fındık zararlısına karşı (fındık kurdu; *Curculio nucum* L.) yoğun olarak kullanılmaktadır. Bölgenin her mevsim yağış alması ve eğimli arazi yapısı nedeniyle, insektisitlerin yüzey akışı şeklinde veya aşağıya doğru yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarına ulaşarak sularda bir risk yaratacağı düşünülmektedir. Çünkü su ortamına taşınan insektisitler hedef olmayan canlıların ölmesine pestisit kalıntılarının insanların gıda zincirine girmesine ve kontamine olmuş suların içilmesiyle kronik toksisitenin oluşmasına neden olurlar. Bu bağlamda, pestisit kullanılırken hem ürünün hastalık, zararlı ve yabancı otlara karşı korunması hem de insan ve çevreye olumsuz etkilerinin birlikte değerlendirilmesi gerekir. Bunun için de kontrollü biyodenyelerle hedef dışı canlılarda pestisit toksisitesinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu tez çalışmasında; fındık kurdu (*C. nucum*) zararlısı ile mücadelede en yaygın kullanılan sentetik piretroid grubu insektisitlerin primer su bitkisi (*C. reinhardtii*) ve sekonder su bitkisi (*L. minor*) tarafından biyoabsorpsiyonunun biyodenyelerle incelenmesi, farklı konsantrasyonlarda zeta-cypermethrin insektisiti ihtiva eden kültür ortamlarında tutulan *C. reinhardtii* ve *L. minor* ile yapılan biyodenyelerde, fitoremediasyonda bu türlerin kullanılabilme potansiyelinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca, fitoremediasyonda sucul ototrofların kimyasal atıkların çevresel olarak yönetilmesi ile ilgili fiziksel metodlara göre nispeten daha duyarlı ve etkili biyodeneysel araçları olduğunu ortaya koymak, insektisitlerin çeşitli yollarla hedef dışı organizmalara ulaşması durumunda gelişimlerine ve topluluk yapısı üzerine etkilerini belirlemek, alıcı sistemlerin bu durumdan ne kadar etkileneceği, kısa süreli etkilerinin neler olabileceğini tespit etmek, tarımsal mücadelede kullanılan insektisitlerin akuatik ortama zehirli etkilerin azaltılması amacıyla kullanım dozajlarının belirlenmesine katkı sağlamak, pestisitlerin kontrollü ve doğru kullanılmasına katkı sağlamak çalışmanın amaçları arasındadır. Pestisit biyoabsorpsiyonunda hem mikroalglerin hem de makrofitlerin biyoindikatör özelliklerini ve biyoabsorpsiyon potansiyellerinin değerlendirilmesi ve karşılaştırılması açısından bu alanda yapılmış ilk çalışma olarak bundan sonraki çalışmalara öncülük edeceği beklenmektedir.

1.2. Genel Bilgiler

1.2.1. Pestisitler ve Genel Özellikleri

Pestisit kullanımı, özellikle artan küresel nüfusa gıda arzını sağlamak için dünya çapında artmıştır. Modern tarımda pestisitlerin gerekli olduğu tartışmasız olmasına rağmen tarımsal kimya endüstrilerinden, evlerden, tarımsal sistemlerden yağmur suyu akışı, eski stokların, konteynerlerin ve paketlerin atılmasından ve atıkların sanayilerden boşaltılmasından kaynaklanan çevre kirliliği hakkında artan bir endişe söz konusudur (Domagalski ve Kuivila, 1993; Thurman, ve ark., 2000; Akan ve ark., 2015). Özellikle ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde pestisitlerin bilinçsiz ve fazla kullanılması bir yandan tarım ürünlerini hastalık, zararlı ve yabancı otlara karşı korurken bir yandan da çevre kirliliği sorunu yaratarak insanlar başta olmak üzere tüm canlıların yaşamını tehdit etmekte, gerek üretici ve gerekse ülke ekonomisi açısından olumsuz etkilere neden olmaktadır (Özgüven ve Katkat, 1997). Bu bileşikler, sucul sistemlere deşarj edildiğinde, bu tür sistemlerin kirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Aynı zamanda atmosferik taşınma suda pestisit kalıntılarının birikiminin önemli bir kaynağını temsil eder (Schmitt ve Linder, 1990).

Pestisitler, Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization - WHO) tarafından insan veya hayvan hastalıklarını taşıyan rahatsızlık verici canlılar dahil olmak üzere gıda, tarımsal ürün, ağaç ve orman ürünleri veya hayvan yemlerinin üretimi, işlenmesi, depolanması, taşınması veya satışı sırasında istenmeyen zararlı etkilere neden olabilecek canlıları uzaklaştırmak, öldürmek ya da kontrol etmek amacı ile kullanılan; ya da hayvanların üzerinde veya içinde bulunan böcek, eklem bacaklı gibi zararlı canlıları kontrol etmek amacı ile hayvanlara uygulanabilen virüsler dahil olmak üzere mikroorganizmalar veya herhangi bir madde ya da madde karışımları olarak tanımlanmaktadır.

Her zehirli madde pestisit olarak kullanılmaz ve adlandırılmaz. Zehirli özellik gösteren bir maddenin pestisit olabilmesi için aşağıdaki özellikleri taşıması gerekir:

- Biyolojik olarak aktif olmalı,
- Etkili olmalı,
- Güvenilir olmalı,

- Yeteri kadar stabil (kararlı) olmalı,
- Kullanıcılar açısından güvenilir olmalı,
- Üçüncü şahıslar açısından güvenilir olmalı,
- Tüketiciler açısından güvenilir olmalı,
- Besi hayvanları açısından güvenilir olmalı,
- Yabani hayatta zararlı olmamalı,
- Faydalı organizmalara zararlı olmamalı,
- Çevre için kabul edilebilir olmalı,
- Ticarete probleme sebep olmamalıdır.

Bir formülasyonda bulunması gereken özellikler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization - FAO) ve WHO tarafından belirlenerek belli esaslara bağlanmıştır. Bu formülasyonun içinde;

- Etkili madde (aktif madde),
- Yardımcı maddeler,
- Emülgatörler,
- Dolgu maddeleri bulunmaktadır.

Bu maddeler katı ve sıvı ilaç formülasyonları için ayrı ayrı özellikte olmaktadır (Daş ve Aksoy, 2016).

İnsektisitler böceklerin kontrolü amacı ile kullanılan maddelerdir. Günümüzde kullanılan kimyasal insektisitlerin hemen hepsi sinir zehiri olup, hedef canlıda sinir sistemi üzerinden etki göstermektedirler. Böceklerin merkezi sinir sistemi (MSS) oldukça gelişmiş olup, memeli MSS'sine göre çok farklılık arz etmemektedir. Çevresel sinir sistemi (ÇSS) daha az karmaşık yapıda ve memelilere çeşitli yönlerden benzer özelliktedir. Bu sebeplerden dolayı insektisitlerin türe özel seçici etkileri olmayıp, insanlar dahil olmak üzere memeliler zehirli etkilerine son derece duyarlılık gösterirler. Böcekler ile memeliler arasında seçici etkinlik genellikle detoksifikasyon mekanizmalarının farklılıkları ya da hedef yapılarında ayırıcı etkileşimler sonucu şekillenir. Diğer pestisitlerle karşılaştırıldığında hedef olmayan canlılarda daha fazla

akut zehirlenmeye sebep olurlar. İnektisitler başlıca organik fosforlu, karbamatlı, piretroid, organik klorlu, eski ve yeni geliştirilmiş diğer inektisitler olarak sınıflandırılabilirler (Costa, 2008).

- Doğal piretrinler ve sentetik piretroid (SP) inektisitler

Pestisitler içinde zararlılara karşı en yaygın olarak kullanılan grup, inektisitlerdir. Dünyada kullanılan inektisitlerin % 30'unu sentetik piretroidler oluşturmaktadır ve hedef organizmaya karşı çok toksik, kuşlar ve memelilere karşı az toksik olmaları nedeniyle sıklıkla tercih edilmektedirler (Mazmancı ve ark., 2008). Krizantem çiçeğinden 1924 yılında izole edilen piretrinlerin (I ve II) yaprak bitleri ve hamam böcekleri üzerine inektisit etkisi göstermesi ile keşfedilmişlerdir (Wakeling ve ark., 2012). Doğal bitkisel inektisitlerden olan piretrin, ikinci dünya savaşından sonra sentetik olarak elde edilmeye başlanmıştır. Ancak sentetik piretroidler ışıpta bozulduklarından sadece ev zararlılarına karşı kullanılmışlardır. Bu yüzden tarımda kullanıma imkanları olmamıştır. Nihayet 1973 yılında ışığa dayanıklı sentetik piretroidler sentezlenmiştir. 1975 yılında zararlı böceklerle karşı hızla kullanılmaya başlanmıştır. Temas ve mide zehiri etkilidirler. İnektisit etkileri yüksektir ve sıcakkanlılara etkileri çok düşüktür. Sokucu ve emici böceklerle karşı etkileri çok azdır. Cypermethrin ($C_{22}H_{19}C_{12}NO_3$), sarımsı-kahverengi ve sıvı haldedir. Suda çözünürlüğü 20°C sıcaklıkta 1 mg/L'dir. Yurdumuzda üretilen etkili maddelerdendir. Balıklar için de zehirlidirler (Öncüer, 1995). Belirtilen bileşiklerden piretrin I'in böcek öldürücü etkinliği öne çıkarken, piretrin II'nin yere serici etkisi daha fazladır. Piretrinlerin inektisit etkisi bitki ekstraktında yere serici ve öldürücü bileşikleri bir arada bulundurmasından kaynaklanır. Piretrin bileşiklerin yapısında kimyasal değişiklikler yapılarak bu etkileri artırılmıştır. Birinci nesil SP inektisitlerden olan alletrin, tetrametrin ve resmetrin, piretrin I'in yapısında bulunan krizantemik asitten temel almıştır. Fenvalerat gibi daha yeni üyelerde bulunan siyano (CN) grubu, SP'lerin etkisini 3-6 kat artırmaktadır. Kimyasal yapısında CN grubu bulunanlar Tip II, bulunmayanlar Tip I SP inektisitler olarak gruplandırılmaktadır. Buna göre permetrin Tip I, cypermethrin Tip II SP inektisittir (Wakeling ve ark., 2012). Piretrinler ve SP'ler böceklerde voltaja duyarlı sodyum kanalları üzerine olan etkileri ile sinir iletimini bozarlar. Organik fosforlu (OP) inektisitlerden farklı olarak MSS yerine ÇSS

üzerinde etki gösteriler. Sinirlerde sodyum kanallarının açılma süresini uzatırlar. Buna bağlı olarak ya seri olarak kısa sinir boşalmaları ya da uzun süreli sinir boşalması şekillenir. Sonuçta uyarıya bağlı sinir depolarizasyonunda veya sinir iletiminde tekrarlayan deşarjlar meydana gelir. Zehirlenme belirtisi olarak vücutta koordinasyon bozukluğu, çarpınmalar ve felç şekillenir. Tip I SP'ler olan alletrin, bifentrin, d-fenotrin, permetrin, resmetrin ve tetrametrin huzursuzluk, aşırı uyarılma, bitkinlik ve kas seğirmelerine neden olurlarken; tip II bileşikler olan sihalotrin, cypermethrin, siflutrin, deltametrin, esfenvalerat, fenvalerat, fluvalinat ve lamda-sihalotrin aşırı hareketler, koordinasyon bozukluğu, çarpınmalar ve kıvrınmaya neden olurlar. SP'ler OP insektisitlerin aksine böcekler ve omurgasız canlılara daha güçlü seçici etkili olup, memeli ve kuşlar üzerinde daha düşük zehirli etki meydana getirirler (Palmquist ve ark., 2012). Bu grup kimyasallar uzun süredir bilinmesine rağmen son yıllarda çok önem kazanmıştır. *Pyrethrum* cinsine ait belirli türlerin çiçeklerinin öğütülmesi ile elde edilen piretrum ekstraktı % 1-2 piretrin içerir. Doğal piretrumların insektisit olarak birçok avantajları vardır. Bunlar, geniş spektrumlu olmaları, memelilere karşı zehirliliklerinin düşük düzeyde olması ve doğal koşullarda kısa sürede dekompoze olmalarıdır. Ancak, kolay bozulmalarının yanı sıra, üretim maliyetinin oldukça yüksek olması, üretiminin sürekli olmasındaki zorluklar doğal piretroidlerin dezavantajlarındanıdır. Bazı piretroidlerin etkileri sıcaklıkla artmasına rağmen, çoğunlukla düşük sıcaklıklarda etkinlikleri daha yüksektir. Sentetik piretroidler, ışığa dayanıklı ve kalıntı etkisi yüksek insektisitler olarak tarımda geniş kullanım alanı bulur. İnsanlar üzerinde sistemik ve akut toksisiteleri düşüktür, ancak zehirlenme belirtileri OP bileşik zehirlenmeleri ile karıştırılabilir (MEB, 2012). Piretrinler ve piretroidler için suya doğrudan salınımlarının düşük olması beklenmektedir, çünkü bu bileşikler öncelikle hava yoluyla veya zemin bazlı püskürtücülerden doğrudan bitki ve bitki örtüsüne uygulanır. Bununla birlikte, bu bileşiklerin uygulanmasını takip eden püskürtme yakınlardaki suları kirletebilir. Resmethrin, fenotrin ve permethrin gibi sivrisinek kontrolünde sıklıkla kullanılan piretroidler, balıklar için yüksek toksisiteye sahip oldukları için 100 feet'lik (30.480 m) göl, nehir ve derelere uygulanması yasaklanmıştır (EPA, 2000). Lee ve Jones (2006), piretroid bazlı pestisitlerin, kentsel/tarım bölgelerindeki yağmur suyunun akışıyla sudaki canlılar için toksisiteye neden olabileceğini ve bu zehirli maddelerin çökeltme olaylarını takiben sedimentte

toplanarak sediment toksisitesine neden olacağını bildirmişlerdir. Piretrinler ve piretroidler, suda yaşayan organizmalarda biyolojik olarak konsantre olabilirler ve balıklar için son derece toksiktirler. Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) ve *Cyprinodon variegatus* türünde permetrin, fenvalerat, deltamethrin ve cypermethrinin biyokonsantrasyon faktörü (BCF) sırasıyla yaklaşık 450-600, 180-600, 100-1 200 ve 120-400'dür (Haitzer ve ark., 1998). Piretrinler ve piretroidler atmosferde fotolize uğradığından, güneşli yüzey sularında bu mekanizma ile bozulurlar. Fulvik ve humik asitler gibi doğal sularda bulunan ışığa duyarlılaştırıcı maddeler fotoliz hızını artırır. Işığa maruz kalan deniz suyunda permetrinin fotoliz yarı ömrünün 14 gün ve fenvaleratın yarı ömrünün 8 gün olduğu tespit edilmiştir (Schimmel ve ark., 1983). Bu bileşikler ayrıca pH ve sıcaklığa bağlı olarak değişen oranlarda ortamda hidrolize olurlar. Genel olarak, hidroliz alkalın koşullar altında ve 20°C veya daha yüksek sıcaklıklarda gerçekleşir (USDA, 2001). 25°C'deki steril su-etanol (99:1) fosfat tamponlardaki cypermethrin sulu hidroliz yarı ömrü sırasıyla 4.5, 6, 7 ve 8 pH değerlerinde 99, 69, 63 ve 50 hafta olarak belirlenmiştir (Chapman ve Cole, 1982). Piretroidler çevre mikroorganizmaları tarafından kolaylıkla bozunurlar. Permetrinin bir sediment/deniz suyu solüsyonundaki yarılanma ömrü 2.5 gündür, ancak steril koşullar altında, permetrin konsantrasyonunda 4 haftalık bir inkübasyon periyodunda belirgin bir değişiklik olmaz; bu durum, steril olmayan koşullardaki kaybın biyolojik bozunumdan sorumlu olduğunu düşündürmektedir (Schimmel ve ark., 1983). Piretrinler ve piretroidler toprağa güçlü bir şekilde adsorbe olduğundan, yeraltı suyu ve içme suyunda yüksek konsantrasyonlarda sıklıkla tespit edilmezler. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'nın (Environmental Protection Agency - EPA) 1971-1991 yılları arasında yeraltı sularındaki zirai ilaç izleme çalışmalarında, fenvalerat, 345 kuyudan 5'inde 0.01-0.28 µg/L konsantrasyonda ve permetrin, 1 097 kuyudan 4'ünde 0.01-1.25 µg/L'lik konsantrasyonlarda tespit edilmiştir (EPA, 1992).

1.2.2. Pestisitlerin Tarihçesi ve Kullanımı

Pestisit kavramı yeni olmayıp tarih öncesi zamanlardan günümüze çeşitli maddeler bu amaçla kullanılmışlardır. M.Ö. 2500 yılında Sümerler kötü kokusu nedeni ile vücutlarından böcek ve akarları kaçırtıcı olarak kükürt bileşiklerini kullanmışlardır.

M.Ö. 1550 yılında Eski Mısır'da Ebers papirüslerinde tarif edilen 800'ün üzerinde reçetede zehir ve pestisit olarak kullanılan çeşitli bileşikler tanımlanmıştır. Antik Yunanistan'da M.Ö. 1000 yıllarında kükürdün fumigasyon olarak ev ve bahçelerde böceklerin kontrolü amacı ile kullanıldığı bildirilmiştir (Taylor ve ark., 2007). *Helleborus niger* L., *H. orientalis* J.B.A.P.M. de Lamarck ve *Veratrum album* adlı bitkiler M.Ö. 100 yıllarında kemirici ve böceklere karşı kullanılmışlardır. Arseniğin M.S. 900 yıllarında Çinliler tarafından böceklere karşı, mineral yağın 1300 yıllarında develerde uyuz hastalığına karşı, rotenonun 1649 yılında ABD'de balıkları yakalamak için, tütün ekstraktlarının 1690 yılında temas zehiri, 1773 yılında fumigant olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Ağar ve ark., 1991). Modern anlamda pestisitlerin tarımsal üretim ve halk sağlığı alanında kullanımı 19. yüzyılla birlikte başlamaktadır. Birinci nesil olarak nitelendirilebilecek kalsiyum arsenat ve kurşun arsenat gibi bileşikler son derece zehirli özellikler taşımaktadır. Bunların yanı sıra mantar, böcek ve bakterilerin kontrolü amacı ile hidrojen siyanür 1860'lı yıllarda fumigant olarak kullanılmıştır. Bu dönemde kullanılan diğer pestisitler bakır sülfat, kireç ve su karışımından oluşan bordo bulamacı ile kükürt bileşikleridir. Daha sonra ilk önemli sentetik organik pestisit olan diklorodifeniltrikloroetan (DDT), Alman bilim insanı olan Ziedler tarafından 1873 yılında sentezlenmiş ve İsveçli bilim insanı Paul Muller tarafından 1939 yılında insektisit etkisi ortaya konulmuştur (Zacharia, 2011). Fransa'da 1932 yılında metilbromid fumigant olarak kullanılmaya başlanmıştır. Pentaklorofenol 1936 yılında ağaç zararlılarına karşı koruyucu amaçla kullanıma girmiştir (Fishel, 2009a). Pestisitlerin sayısı ve kompleksliği 1940'lı yıllar boyunca hızla artmıştır. İnsektisit olan DDT ve HCH (heksaklorobenzen) ile hormon karakterli olan herbisitlerden 2,4-D (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) ve MCPA (2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid) 1940'lı yılların sonunda kullanılmaya başlanmıştır. Fenoksi asetik asidin 1942 yılında yabancı otlara karşı etkili olduğu gösterilmiştir. Varfarin kemiricilere karşı 1944 yılında kullanılmaya başlanmıştır. İkinci dünya savaşından sonra 1946 yılında OP insektisitler Almanya'da keşfedilmiş ve ABD'de kullanıma sunulmuştur (Yıldız ve ark., 2005). Bunları 1950'li yıllarda dieldrin ve aldrin gibi insektisitler takip etmiştir (Fishel, 2009).

Larvisit olarak *Bacillus thuringiensis* 1961 yılında tescillenmiştir. Yabancı ot mücadelesi amacı ile glifosat 1971 yılında tanımlanmıştır. EPA tarafından 1972

yılında DDT'nin kullanımı yasaklanmıştır. Işığa dirençli bir sentetik piretroid insektisit olan permetrin 1973 yılında geliştirilmiştir. EPA tarafından çoğu organoklorlu insektisitlerin kullanımı 1980'li yıllarda yasaklanmıştır (Fishel, 2009a). Pestisit kalıntılarının önemi ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmasıyla anlaşılmıştır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve WHO Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi'ni kurmuşlar ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış, bilimsel araştırma verilerine dayanılarak gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri saptanmıştır (Öğreten, 2017).

Dünyada pestisit tüketimi açısından Latin Amerika ülkeleri ilk sırada yer almaktadırlar. Avrupa'da ise Hollanda ve İtalya kullanılan miktar açısından öne çıkan ülkelerdir. Dünya çapında pestisit satış rakamları 2000-2010 yılları arasında % 289 oranında artış göstermiştir. Bu oranın 2011-2016 yılları arasında % 5 daha büyümesi ve 2017 yılında pazarın 68.5 milyar dolara çıkacağı öngörülmüştür. Ülkemizde 2003 yılında bayi rakamlarına göre 29 675 ton pestisit satıldığı, 2012 yılında ise bu rakamın 52 397 tona ulaştığı bildirilmiştir. Bu artışı destekleyen faktörler arasında nüfus artışı, tarıma elverişli arazilerin kalitesinde düşme, küresel ısınma ve zararlı canlıların daha geniş alanlarda yayılması sayılabilir (Kaymak ve Serim, 2015).

1.2.3. Pestisitlerin Hedef Olmayan Organizmalar ve Çevre Üzerine Etkisi

İdeal bir pestisit yalnızca hedef organizmayı etkileyen, kalıcı olmayan ve çevresel etkileri zararlı olmayan kimyasal madde olarak tanımlanabilir (Conway ve Pretty, 1991). Günümüzde zararlı mücadelesinin vazgeçilmez bir parçası olan pestisitler, her yıl milyonlarca ton üretilmekte ve çevreye bırakılmaktadır. Bu özelliği ile pestisitler, hedef olmayan insan, hayvan ve çevre sağlığı için en sık karşılaşılan ve tehlike oluşturan kimyasal maddelerden biri konumundadır. Pestisitlerin ana kullanım alanı zirai mücadele olmakla birlikte, insan ve evcil hayvanların üzerinde ve etrafındaki haşere ve vektörlerin kontrolünde kullanılan biyosidal ürünler de önemli bir kullanım alanı ve hedef dışı canlılar için maruziyet kaynağıdır (Yavuz, 2001). Çevresel etki, pestisitinin cinsi ve uygulama koşuluna bağlı olarak değişim göstermekle birlikte, pestisitler ve parçalanma ürünleri toksik maddeler içermekte olup, parçalanma ürünlerinden bazıları ana pestisitten daha toksik ve kalıcı olabilmektedir. Aşırı

buharlaşabilenler solunan havada kirlilik oluşmasına, kullanım yoğunluğunun aşırı olması da organizmalarda ilaca karşı direnç kazanmaya neden olabilmektedir. Hedef alınan ve alınmayan zararlıların doğal düşmanlarını ve faydalı organizmaları da öldürerek yeni salgınlar oluşmasına neden olmaktadır (Tiryaki ve ark., 2010). Pestisit uygulamasının % 0.015-6.0'sı hedef alınan canlı üzerine ulaşmakta, geri kalan % 94-99.9'luk kısım ise agroekosistemde hedef olmayan organizmalara ve toprağa ulaşmakta ya da çevredeki doğal ekosistemlere sürüklenme ve akıntı nedeniyle kimyasal kirleticiler olarak sulara karışmaktadır (Yıldız ve ark., 2005). 1950'li yıllarda DDT ve diğer kimyasal pestisitlerin insan ve yabanıl yaşam başta olmak üzere çevresel sorunlara yol açtığı saptanmıştır. Elde edilen rapor sonuçlarına göre, pestisitlerin kullanıldıkları hedef organizmalarla birlikte kuş, memeli ve balık ölümleri gibi hedef olmayan canlıların ölümüne de yol açabildiği ve besin zincirine dahil olup, birikme özelliği göstererek önemli çevresel sorunlar oluşturdukları tespit edilmiştir (Yalvaç ve ark., 2004). Pestisit kirliliği sucul ekosistemlerin sağlığı ve üretkenliği için büyük bir tehdit oluşturabilir. Trofik gıda zincirinin tabanında, sayısız organizma için besin kaynağı oluşturan diatomeler gibi birincil üreticiler pestisit maruziyetinden ciddi şekilde etkilenebilir. Dahası, bu tür kirleticiler, trofik gıda zincirinin dengesini önemli ölçüde bozabilir (Stevenson ve Pan, 1999).

Havadaki toz zerreciklerine tutunan pestisitler parçacıkların büyüklüğüne, dağılan hacime, hava akımının hızına, havanın sıcaklığına ve diğer bazı faktörlere bağlı olarak belirli bir alanda kalmakta ya da başka yerlere taşınabilmektedirler. Ayrıca havada bulunan pestisitler havadaki diğer kimyasallarla birleşerek canlıların ve insanların zarar göreceği başka maddelere dönüşebilmekte ve tehlike boyutunu genişletmektedir (MEB, 2012). Özellikle rüzgar etkisi ile hiç ilaçlama yapılmayan alanlara dahi taşınabilmektedir. Bu özelliğinden dolayı pestisit uygulamaları sırasında sürüklenmeler meydana gelmekte, havada kontrol edilemeyen pestisitler, su yollarına, evlere ve yeşil alanlara ulaşabilmektedir (Altıkat ve ark., 2009). Bitki ve böceklerin mücadelesinde kullanılan pestisitler kullanıldıkları alandan (evlerden, bitkilerden, tarımsal bölgelerden ve topraktan) yayılma ve akıntı yoluyla suya ulaşmakta ve kirlilik oluşturmaktadır (Tiryaki ve ark., 2010). Yine uygulama sonrasında toprak yüzeyinde kalan pestisitler, yağmur suları ile yüzey akışı şeklinde veya toprak içerisinde aşağıya doğru yıkanmak suretiyle taban suyu ve diğer su kaynaklarına (nehir, göl gibi)

karışabilmektedir. Eğim, bitki örtüsü, formülasyon, toprak tipi ve yağış miktarı pestisitlerin yeraltı sularına taşınmasında etkilidir. Ayrıca ilaç endüstrisi atıklarının akar veya durgun sulara boşaltılması; uygulama aletlerinin, boş ambalaj kaplarının su kaynaklarında yıkanması, arazi çalışmalarında pestisitlerin sulandırılmalarının ve kaba doldurulmalarının kuyuların yanında yapılması yoluyla da su kaynaklarına bulaşma söz konusu olabilmektedir (Altıkat ve ark., 2009; MEB, 2012).

Pestisitlerin su ortamında toksisitesi, aynı anda her yerde bulunması ve sürekliliği Avrupa Birliği'ni farklı çevresel sulardaki pestisit konsantrasyonunun sınırlandırılmasına yöneltmiştir. İnsanların tükettiği suyun kalitesi Direktif 98/83/EC ile tek pestisitler için 0.5 µg/L olarak sınırlandırılmıştır (Anonim, 1998). Ayrıca pestisitlerin aktif maddelerinin, parçalanma ya da reaksiyon ürünlerinin kaynak ve içme/kullanma sularında olabilecek maksimum limit değeri her bir pestisit için 0.1 µg/L, toplam pestisit için 0.5 µg/L'dir. Yüzeysel ve yer altı sularında aldrin, dieldrin, heptaklor ve heptaklor epoksit bulunması halinde ise limit değeri 0.03 µg/L'dir (Anonim, 2005). Bir ilacın uygulanması sırasında ilaçların yüzey sularına ulaşmasını önlemek için gerekli çabanın gösterilmesi gerekmektedir. İlacın yüzey sularına bulaşması iki kategori içerisinde incelenebilir:

i. Kısa süreli: Sürüklenme (drift), yüzeyden akma, yüksek doz.

ii. Uzun süreli: İlaç ve ilaç kaplarının kanalizasyon ve akarsulara dökülmesiyle, havadaki ilaç kalıntıları yoluyla yüzey sularına bulaşma olmaktadır.

Türkiye'de içme suyu çoğunlukla kuyulardan sağlanmakta olup, yeraltı suyunda pestisit bulunup bulunmaması son derece önem taşımaktadır. Pestisitler toprak altı suyu ve akarsulara karıştıklarında oradan bitki ve böceklerle ulaşmaktadır. Bu yolla besin zincirine giren pestisitler, suda yaşayan omurgasızlarda ve balıklarda kolaylıkla birikme yapmakta, özellikle balıklarda önemli bir yoğunluğa ulaşmakta, bulunduğu bölgede uzun süre değişmeden kalabilmektedir. Yoğun birikme bu balıklarla beslenen canlılarda daha yüksek düzeye ulaşmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda yavru balıkların bazı ilaç türlerine karşı daha hassas olduğu, bazı balık türlerinin ise pestisite karşı direncinin az olması nedeni ile türlerinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Pestisitlerin içme sularına bulaşması insan, evcil ve yabani hayvan sağlığını tehdit etmektedir. Bu nedenle pestisitlerin kullanılması mutlaka denetim altında olmalı ve su

kütlelerinin denetimi düzenli olarak yapılmalıdır (Altıkat ve ark., 2009; Tiryaki ve ark., 2010; MEB, 2012). Pestisit uygulamaları, özellikle su ortamında ciddi bir çevre sorununa ve sudaki ekosistemde bulunan hedef dışı organizmalara toksik etkilere neden olmuştur. Organoklorinler (BHC), organofosforlular (chlorpyrifos ve dimetoat) ve piretroidler (cypermethrin ve lambda-cyhalothrin) zararlıların kontrolünde yaygın olarak kullanılırlar. Çeşitli çalışmalar pestisitlerin algler için toksik olduğunu bildirmiştir (Ware, 1983; Aktar ve ark., 2009). Pestisit bulaşan toprakta yetişen ürünlerde kalıntı olmakta, kalıntı gıda maddeleriyle insanlara, yemler aracılığıyla da hayvanlara taşınmakta, böylece zehir besin zincirine karışmaktadır. Ayrıca pestisit toprakta kalmayıp, buharlaşma ile havaya, sızma yoluyla da suya ulaşarak etki alanını genişletmektedir (Altıkat ve ark., 2009; MEB, 2012). Bitki yüzeyine uygulanan ya da topraktan alınan ve bitki özsuyunda çözünen pestisit, bitki bünyesinde aşağıdan yukarı ve yukarıdan aşağı biyolojik olarak taşınmakta ve bu esnada da bitkinin dokularında birirmektedir. Özellikle daha önce yapılan ilaçlamalardan dolayı toprakta biriken kalıntıların bitki tarafından alınması bitkideki kalıntı miktarını artırmaktadır (Tiryaki ve ark., 2010). Bitkiye doğrudan uygulanan ya da toprakta bulunan ve bitki tarafından kullanılan pestisit yine besin zinciri aracılığı ile hayvan yemi olarak etçil ve otçul hayvanlara ulaşmakta ve oradan da insan gıdası olarak daha üst basamaklara taşınmaktadır (Yeşil ve Öğür, 2011). Genel olarak pestisitlerin sağlık üzerinde akut ve kronik etkileri bulunmaktadır. Akut etkiler ağız, solunum ve deri yoluyla vücuda girerek kendini hemen göstermekte iken, kronik etkiler, kanser, doğum anormallikleri, sinir sistemi zararları (nörotoksisite ve nörodavranışsal bozukluklar) ve uzun dönemde oluşan yan etkilere neden olmaktadır (Güler ve Çobanoğlu, 1997). Pestisitler, kullanan kişi tarafından bilinçsiz ve dikkatsiz kullanım nedeni ile etkide bulunabileceği gibi, hava, su, toprak ve en önemli etken olarak gıdada bulunan kalıntılar yoluyla da insana ulaşabilmektedir. Pestisitlerin canlılar üzerine etkileri anne karnında başlamakta olup, ilaçlar plasenta yoluyla fetüse geçmekte, bunun sonucu olarak da düşükler, hiperpigmente, hiperkeratitik çocuk doğumları görülebilmektedir. Aynı zamanda fetüse bulaşan pestisit, buradan sinir sistemi, göz ve karaciğere ulaşabilmektedir. Pestisitlerden bir bölümü de (organofosfatlı ve karbamatlı insektisitler) etkilerini doğrudan doğruya periferik ve merkezi sinir sistemi üzerinde göstererek organizmanın yaşamını tehdit etmektedir. Yine pestisitler kanda bulunan eritrosit ve lökositlere zarar

verebilmektedir. Yapılan incelemeler neticesinde, pestisitlerin asetilkolinesteraz enzimini inhibe ettiği ve alt beyin kökünde solunum kontrol merkezlerinin baskılanması ile canlının ölümüne neden olduğu, TCA (trikarboksilik asit) enzimlerini (malat dehidrogenaz, süksinat dehidrogenaz) inaktive ettiği, karaciğer ve kas bozulmalarına neden olduğu saptanmıştır (Çömelekoğlu ve ark., 2000).

Pestisit kullanımı insan sağlığı ve çevreye olumsuz etkileri gibi birçok sorunu beraberinde getirmektedir. Yoğun ve bilinçsiz bir şekilde kullanılmaları sonucunda gıdalarda, toprak, su ve havada pestisit kendisi ya da dönüşüm ürünleri kalabilmektedir. Tüm dünyada tarımsal sistemin ayrılmaz bir parçası olarak pestisit kullanımında tarımsal ürünlerde kalıntı riski ve çevreye olumsuz etki yapması dikkatle üzerinde durulması gereken bir konudur. Ayrıca ruhsatlandırma sonrası, pestisit tarla koşullarında akıbeti ve çevreye olan etkileri de araştırılmalıdır (Tiryaki ve ark., 2010). Pestisitlerin kalıntı yoluyla kronik toksisiteleri yanında bazılarının insanlarda mutajenik, teratojenik ve kanserojen etkilerinin de olduğu yapılan çalışmalarla saptanmıştır (Kiely ve ark., 2004).

Pestisitler, doğada uzun süre kalabilmeleri ve besin zincirine dahil olmaları nedeniyle bazı yararlı türlerin yok olmasına ve tür kompozisyonunun değişmesine yol açabilmektedir. Belirli pestisitlerin tekrar tekrar kullanılması, zararlı organizmalarda seleksiyona ve dirençli popülasyonların ortaya çıkmasına, dirençli popülasyonlar pestisit etkinliğini düşürdüğü için üreticilerin daha sık aralıklarla ve yüksek dozda pestisit kullanmalarına neden olmaktadır. Bu durumda, dayanıklılık sorunu ortaya çıkmakta, daha fazla pestisit tüketilmekte, bir yandan ekonomik açıdan maliyet artmakta, bir yandan etkisizlik nedeniyle organizmaların neden olduğu ürün ve kalite kayıpları devam etmekte, varlıkları ekonomik oranda zarar oluşturmayan bazı zararlıların popülasyonunda artış olmakta ve en önemlisi de insan sağlığı ve çevre kirliliği açısından sorunlar oluşmaktadır (Yıldız ve ark., 2005). Türkiye gibi, pestisitlerin bilinçsiz ve kontrolsüz kullanıldığı ülkelerde dayanıklılık kadar duyarlılık azalışı da ekonomik açıdan önem taşımaktadır (Delen ve ark., 2005).

1.2.4. Pestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitler; kullanıldıkları zararlı grubuna, formülasyon şekillerine, hedef alınmayan canlılar üzerindeki etkilerine, uygulama metoduna ve kimyasal yapılarına göre aşağıdaki gibi gruplara ayrılabilir (Öğreten, 2017).

- Pestisitlerin kullanıldıkları zararlı grubuna göre sınıflandırılması

- İnsektisitler (böcekleri öldürenler)
- Algisitler (algleri öldürenler)
- Fungisitler (mantarları öldürenler)
- Fungostatikler (fungusların faaliyetini durduranlar)
- Herbisitler (yabancı otları öldürenler)
- Bakterisitler (bakterileri öldürenler)
- Akarisitler (akarıları öldürenler)
- Afisitler (yaprak bitlerini öldürenler)
- Molluskisitler (yumuşakçaları öldürenler)
- Avenisitler (kuşları kaçırınlar)
- Rodentisitler (kemirgenleri öldürenler)
- Nematositler (nematodları öldürenler)
- Termitisitler (karıncaları öldürenler)
- Pedikulisitler (bitleri öldürenler)

Bunların dışında algleri, kuşları, balık ve diğer canlıları öldürmek amacı ile kullanılan maddelere de pestisit adı verilmektedir (Hill, 2010).

- Formülasyon şekillerine göre pestisit sınıfları

- Toz ilaçlar (DP)
- Islanabilir toz ilaçlar (WP)
- Suda çözünen toz ilaçlar (SP)

- Kuru tohum ilaçları (DS)
- Solüsyonlar veya sulu çözeltiler
- Emülsiyon konsantre ilaçlar (EC)
- Akıcı konsantre ilaçlar (SC)
- Yağlar (GS) (yazlık ve kışlık yağlar)
- Tabletler (TB)
- Granüller (GR) - mikro granül (MG) - ince granül (FG) - suda dağılabilen granül (WG)
- Pelletler (PL)
- Aerosoller (AE)
- Zehirli yemler (RB)
- Kapsül şekli verilmiş formülasyonlar (kapsül - süspansiyonlar - CS)
- Gübre karışımları
- Yağ konsantreleri ve yağ solüsyonları
- Çok düşük hacimli ilaçlamaya uygun sulandırılmadan kullanılan sıvı ilaç formülasyonları (ULV)
- Gaz halinde olanlar (ve neşredenler) (VP-GA)
- Diğerleri
- **Pestisitlerin hedef alınmayan canlılar üzerindeki etkileri bakımından sınıflandırılması**
- Kanserojen etkili pestisitler: Aldrin, benomil, captan, 2,4-D, lindan, zineb, thiram, carbofuran, trifluralin, vb.

- Teratojen etkili pestisitler: Bunlar ana karnındaki yavrunun oluşum bozukluklarına neden olan maddelerdir. Örneğin; aldrin, benomil, captan, 2,4-D, lindan, zineb, dikuat, maneb, dinoseb, MCPA, parakuat, propaklor, thiram vb.

- Mutajen etkili pestisitler: Canlının genetik yapısında değişikliklere neden olan maddelerdir. Örneğin; aldrin, aldrazin, benomil, parakuat, simazin, siyanazin, aldikarb, captafol, karbofuran vb.

- Alerji yapan pestisitler: Benomil, captan, lindan, nabam, parakuat, triazin, zineb, propaklor, captafol vb.

- Uygulama metoduna göre insektisitlerin sınıflandırılması

- Mide zehirleri: Ağız yoluyla alınmalı, mideden absorbe olmalı,

- Sistemik insektisitler: Bitki ve hayvanlarda değişik organ ve dokulara taşınırlar,

- Kontakt (değme): Zehirler vücut duvarından absorbe olurlar,

- Fümigantlar (solunum zehiri): Trakelerden absorbe olurlar.

- Kimyasal yapılarına göre pestisitlerin sınıflandırılması

- Organik fosforlular

- Karbamatlılar

- Piretroidler

- Klorlandırılmış hidrokarbonlar

- Bitkiseller

- Diğer kimyasal sınıflar

- Mikroorganizmalar (Öğreten, 2017).

1.2.5. Dünyada ve Türkiye’de Pestisit Kullanımı

Dünya pestisit pazarının büyüklüğünün yaklaşık 45 milyar dolar, Türkiye pazarının ise yaklaşık 600 milyon dolar olduğu tahmin edilmektedir (Anonim, 2014). Pestisit

tüketim miktarları bakımından Latin Amerika ülkeleri başı çekerken (Bahamalar 59.4 kg/ha, Kolombiya 15.3 kg/ha), Japonya, Çin, Malezya ve Yeni Zelanda ise yüksek pestisit kullanımı ile dikkat çeken ülkeler arasındadır (Plumer, 2013). Avrupa ülkelerinden de Hollanda ve İtalya yüksek pestisit kullanımlarıyla öne çıkan ülkelerdir. Hızla artan nüfus dünyada olduğu kadar Türkiye’de de önemli sorunlardan biri olan beslenme sorununu gündeme getirmektedir. Hızlı nüfus artışı ve tarım topraklarının farklı alanlar için kullanıma açılmasının önlenememesi ile tarım topraklarımız giderek azalmakta, bu da birim alandan en yüksek verimin sağlanmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle bitkisel üretimde kayba neden olan hastalık, zararlı ve yabancı otlarla mücadelede pestisit adı verilen kimyasalların kullanımına ihtiyaç duyulmaktadır. Pestisit; zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak, ya da zararlarını azaltmak amacıyla, tarımsal mücadele araştırma ve uygulamalarında kullanılan her türlü kimyasal maddelerdir (MEB, 2012). 2014 yılı GTHB (T.C. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı) verilerine göre Türkiye’de 18 milyon 114 bin kg toz ve 21 milyon 608 bin litre sıvı pestisit kullanılmaktadır. Türkiye’de hektar başına pestisit tüketiminin 1.3 kg olduğu tahmin edilmektedir (Burçak, 2014). Çizelge 1.1’de TÜİK Pestisitler, tarım ürünlerini zararlı, hastalık ve yabancı otlardan korumak ve kaliteli ürün elde etmek gibi avantajlarının yanı sıra kullanımı sonucunda insan, hayvan ve çevre sağlığı bakımından bazı problemler oluşturmaktadır. Tarımsal alanlara uygulanan pestisitler; hava, su ve toprağa, oradan da bu ortamlarda yaşayan diğer canlılara ulaşmaktadır. Pestisit kullanılırken, hem ürünün hastalık, zararlı ve yabancı otlara karşı korunması hem de insan ve çevreye olumsuz etkilerinin dikkate alınması önem taşımaktadır.

Dünya pestisit pazarının 2011-2016 döneminde yıllık ortalama % 5 büyüme göstereceği (Anonim, 2014), 2017’de ise küresel pestisit satışlarının 68.5 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonim, 2012). Pestisit kullanımının yanında küresel bio-pestisit kullanımının da artarak 2017’de 3.5 milyar dolara ulaşacağı değerlendirilmektedir (Anonim, 2014). Dünya’da ve Türkiye’de bu büyümeyi tetikleyen ana faktörler ise; artan nüfus, ekilebilir tarım alanlarında kalitenin düşmesi, iklim değişiklikleri, zararlıların daha geniş alanları etkilemesi, yükselen pazarlar (Güney Amerika ülkeleri ve özellikle Brezilya, Afrika ve Orta Doğu) ve yabancı istilacı türlerdir. Özellikle gelişmiş ülkelerde pazarın doyuma ulaşması, gereksiz

pestisit kullanımının önlenmesine yönelik programlar, riskli pestisitlerin kullanımının sınırlandırılması veya yasaklanması bu büyümeyi sınırlandıran faktörlerin başında gelmektedir (Kaymak ve Serim, 2015).

Çizelge 1.1. Türkiye’de yıllara göre pestisit tüketimi (Ton) (TÜİK, 2017)

Tarımsal ilaç kullanımı							
Yıl	İnsektisitler	Fungusitler	Herbisitler	Akarisitler	Rodentisitler	Diğer	Toplam
2006	7 628	19 900	6 956	902	3	9 987	45 376
2007	21 046	16 707	6 669	966	51	3 277	48 716
2008	9 251	17 863	6 177	737	351	5 613	39 992
2009	9 914	17 396	5 961	1 533	78	2 302	37 184
2010	7 176	17 546	7 452	1 040	147	5 344	38 705
2011	6 120	18 124	7 407	1 062	421	6 978	40 112
2012	7 264	15 525	7 351	859	247	8 766	40 012
2013	7 741	16 248	7 336	858	129	7 128	39 439
2014	7 586	16 674	7 794	1 513	149	6 007	39 722
2015	8 117	15 984	7 825	1 576	197	5 327	39 026

Günümüzde pestisit tayini kromatografik yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Kromatografik ayırma teknikleri veya kütle spektrometrik teknikleri, zirai ilaçları ve herbisitleri tespit etmek, tanımlamak ve ölçmek için genellikle bağımsız olarak veya kendi başlarına kullanılır. Kromatografik teknikler geniş olarak gaz kromatografisi (GC) veya sıvı kromatografisi (LC) olarak sınıflandırılmaktadır. Kütle spektrometresine (MS) eşlik eden sıvı kromatografisi çevre sularında zirai mücadele ilaçlarını bulmada yaygın olarak kullanılan bir analitik tekniktir (Buchanan ve ark., 2010). Sıvı kromatografi (LC) ve kütle kombinasyonu LC-MS/MS olarak adlandırılan spektroskopisi (MS), büyük bileşikler aynı anda analiz edebilir, bu da çevresel izleme açısından avantajlıdır. Tandem-MS düşük algılama limitleri ve çok yüksek güvenlik sağlar, bu da daha düşük seviyede daha fazla maddenin izlenebileceği anlamına gelir (Jansson ve Kreuger, 2010). Kuster ve ark. (2009), sudaki pestisitlerin belirlenmesine yönelik LC-MS’in en son gelişmeleri ve uygulamaları ile birlikte ilgili mevzuat sorunlarını gözden geçirmişlerdir. Buonasera ve ark. (2009), UV deteksiyonlu nano-sıvı kromatografi (nano-LC) kullanarak bir dizi organofosforlu pestisit (fensulfothion, fenamiphos, profenofos, fonofos, izofenphos, dialifos, sulprofos ve protiofos) ayrımı üzerinde çalışmışlardır. Araştırmada farklı silika bazlı sabit fazlar CN, C18 ve fenil ile paketlenmiş üç kılcal sütun incelenmiş ve fenil kolonu kromatografik performans açısından en iyi sonuç vermiştir. Pestisit analizlerinde LC-

MS/MS kullanımı GC'ye uygun olmayan termolabil, polar ve uçucu olmayan bileşikler için popülerlik kazanmaya devam etmektedir. Bazı kimyasal sınıflar, örneğin fenoksiasitler herbisitler, triazinler, organofosforlar, kloroasetanilidler ve piretroidler hem GC/MS hem de LC-MS/MS ile analiz edilebilir. Fenoksasit herbisitler ve karbamatlar için, LC-MS/MS, analizden önce bir türevlendirme aşaması gerektirmediği için daha elverişli olarak değerlendirilir. GC/MS yerine LC-MS/MS'i seçmenin başlıca nedeni, pestisitlerin polar kimyasal sınıfları ve dönüşüm ürünlerinin eşzamanlı analizini sağlama ihtiyacından kaynaklanmaktadır. Dönüşüm ürünleri çoğunlukla ana bileşiklerine göre daha polar ve daha az uçucudur ve genellikle polar olmayan GC sütunlarında kötü kromatografik performansa sahiptir veya termolabilite gösterirler (Raina, 2011).

LC-MS pestisit analizinde alternatif bir yöntem olarak belirtilmektedir. Özellikle herbisit analizi için kullanılan bu teknik, kromatogramda interferenslerin daha az görülmesi ve yüksek seçiciliği ile oldukça güçlü bir ayırma, identifikasyon ve miktar tayini yapılabilmesi ile öne çıkmaktadır. LC-MS yönteminin diğer bir avantajı ise aynı sınıftaki pestisitlerin identifikasyonu ve doğrulmasına etkili bir şekilde imkan sağlamasıdır. Bu özelliği ile LC-MS polar pestisitlerin çoklu analizlerinde en fazla tercih edilen yöntem haline gelmiştir. LC-MS yönteminde iyonizasyonun sağlandığı rutin olarak kullanılan arayüz şekilleri atmosferik basınç iyonizasyon (atmospheric pressure ionization, API), elektrospay iyonizasyon (ESI) ve atmosferik basınç kimyasal iyonizasyondur (APCI). API ve ESI en fazla kullanılan iyonizasyon modelleridir ve ikisi arasındaki temel fark olarak akış hızı belirtilmektedir. Yapılan çalışmalar pratik analitik uygulamalarda hassasiyet ve seçicilik açısından iki modül arasında çok önemli fark olmadığını göstermektedir (Hogendoorn ve Van Zoonen, 2000).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Clegg ve Koevenig, (1974), aldrin ve dieldrinin daha yüksek konsantrasyonlarda (100 mg/L) alglerde adenozin trifosfat düzeylerini düşürdüğünü, bunlar arasından aldrinin en az inhibitör etkiye sahip olduğunu ve bu bileşiği deniz alglerinin tatlı su alglerinden çok daha fazla tolere ettiği bildirilmiştir.

Sentetik klorlu siklodien bir insektisit olan endosulfan (DDT ile aynı kimyasal gruptur), yeşil alg *C. reinhardtii* türünde üremeye zararlı etkiler yapmıştır. Pregametogenez hücrelerine uygulanan 10.17 mg/L'lik endosulfan konsantrasyonunun, kontrollere göre mayoz bölünmeyi % 35 ve birinci günde bölünen zigotların sayısını % 100 azalttığı belirlenmiştir (Netrawali ve ark., 1986).

Karbamatlı insektisitlerden carbaryl ve metaboliti 1-naftolun bir deniz ortamı bakterisi olan *Vibrio phosphoreum* için EC₅₀ değerleri sırasıyla 5 mg/L ve 3.7 mg/L, carbofuran ve metabolitleri carbofuran phenol ve methylamine'nin 20.5 mg/L, 60.9 mg/L ve 34.6 mg/L, organik fosforlu insektisitlerden fonofos ve metabolitleri methyl phenyl sulfon ve thiophenolün 5.2 mg/L, 3.2 mg/L ve 4.8 mg/L, parathyon ve metaboliti 4-nitrophenolün 8.5 mg/L ve 13.7 mg/L, chlophrifos ve metaboliti 3,5,6-tricloro-2-piridinolün 46.3 mg/L ve 18.6 mg/L, diazinon ve metaboliti hidrokspirimidin 10.3 mg/L ve 886.4 mg/L olarak bulunmuştur (Somasundaram ve ark., 1990).

Atrazine'nin mavi-yeşil alg *Dolichospermum flosoquae* (Brébisson ex Bornet & Flahault) P.Wacklin, L.Hoffmann & J.Komárek için 3, 5 ve 7 günlük büyüme oranlarına bakılarak EC₅₀ dozları sırasıyla 0.58, 0.469 ve 0.766 mg/L ve yeşil alg *Selenastrum capricornutum* Printz için 0.283, 0.218 ve 0.214 mg/L olarak belirlenmiştir (Abou-Waly ve ark., 1991).

Yapılan bir diğer çalışmada, endosulfanın 10 mg/L konsantrasyonunda yeşil alg *Chlorella vulgaris* türünün büyümesini % 15 oranında azalttığı ve 100 mg/L konsantrasyonunda bu algin büyümesini tamamen durdurduğu, mavi-yeşil alg olan *Anabaena doliolum* Bharadwaja türünde ise 1.5 mg/L konsantrasyonunda büyümesini % 39 oranında azalttığı ve 3.5 mg/L konsantrasyonunda tamamen durdurduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, dimetoatın 25 mg/L konsantrasyonunda *C. vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] türünün büyümesini % 15 oranında azalttığı ve 125 mg/L konsantrasyonunda bu algin büyümesini tamamen durdurduğu, *T. doliolum* türünün

ise 10 mg/L konsantrasyonunda büyümesini % 28 oranında azalttığı ve 50 mg/L konsantrasyonunda tamamen durdurduğu tespit edilmiştir (Mohapatra ve Mohanty, 1992).

Guanzon ve ark., (1996), *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing (Cyanophyceae), *Scenedesmus communis* E.Hegewald (Chlorophyceae) ve *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen (Bacillariophyta) türlerinde CNP (p-nitrofenil, 2,4,6-triklorofenil eter), MEP [0,0-dimetil 0- (3-metil-4-nitrofenil) tiyofosfat] ve ISP [izoprotiolan (C₁₂H₁₈O₄S₂)] pestisitlerinin tekli ve farklı kombinasyonlarının emilim ve birikim oranlarını belirlemek için yaptıkları çalışmada, *S. communis* türünde en düşük, *M. aeruginosa* türünde ise tüm pestisitler için en yüksek değerleri gösterdiğini belirlemişlerdir. Lipid analizi sonuçlarına göre ISP üç mikroalgin lipidlerinde saptanabilir düzeyde iken CNP *S. communis* ve *A. granulata* için daha büyük bir affinite göstermiş, MEP ise üç mikroalgde de hücrelere nüfuz etmemiştir.

Yaygın olarak kullanılan herbisit alachlorun (2-kloro-2',6'-dietil-N-metoksimetil asetanilid) altı farklı konsantrasyonunun (0, 1, 10, 30, 100 ve 1000 µg/L) Nebraska'da, bulunan 18 akarsu mikrokozmu kullanılarak 21 gün boyunca tipik bir tarımsal akarsudaki alg topluluğu üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada 1.0 µg/L'de maruziyetin etkilerinin anlamlı olmadığı (P<0.05), diğer tüm konsantrasyonlarda alachlorun alg biyokütlesi üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Baskın alg taksonlarının yaklaşık yarısı >10 µg/L düzeylerinde etkilenmiştir. Daha yüksek konsantrasyonlarda (30, 100, 1000 µg/L) baskın alg türlerinde bir değişim gözlemlenmiş ve 21 saat sonra bu akarsular kontrol ve 1.0 µg/L seviyeli akarsulardan anlamlı ölçüde daha düşük alg hücre yoğunlukları sergilemiştir. Bu çalışmanın sonuçları, alachlor girdilerinin tarımsal akarsularda hem alg topluluğu bileşimini hem de biyokütleyi değiştirebileceğini ortaya koymaktadır (Spawn ve ark., 1997).

Yaygın olarak kullanılan bir herbisit olan atrazinin 50 µg/L ve metaboliti dietilatrazine'nin 250 µg/L konsantrasyonlarında mikrobiyal ortamda klorofil-*a*, fototrofik karbon asimilasyonu, çözünmüş oksijen ve fototrofik biyovolumü önemli derecede azalttığı; 1 ve 10 µg/L konsantrasyonlarında uygulanan endosülfanın ortamdaki toplam bakteri varlığını önemli derecede azalttığı ve öncelikle

siyanobakterileri hedef aldığı; 10 µg/L konsantrasyonunda uygulanan klorpirifosun ortamdaki heterotrofik siliat ve flagellata varlığını önemli derecede azalttığı ortaya konulmuştur (DeLorenzo ve ark., 1999).

Mikro yeşil alg *Tetraselmis gracilis* (Kylin) Butcher türü tarafından organoklorlu bir insektisit olan BHC (benzene hexakloride) biyoakümüülasyonunun gaz kromatografi tekniği ile araştırıldığı bir çalışmada; 0.5 ppm BHC mevcut ortamda 0.106 ppm yani yaklaşık % 21.2, 4 ppm konsantrasyonda 10 gün maruziyet sonrasında ise yaklaşık % 29.43 birikim gösterdiği belirlenmiştir (Asma ve Mathew, 2001).

On iki farklı herbisit mikrobiyal alglerden *Tetradesmus obliquus* (Turpin) Wynne ve *Auxenochlorella pyrenoidosa* (H.Chick) Molinari Calvo-Pérez üzerine akut toksisitesinin araştırıldığı çalışmada; EC₅₀ değerlerinin *T. obliquus* için 0.14-269 mg/L, *A. pyrenoidosa* için ise 0.23-90 mg/L arasında değiştiği sonucuna ulaşılmıştır (Ma ve Liang, 2001).

Sabater ve Carrasco, (2001), tarafından gerçekleştirilen bir biyodenedeyde; insektisit ve akarisit özelliği taşıyan pyridapention adlı pestisit beş tatlısu algi (*Tetradesmus obliquus* (Turpin) M.J.Wynne, *Desmodesmus subspicatus* (Chodat) E.Hegewald & A.Schmidt, *Chlorella vulgaris*, *Chloroidium saccharophilum* (W.Krüger) Darienko ve ark., *Pseudanabaena galeata* Böcher) üzerindeki toksik etkileri araştırılmış ve 96 saat süren biyodenedey sonunda seçilen alg türleri için EC₅₀ değerlerinin 2.2 ile 30.9 mg/L gibi geniş bir aralıkta değiştiği sonucuna varılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre *Chlorella* türleri ve siyanobakterilerden *P. galeata* türünün diğer iki türe göre daha toleranslı olduğu gözlenmiştir.

Endosulfanın tatlısu yeşil alglerinden *Pseudokirchneriella subcapitatum* için 96 saat büyüme oranında EC₅₀ dozu 0.428 mg/L olarak tespit edilmiştir (DeLorenzo ve ark., 2002).

Tek hücreli yeşil alg olan *Monoraphidium contortum* (Thuret) Komárková-Legnerová üzerine Türkiye’de yaygın olarak kullanılan üç herbisit; paraquat (1,1-dimethyl-4,4-bipyridyldiylium dichlorid), 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) ve bir bitki büyüme düzenleyicisi olan daminozide’nin (N-dimethyl amino succinic acid) farklı dozlarını uygulayarak popülasyon yoğunluğundaki değişiminin incelendiği çalışmada; paraquat ve 2,4-D’nin 0.5, 1.0, 5.0 mg/L dozlarının *M. contortum*

popülasyon yoğunluğunu azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca daminozide'nin 0.5 ve 1.0 mg/L'lik dozları paraquatın etkisine benzer bir etki gösterirken, 5.0 mg/L'lik dozu farklı etki göstermiştir (Dere ve Sivacı, 2003).

Friberg-Jensen ve ark., (2003), 11 günlük süre boyunca ötrofik bir gölde yer alan küçük *in situ* muhafazalarda, 0.01-6 µg/L arasındaki cypermethrinin etkilerini inceledikleri çalışmalarında; cypermethrin konsantrasyonunun ve cypermethrinin çözülmüş fraksiyonlarının sırasıyla 48 ve 25 saatlik toplam yarılanma ömrü ile hızlı bir şekilde azaldığını belirlemişlerdir. Cypermethrin, nominal cypermethrin konsantrasyonları ≥ 0.13 µg/L olan muhafazalarda kabuklu hayvanlar için akut olarak toksiktir. Buna karşılık, rotifer, protozoon, bakteri ve planktonik, periferik alglerin klorofil-*a* konsantrasyonu cypermethrinin uygulanmasından 2-7 gün sonra çoğalmıştır.

Wendt-Rasch ve ark., (2003), piretroid insektisit cypermethrinin; kabuklular, rotifer, perifiton ve fitoplankton türleri üzerindeki doğrudan ve dolaylı etkilerini arazi koşullarında incelemişlerdir. Regresyon prensibi kullanılarak hazırlanan deneyde cypermethrin konsantrasyonu 0.01-6 mg/L arasında değişmektedir. Cypermethrine maruz bırakılan birçok kabuklu zooplankton türünde doğrudan akut bir etki olarak hızlı bir düşüş meydana gelmiştir. Ototrofik toplulukların tür kompozisyonunda gözlenen değişikliklere insektisit büyük olasılıkla kabuklular üzerindeki doğrudan olumsuz etkilerinin aracılık ettiğini vurgulamışlardır.

Lemna paucicostata Hegelm. yaprak alanı büyümesi üzerine tam doz-yanıt bağlantılarını ortaya çıkarmak için referans bileşik olarak 3,5-dichlorophenol kullanarak, 26 farklı herbisit EC₅₀ değerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada; *Lemna* türlerinin herbisit kalıntılarının tespitinde ve yeni herbisidal bileşiklerin taranmasında ya da herhangi bir bileşiğin fitotoksik yan etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Michel ve ark., 2004).

Ma (2005), beş organotin ve pyrethroid pestisit, üç siyanobakteri (*D. flos-aquae*, *Microcystis flos-aquae* (Wittrock) Kirchner, *M. aeruginosa*) ve beş yeşil alg (*Selenastrum capricornutum* Printz, *Desmodesmus communis* (Hegewald) Hegewald, *S. obliquus*, *Chlorella vulgaris*, *A. pyrenoidosa*) üzerindeki etkilerini 96 saatlik akut toksisite testleri ile değerlendirdikleri çalışmalarında, siyanobakterilerin ve yeşil

alglerin sekiz ayrı türü arasında test edilen pestisitlere tepki olarak geniş varyasyonların oluştuğunu ve ortalama akut toksisitenin fentin hydroxide > cyhexatin > azocyclotin > fenbutatinoxide > betacyfluthrin şeklinde sıralandığını belirlemişlerdir.

Çetin ve Mert, (2006), dinitroalin herbisit trifluralinin mikro yeşil alg *Scenedesmus acutus* türünün büyümesi üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, trifluralin içeren kültürlerle trifluralin yokluğundaki büyümeyi karşılaştırmışlardır. 20-40 µg/L trifluralinde *S. acutus* dört gün süreyle büyüme göstermiştir. 60 µg/L'lik trifluralin konsantrasyonunda büyüme üç gün süreyle muhafaza edilmiştir. 80 µg/L trifluralin varlığında *S. acutus* bir günlük bir büyüme göstermiştir. Büyümedeki bu düşüşün *S. acutus* türünde artan miktarda trifluralin konsantrasyonu ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Üç siyanobakteri (*Dolichospermum flos-aquae*, *Microcystis flos-aquae* ve *M. aeruginosa*) ve beş yeşil alg (*Selenastrum capricornutum*, *Desmodesmus communis*, *Tetradesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* ve *Auxenochlorella pyrenoidosa*) türünün karbamatlı insektisitlere diferansiyel tepkilerini belirlemek için yapılan bir çalışmada, siyanobakterilerin carbosulfan ve propoxura yeşil alglerden daha az hassasiyet gösterdikleri ve insektisitlerin ekosistem risk değerlerinin carbosulfan > propoxur > carbofuran > carbaryl > metolcarb şeklinde sıralandığını belirlemişlerdir (Ma ve ark., 2006).

Herbisit propanilin *Lemna minor* türünün büyüme hızı, antioksidan enzimlerin tepkileri ve metabolik durumuna etkilerinin araştırıldığı bir çalışmadan elde edilen sonuçlar, *L. minor* türünün büyümesinin herbisitten etkilendiğini göstermiştir. Bu bitkide başlıca metabolitler, 3,4-dichloroanilin (3,4-DCA) ve 3,4-dichloroasetaniliddir. Ksenobiyotik metabolizma ve antioksidatif sisteme katılan guaiacol peroksidaz (G-POD) ve glutatyon S-transferaz (GST) tepkileri propanilin enzimatik antioksidan savunmasına neden olmadığını göstermiştir. Aksine, 4 gün sonra kültür ortamında sadece 3,4-DCA bulunmuştur. Muhtemelen, asil asilamidaz ile enzimatik hidroliz ve asetil-CoA ile asetilasyon sırasıyla bu dönüştürme ürünlerinin ana yollarıdır. Bu çalışmanın sonuçları, seçilen su bitkisinin propanil gibi pirinç herbisitlerini biriktirdiği ve metabolize ettiğini göstermiştir (Mitsou ve ark., 2006).

Ma ve ark., (2007), altı farklı pestisit beş yeşil alg türü (*Pseudokirchneriella subcapitata*, *D. communis*, *T. obliquus*, *Chlorella vulgaris* ve *A. pyrenoidosa*) üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, ortalama toksisitenin azalan düzenin fluazinam > propineb > maneb > mancozeb > zineb > bromoksinil oktanoat olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, duyarlılık büyüklüğüne göre, ekolojik riskin azalan düzeni: maneb > bromoksinil oktanoat > propineb > fluazinam > zineb > mancozeb olarak bulunmuştur. Bu çalışma toksisite ile ekolojik risk arasında güçlü bir farklılık olduğunu göstermektedir.

Cáceres ve ark., (2008), bir organofosforlu pestisit olan fenamifos ve metabolitlerinin (fenamifos sülfoksit - FSO, fenamifos sülfon - FSO₂, fenamifos fenol - FP, fenamifos sülfoksit fenol - FSOP ve fenamifos sülfon fenol - FSO₂P) akuatik alg *Pseudokirchneriella subcapitata* ve karasal alg *Chlorococcum* sp. için akut toksisitesini araştırdıkları çalışmalarında, her iki algin de fenamifos, FSO ve FSO₂ transforme edebildiğini, ancak fenollerin inkübasyon ortamında kararlı olduğunu belirlemişlerdir. Hem fenamifos hem de metabolitlerinin *Chlorococcum* sp. tarafından biyoakümüle edildiğini, *P. subcapitata* türünde ise sadece metabolitlerin birikime uğradığı görülmüştür.

Su bitkilerinin kirlenmiş sulardaki bitki sağlığı ürünlerini gidermedeki fitoremediasyon potansiyellerinin incelendiği bir araştırmada seçilen üç pestisit; bakır sülfat (mantar öldürücü), flzasülfuron (herbisit) ve dimetomorf (mantar ilacı), *Lemna minor*, *Elodea canadensis* Michx ve *Cabomba aquatica* tarafından alım kapasitesi araştırılmıştır. Pestisit toksisitesi bitkilerin bir biyobelirteç olarak klorofil floresansı ile 7 gün boyunca kültür ortamı içinde beş farklı konsantrasyona (0-1 mg/L) maruz bırakılması ile değerlendirilmiştir. Kirleticilerin toksisitesinin incelenen tüm su bitkileri için benzer olduğu ve toksisitenin flzasülfuron > bakır > dimetomorf sırasıyla gerçekleştiği belirlenmiştir. *L. minor* türünün en verimli giderim kapasitesine sahip olduğu bulunmuş ve bu türü sırasıyla *E. canadensis* ve *C. aquatica* takip etmiştir. Yüksek giderim oranı sırasıyla bakır, flzasülfuron ve dimetomorf 30, 27 ve 11 (µg/g taze ağırlık/gün) olarak bulunmuştur (Olette ve ark., 2008).

Bontje ve ark., (2009), basit bir su mikrokozmuunda alglerin fonksiyonları üzerinde toksik maddelere bağlı ekolojik ve toksikolojik etkiler arasındaki etkileşimi araştırmak

için toksisite modülü ile ekolojik bir modeli birleştirmişlerdir. Bu deneyler özellikle besin kısıtlamasını, besin maddelerinin geri dönüştürülmesini ve toksik maddelere uzun süre maruz kalmayı içerecek şekilde tasarlanmıştır. Flagellat *Cryptomonas* sp. yarı kapalı erlenmayerlerde herbisit prometrin ve insektisit metil parationa maruz bırakılmıştır. Çalışmanın sonucunda prometrinin bir fotosentez inhibitörü olduğu ve alg büyümesini engellediğini, metil parationun ise zar bütünlüğünü azalttığı ve hücrel metabolitlerde sızıntıya neden olduğunu belirlemişlerdir.

Carafa ve ark., (2009), tarafından, Sacca di Goro Lagünü'nde (Kuzey Adriyatik) striazin herbisitinin konsantrasyonlarının tahmin edilmesi için, makroalg *Ulva rigida* C.Agardh ve istiridye *Tapes philippinarum*'da bir biyoakümülyasyon modeli geliştirilip kalibre edilerek doğrulamıştır. Herbisitlerin konsantrasyonları bu modelle doğru olarak öngörülmüş ve bu bileşiklerin midye metabolizmasındaki rolü ve önemini ortaya koymak için ileri araştırmalar önerilmiştir.

Fırat ve Çetin, (2009), tarafından, diklorvosun tatlısu mikroalgi *Tetradesmus obliquus* (Turpin) M.J.Wynne türünün büyümesi üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada genel olarak, kontrol kültürlerindeki *T. obliquus* türünün büyüme oranının 0-4. günler arasında daima yükseldiğini, ancak diklorvos ile muamele edilen kültürlerde 2 ile 4 gün arasında ani düşüşlerin olduğunu, buna karşılık tüm kontrol kültürlerinde *T. obliquus* türünün büyüme oranının her zaman negatif olduğunu belirlemişlerdir. Bu sonuçlar *T. obliquus* üzerine diklorvosun olumsuz etkilerini ortaya koymaktadır. Bu nedenle, tarım uygulamalarının kontrolü için bu pestisit uygulanmasında alglerde meydana gelen herhangi bir bozucu etkinin benzer veya daha yüksek hassasiyet ile yüksek trofik seviyeler üzerinde ciddi yansımaları olacağı sonucuna varılmıştır.

Beş makrofit tarafından (*Lemna minor*, *Spirodela polyrhiza*, *Callitriche aquatica*, *C. palustris*, *Elodea canadensis*) sudaki iki fungusitin (dimethomorph ve pyrimethanil) giderim oranlarının laboratuvar testleri ile değerlendirildiği bir çalışmada, sağlıklı bitkilerde klorofil floresan üzerindeki fungusitlerin etkisi incelenmiştir. Fungisit giderim oranlarını belirlemek için ilk konsantrasyon olarak 600 µg/L belirlenmiş, dört günlük test periyotlarında, dimethomorph ve pyrimethanil için sırasıyla giderim verimleri % 10-18 ve % 7-12 arasında değişmiştir. En yüksek giderim oranı

dimethomorph için 48 µg/g ve pyrimethanil için 33 µg/g taze ağırlık olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada *L. minor* ve *S. polyrhiza* türlerinin iki fungusit için en yüksek giderme verimi gösterdiği sonucuna varılmıştır (Dosnon-Olette ve ark., 2009).

Dosnon-Olette ve ark., (2010) tarafından, iki su mercimeği türüne (*Lemna minor* ve *Spirodela polyrhiza*) pestisit başlangıç konsantrasyonlarının ve fungusit dimethomorph alımı ile toksisitesinin bitkilerin popülasyon yoğunluğu üzerine etkisini incelemek için yaptıkları çalışmada; artan su mercimeği popülasyon yoğunluğunun dimethomorph duyarlılık gösterdiğini belirlemişler, yüksek hassasiyet ve düşük giderim oranını kalabalıklaşma nedeniyle ışığın azalması ile açıklamışlardır. Toksikite veya kirletici alımı arasında pozitif bir ilişki saptanamamış ve ilk pestisit konsantrasyonunda *L. minor* ve *S. polyrhiza* tarafından maksimum dimethomorph gideriminin sırasıyla 41 ve 26 µg/g taze ağırlık olduğu belirlenmiştir. Bu araştırma, aynı zamanda bu su bitkilerinin organik kirleticileri ortadan kaldırmada verimli olacağını ve doğal ortamında fitoremediasyon için hizmet edebileceğini göstermiştir.

Yine, Dosnon-Olette ve ark., (2011), iki herbisiti (izoproturon ve glifosat) ortadan kaldırmak için *Lemna minor* türünün kapasitesini araştırdıkları bir çalışmada; fitoremediasyon sağlıklı bitkilere bağlı olduğundan, bitkiler 5 farklı konsantrasyonda pestisit toksisitesine (izoproturon için 0-20 µg/L, glifosat için 0-120 µg/L) maruz bırakılmış, 4 günlük büyüme oranı ve uç nokta olarak bir floresan klorofil (% < 25), kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda izoproturon ve glifosat için giderim verimleri sırasıyla % 25 ve % 8 olarak bulunmuştur.

Bir tatlısu yeşil algi *Tetradesmus obliquus* türünün büyüme oranı üzerine diazinon pestisitinin etkilerinin incelendiği çalışmada, 96 saatlik akut toksisite deneyleri unialgal kültürde yapılmıştır. *S. acutus*, diazinonun farklı konsantrasyonlarına (1, 2, 4, 8, 16 ve 32 µL) maruz bırakılarak 23±1 °C'de ve 16:8 aydınlık:karanlık düzende muhafaza edilmiştir. Dört günlük periyotta hücre sayıları günlük olarak belirlenerek büyüme oranları hesaplanmıştır. Çalışma sonucunda, kontrol kültürlerinde *S. acutus* türünün büyüme oranı 0-4 gün süresince artış göstermiş (40 000-276 600 birey), ancak diazinon ile muamele edilen kültürlerin büyüme hızının 2-4. günlerde azaldığı (28 000-10 320 birey) bildirilmiştir (Çetin ve ark., 2011).

Glifosat bazlı herbisitler (örneğin Roundup Ultra 360 SL) geniş ölçüde su ortamında kullanılmaktadır. Glifosat diğer herbisitlere göre çevreye daha uygun olmasına rağmen, sudaki yüksek çözünürlüğü nedeniyle su ekosistemleri için son derece tehlikeli olabilir. Kielak ve ark., (2011) yaptıkları çalışmada, Roundup Ultra 360 SL'nin (aktif bileşen olarak glifosatın izopropilamin tuzunu ihtiva eder) *Lemna minor* türünün biyokütle ve klorofil içeriğine etkisini incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar, herbisit fitotoksitesinin klorofil-*a*, *b* ve *a + b* içeriğinin azalması ve biyokütle büyüme hızının azalması ile bağlantılı olduğunu göstermiştir. Roundup; putreskin, spermidin ve toplam poliaminlerin su mercimeği dokuları içinde birikimi nedeniyle bazı abiyotik ve biyotik stres durumlarına neden olmuştur.

Pistia stratiotes ve *Lemna minor* türlerinin chlorpyrifos giderim potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada; 0.0, 0.1 ve 0.5 mg/L başlangıç chlorpyrifos konsantrasyonlarında *L. minor* ve *P. stratiotes* türlerinin görelî büyüme hızları (RGR) önemli ölçüde farklı bulunmamış, ancak 1 mg/L chlorpyrifos varlığında RGR önemli ölçüde inhibe edilmiştir. 0.5 mg/L'lik bir başlangıç kültür konsantrasyonunda *P. stratiotes* ve *L. minor* tarafından chlorpyrifosun maksimum giderim oranları sırasıyla % 82 ve % 87 olarak hesaplanmıştır. *L. minor* türünün biyokonsantrasyon faktörünün (BCF) *P. stratiotes* türünden çok daha büyük olması nedeniyle, chlorpyrifosun sudan hızla uzaklaştırılması için *P. stratiotes* türünden daha etkili olacağı bildirilmiştir (Prasertsup ve Ariyakanon, 2011).

Yeşil alg *Chlamydomonas reinhardtii* türü tarafından pestisit floroksipirinin biyoakümülyasyonu ve degradasyonunun toksik tolerans ile ilişkisini belirlemek için yapılan bir çalışmada, mikroalg 2 gün boyunca 0.05-1.00 mg/L ve 1-5 gün 0.50 mg/L floroksipir ile muamele edilmiştir. Araştırma sonucunda *C. reinhardtii* türünün büyümesini fluroksipirin düşük konsantrasyonlarının (0.05-0.5 mg/L) teşvik ettiği, ancak yüksek konsantrasyonların (0.75-1.00 mg/L) inhibe ettiği belirlenmiştir. Beş günün üzerinde hücresel floroksipirin % 57'sinin degrade olduğu, fluroksipirin birikim ve yıkımının aynı zamanda meydana geldiği sonucuna varılmıştır (Zhang ve ark., 2011).

Diazinon, dichlorvos, paraquat ve trifluralinin *Chlorella vulgaris* türünün gelişimi üzerine yapılan bir çalışmada, pestisitlerin çeşidi, konsantrasyonu ve uygulama

süresine göre *C. vulgaris* türünün gelişiminin farklı olduğu gözlemlenmiştir. En büyük toksik etkiyi diazinonun gösterdiği tespit edilmiştir. *Chlorella vulgaris* türünün gelişimini en fazla etkileyen diazinonu sırası ile dichlorvos, paraquat ve trifluralin takip ettiğini bildirilmiştir (Ağırman ve Çetin, 2012).

He ve ark., (2012) yaptıkları çalışmada; atrazine ve butachlorun *Scenedesmus obliquus* türünde 96 saatlik EC₅₀ değerlerini 0.01477 ± 0.0012 ve 2.317 ± 0.23 mg/L; *Daphnia carinata* türünde ise 48 saatlik LC₅₀ değerlerini 60.6 ± 4.2 ve 3.40 ± 0.27 mg/L olarak hesaplamışlardır. Bu sonuçlar, atrazine'nin *S. obliquus* türüne karşı oldukça toksik ve *D. carinata* türüne karşı biraz zehirli olabileceğini, ancak butachlorun her iki organizmaya orta düzeyde toksisite gösterdiğini düşündürmektedir. Kontrol grubuna göre, 0.128 mg/L atrazine ile muamele edilen *S. obliquus* türünün büyüme oranı % 73.1 ve 8 mg/L, butachlor ile muamele edilen *S. obliquus* türünün büyüme oranı ise % 22.6 olarak bulunmuştur. Ayrıca, yüksek konsantrasyonlarda atrazin ve butachlorun alg hücrelerinin, morfolojilerinde dört parçalı yapının yok olması ve hücrelerde büyüme gibi belirgin değişiklikler meydana getirdiği tespit edilmiştir.

Chlorpyrifosun sucul ortamın temel besin kaynaklarından olan siyanobakteriler üzerinde yapılan akut toksisite testleri sonucunda; *Synechocystis aquatilis* Sauvageau, *Komvophoron minutum* (Skuja) Anagnostidis & Komárek, *Gloeocapsopsis crepidinum* (Thuret) Geitler ex Komárek ve *Gloeocapsa sanguinea* (C.Agardh) Kützing için IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.074, 0.013, 0.08 ve 0.3 mg/L olarak bulunmuştur (Shoab ve ark., 2012).

Prometrin pestisitinin yeşil alglerdeki biyoakümülyasyon ve katabolizmasının araştırıldığı bir çalışmada, *Chlamydomonas reinhardtii* türü 4 gün süresince 2.5-12.5 µg/L ve 1-6 gün süresince 7.5 µg/L prometrin ile muamele edilmiştir. Çalışma sonucunda prometrinin nispeten düşük dozda türün gelişimini uyardığı, ancak yüksek düzeyde anlamlı inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. 96 saatlik EC₅₀ değeri 12 µg/L olarak hesaplanmıştır. Çalışmada, prometrin orta düzey konsantrasyonlarının degregasyonu için *C. reinhardtii* türünün yüksek yeteneğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Jin ve ark., 2012).

Chlorella vulgaris türünün büyümesi üzerine pestisit etkilerinin (diazinon, diklorvos, trifluralin, paraquat) incelendiği diğer bir çalışmada, 1-6 gün boyunca *C. vulgaris*

türünün büyüme oranları pestisitlerin artan konsantrasyonları ile azalırken, tüm ilgili kontrol kültürlerinde büyüme oranları daima pozitif artış göstermiştir. Sonuçlar, *C. vulgaris* türünün diklorvos, diazinon, trifluralin ve parakuata karşı farklı duyarlılıklara sahip olduğunu, ancak büyüme üzerindeki etkilerinin oldukça benzer olduğunu göstermiştir. Çalışmada, ilgili pestisitlerin tarımsal uygulamalarının tatlı su algleri üzerine yan etkileri tespit edildiği için dikkatli bir şekilde ele alınarak yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Ağırman ve ark., 2015).

Chlorella vulgaris türünün gelişimi üzerine altı farklı pestisit etkilerinin incelendiği bir araştırmada; sırasıyla carbendazim, prosimidon, tiram, tebukonazol, prokloraz ve fludioxonil ile muamele edilmiş kültür ortamlarında düşük konsantrasyonların (<1 mg/L) hücrelerin büyümesini teşvik ettiği, daha yüksek konsantrasyonların ise büyümeyi inhibe ettiği ve inhibisyon etkisinin konsantrasyon artışı ile yükseldiği bildirilmiştir (Cui ve ark., 2014).

Piretroid insektisitlerden cypermethrin ve deltamethrinin bazı fitoplankton ve zooplankton türlerinde akut ve kronik toksik etkileri araştırılmıştır. Cypermethrin ve deltamethrinin bir zooplankton olan *Thamnocephalus platyurus* için 24 saat maruziyet sonunda LC₅₀ değerleri sırasıyla 0.89 µg/L ve 1.51 µg/L, bir başka zooplankton *Brachionus calyciflorus* için 48 saat maruziyet sonunda LC₅₀ değerleri sırasıyla 3.828 mg/L ve 8.425 mg/L olarak tespit edilmiştir (Lutnicka ve ark., 2014).

Diüronun (fenilüre herbisit), yeşil alg *Pseudokirchneriella subcapitata* türüne beş farklı sıcaklıkta (10, 15, 20, 25 ve 30 °C) 144 saatlik maruz kalma süresi boyunca büyüme ve fotosentetik aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkilerinin araştırıldığı çalışmada, alg büyümesinde % 50 azalmanın meydana geldiği etkili diüron konsantrasyonlarının 72 saat boyunca 9.2 ila 20.1 µg/L ve 144 saat boyunca 9.4 ila 28.5 µg/L arasında değişen oranlarda artan su sıcaklığı ile arttığı belirlenmiştir. Fotosistem II'nin (Fv/Fm oranı; Fv-değişken flüoresans, Fm-maksimum flüoresans) fotokimyasal etkinliği, tüm sıcaklıklarda 72 saat sonra 32 µg/L'de diüron maruziyeti ile önemli ölçüde düşmüştür. İnhibisyon hızı, su sıcaklığının azalması ile belirgin olarak artmıştır (P < 0.01). Oksidatif stresin bir göstergesi olan hücre içi H₂O₂ seviyelerinin hem kontrol hem de diüron ile muamele edilen grupta artan sıcaklık ile azaldığı ve diüron muamele grubunda kontrollerden yaklaşık 2.5 kat daha yüksek

olduğu bulunmuştur ($P < 0.01$). Sonuçlar, yüksek su sıcaklıklarının akut toksisiteyi azalttığını ve su sıcaklıklarının tatlısudaki dironun toksikokinetik özelliklerini etkileyebileceğini, dolayısıyla çevresel risk değerlendirmesinde dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (Tasmin ve ark., 2014).

Fungisit grubu pestisitlerden mancozebin *Microcystis aeruginosa*, *Chlorella vulgaris* ve *Scenedesmus obliquus* cinsi mikro algler için 3 günlük büyüme oranlarına bakılarak belirlenen EC_{50} değerleri sırasıyla 7.80 mg/L, 11.85 mg/L ve 14.42 mg/L ve 7 günlük büyüme oranlarına bakılarak belirlenen EC_{50} değerleri sırasıyla 4.10 mg/L, 6.42 mg/L ve 11.06 mg/L; diğer bir fungusit propinebin 3 günlük büyüme oranlarına bakılarak belirlenen EC_{50} değerleri sırasıyla 11.31 mg/L, 47.08 mg/L ve 45.72 mg/L ve 7 günlük büyüme oranlarına bakılarak belirlenen EC_{50} değerleri sırasıyla 4.20 mg/L, 44.64 mg/L ve 38.01 mg/L olarak tespit edilmiştir (Yu ve ark., 2014).

Ağırman ve ark., (2015), *Tetradesmus obliquus* türünün büyümesi ve protein miktarı üzerine fungusitlerin (penconazole ve triadimenol) toksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, inoklasyonun ilk günlerinde *T. obliquus* türünün fungusitlere karşı duyarlılığının başladığını ve aynı zamanda triadimenol ve penconazole maruz kalan kültürlerde alg poplasyonunun azaldığını belirlemişlerdir. Genellikle, *T. obliquus* türünün büyüme hızı ve protein miktarları, yüksek miktarda triadimenol ve penconazol ile negatif korelasyon göstermiş ve *T. obliquus* türünün klorofil ve protein sentezi azalmıştır.

Asselborn ve ark., (2015), yeşil mikroalg *Messastrum gracile* (Reinsch) T.S.Garcia türünün büyüme, biyohacim ve ultra yapısal özellikleri üzerinde organik fosforlu insektisit chlorpyrifosun etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında; chlorpyrifosun 9.37, 18.75, 37.5, 75 ve 150 mg/L konsantrasyonlarını kontrol kültürü ile karşılaştırmışlardır. Biyodeneyle sonunda kontrol kültürü ve 37.5 ve 150 mg/L konsantrasyonlarına maruz bırakılan alg hücrelerinin ince yapısı transmisyon (TEM) ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) altında gözlenmiştir. 24 ve 48 saat sonra, 75 ve 150 mg/L ile muamele edilen *A. gracilis* türünün büyümesi inhibe olurken; 72 ve 96 saat sonra 9.37 mg/L hariç tüm konsantrasyonlar önemli ölçüde alg büyümesini etkilemiştir. Chlorpyrifosun 96 saat sonra etkili konsantrasyonu (EC_{50}) 22.44 mg/L olarak belirlenmiş ve insektisite maruz kaldıktan sonra biyohacimde bir artış

gözlenmiştir. 75 ve 150 mg/L'ye maruz bırakılan hücrelerde ise daha büyük bir artışa neden olmuştur. Chlorpyrifosa maruz kalan hücrelerin mikromorfolojik yapılarında radikal değişiklikler gözlenmiş, insektisit hücre şekli ve duvarındaki desenlerin dağılımını etkilemiş, 37.5 mg/L'de boyut ve nişasta granüllerinin sayısında bir artış ile birlikte yoğun cisimler gözlenmiştir. Çalışma sonucunda chlorpyrifosun fitoplanktonda hem hücresel hem de popülasyon yoğunluğu düzeyinde gözlenen etkilere yol açtığı sonucuna varılmıştır.

Ağırman ve ark., (2015), penkonazol ve triadimenolün *Tetradesmus obliquus* türünün protein miktarı ve gelişimi üzerine etkilerini incelemişlerdir. *T. obliquus* iklim odasında 23 ± 1 °C'de ve 16:8 aydınlık:karanlık fotoperiyotta penkonazol ve triadimenolün farklı konsantrasyonlarına (1, 3, 6, 10 ve 15 µL) maruz bırakılmıştır. *T. obliquus* sıvı kültürlerinde 4 gün süresince hücre sayısı ve büyüme oranları hesaplanmış, protein miktarı ve hücre sayısının 2. gün hızlı bir şekilde azalma gösterdiği belirlenmiştir.

Yeşil alg *Tetradesmus obliquus* üzerinde yapılan başka bir çalışmada, azoxystrobin ve flusilazole'un etkileri incelenmiştir. Yeşil alg laboratuvarında 23 ± 1 °C'de 16:8 aydınlık:karanlık periyotta azoksistrobin ve flusilazolinin farklı konsantrasyonlarına (1, 3, 6, 10 ve 15 µL) maruz bırakılmıştır. Dört günlük süre boyunca hücre sayıları ve büyüme oranları hesaplanmış, çalışmanın 24. saatinde *T. obliquus* üzerinde azoxystrobin ve flusilazole toksik etkileri gözlenmiştir. Genel olarak, kontrol kültürleri *T. obliquus* büyüme oranı ve protein miktarı, 1-4. gün arasında artış gösterirken, azoxystrobin ve flusilazole ile muamele edilen kültürlerde 2-4. gün ani azalmalar meydana gelmiştir. Çalışmanın sonucunda, *T. obliquus* türünün azoxystrobin ve flusilazole için duyarlılığının ilk 24 saat içinde başladığı gösterilmiştir (Bedil ve ark., 2015).

Farklı pestisitlerin mikroalg *Chlorella vulgaris* üzerine etkisini belirlemek için yapılan çalışmada; canlı ve ölü mikroalg biyokütleleri üzerinde kısa süreli (1 saat) ve uzun süreli maruz kalma (4 gün) deneyleri yapılmıştır. Kısa süreli maruziyet sonrasında pestisitlerde anlamlı bir azalma saptanamazken, büyüyen mikroalglerde uzun süreli maruz kalma sonrasında pestisitlerin toplam miktarında, uzun süreli kontrol ile karşılaştırıldığında (37.0 ± 1.2 µg/L) önemli bir azalma (nihai konsantrasyon 29.7 ± 1.0 µg/L) elde edilmiştir. 38 testteki 10 pestisit konsantrasyonu uzun vadeli alg

deneyinde önemli ölçüde düşmüştür. Güneş ışığı ve havalandırma gibi abiyotik faktörlerin pestisit giderimine etkileri ilk kontrol ($63.5 \pm 3.9 \mu\text{g/L}$) ve uzun süreli kontrolde ($37.0 \mu\text{g/L}$) karşılaştırılmıştır. Bu çalışma ile sadece inorganik besin maddelerini uzaklaştırmak için değil, aynı zamanda su içindeki organik kirleticilerin uzaklaştırılması için de mikroalglerin kullanılabilmesi sonucuna varılmıştır (Hultberg ve ark., 2015).

Papadakis ve ark., (2015), 2010-2012 yılları arasında Yunanistan'ın Vistonis Gölü havzasındaki tarımsal faaliyetlerin neden olduğu pestisit kirliliğinin değerlendirilmesi için bir araştırma yapmışlardır. Vistonis Gölü, dört büyük nehir ve çeşitli küçük dereler ile tarım drenaj kanallarından su numuneleri toplanmıştır. 302 bileşiğin konsantrasyonu, su numunelerinin katı faz ekstraksiyonundan sonra LC-MS/MS ve GC-MS/MS analizleri ile saptanmıştır. Genel olarak, herbisitler (% 57) en sık tespit edilen tarım ilacı olmuştur. Bunu insektisitler (% 28) ve fungusitler (% 14) izlemiştir. Çalışmada Vistonis Gölü'nde 11, ırmaklarda ve drenaj kanallarında ise 68 pestisit tespit edilmiştir.

Emers bitkiler (yarı batık hidrofitler) olan *Acorus calamus*, *Lythrum salicaria* ve *Scirpus tabernaemontani*'nin, hidroponik bir sistemde 15, 30, 45 ve 60 gün boyunca atrazine maruz bırakıldığı çalışmada; bitki büyümesi, klorofil içeriği, peroksidaz (POD) hareketi ve malondialdehit (MDA) içeriği incelenmiştir. Sonuçlar, seçilen bitkilerin, atrazin ($\leq 8 \text{ mg/L}$) içeren kültür solüsyonunda hayatta kaldıklarını, ancak görece büyüme hızlarının ilk 15 günlük maruz kalma süresinde belirgin bir şekilde azaldığını göstermiştir. Klorofil-*a* içeriği azalırken, MDA artan atrazin konsantrasyonu ile birlikte artış göstermiştir. *S. tabernaemontani* en duyarlı tür olarak belirlenmiş, bu türü *A. calamus* ve *L. salicaria* takip etmiştir. Büyüme göstergeleri, atrazine maruz kalmanın erken safhasında önemli değişiklikler göstermiş, daha sonra olumsuz etkiler zayıflayarak kaybolmuştur (Wang ve ark., 2015).

Yeşil alg *Chlorella vulgaris* türüne sülfapiridin, sulfametoksazol, sulfadimetoksin ve trimetoprimin toksisitesi üzerine tuzluluk varyasyonlarının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; 48 ve 72 saatlik maruz kalma sürelerinin sonunda trimetoprimin seçilen organizmaya en az toksik farmasötik etki gösterdiği, sulfametoksazol ve sulfapiridin ise en toksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. Tatlısuda, bileşiğe bağlı olarak EC_{50}

değerleri 0.98 ila 123.22 mg/L arasında değişmektedir. Toksikite etkileri de tuzlu suda (3, 6 ve 9 PSU-pratik tuzluluk birimi) denenmiş ve seçilen farmasötiklerin toksisitesinin tuzluluğun artmasıyla azalma eğilimi gösterdiği belirlenmiştir. Gözlemlenen etkinin muhtemel nedeninin alg hücre duvarları yoluyla ilaçların geçirgenliğinin azaltılması olabileceği sonucuna varılmıştır (Borecka ve ark., 2016).

Ccancapa ve ark., (2016), 2010 ve 2011 yıllarında su, sediment ve biyotadaki etkilerini değerlendirmek için Ebro Nehri havzasında 50 pestisiti analiz etmişlerdir. Su ve sediment için risk potansiyelleri (RQ) ve zehirli birimler (TU) kullanan, bireysel pestisitlerin ve bunların karışımlarının üç trofik seviyedeki (alg, zooplankton-*Daphnia* ve balık) potansiyel etkileri üzerine özel bir vurgu yapılmıştır. Chlorpyrifos, diazinon ve karbendazim suda sıkça görülmüştür (sırasıyla örneklerin % 95, % 95 ve % 70'i); imazalil (409.73 ng/L) ve diuron (150 ng/L) ise en yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur. Chlorpyrifos, diazinon ve dichlofention sedimanda en sık olanlardır (sırasıyla örneklerin % 82, % 45 ve % 21'i). Biyotada tespit edilen tek pestisit chlorpyrifos (840.2 ng/g'a kadar) olduğunu ve ayrıca organik fosfor ve azotun algler için yüksek risk oluşturduğunu belirlemişlerdir.

Perez-Legaspi ve ark., (2016) tarafından, *Nannochloris oculata* (Droop) D.J.Hibberd türünün lindan varlığında büyümesi ve ortamdan lindanı uzaklaştırma kapasitesi araştırılmıştır. Çalışmada; 0.1 ve 0.5 mg/L lindane varlığında alg biyokütlesinin artış gösterdiği ve ortamdaki lindan konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir. *N. oculata* türü tarafından 0.1 ve 0.5 mg/L ortam konsantrasyonlarında sırasıyla % 73 ve % 68.2 oranında lindan ortamdan uzaklaştırmıştır. 2.5 mg/L ve daha yüksek lindane konsantrasyonlarında muhtemelen toksisite nedeniyle alg biyokütle seviyesi gerilemiştir. Biyodenyde, *N. oculata* türünün 1.0 mg/L'den düşük konsantrasyonlarda lindane'ı ortamdan uzaklaştırabildiği tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda *N. oculata* türünün kontamine sucul sistemlerde lindan biyoremidasyonu için yararlı olabileceği belirtilmiştir.

Toumi ve ark. (2016), carbaryl ekotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında; *Daphnia magna* türünün % 50'sini (EC₅₀) 24 ve 48 saat sonra immobilize eden nominal etkili konsantrasyonları sırasıyla 12.76 ve 7.47 µg/L olarak hesaplamışlardır. *D. magna* türünün maruz kaldıktan 21 gün sonra, LOEC (en düşük gözlenen etki

konsantrasyonları) değeri 0.4 µg/L'lik carbaryl konsantrasyonunda gözlenmiştir. *Pseudokirchneriella subcapitata* türünde IC₅₀-72h ve IC₁₀-72h değerleri sırasıyla 5.96 ve 2.87 µg/L'dir. Ostrakod *Heterocypris incongruens* türünün LC₅₀-6d değeri ise 4.84 µg/L'dir. Elde edilen sonuçlar, carbaryl'in farklı türlerde çeşitli yaşam öykü özelliklerini etkilediğini ve *D. magna* türünün *P. subcapitata* ve *H. incongruens* türlerinden daha hassas olduğunu ortaya koymaktadır.

Zeta-cypermethrin insektisitinin mikro yeşil alg *Desmodesmus multivariabilis* türüne etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; türün pestisite duyarlılığının farklı derişimlerde değışkenlik gösterdiği belirlenmiştir. 0.1333 mL zeta-cypermethrin uygulanan test grubunda 96. saatin sonunda üremede kontrole göre % 75.1 oranında inhibisyon görülürken, bu oran 1.333 mL pestisit konsantrasyonunda % 71.7, 13.33 mL pestisit konsantrasyonunda % 69 olarak hesaplanmıştır. 72. ve 96. saatlerin sonunda tüm dozlarda inhibisyon oranı % 50'nin üzerinde bulunmuştur. Deneyin 24, 48, 72 ve 96. saatlerinde kontrol grubuna göre 0.1333 mL zeta-cypermethrin uygulanan sıvı besi ortamındaki *D. multivariabilis* türünün gelişimi sırasıyla % 52.17, % 6.7, % 57.63, % 75.1 oranında azalırken; 1.333 mL zeta-cypermethrin uygulanan sıvı besi ortamındaki gelişim sırasıyla % 26.37, % 31.76, % 56.41, % 71.72 oranında; 13.33 mL zeta-cypermethrin uygulanan sıvı besi ortamındaki gelişim ise sırasıyla % 57.10, % 31.99, % 57.82, % 69.01 oranında azalma göstermiştir (Taş ve Yılmaz, 2017).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Kimyasallar

Bu çalışmada pestisit standardı olarak zeta-cypermethrin (Part #:N-13754-250 mg, CAS: 52315-07-8, Chem Service, Inc., US) insektisiti kullanılmıştır. Stok standart hazırlamak için çözücü olarak analitik saflıkta aseton ve metanol kullanılmıştır. Standarttan 0.0105 g tartılarak 1 020 ppm'lik çözelti elde edilmiştir. 1 020 ppm'lik çözelti asetonla seyreltilerek 100 ppm'lik çözelti hazırlandıktan sonra 100 ppm'den 1 ppm'e ve sırasıyla 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 ve 200 ppb'ye su : metanol (1:1) karışımı ile seyreltilmiştir. Bu yöntemle hata oranı en düşük seviyeye indirilmeye çalışılmıştır. Standartların optimizasyonu yapıldıktan sonra örnekler cihaza okutulmuştur.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Pestisit ve Genel Özellikleri

Pestisit tipi : İnsektisit

Madde grubu : Pyrethroid

ISO yaygın adı : Zeta-cypermethrin

Sinonimler : FMC56701

FMC45497 cypermethrin, cis isomers

FMC45724 cypermethrin, trans isomers

FMC30980 cypermethrin cis:trans 48:52

WL 43467: cypermethrin

Kimyasal adı: (S)-cyano (3-phenoxyphenyl) methyl 3-(2,2 dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate

IUPAC adı: (S) - α -siyano-3-fenoksibenzil (1RS, 3RS; 1RS, 3SR) -3- (2,2-diklorovinil) -2,2-dimetilsiklopropankarboksilat karışımı

US EPA Kimyasal kodu: 109702/129064

EC Numarası: 257- 842- 9

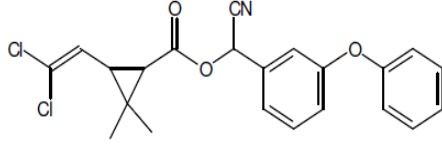
CAS Numarası (Wood, 2008): 52315-07-8

CIPAC Numarası: 733

Kimyasal Formülü: $C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$

Moleküler Ağırlık: 416.3

Moleküler yapısı:



Zeta-cypermethrinin akuatik organizmalardaki LC₅₀ değeri 0.005-0.15 µg/L olup oldukça toksiktir, su ortamında uzun süreli olumsuz etkilere neden olabilir (MSDS, 2012).

3.1.3. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları

Kullanılan cihazlar (Laboratuvar, Araç, Makine-Teçhizat vb.)	Kullanım Amacı
LC/MS cihazı Agilent Technologies / 6460 Triple Quad model	Örnekleredeki pestisit miktarının tayini
İklimlendirme kabini -Grotech GR2-4-6-8	Kültürlerin hazırlanması, sürekliliğinin sağlanması ve biyodeneş ortamı
Biyogüvenlik kabini - Class II tip Bilser marka, model: BLF2000	Kültür ortamının ve biyodeneş setlerinin hazırlanma ortamı
Derin Dondurucu - Innova marka, model: U410	Örneklere saklanması
Buzdolabı - Beko 9490NM No-Frost	Örneklere saklanması
Soğutmalı santrifüj - Eppendorf, centrifuge 5810R	Pigment analizinde ekstraktın çöktürülmesi
Spektrofotometre - Shimadzu UV-1800	Fotosentetik pigment analizi
Otoklav - Nüve OT 4060	Çözeltilerin sterilizasyonu
Etüv - Nüve EN500	Fitre kağıtlarının ve örneklerin kurutulması
Binoküler mikroskoplar - Leica DM500, Nikon YS100	Örneklere incelenmesi
Invert mikroskop ve görüntüleme sistemi - Leica DM IL LED	Hücre sayımı
Vakum cihazı	Numunelerin filtrasyonu
Saf su cihazı - Sartorius	Distile su temini
Hassas terazi - Precisa; Radwag AS 220	Kimyasalların ve filtre kağıtlarının tartılması
Multiparametre cihazı - HQ40d model, HACH® multiparameter	Kültür ortamındaki değişkenlerin ölçülmesi

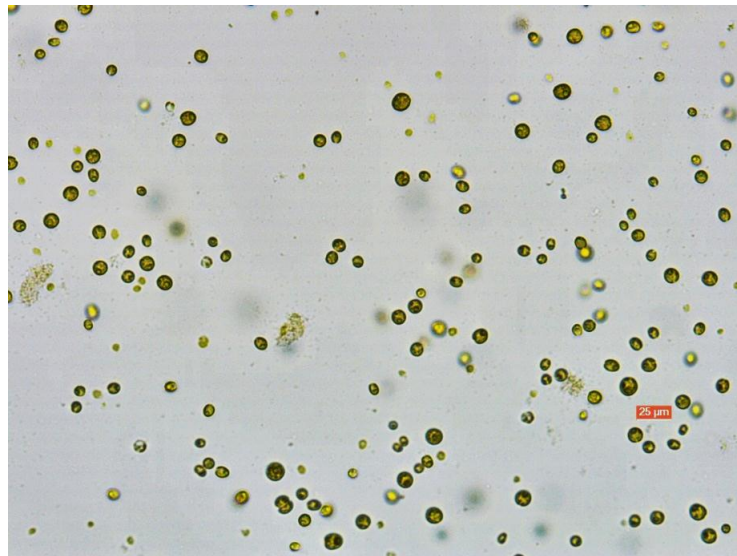
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Algler ve Genel Özellikleri

- *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard 1888

Bu çalışmada, tek hücreli mikroskobik bir yeşil alg olan *Chlamydomonas reinhardtii* test organizması olarak seçilmiştir (Çizelge 3.2 ve Şekil 3.1). *C. reinhardtii*, tek bir kloroplasta sahip, tek hücreli, ökaryotik bir alg olup, akuatik sistemlerde yaygın olarak bulunur. Bu tür fotosentez, hücre döngüsü ve flagellar süreç çalışmaları da dahil olmak üzere hücre fizyolojisi ve biyokimyasının birçok alanında model organizma olarak kullanılmıştır (Harris, 2001). Daha da önemlisi, bir ökaryotik tek hücreli organizma modeli olan *C. reinhardtii* toksikoloji, abiyotik strese tolerans veya organik ve inorganik kirli suların remediasyonunda sıklıkla kullanılmaktadır (Mendez-Alvarez ve ark., 1999; Wang ve ark., 2007). *C. reinhardtii*, metaller gibi doğal toksik maddelere sahip çeşitli ekotoksikolojik araştırmalarda da kullanılmıştır (Szivák ve ark., 2009).

Çizelge 3.2. *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard 1888'in sistematigi (Anonim, 2017a)

Basamak	İsim	Yazar	Tür Sayısı
Üst Alem	Eukaryota	Catton	44 475
Alem	Plantae	Haeckel	18 799
Şube	Chlorophyta	Reichenbach	6 504
Sınıf	Chlorophyceae	Wille	3 645
Takım	Chlamydomonadales	F.E. Fritsch	1 741
Aile	Chlamydomonadaceae	F. Stein	960
Cins	<i>Chlamydomonas</i>	Ehrenberg	591



Şekil 3.1. *Chlamydomonas reinhardtii* mikroskop görüntüsü

- *Lemna minor* L.

Su mercimekleri genellikle yüzen türlerdir ve substrata yapışmazlar. Küçüklükleri, kültür kolaylığı ve hızlı üreme hızı (iki katına çıkma süresi 1-4 gün) kullanımlarına neden olan özelliklerdir. *Lemna minor*, *L. gibba* L. ve *L. perpusilla* yaygın test türlerindedir (Huebert ve ark., 1990). Su mercimeği *L. minor*, Arales takımının Lemnaceae familyasına ait, küçük boyutlu, hızlı büyüyen vejetatif olarak çoğalan damarlı yüzen makrofitlerdir (Şekil 3.2). *L. minor*, 4.5-7.5 pH aralığında ve 20-30 °C sıcaklıkta iyi gelişim gösterir. Klorofil *a+b* içeriği 5.02 mg/g'dır. % 3.90 oranında N içeriğine sahip olan *L. minor* % 24.40 oranında protein muhtevasına sahiptir. *L. minor* ortam şartları elverişsiz olduğunda uyku haline geçer ve su altına çekilir. Lemna türleri geniş bir yayılış alanına sahiptir. Ülkemizde de çoğu bölgede; göllerde, havuzlarda, bataklıklarda, kanallarda, pirinç tarlalarında bulunmaktadır. Çevre şartlarına karşı geniş toleransa (pH 3.5-8.5, sıcaklık 1°C-32°C gibi) sahiptir. Aynı zamanda çabuk üremektedirler. Ekimleri çok kolay olup, kısa sürede büyük biyokütleler elde edilebilmektedir (Saygıdeğer, 1996).

Su mercimeği, su üstünde yüzer durumda bulunan, tatlısularda yaşayan basit yapılı, küçük sucul bitkilerdir. Çok yıllık monokotil bir bitki olup, dünyanın her yerindeki tatlısularda bulunmaktadır. Ilıman bölgelerde daha yaygın bulunmakla birlikte; indikatör bitkiler olmaları sebebiyle fitoremediasyon çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (Yenice, 2010). Sucul ekosistemlerdeki besin zincirinde birincil üreticiler olan makrofitler sudaki kirleticilerin ulaştığı ilk organizmalar arasındadır. *Lemna minor*, *Elodea canadensis* ve *Cabomba aquatica* yaygın, serbest yüzen, yetiştirilmesi kolay ve hızlı büyüyen, suda yaşayan makrofitlerdir. İlk ikisinde yapılan birçok deney, ağır metaller ve besin maddeleriyle kirlenmiş suyun fitoremediasyonunda çok iyi birikim kapasitesi ve yüksek verimliliğe sahip olduklarını göstermiştir (Wahaab ve ark., 1995; Kähkönen ve Manninen, 1998). Bu tür bitkiler, bolluk ve hareketliliklerinin sınırlı olması nedeniyle, sucul kirlilik biyomonitörleri olarak kullanılırlar (Roy ve Hanninen, 1994).



Şekil 3.2. *Lemna minor* (su mercimeği) görüntüsü

3.2. Yöntem

3.2.1. Fizikokimyasal Parametreler

Toplam çözünmüş madde (TDS) (mg/L), iletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ve pH'yı tespit etmek için HACH® HQ40d multiparametre cihazı (Hach Company, US) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Klorofil-*a* tayini ise UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu UV-1800, Japan) yapılmıştır.

3.2.2. Biyodenyey

3.2.2.1. Kültür Ortamlarının ve Biyodenyeyin Hazırlanması

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürü

Chlamydomonas reinhardtii CC-125 vahşi tipi (mt-137c) stok kültürü Chlamydomonas Resource Center, USA (www.chlamy.org) ticari kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. *C. reinhardtii* katı stok kültüründen katı besiyerleri hazırlanarak, Ordu Üniversitesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Grotech Marka GR2-4-6-8 model iklimlendirme kabininde çoğaltılmış ve burada muhafaza edilmiştir. Daha sonra katı besiyerinden sıvı besiyerlerine aktarılan kültürler çoğaltılarak biyodenyeye hazır hale getirilmiştir. Kültürlerin çoğaltılması ve biyodenyeyler de aynı iklimlendirme kabininde yapılmıştır.

Hızlı bir büyüme elde etmek için kültür kaplarının maksimum şekilde aydınlatılmasını sağlayacak şekilde, 3 500-10 000 lüks gibi yüksek ışık yoğunlukları kullanılmıştır. Yaygın olarak kültürü yapılan alg türleri için pH aralığı 7-9 arasındadır, optimum pH aralığı ise 8.2-8.7'dir. Kültürlerin muhafazasında iklim kabini % 60 nem, 23 °C sıcaklık, 8000 lüks ışık şiddetinde, 18 µwat/m/nm ışık parlaklığında, fotosentez foton ışık dağılımı 53 µmol/m²/s ve 18:6 gündüz:gece aydınlatma ayarı şeklinde ayarlanmıştır. İklim kabinindeki kültürler günde iki kez el ile çalkalanarak havalandırılmış ve dibe çökmeleri engellenmiştir. *C. reinhardtii* için TAP (Tris-Acetate-Phosphate) besin çözeltisi (Fischer ve ark., 2006) kullanılmıştır (Çizelge 3.3). Hızlı büyüme evresine gelen kültürler (15-25. günler arasında) 10 dak. otomatik çalkalayıcıda çalkalanarak homojen hale gelmesi sağlanmış ve 250 mL'lik cam şişelere 180 mL TAP besin çözeltisi, 20 mL kültür olacak şekilde alt kültürlere bölünmüştür. Kültürler üssel büyüme fazına girdikten yaklaşık 5 gün sonra belirlenen konsantrasyonlarla pestisit ile muamele edilerek deneylere başlanmıştır.

Fındık tarımında yaygın olarak kullanılan pestisitlerden seçilen insektisit Marshal® Power EW (zeta-cypermethrin, 15 g/L) ile hazırlanan kültürler (kontrol grubu hariç), üç farklı doz ve 3 tekrarlı olacak şekilde 24. saat, 48. saat, 72. saat ve 96. saatlerde incelenmiştir. Deney; üç farklı konsantrasyondaki zeta-cypermethrin (0.1333 mL, 1.333 mL, 13.33 mL) ve organizma içeren test grubu, üç farklı doz pestisit ve besiyeri içeren kontrol grubu ve bir tane de yalnızca organizma ve besiyeri içeren kontrol grubuyla gerçekleştirilmiştir. Her gün deney kaplarından alınan su örneklerinin her birinin pH'ı; nitrik asit damlatılarak 2'ye düşürüldükten sonra, içerisindeki pestisit konsantrasyonunun belirlenmesi için LC-MS/MS okutmasına gönderilmek üzere -86 °C'de saklanmıştır.

Çizelge 3.3. TAP besin çözeltisi

Tris-Acetate-Phosphate (TAP) ortamı (1 litre)			
2X Filner's Beijernicks solüsyonu	25 mL	2X Filner's Beijernicks solüsyonu	
veya:		(500 mL)	
NH ₄ Cl	0.4 g	NH ₄ Cl	8 g
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.05 g	CaCl ₂ .2H ₂ O	1 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.1 g	MgSO ₄ .7H ₂ O	2 g
1 M Potasyum fosfat	1 mL		
		1 M Potasyum fosfat stoğu (50 mL)	
veya:			
KH ₂ PO ₄	0.0544 g	K ₂ HPO ₄	5.22 g
K ₂ HPO ₄	0.1044 g	1 M KH ₂ PO ₄ (stok)	20 mL
		(1 M stok: 6.8 g/50 mL)	
İz mineral solüsyonu	5 mL	1M K ₂ HPO ₄ (stok)	30 mL
		(1M stok: 8.7 g/50 mL)	
		ya da: 2,72 g KH ₂ PO ₄	
		5,22 g K ₂ HPO ₄	
Tris-Base (Tris-Aminometan)	2.42 g		
Glacial asetik asit (17.4 mM asetat)	1 mL		
İz mineral solüsyonu (500 mL)			
5 g disodyum EDTA - ısıtma ve karıştırma ile 400 mL su içinde çözülür. 5N NaOH ile pH 6.5'e nötrale edilir. Aşağıdakilerin her birini sırayla eklenir. Bir sonraki eklemeye önce her birinin tamamen çözüldüğünden emin olunmalıdır.			
0.5 g	FeSO ₄ .7H ₂ O		
2.2 g	ZnSO ₄ .7H ₂ O		
1.14 g	H ₃ BO ₃		
0.51 g	MnCl ₂ .4H ₂ O		
0.016 g	CuSO ₄ .5H ₂ O		
0.073 g	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O		
0.16	CoCl ₂ .6H ₂ O		

Biyoabsorbsiyon deneyinden önce bir ön çalışma yapılmış ve test edilecek parametreler; biyomas tayini, fotosentetik pigment analizi, kuru madde analizi, biyoabsorbsiyon deneyi (1 organizma: *Desmodesmus multivariabilis* E.Hegewald, A.Schmidt, A.Braband, & P.Tsarenko x 1 pestisit: zeta-cypermethrin x 3 farklı doz x 3 tekrar x 4 zaman dilimi x kontroller) belirtilen tüm örneklerde yapılarak deneyde uygulanacak en uygun dozlar belirlenmiştir (0.1333 mL, 1.333 mL, 13.33 mL). Dozlar

belirlenirken zeta-cypermethrinin arazide kullanım konsantrasyonları da dikkate alınarak hesaplamalar yapılmıştır.

- *Lemna minor* kültürü

Ticari kültür koleksiyonundan yurt içinden temin edilen *L. minor* (su mercimeği) türü için Hoagland besin çözeltisi kullanılmıştır (Hoagland ve Amon, 1938) (Çizelge 3.4). Kültürlerin çoğaltılması ve biyodenyler Ordu Üniversitesi Biyoloji Bölümü Hidrobiyoloji Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan Grotech Marka GR2-4-6-8 model iklimlendirme kabininde yapılmıştır. Stok kültürler 4-10 °C'de muhafaza edilmiştir. Normal koşullar altında, 24 °C sıcaklık ve 6500-10000 lüks aydınlatmada stok kültürden aseptik teknik kullanılarak taze ortam içeren alt kültürler oluşturulmuştur. Bu süreçte, su mercimeklerinin kök gelişimi ve yaprak sayılarının da değerlendirilmesi yapılarak, sağlanan koşullarda ne kadar zamanda çoğalabildiği tespit edilmiştir.

Biyodeneyle başlarken, 2 hafta öncesinden kültürden deney kaplarına alınan ve ortama alıştıran su mercimeklerinin içinden 3'er yapraklı gruplar olmalarına dikkat edilerek her bir test grubu için toplamda 60 yaprak seçilmiştir. Test kapları, 200 mL test çözeltisi içerecek şekilde ayarlandıktan sonra çevresel parametrelerin ölçümü yapılmıştır. Deney; 3 farklı konsantrasyondaki zeta-cypermethrin ve organizma içeren test grubu, 3 farklı doz pestisit ve besiyeri içeren kontrol grubu ve 1 tane de yalnızca organizma ve besiyeri içeren kontrol grubuyla gerçekleştirilmiştir.

Deney üç tekrarlı olarak yapılmış ve deney süresince; 24 saatten itibaren *L. minor* yapraklarının durumları gözlenmiştir. Her gün deney kaplarından alınan su örneklerinin herbirinin pH'ı nitrik asit damlatılarak 2'ye düşürüldükten sonra, içerisindeki pestisit konsantrasyonunun belirlenmesi için LC-MS/MS okutmasına gönderilmek üzere -86 °C'de saklanmıştır.

Deney öncesinde ve deneyin bitiminde, tüm test gruplarının ortam parametreleri ölçülerek, türlerin morfolojik yapılarındaki değişiklikler gözlenmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Türlerin mikromorfolojik yapı değişikliği elektron mikroskopunda çekilen fotoğraflarla tespit edilmiştir.

Çizelge 3.4. Hoagland besin ortamı (nihai ortama litre başına eklenenler)

Kompozisyon	Stok solüsyon	Kullanım miktarı mL/L
1. MgSO ₄ ·7H ₂ O	24.6 g/100 mL	1.0 mL
2. Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	23.6 g/100 mL	2.3 mL
3. KH ₂ PO ₄	13.6 g/100 mL	0.5 mL
4. KNO ₃	10.1 g/100 mL	2.5 mL
5.	Mikronürient solüsyonu	0.5 mL
	Mikronürientler(alttaki tabloda verilmiştir)	
6. Fe·EDTA	Fe·EDTA solüsyonu (son eklenenler, aşağıda gösterilmiştir)	20.0 mL

- NaOH ya da HCl ile pH değeri 5.8'e ayarlanır.
- Kültür akseni ise 10 g/L sükröz ilave edilebilir.
- Otoklav ortamı.

Mikronürient solüsyonunun hazırlanışı:

Eklenenler	Stok Solüsyon
1. H ₃ BO ₃	2.86 g/L
2. MnCl ₂ ·4H ₂ O	1.82 g/L
3. ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.22 g/L
4. Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.09 g/L
5. CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.09 g/L

Eklenenler	Stok Solüsyon
1. FeCl ₃ ·6H ₂ O	0.121 g/250 mL
2. EDTA	0.375 g/250 mL

Fe.EDTA solüsyonunun hazırlanışı:

- Tamamen çözündürülür ve 250 mL'ye tamamlanır.
- Ortam otoklavlandıktan sonra, Fe.EDTA çözelti aseptik olarak ilave edilir.
- Nihai ortam için, Fe.EDTA stoğundan 3.0 mL Hoagland'dan 150 mL kullanılır.

3.2.2.2. Hücre Sayımı

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinin sayımı:

Birim hacimdeki (hücre/mL) biyolojik kütle miktarını saptamak için 1 mL hacimli Sedgewick-Rafter (S-R) sayım kamarası (Pyser-SGI, UK) kullanılmıştır. Sayımlar her zaman dilimi için 3 tekerrürlü yapılarak ortalaması alınmıştır. Organizmaların sayımı Leica DM IL LED inverted mikroskopta (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) 100'lük (10x10) ve 200'lük (10x20) büyütmede yapılarak toplam hücre sayısı aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Hücre/mL} = \frac{C \times V_2 \times F_1}{V_1 \times F_2}$$

C: Sayım sonucunda bulunan organizma sayısı

V₁ : Sedimentasyon işleminden önceki örneğin ilk hacmi (mL)

F₁ : S-R kamarasının toplam kare sayısı (1000)

V₂ : Sedimentasyon işleminden sonra kalan örneğin hacmi (mL)

F₂ : S-R kamarasının incelenen kare sayısı

- *Lemna minor* kültürlerinin sayımı:

L. minor büyüme oranı ve biyokütle inhibisyon hesabı OECD (2002) tarafından verilen formüller ile hesaplanmıştır:

$$M_{i-j} = \frac{\ln(N_j) - \ln(N_i)}{t_j - t_i}$$

M_{i-j}: i-j anında ortalama özgül büyüme oranı

N_i: i zamanında test veya kontrol kabı içinde gözlenen yaprakların sayısı

N_j: j zamanında test veya kontrol kabı içinde gözlenen yaprakların sayısı

T_i: Başlangıç zamanı

T_j: Bitiş zamanı

Biyokütle inhibisyon hesabı:

$$\% I_b = (b_c - b_T / b_c) \times 100$$

% I_b: Biyokütlerdeki yüzde azalma

b_c: Kontrol grubu için *ln* (son biyokütle) - *ln* (başlangıç biyokütle)

b_T: Test grubunda için *ln* (son biyokütle) - *ln* (başlangıç biyokütle)

3.2.2.3. Fotosentetik Pigment Analizi

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinin pigment analizi:

Analiz için, örnekler Whatman GF/C cam elyaf filtre kâğıdından vakum yardımıyla süzildükten sonra, süzüntünün bulunduğu filtre kağıdı katlanarak kapaklı santrifüj tüpüne yerleştirilmiş ve 15 mL'lik tüplere eklenmeden önce ince dilimler halinde kesildikten sonra santrifüj tüplerine katlanmış filtreler yerleştirilip 10 mL % 95'lik etanol eklenmiştir. Tüpler kapakla veya parafilm ile kapatılarak ve filtreler

parçalanana kadar şiddetle çalkalandıktan sonra ışıktan korunması için alüminyum folyo ile sarılıp buzdolabında saklanmıştır. Ekstraksiyonu iyileştirmek için, bir saat ve 24 saat sonra, yeniden filtre içeriği çalkalanıp 47 mm GF/F filtresi ile tüplerdeki etanol ve pigment, filtre içinden geçirildikten sonra, 2-4 mL daha etanol ile durulanmıştır. Temiz bir santrifüj tüpüne süpernatant süzülerek tekrar santrifüj edilip kuvarz küvetin içine süpernatant dökülmüştür. % 95 etanol boş hücre için kullanılmış ve 750 (A_{750}), 665 (A_{665}) ve 649 (A_{649}) nm'de absorbanları ölçüldükten sonra aşağıdaki formüle uygun biçimde klorofil-*a* miktarı hesaplanmıştır (Bergmann ve Peters, 1980).

$$\text{Klorofil-}a \text{ (}\mu\text{g/L)} = \frac{(13.7(A_{665} - A_{750}) - 5.76(A_{649} - A_{750}))v}{V * l}$$

v = ekstraktın hacmi (mL)

V = filtrelenen numunenin hacmi (L)

L = spektrofotometre küvetinin yol uzunluğu (cm cinsinden)

- *Lemna minor* kültürlerinin pigment analizi:

Her bir kültür setinden yikanmış taze su mercimeği yapraklarından 100 mg alındıktan sonra örnekler porselen havanda 1-2 mL % 80'lik aseton ile yapraktan tüm klorofil alınmaya kadar homojenize edilmiştir. Daha sonra ekstraktın son hacmi 10 mL olacak şekilde % 80'lik asetonla tamamlanmış ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Klorofil-*a* için 662 nm, klorofil-*b* için 645 nm ve karotenoid için 470 nm'de Shimadzu UV-1800 spektrofotometrede asetona karşı (tanık) okutulduktan sonra klorofil-*a*, klorofil-*b* ve karotenoid hesaplamaları Lichtenthaler ve Wellburn (1985)'e göre aşağıdaki formüller kullanılarak yapılmıştır.

$$\text{Klorofil-}a \text{ (}\mu\text{g/mL)} = 11.75A_{662} - 2.35A_{645}$$

$$\text{Klorofil-}b \text{ (}\mu\text{g/mL)} = 18.61A_{645} - 3.96A_{662}$$

$$\text{Karotenoid (}\mu\text{g/mL)} = 1000A_{470} - 2.27 \text{ klorofil-}a - 81.4 \text{ klorofil-}b / 227$$

3.2.2.4. Kuru Madde Analizi

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinin kuru madde analizi:

Her bir kültür setinden 10 mL numune 47 mm çaplı, 0.45 μm por aralığına sahip membran filtre kağıdından vakum pompası yardımıyla süzme seti ile süzölmüştür.

Kuru ağırlık hesaplamak için, önce ağırlığı hassas terazide tartılan filtre kağıdından kültür süzöldükten sonra, 80 °C etüvde 24 saat kuruması beklenmiş, bu işlemden sonra filtre kağıtları tekrar tartılarak aşağıdaki formüle göre kuru ağırlık hesaplaması yapılmıştır (Steinman ve Lamberti, 1996).

$$\text{Kuru ağırlık (mg/mL)} = \frac{(A - B) \times 1000}{\text{Örnek hacmi (mL)}}$$

A: Filtrenin ağırlığı + kuru tortu (mg)

B: Filtrenin ilk ağırlığı (mg)

- ***Lemna minor* kültürlerinin kuru madde analizi:**

Deney setlerinden 96. saatin sonunda alınan örnekler laboratuvarında temizlenip kök ve yapraklara ayrılmış, önce yaş ağırlıkları alınarak etüvde kurutma kabına konulmuş, 65 °C'de 48 saat bekletildikten sonra kuru ağırlıkları alınmıştır. Daha sonra örnekler porselen havanlarda öğütülüp un haline getirilerek tartılmış ve % kuru madde miktarı tespit edilmiştir.

$$\% \text{ Kuru madde} = \frac{(c-a) \times 100}{b-a}$$

a: kap darası

b: kap + örnek ağırlığı

c: kurutma işleminden sonraki kap + örnek ağırlığı

3.2.2.5. Biyoabsorbsiyon Deneyi

- ***Chlamydomonas reinhardtii* biyoabsorbsiyon deneyi:**

Kuru madde analizi sırasında süzme setinin nuche erleninde biriktirilen süzölmüş kültür suyu, ayrı ayrı 50 mL'lik propilen tüplerde toplanarak analizler yapılincaya kadar -86 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Deneylerin 24. saat, 48. saat, 72. saat ve 96. saatinde de aynı işlemler yapıldıktan sonra, örneklerdeki insektisit miktarı Sinop Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan Agilent Technologies marka ve 6460 Triple Quad LC/MS model LC-MS/MS cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

- *Lemna minor* biyoabsorbsiyon deneyi:

L. minor biyoabsorbsiyon deneyinde, kontrol grubundan ve deney setlerinden her gün alınan su örneklerindeki pestisit konsantrasyonları analiz edilmiştir. Deneylerin 24. saat, 48. saat, 72. saat ve 96. saatinde alınan; her bir örnekten 10 mL ve üçer tekrarlı olacak şekilde toplam 360 mL su örneği, yüzeye yakın bölgeden çekilerek, cam beherlere alındıktan sonra membran filtre kağıdından vakumla süzülerek falkon tüplere boşaltılmıştır. Bu işlemler deney süresince tekrarlanarak analizler Sinop Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde bulunan Agilent Technologies marka ve 6460 Triple Quad LC/MS model LC-MS/MS cihazı kullanılarak ölçülmüştür.

- *Lemna minor* EC₅₀ çalışmaları:

EC₅₀ çalışmaları için; öncelikle kültürden benzer ölçülerde her biri 3 yaprak içeren 3 bitki (toplamda 9 yaprak) seçilerek sterilize edilmiş 100 mL'lik cam beherlere alınmıştır. Bir hafta süresince test ortamına alıştırılan su mercimekleri 0.01, 0.1, 1.0, 10, 100 ve 1000 mg/L'lik pestisit konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Aynı şartlarda bir de kontrol grubu kullanılmıştır. Deney süresince kontrol grubunda ve deney gruplarında herhangi bir morfolojik bozukluk ya da ölüm olup olmadığı gözlenerek, tüm deney canlısını öldüren doz ile minimum etki gösteren konsantrasyonlar belirlenmiştir.

- *C. reinhardtii* doz belirleme çalışmaları:

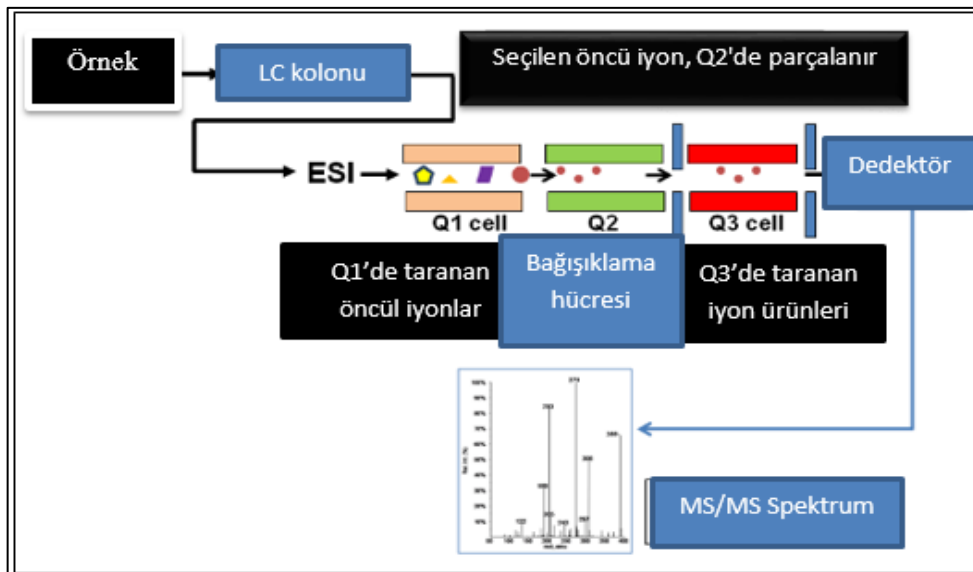
Kültürden alınan 1 mL örnek, birim hacimdeki biyolojik kütle miktarını (hücre/mL) saptamak için 1 mL hacimli Sedgewick-Rafter (S-R) sayım kamarasında sayılmıştır. Sayımlar her zaman dilimi için 3 tekerrürlü yapılmıştır. Deneyin başlangıcında toplam hücre sayısı hesaplandıktan sonra mikropleytlerde (24'lük) her bir odacığa belirlenen miktarda TAP besiyeri ve mikroorganizma örneği (1840 µL) konularak arazide kullanım miktarına uygun olarak hesaplanan pestisit (160 µL) seyreltme yöntemiyle 1. bölmeden başlayarak 10 bölmeye kadar ilave edilmiştir. *C. reinhardtii* için belirlenen şartlar altında 4 gün iklim dolabında bırakılan deney setinin her bir bölmesinden alınan örneklerdeki hücre sayısı 96. saatin sonunda sayım yapılarak aynı

yöntemle hesaplanmıştır. Sonuçlar birim hacimdeki hücre sayısı ve morfolojik değişimler üzerinden değerlendirilerek deney için en uygun dozlar belirlenmiştir.

3.2.3. Pestisit Birikim Miktarının LC-MS/MS Cihazı Kullanılarak Ölçümü

Sıvı Kromatografi - Kütle Spektrometri Sistemi (LC-MS/MS), kromatografi ve spektrometri sistemlerinin bir araya getirilmesi ile oluşturulmuş bir sistemdir (Şekil 3.3). Sistem, sıvı kromatografisi ve üçlü kuadropolden oluşmaktadır. Sistemin iki adet iyonlaştırma kaynağı bulunmaktadır. Moleküller, iyonlaştırma kaynağında iyonlaşarak (gaz) kütle spektrometrisine geçer. Birinci kütle spektrometride oluşan ana iyonlar m/z (kütle/yük) oranına göre belirlenir. Oluşan bu iyon kollizyon hücreinde kollizyon gazı (azot) ile parçalanır ve parçalanma sonucu oluşan iyonlar ikinci kütle spektrometrisinde m/z (kütle/yük) oranlarına göre ayrılır. Parçalanma iyonları verileri ile yüksek bir duyarlılık ve kesinlikle kalitatif ve kantitatif analiz yapılabilir.

LC-MS/MS sistemi, çoklu analit tespitinde, eser miktardaki analitlerin hassas miktar tayininde kullanılır. Meyve, sebze, süt, et vb. gıda numunelerinde pestisit ve metabolitlerinin, hormon ve metabolitlerinin, aflatoksin-mikotoksin analizleri için kullanılmaktadır. Doku, serum, plazma gibi biyolojik örneklerde ilaç ve metabolitlerinin ölçümü gibi uygulama alanları da bulunmaktadır. Ayrıca proteomik araştırmalarda proteinlerin karakterizasyonu amacıyla da kullanılmaktadır (Anonim, 2017).



Şekil 3.3. LC-MS/MS cihazının çalışma prensibi

Zeta-cypermethrin stok çözeltilerini hazırlamak için, katı haldeki pestisit tartılarak volumetrik cam balon jodede belirli hacime analitik saflıkta aseton ile tamamlanarak elde edilmiştir. Stok ve doz çözeltileri kullanılabildiği kadar +4°C’de muhafaza edilmiş ve kullanım öncesinde ortam sıcaklığına getirilerek deney setlerine uygulanmıştır.

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında antagonistik ve sinerjistik etkilerin tespitinde Mann Whitney-U analizinden yararlanılmıştır. Analiz veri sayısının yoğun olmaması sebebiyle normal dağılıma bakılmaksızın uygulanmıştır. Testler Minitab 16 istatistiksel programı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle İncelenmesi

C. reinhardtii örnekleri bir lamel üzerine yayılarak, *L. minor* örnekleri ise doğrudan, yapılarındaki suyun tamamen uzaklaştırılması için sırasıyla % 50, % 70, % 80, % 90 ve % 100’lük alkolden geçirildikten sonra 50 °C’ye ayarlanmış etüvde 2 gün boyunca kurutulmuştur. Bu örnekler stamplar üzerine yerleştirildikten sonra, görüntü elde etmek için SBC-900-C Sputtering Evaporate Carbon Instrument altın kaplama cihazıyla 1 dakika altın tozuyla kaplandıktan sonra örneklerin yüzey morfolojileri Hitachi marka, SU 1510 model taramalı elektron mikroskobunda (SEM) incelenmiştir. Örneklerin SEM’de incelenmesi Ordu Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı’nda yapılmıştır.



Şekil 3.4. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Fizikokimyasal Parametreler

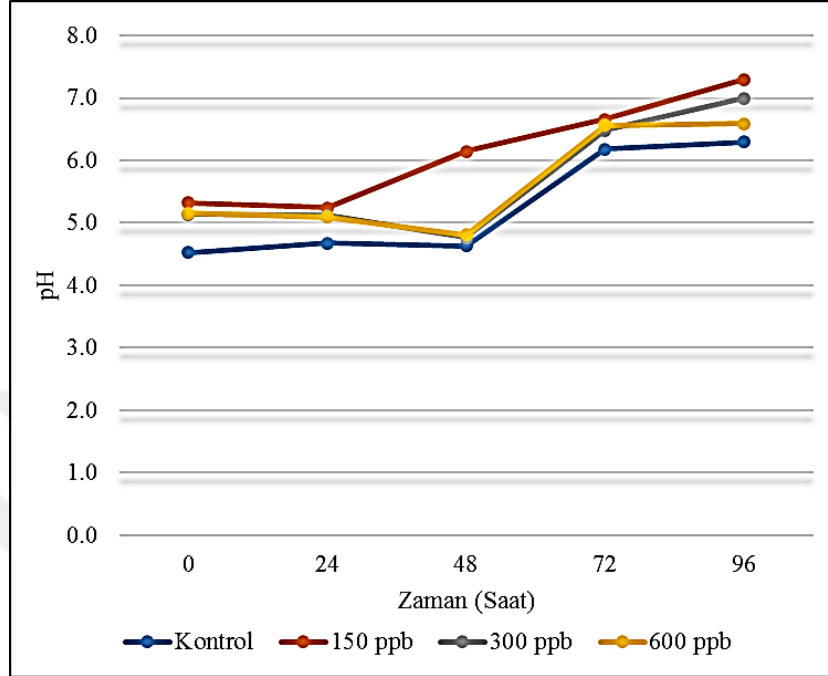
Deney süresince ölçülen parametrelerin (pH, TDS, iletkenlik) 96 saat boyunca göstermiş olduğu değişim Çizelge 4.1 (*L. minor*) ve 4.2 (*C. reinhardtii*)’de gösterilmiştir. Farklı pestisit dozlarına sahip besi ortamlarında ve kontrol gruplarında pH, TDS ve iletkenlik değerleri 3 tekerrürlü olarak, her zaman diliminde ölçülmüş ve aritmetik ortalamaları alınmıştır. Deneyin 96 saati süresince kültür çözeltilerinin ortalama fizyokimyasal bileşimi; pH, iletkenlik ve TDS değerleri bakımından her bir muamele için önemli bir fark göstermemiştir.

Çizelge 4.1. *L. minor* içeren deney setlerinde pH, TDS ve iletkenliğin 96 saat boyunca değişimi

<i>L. minor</i>	Kontrol	(150 ppb)	(300 ppb)	(600 ppb)
Uygulama zamanı (Saat)	0	0	0	0
pH	4.5	5.3	5.1	5.2
TDS (mg/L)	467	451	468	475
İletkenlik (μ S/cm)	936	899	934	929
Uygulama zamanı (Saat)	24	24	24	24
pH	4.7	5.2	5.1	5.1
TDS (mg/L)	392	408	427	459
İletkenlik (μ S/cm)	786	817	857	919
Uygulama zamanı (Saat)	48	48	48	48
pH	4.6	6.1	4.8	4.8
TDS (mg/L)	425	443	458	447
İletkenlik (μ S/cm)	849	885	916	895
Uygulama zamanı (Saat)	72	72	72	72
pH	6.2	6.7	6.5	6.6
TDS (mg/L)	508	509	513	458
İletkenlik (μ S/cm)	1020	999	1020	915
Uygulama zamanı (Saat)	96	96	96	96
pH	6.3	7.3	7.0	6.6
TDS (mg/L)	453	475	506	508
İletkenlik (μ S/cm)	906	951	1 009	1 008

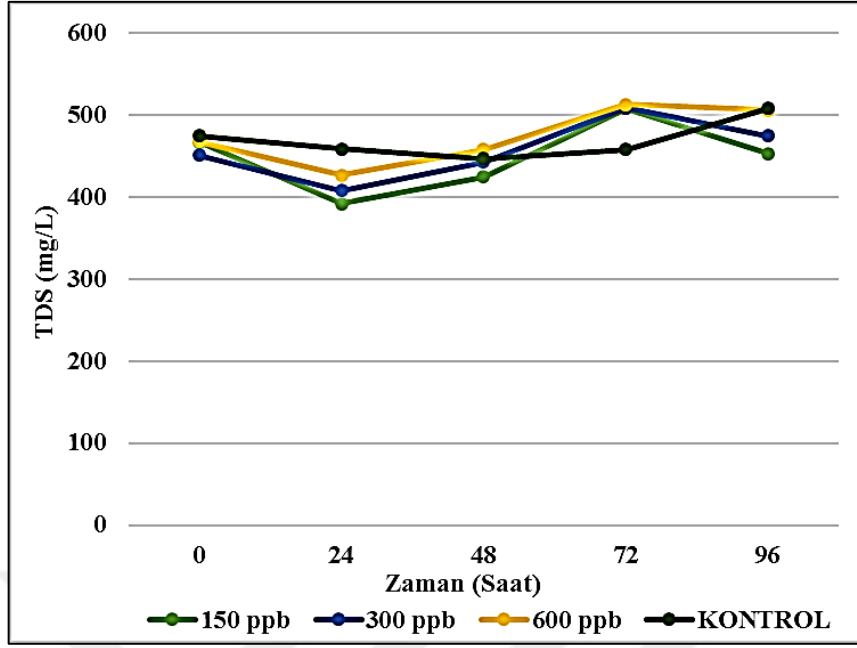
Yapılan ölçümler sonucunda *L. minor* içeren test ve kontrol setlerinde en düşük pH değeri deney başlangıcında (0. zaman) kontrol grubunda 4.5, en yüksek pH değeri ise 1. dozda (150 ppb) ve 96. saatte 7.3 olarak ölçülmüştür. pH değerlerinin günler

arasında dalgalanmalar gösterdiği, 96. saatin sonunda tüm kontrol ve test gruplarında yükseldiği ve kontrol gruplarındaki değerlerin test gruplarına göre daima düşük olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1).



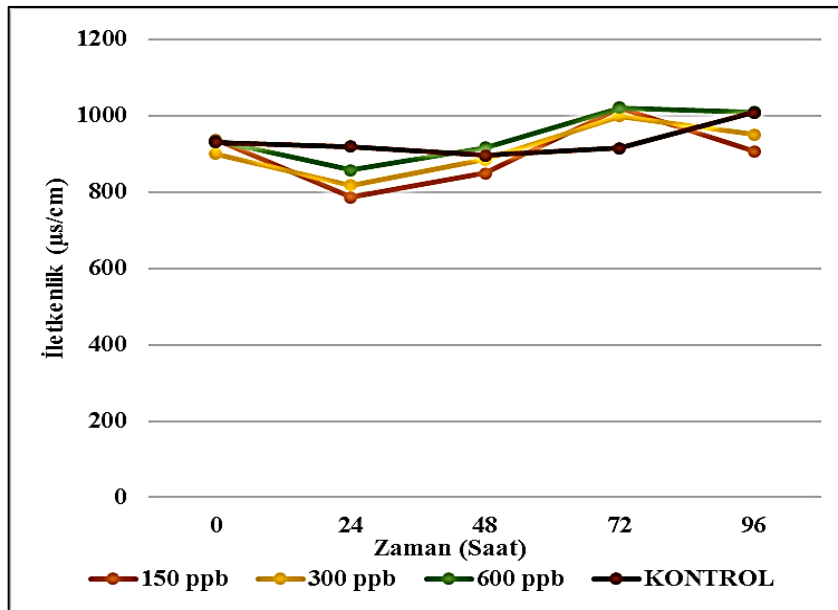
Şekil 4.1. *L. minor* içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki pH değişimi

En düşük TDS değeri 24. saatte 1. dozda (150 ppb) 392 mg/L, en yüksek TDS değeri ise 72. saatte 3. dozda (600 ppb) 513 mg/L olarak ölçülmüştür. TDS değerlerinin tüm test gruplarında ve tüm zaman dilimlerinde benzer bir değişimle 24. saatten 72. saate kadar artış, sonrasında ise azalış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *L. minor* içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki TDS değişimi

En düşük iletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$) değeri 24. saatte 1. dozda (150 ppb) $786 \mu\text{S}/\text{cm}$, en yüksek iletkenlik değerleri ise 72. saatte 1. ve 3. dozda (600 ppb) $1020 \mu\text{S}/\text{cm}$ olarak ölçülmüştür. İletkenlik değerlerinin TDS değerleri ile benzer şekilde tüm test gruplarında ve tüm zaman dilimlerinde 24. saatten 72. saate kadar artış sonrasında ise azalış gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.3).



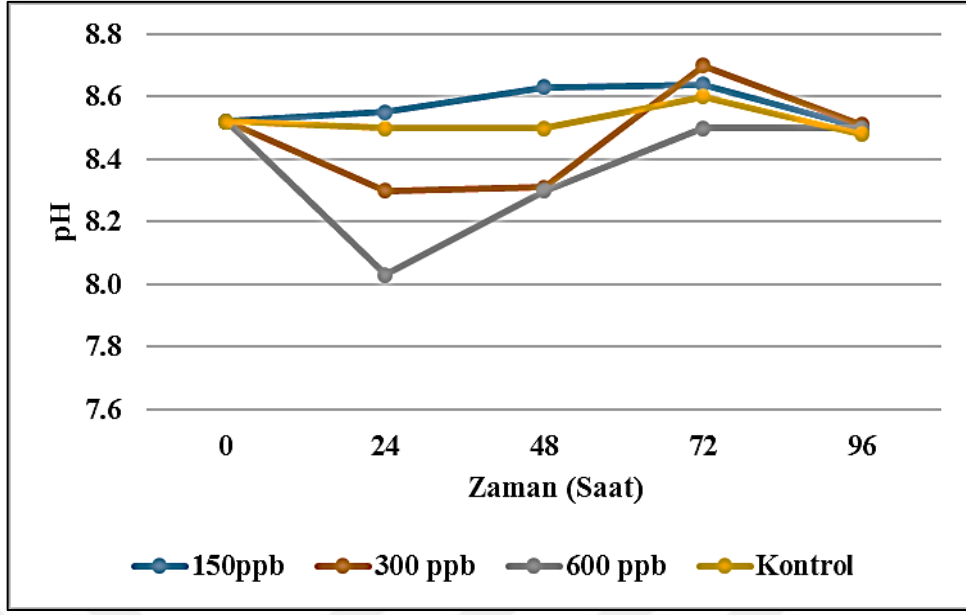
Şekil 4.3. *L. minor* içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki iletkenlik değişimi

Çizelge 4.2. *C. reinhardtii* içeren deney setlerinde pH, TDS ve iletkenliğin 96 saat boyunca değişimi

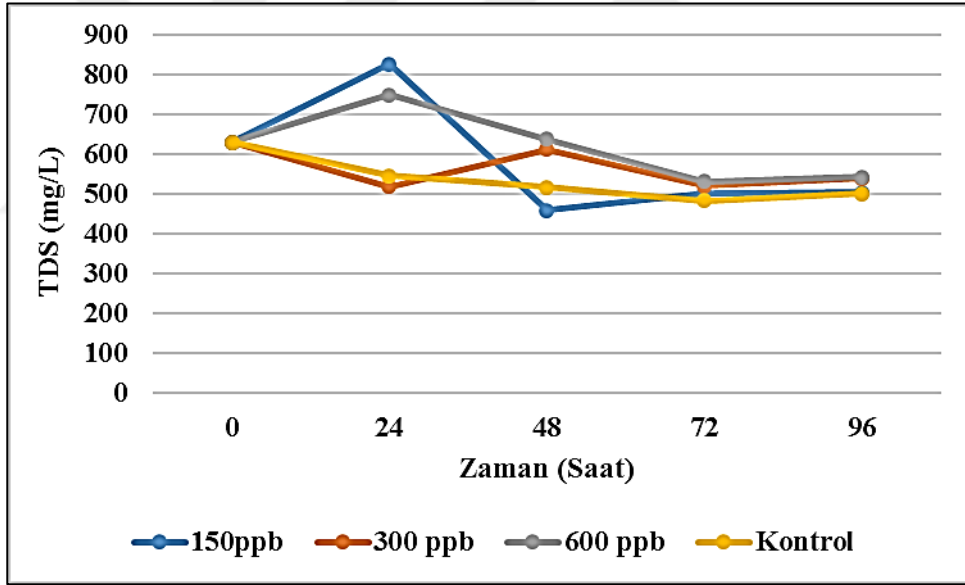
<i>C. reinhardtii</i>	Kontrol	(150 ppb)	(300 ppb)	(600 ppb)
Uygulama zamanı (Saat)	0	0	0	0
pH	8.52	8.52	8.52	8.52
TDS (mg/L)	630	630	630	630
İletkenlik (μ S/cm)	1 258	1 258	1 258	1 258
Uygulama zamanı (Saat)	24	24	24	24
pH	8.55	8.3	8.03	8.5
TDS (mg/L)	826	519	750	546
İletkenlik (μ S/cm)	1 065	1 057	1 507	1 091
Uygulama zamanı (Saat)	48	48	48	48
pH	8.63	8.31	8.3	8.5
TDS (mg/L)	460	612	638	518
İletkenlik (μ S/cm)	1 310	1 228	1 274	1 035
Uygulama zamanı (Saat)	72	72	72	72
pH	8.64	8.7	8.5	8.6
TDS (mg/L)	502	520	532	484
İletkenlik (μ S/cm)	1 050	1 025	1 066	968
Uygulama zamanı (Saat)	96	96	96	96
pH	8.5	8.51	8.5	8.48
TDS (mg/L)	504	540	543	501
İletkenlik (μ S/cm)	1 000	1 082	1 074	1 000

Yapılan ölçümler sonucunda *C. reinhardtii* içeren test ve kontrol setlerinde en düşük pH değeri 24. saatte ve 3. dozda (600 ppb) 8.0, en yüksek pH değeri ise 2. dozda (300 ppb) ve 72. saatte 8.7 olarak ölçülmüştür (Şekil 4.4). Bu değerler dikkate alındığında *L. minor* içeren deney setlerine oranla pH değerlerinin düşük olduğu belirlenmiştir.

En düşük TDS değeri 48. saatte 1. dozda (150 ppb) 460 mg /L, en yüksek TDS değeri ise 24. saatte 1. dozda (150 ppb) 826 mg/L olarak ölçülmüştür (Şekil 4.5). Kontrol grubunun TDS değerlerinin test gruplarına göre daha az değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.

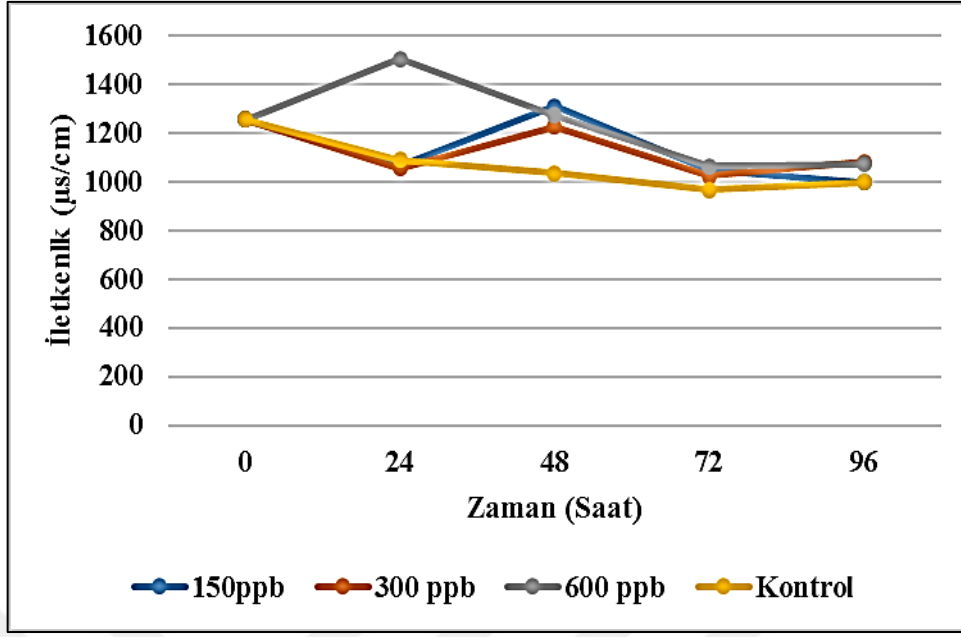


Şekil 4.4. *C. reinhardtii* içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki pH değişimi



Şekil 4.5. *C. reinhardtii* içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki TDS değişimi

En düşük iletkenlik değeri 72. saatte kontrol grubunda 968 $\mu\text{S}/\text{cm}$, en yüksek iletkenlik değeri ise 24. saatte 3. dozda (600 ppb) 1 507 $\mu\text{S}/\text{cm}$ olarak ölçülmüştür (Şekil 4.6). Kontrol grubunun iletkenlik değerlerinin TDS değerlerine benzer şekilde test gruplarına göre daha az değişkenlik gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. *C. reinhardtii* içeren besi ortamının kontrol ve test gruplarındaki iletkenlik değişimi

4.2. Biyodeneş

4.2.1. Hücre Sayımı

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinin sayısı:

C. reinhardtii kültürleri 0. zamandan itibaren birim hacimdeki (hücre/mL) biyolojik kütle miktarını saptamak için 1 mL hacimli Sedgewick-Rafter (S-R) sayım kamarasında sayılmıştır. Sayımlar her zaman dilimi için 3 tekerrürlü yapılmış ve ortalamaları alınmıştır (Çizelge 4.3).

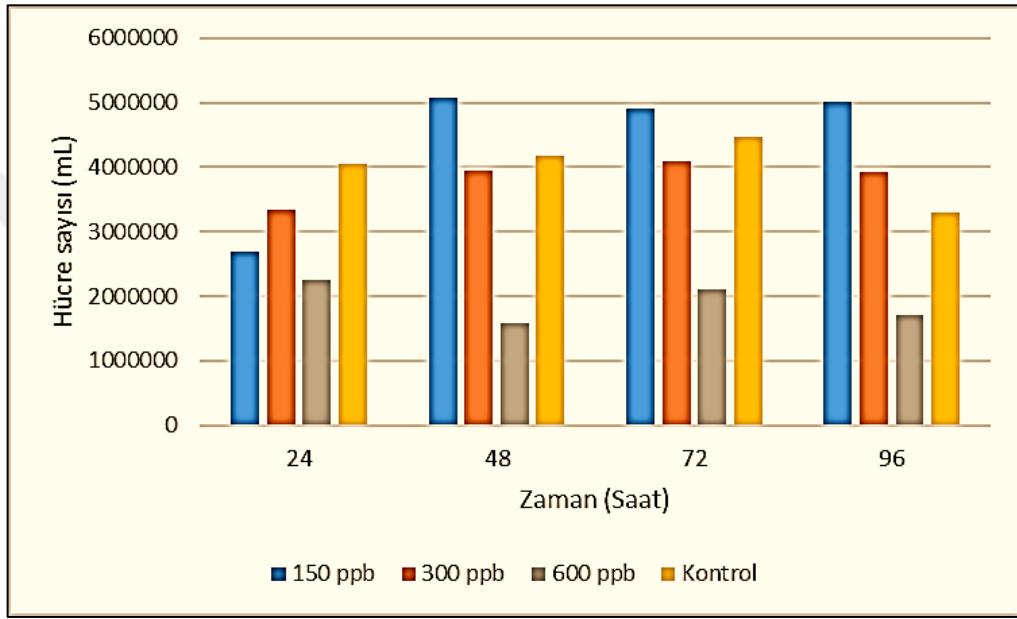
Çizelge 4.3. *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki hücre miktarları (hücre/mL)

Deney dozları (ppb)	24. saat	48. saat	72. saat	96. saat
150	2 680x10 ³	5 072x10 ³	4 914x10 ³	5 019x10 ³
300	3 335x10 ³	3 937x 10 ³	4 087x10 ³	3 917x10 ³
600	2 250x10 ³	1 585x10 ³	2 105x10 ³	1 715x10 ³
Kontrol (0 ppb)	4 052x10 ³	4 170x10 ³	4 478x10 ³	3 297x10 ³

Zeta cypermethrinin *C. reinhardtii* gelişimi üzerinde ilk günden itibaren olumsuz etki ettiği ve pesisitin konsantrasyonu arttıkça bu etkinin de belirgin hale geldiği görülmektedir. Ayrıca konsantrasyon hücrelerde arttıkça kolonileşme eğilimi ve renk

bozulmaları, hücrelerin hareketlerinde yavaşlama ve toplam hücre sayısında azalma kaydedilmiştir.

Hücre sayısında kontrol grubu 72. saate kadar büyümeye devam ederken 72. saatten sonra yaklaşık olarak başlangıçtaki hücre sayısına ($3\ 033 \times 10^3$ hücre/mL) gerilemiştir. En düşük canlı hücre sayısı 48. saatte ve 600 ppb konsantrasyonda ($1\ 585 \times 10^3$), en yüksek hücre sayısı ise 48. saatte 150 ppb konsantrasyonda ($5\ 072 \times 10^3$) sayılmıştır (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki hücre miktarının zamana bağlı değişimi

Zeta cypermethrinin üç farklı dozu da 24. saat için kontrol grubuna göre popülasyon yoğunluğunu düşürmüştür. Ancak 48 ve 72. saatlerde 150 ppb konsantrasyonda ve 96. saatte 150 ppb ve 300 ppb konsantrasyonlarda popülasyon yoğunluğu kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Deneyde kullanılan 2. ve 3. dozun 72. saatten 96. saate doğru organizma sayısında hızlı bir azalmaya neden olduğu kaydedilmiştir. 150 ppb konsantrasyonda, organizma sayısında zamana göre tespit edilen değişikliklerin diğer dozlara göre biraz daha az etkili olduğu görülmüştür. 600 ppb konsantrasyonda 96. saatte organizma sayısı oldukça fazla azalmıştır. Kontrol grubunda 72. saatte popülasyon yoğunluğunda azalmanın meydana gelmesine ortamın oksijen, pH ve diğer fiziksel şartlarının değişmesi neden olabilir.

- *Lemna minor* kültürlerinin sayımı:

Test grupları incelendiğinde, kontrol grubunun zeta-cypermethrin eklenmiş gruplara göre büyüme oranının genel olarak daha yüksek olduğu görülmektedir. 600 ppb zeta-cypermethrin eklenen gruplarda 150 ppb eklenen gruplara göre daha düşük büyüme oranı belirlenmiştir. Deney süresince en yüksek inhibisyon yüzdesi 96. saatte ve 600 ppb konsantrasyonda % 86.25 olarak hesaplanmıştır. İnhibisyon yüzdelerinin negatif çıkması, bu test gruplarında kontrol grubuna göre daha fazla büyüme olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. *L. minor* türünün büyüme oranları ve inhibisyon yüzdeleri

Kontrol grubuna göre özgül büyüme oranları (%)				
Zaman (Saat)	150 ppb	300 ppb	600 ppb	Kontrol (0 ppb)
24	0.007	0.006	0.001	0.009
48	0.007	0.002	0.001	0.002
72	0.004	0.002	0.002	0.003
96	0.004	0.001	0.0009	0.005
Biyokütle inhibisyon yüzdeleri (%)				
24	25.69	44.88	54.31	
48	-52.98	29.83	-30.61	
72	-2.93	38.68	-14.85	
96	15.58	65	86.25	

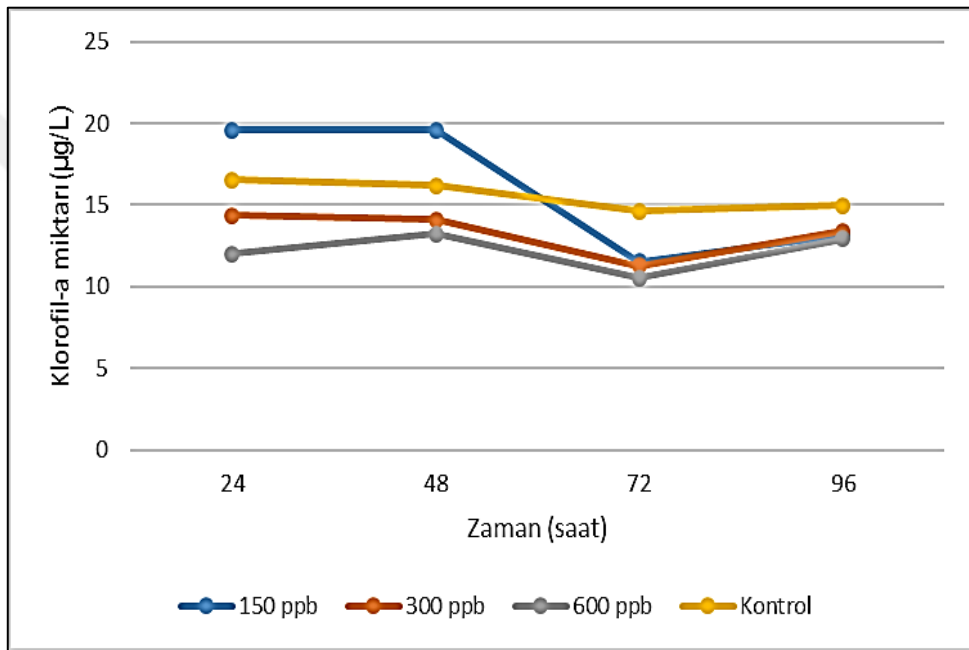
4.2.2. Fotosentetik Pigment Analizi

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinin pigment analizi:

Yapılan ölçümler sonucunda *C. reinhardtii* içeren test ve kontrol setlerinde en düşük klorofil-*a* değeri 72. saatte ve 600 ppb konsantrasyonda 10.52, en yüksek klorofil-*a* değeri ise 24 ve 48. saatlerde 150 ppb konsantrasyonda ve 19.58 olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5). Klorofil-*a* değerlerinin test gruplarında 48. saatten itibaren azaldığı, 72. saatten deney bitimine kadar ise tekrar yükseldiği tespit edilmiştir. Kontrol gruplarındaki klorofil-*a* değerleri test gruplarına göre daha az dalgalanma göstermiştir (Şekil 4.8).

Çizelge 4.5. *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil-*a* ($\mu\text{g/L}$) miktarları

Uygulanan dozlar (ppb)	Zaman (Saat)			
	24	48	72	96
150	19.58	19.58	11.51	13.15
300	14.37	14.11	11.27	13.42
600	11.99	13.21	10.52	12.92
Kontrol	16.55	16.2	14.6	14.98



Şekil 4.8. *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil-*a* ($\mu\text{g/L}$) miktarının zamana bağlı değişimi

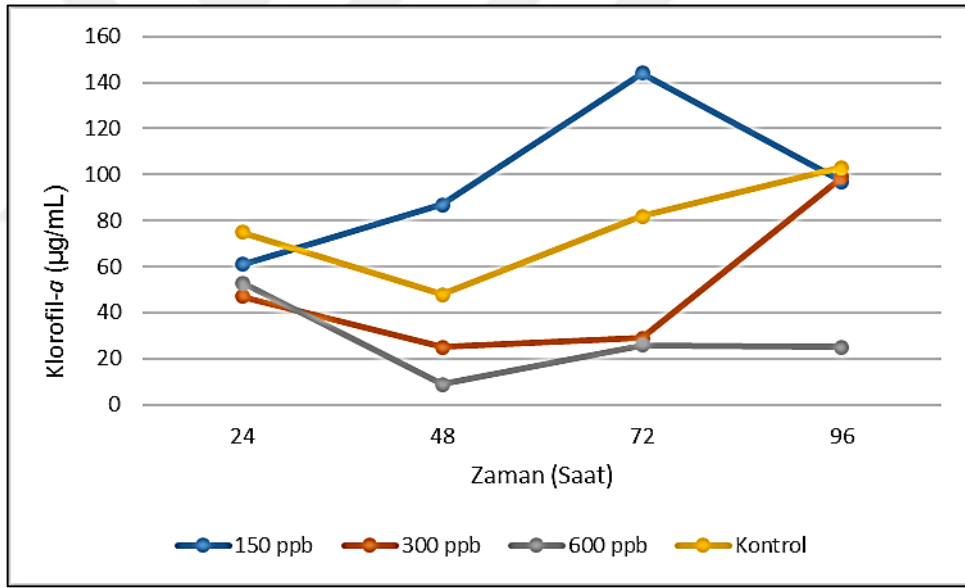
- *Lemna minor* kültürlerinin pigment analizi:

L. minor içeren deney setlerinde en düşük klorofil-*a* miktarı 48. saatte ve 600 ppb konsantrasyonda $0.09 \mu\text{g/mL}$, en yüksek klorofil-*a* miktarı ise 72. saatte ve 150 ppb konsantrasyonda $1.44 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil-*a* miktarları ($\mu\text{g/mL}$)

Uygulanan dozlar (ppb)	Zaman (Saat)			
	24	48	72	96
150	0.61	0.87	1.44	0.97
300	0.47	0.25	0.29	0.99
600	0.53	0.09	0.26	0.25
Kontrol	0.75	0.48	0.82	1.03

Klorofil-*a* miktarı 150 ppb zeta-cypermethrin içeren test gruplarında 72. saatin sonuna kadar hızlı bir artış göstermiş, diğer test ve kontrol gruplarında da benzer bir değişim kaydedilmiştir (Şekil 4.9). *C. reinhardtii* içeren deney setlerinde de 150 ppb pestisit ile muamele edilen test gruplarında benzer şekilde klorofil-*a* miktarının 48 ila 72. saat aralığına kadar diğer gruplara göre daha yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir.



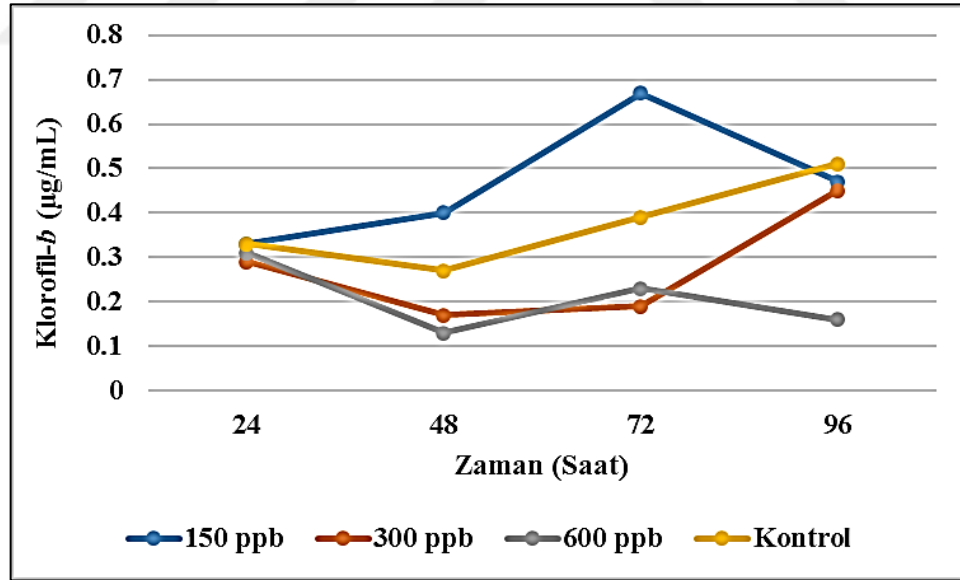
Şekil 4.9. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil-*a* miktarının zamana bağlı değişimi

En düşük klorofil-*b* miktarı 48. saatte ve 600 ppb konsantrasyonda $0.13 \mu\text{g/mL}$, en yüksek klorofil-*b* miktarı ise 72. saatte ve 150 ppb konsantrasyonda $0.67 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil-*b* miktarları ($\mu\text{g/mL}$)

Uygulanan dozlar (ppb)	Zaman (Saat)			
	24	48	72	96
150	0.33	0.4	0.67	0.47
300	0.29	0.17	0.19	0.45
600	0.31	0.13	0.23	0.16
Kontrol	0.33	0.27	0.39	0.51

Klorofil-*b* miktarı 150 ppb zeta-cypermethrin içeren test gruplarında 72. saatin sonuna kadar hızlı bir artış göstermiş, diğer test ve kontrol gruplarında da benzer bir değişim görülmüştür (Şekil 4.10). *C. reinhardtii* içeren deney setlerinde de 150 ppb pestisit ile muamele edilen test gruplarında benzer şekilde klorofil-*b* miktarının klorofil-*a* miktarına benzer şekilde 48-72. saat aralığına kadar diğer gruplara göre daha yüksek miktarda olduğu belirlenmiştir. Bu durumun deney setlerindeki hücre sayısı ile ilişkili biçimde değiştiği görülmektedir. Düşük pestisit konsantrasyonunda 72. saatten sonraki ani azalmanın hücre sayısının aşırı artışı ve buna bağlı olarak ortamdaki besin miktarının azalması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.



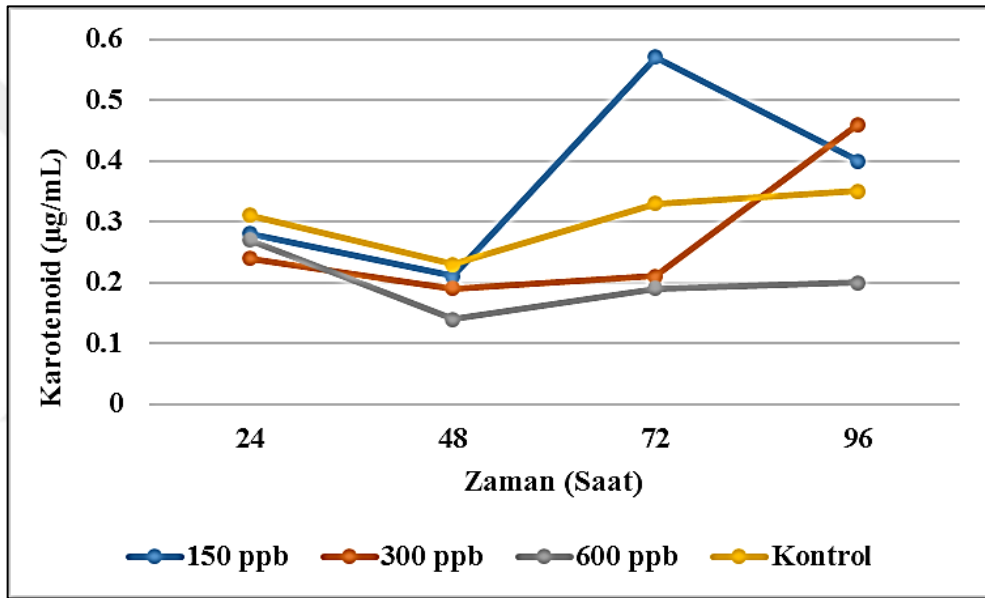
Şekil 4.10. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki klorofil-*b* miktarının zamana bağlı değişimi

En düşük karotenoid miktarı 48. saatte ve 600 ppb konsantrasyonda $0.14 \mu\text{g/mL}$, en yüksek karotenoid miktarı ise 72. saatte ve 150 ppb konsantrasyonda $0.57 \mu\text{g/mL}$ olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.8 ve Şekil 4.11).

Çizelge 4.8. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki karotenoid miktarları ($\mu\text{g/mL}$)

Uygulanan dozlar (ppb)	Zaman (Saat)			
	24	48	72	96
150	0.28	0.21	0.57	0.4
300	0.24	0.19	0.21	0.46
600	0.27	0.14	0.19	0.2
Kontrol	0.31	0.23	0.33	0.35

Klorofil-*a* ve klorofil-*b* ile karotenoid miktarlarında benzer bir değişim görülmüş ve 150 ppb pestisit içeren deney setlerinde 72. saate kadar klorofil sentezinin hızlı bir artış gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.11. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki karotenoid miktarının ($\mu\text{g/mL}$) zamana bağlı değişimi

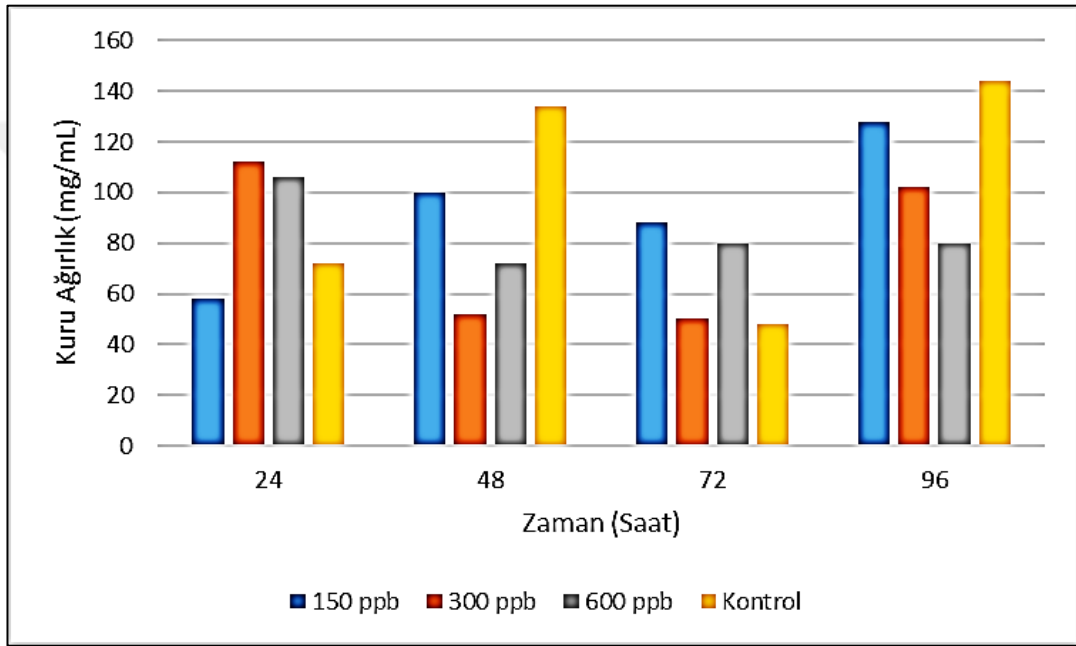
4.2.3. Kuru Madde Analizi

- *Chlamydomonas reinhardtii* kültürlerinin kuru madde analizi:

C. reinhardtii içeren deney ve kontrol setlerindeki kuru ağırlık miktarları (mg/mL) Çizelge 4.9'da gösterilmiştir. En düşük kuru ağırlık değeri 72. saatte kontrol grubunda 48 mg/mL , en yüksek kuru ağırlık değeri ise 96. saatte kontrol grubunda 144 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Test gruplarında kuru ağırlık değerleri zamana ve pestisit miktarına göre dalgalanmalar göstermiştir (Şekil 4.12).

Çizelge 4.9. *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki kuru ağırlık miktarları (mg/mL)

Zaman (Saat)	150 ppb	300 ppb	600 ppb	Kontrol
24	58	112	106	72
48	100	52	72	134
72	88	50	80	48
96	128	102	80	144



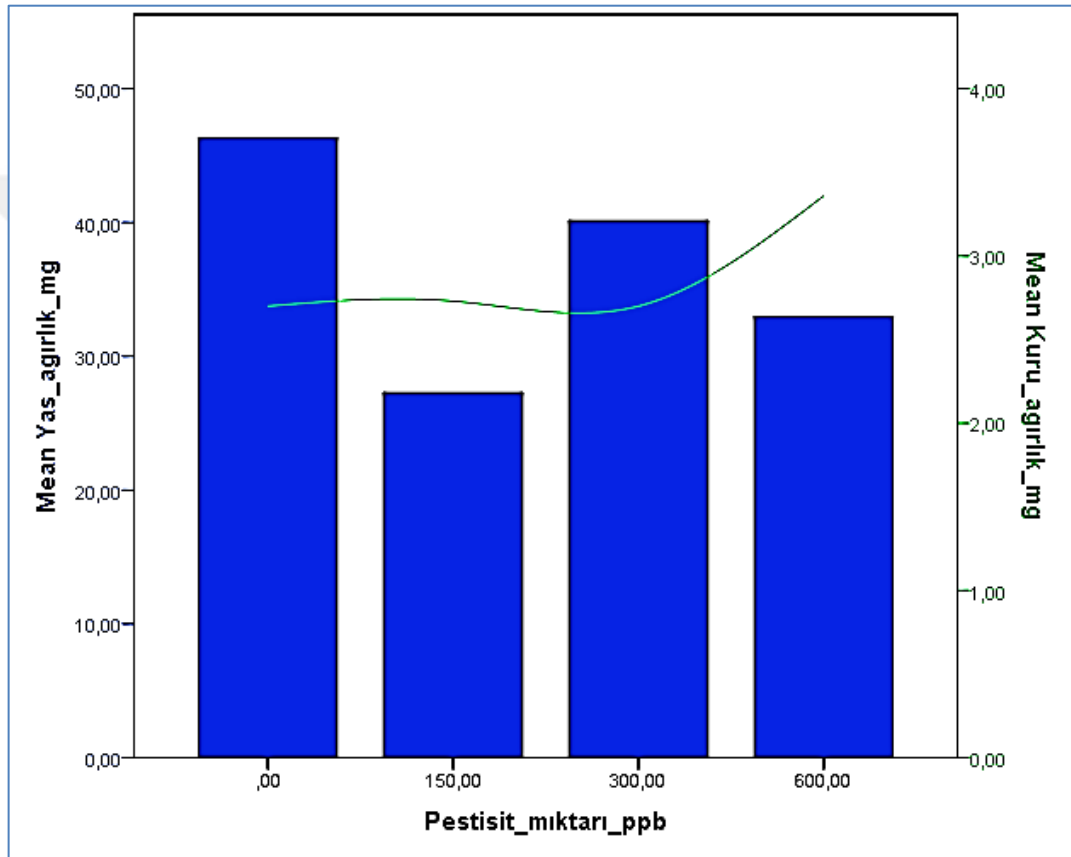
Şekil 4.12. *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki kuru ağırlık miktarları (mg/mL)

-*Lemna minor* kültürlerinin kuru madde analizi:

L. minor içeren deney setlerinde % kuru madde miktarı 600 ppb zeta-cypermethrin konsantrasyonunda % 10.19 olarak en yüksek değeri vermiştir. Pestisit miktarının 300 ppb konsantrasyondan sonraki artışında kuru ağırlık miktarı da artış göstermiştir (Çizelge 4.10 ve Şekil 4.13).

Çizelge 4.10. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki 96. saatin sonundaki kuru ağırlık miktarları (mg)

Pestisit miktarları				
	150 ppb	300 ppb	600 ppb	Kontrol
Kuru ağırlık (mg)	2.73	2.7	3.36	2.7
Yaş ağırlık (mg)	27.28	40.13	32.97	46.33
% Kuru madde	10.007	6.7	10.19	5.82



Şekil 4.13. *L. minor* içeren deney ve kontrol setlerindeki yaş ve kuru ağırlığın pestisit miktarına bağlı değişimi

4.2.4. Biyoabsorbsiyon Deneyi

Çalışmada pestisit ölçümünde yararlanılan LC-MS/MS cihazında direkt olarak alg kültürleri üzerinde (biyokütle) pestisit analizi yapılamadığından, ölçümler dolaylı olarak yapılmıştır. İlk olarak 200 mL besiyerine ekilen *C. reinhardtii* kültürlerinden 24, 48, 72 ve 96. saatlerde 10'ar mL kültür alınarak filtre kağıdından süzölmüş ve bu süzöntü üzerinde pestisit kalıntı analizleri yapılmıştır. *L. minor* kültürlerinde ise aynı işlem filtre kağıdından süzölmeden gerçekleştirilmiştir. Ancak ölçümler ve

hesaplamalar dolaylı yoldan yapıldığı için hata oranını en az seviyeye indirmek için kültür ekimi yapılmadan 200 mL'lik besiyerleri içine de pestisit uygulaması yapılmıştır. İçinde herhangi bir alg kültürü olmayan bu besiyerlerine uygulanan pestisitlerde de kalıntı analizi yapılmış ve olası bir pestisit yıkımı da belirlenmeye çalışılmıştır.

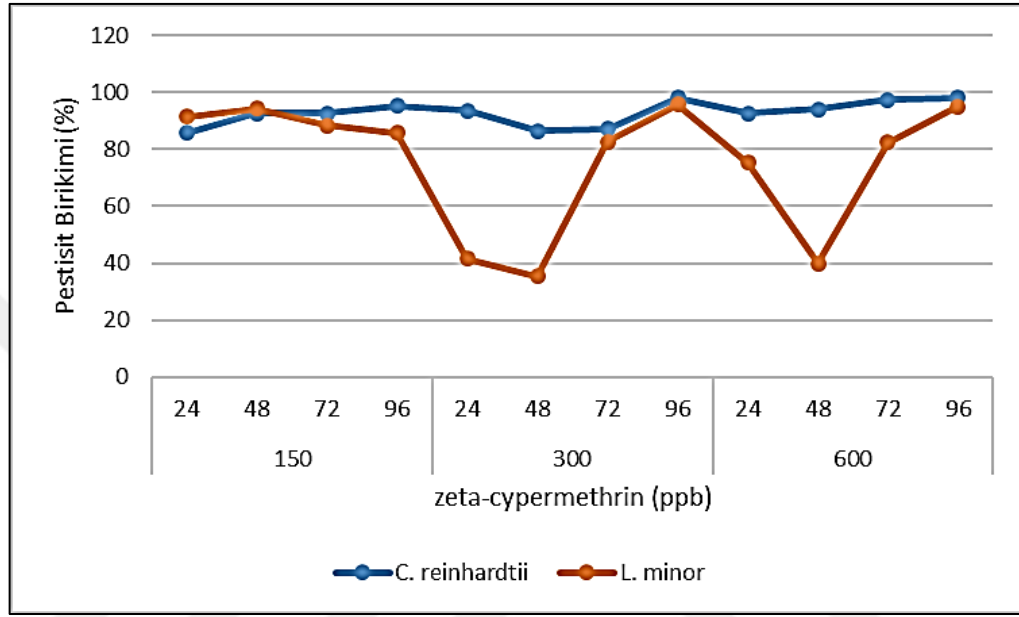
Örnek alımı ve analizlerin ölçümünde laboratuvar içi metodlar kullanılmış ve örneklerdeki insektisit miktarı Agilent Technologies marka ve 6460 Triple Quad LC/MS model LC-MS/MS cihazı kullanılarak ölçülmüştür (Çizelge 4.11). 4.8.2. LC-MS/MS analizindeki standart ve numune kromatogramları ve zeta cypermethrin standartlarına ait kalibrasyon eğrisi ekler bölümünde verilmiştir

Çizelge 4.11. *L. minor* ve *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki pestisit miktarının zamana bağlı değişimi ve ortamdaki uzaklaştırılma yüzdeleri

Zeta-cypermethrin konsantrasyonu (ppb)	Zaman (Saat)	Final konsantrasyon (ppb)		Absorbe edilen (%)	
		<i>C. reinhardtii</i>	<i>L. minor</i>	<i>C. reinhardtii</i>	<i>L. minor</i>
150	24	21.28	12.79	85.8	91.5
	48	11.12	8.40	92.6	94.4
	72	10.80	17.35	92.8	88.4
	96	7.14	21.29	95.3	85.8
300	24	19.21	175.66	93.6	41.5
	48	40.67	193.87	86.5	35.4
	72	38.06	52.17	87.3	82.6
	96	5.36	12.21	98.2	95.9
600	24	43.20	148.47	92.8	75.3
	48	35.07	360.08	94.2	40
	72	15.09	105.67	97.5	82.4
	96	10.24	30.07	98.3	95

Farklı pestisit konsantrasyonuna sahip deney setlerinde *C. reinhardtii* ve *L. minor* türlerinin ortamdaki pestisiti biyoabsorbsiyon yeteneği tespit edilmeye çalışılmıştır. Deney üç tekrarlı yapılmış ve dört gün sürdürülmüş, 24 saatte bir alınan su örnekleri LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Biyoremediasyon deneyi sonucunda *C. reinhardtii* ve *L. minor* türlerinin ortamdaki pestisiti uzaklaştırma verimlilikleri hesaplanmış; yalnızca *L. minor* türünde deneyin birinci gününde 300 ppb pestisit konsantrasyonunda % 41.5, ikinci gününde % 35.4 ve 600 ppb pestisit

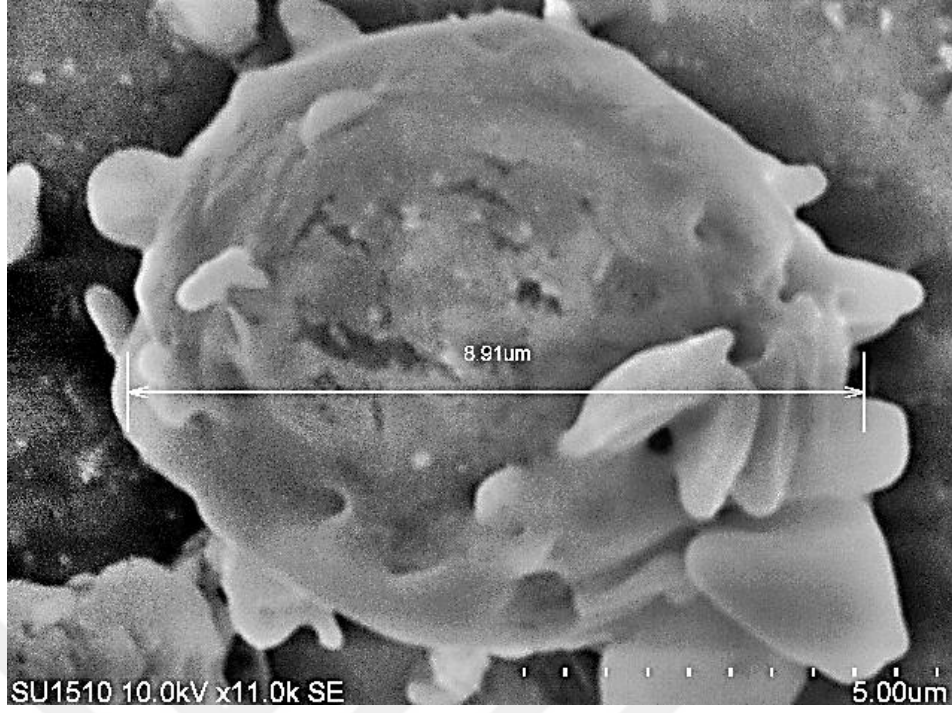
konsantrasyonunda ikinci günde % 40 ile düşük absorpsiyon değerleri gösterdiği belirlenmiştir. Bunlar dışında kalan tüm test gruplarında % 75'in üzerinde giderim oranları ile pestisit alg kültürleri tarafından büyük oranda ortamdaki pestisit uzaklaştırıldığı tespit edilmiştir. (Şekil 4.14). Standartlar ve test gruplarına ait LC-MS/MS kromatogramları Ek 1-33'de verilmiştir.



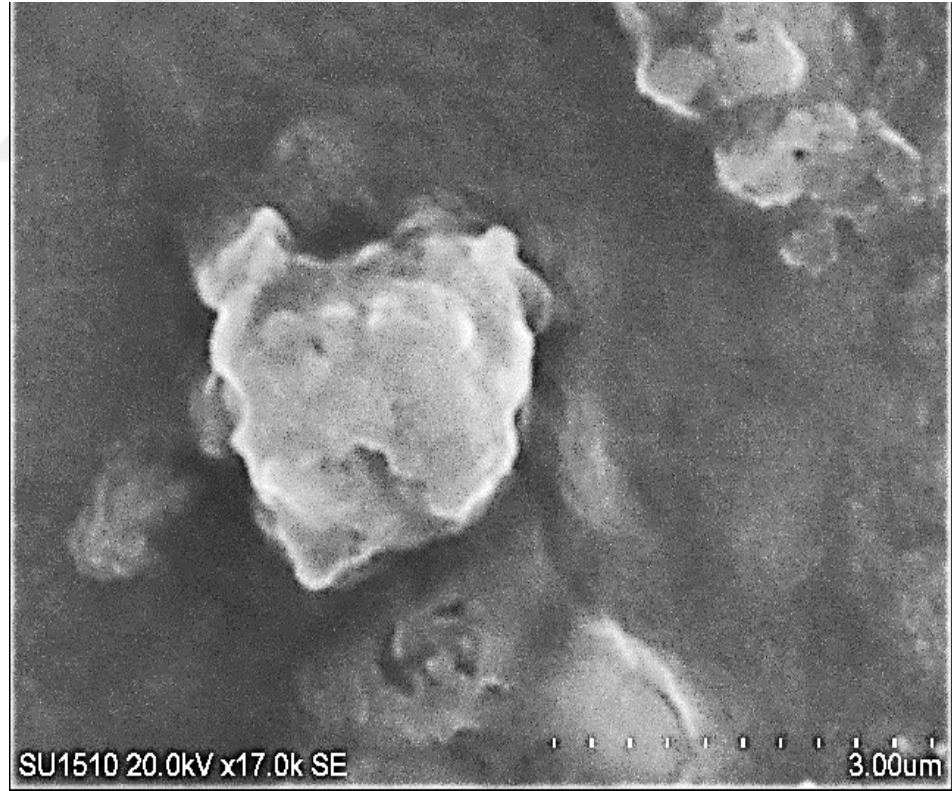
Şekil 4.14. *L. minor* ve *C. reinhardtii* içeren deney ve kontrol setlerindeki pestisit miktarının zamana bağlı değişimi ve ortamdaki pestisit uzaklaştırılma yüzdeleri

4.2.5. Örneklerin Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İle İncelenmesi

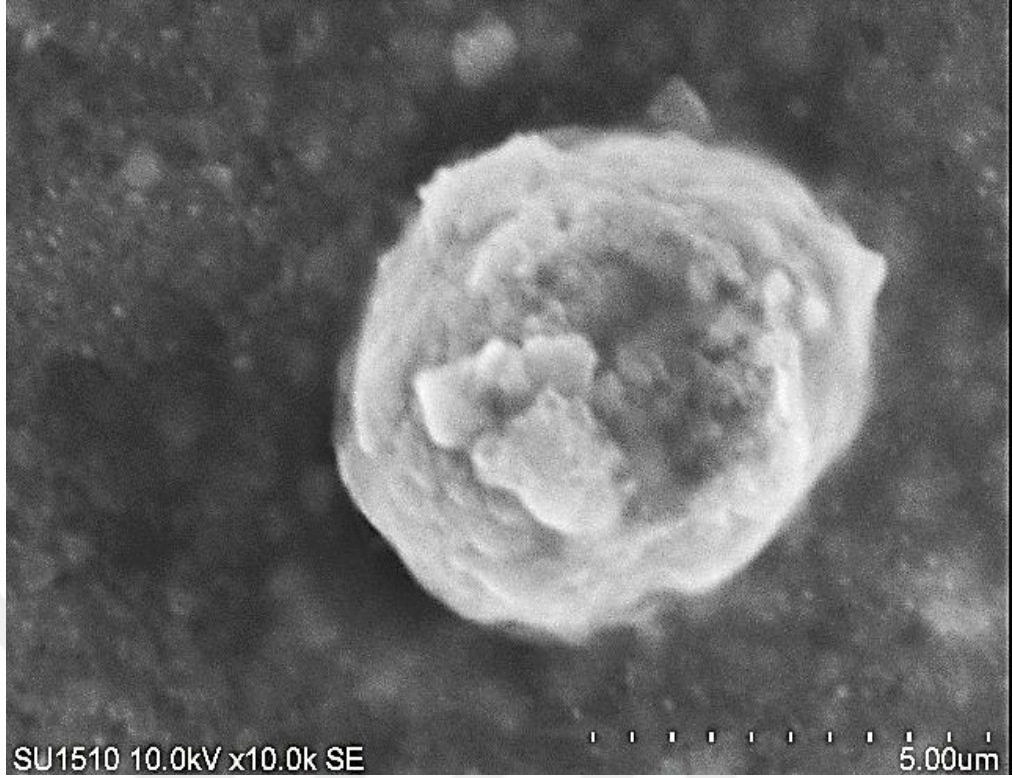
C. reinhardtii ve *L. minor* örneklerinin 72. ve 96. saatteki SEM görüntüleri Şekil 4.15-4.30'da verilmiştir. Pestisit konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak *C. reinhardtii* türünde dış çeperlerde parçalanma, hücre çapında azalma ve şekil bozukluklarının meydana geldiği görülmektedir.



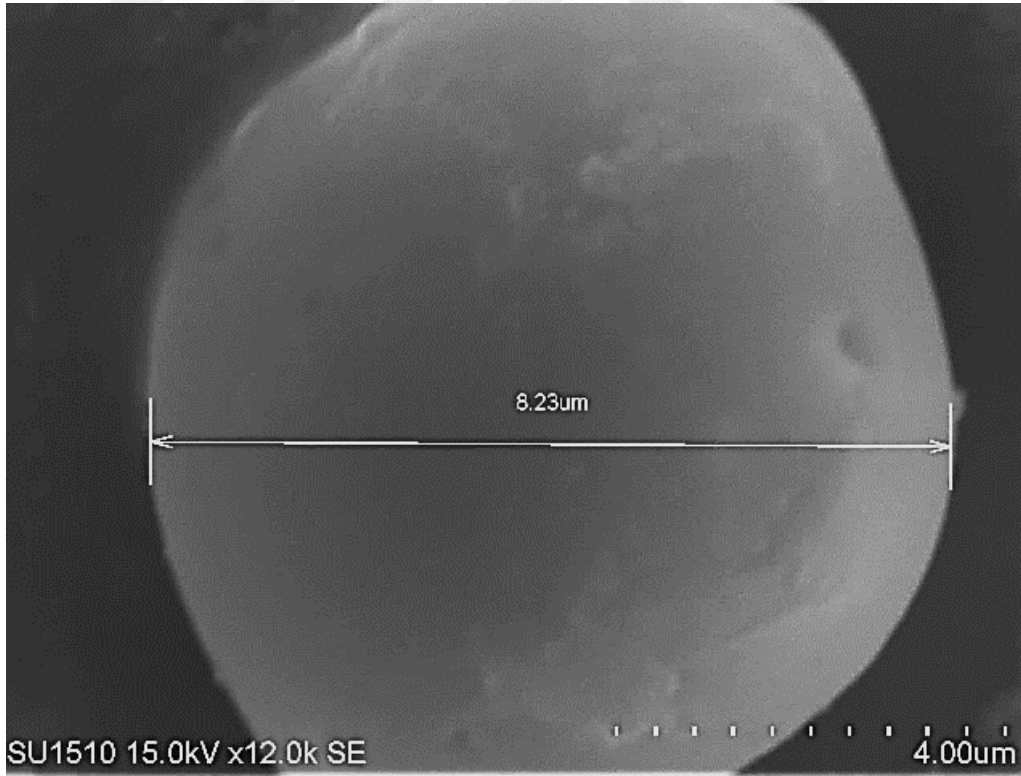
Şekil 4.15. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *C. reinhardtii*



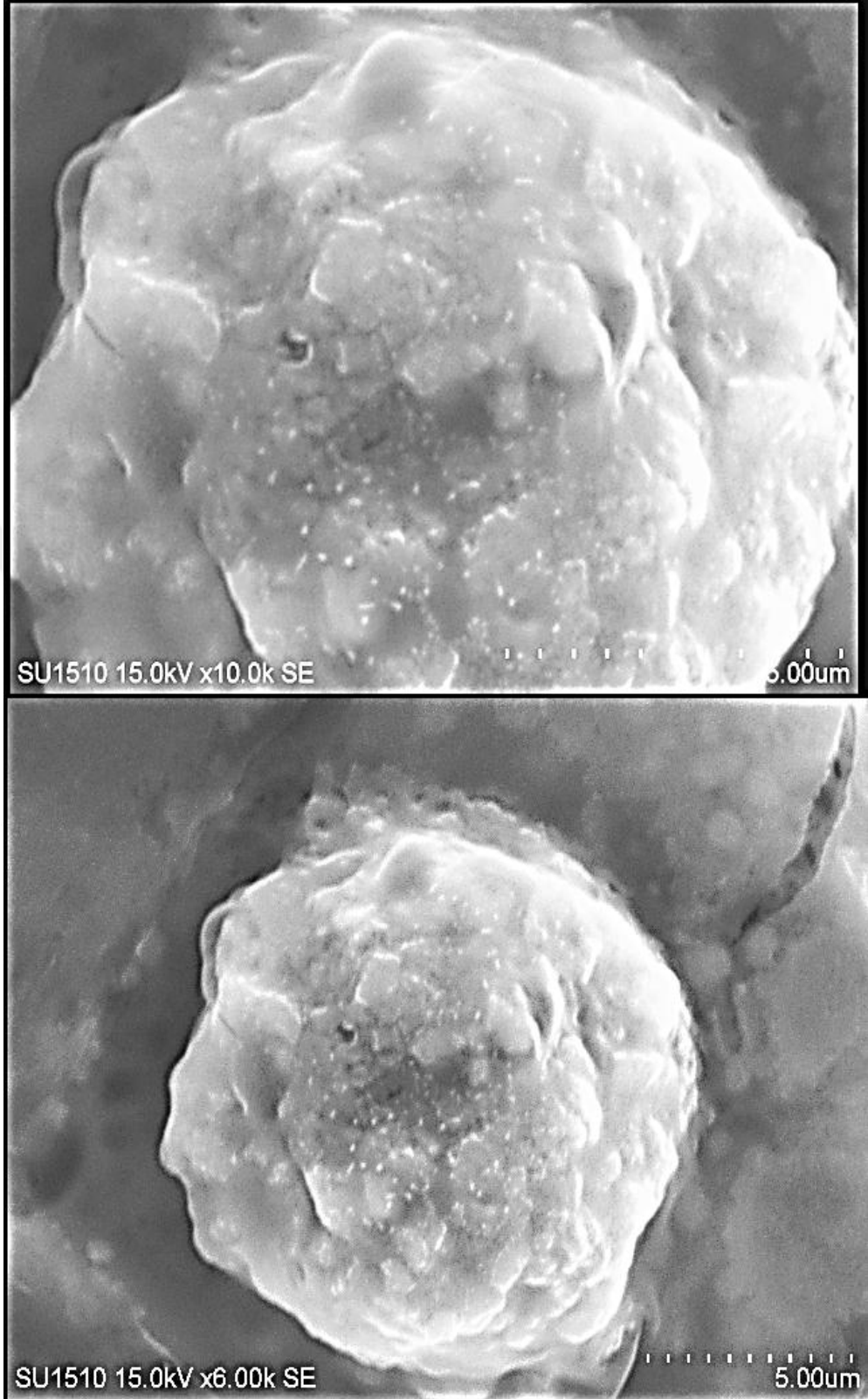
Şekil 4.16. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *C. reinhardtii*



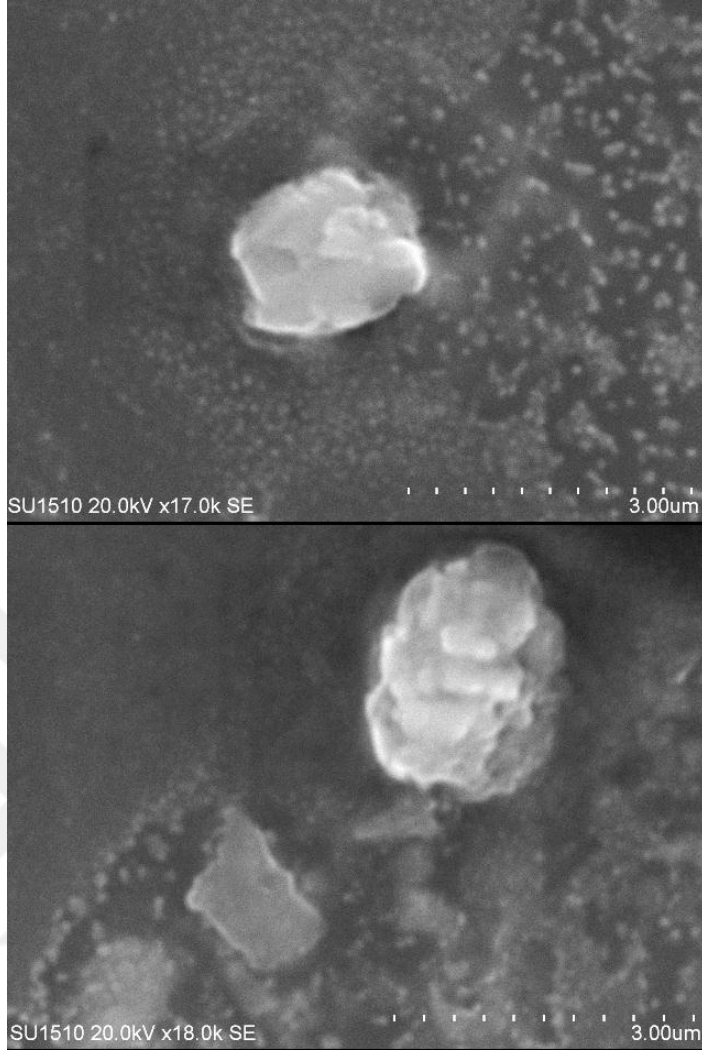
Şekil 4.17. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *C. reinhardtii*



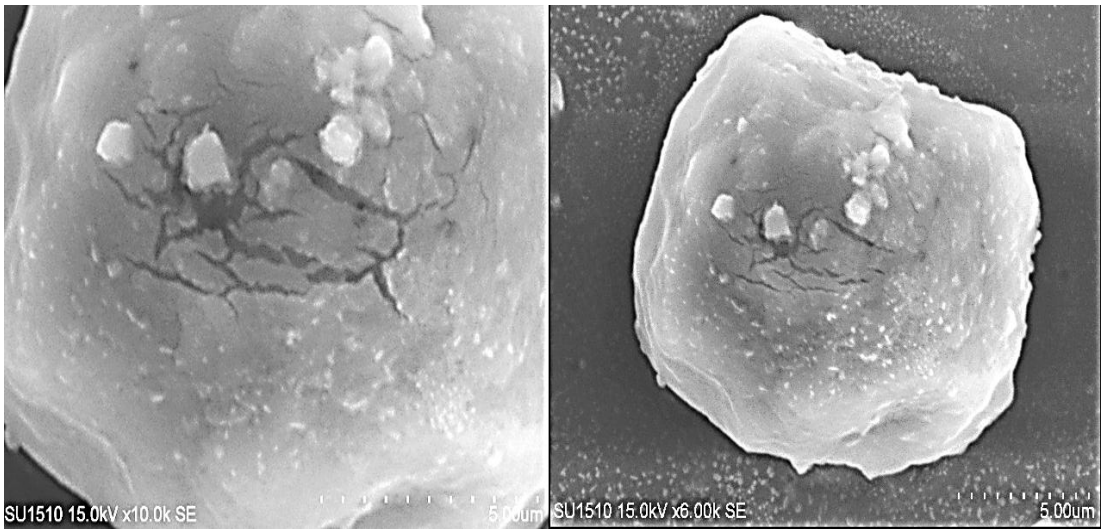
Şekil 4.18. Deneyin 72. saatinde *C. reinhardtii* kontrol grubu



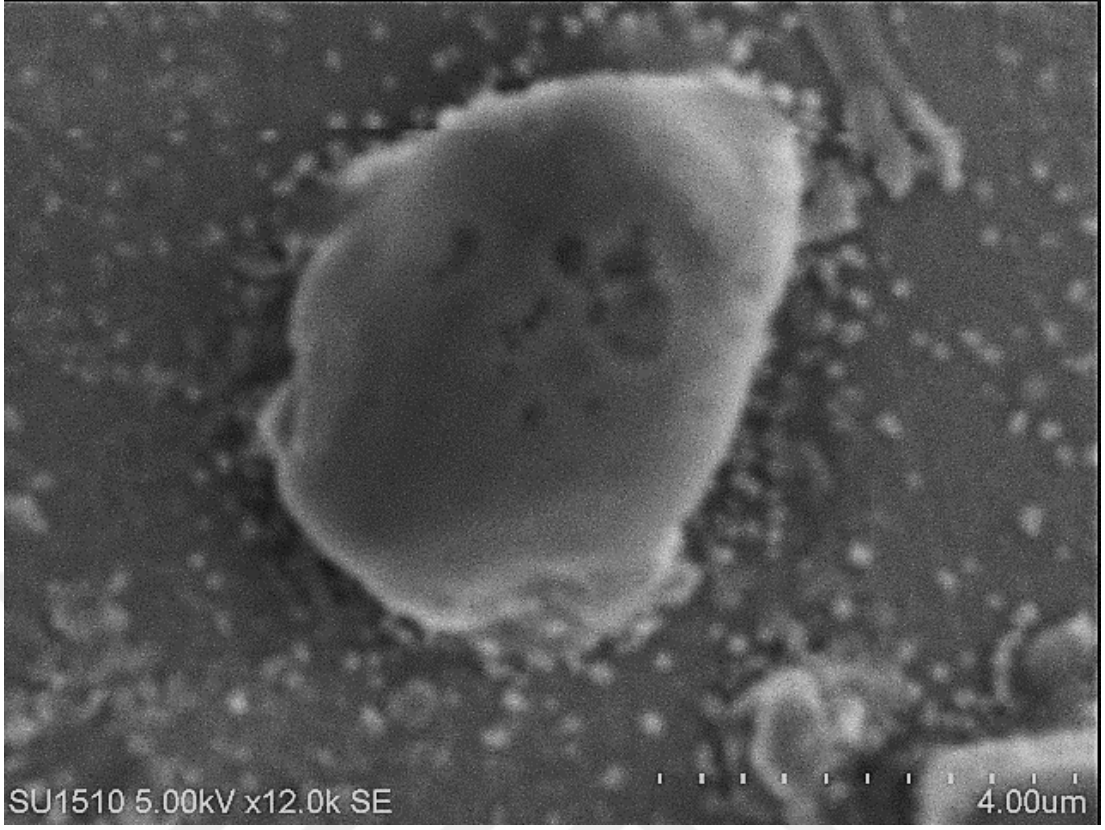
Şekil 4.19. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *C. reinhardtii*



Şekil 4.20. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *C. reinhardtii*



Şekil 4.21. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *C. reinhardtii*

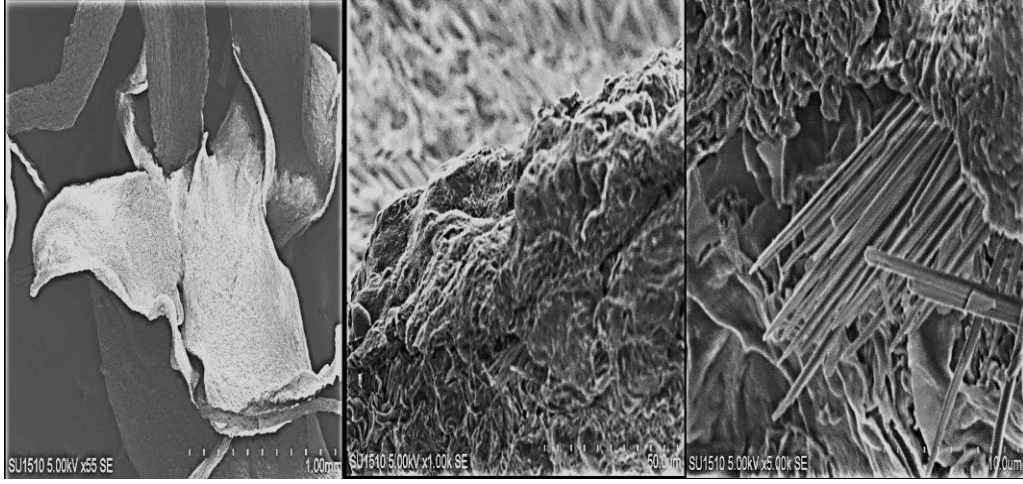


Şekil 4.22. Deneyin 96. saatinde *C. reinhardtii* kontrol grubu

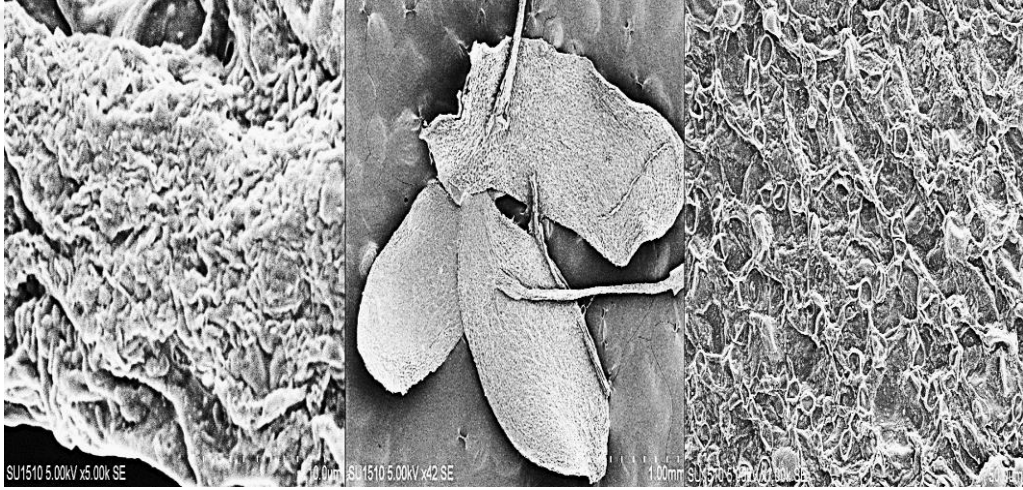
Pestisit'in *L. minor* üzerindeki morfolojik etkileri uygulanan dozun artışı ile birlikte yapraklarda küçülme, çeperde ve stomalarda parçalanma şeklinde kendini göstermiştir.



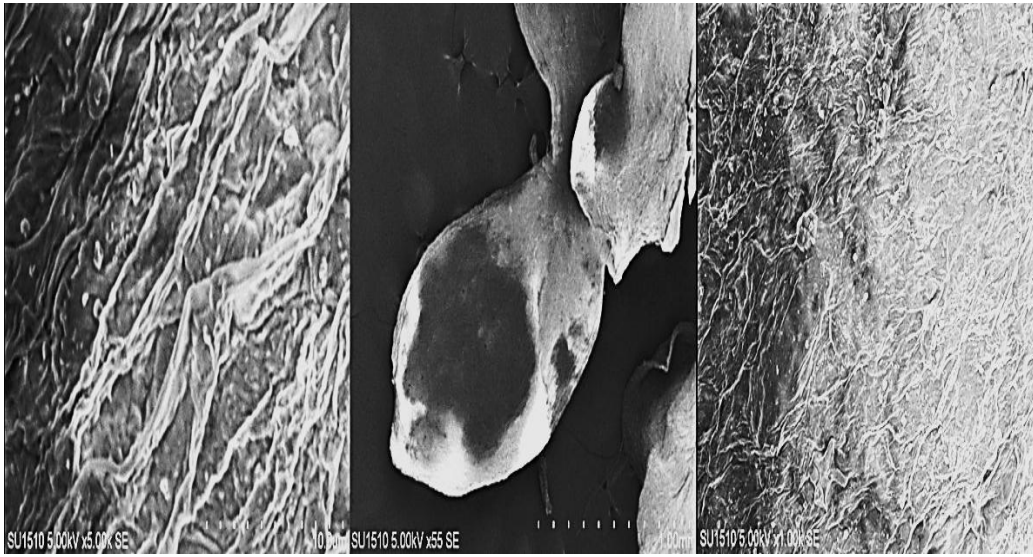
Şekil 4.23. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *L. minor*



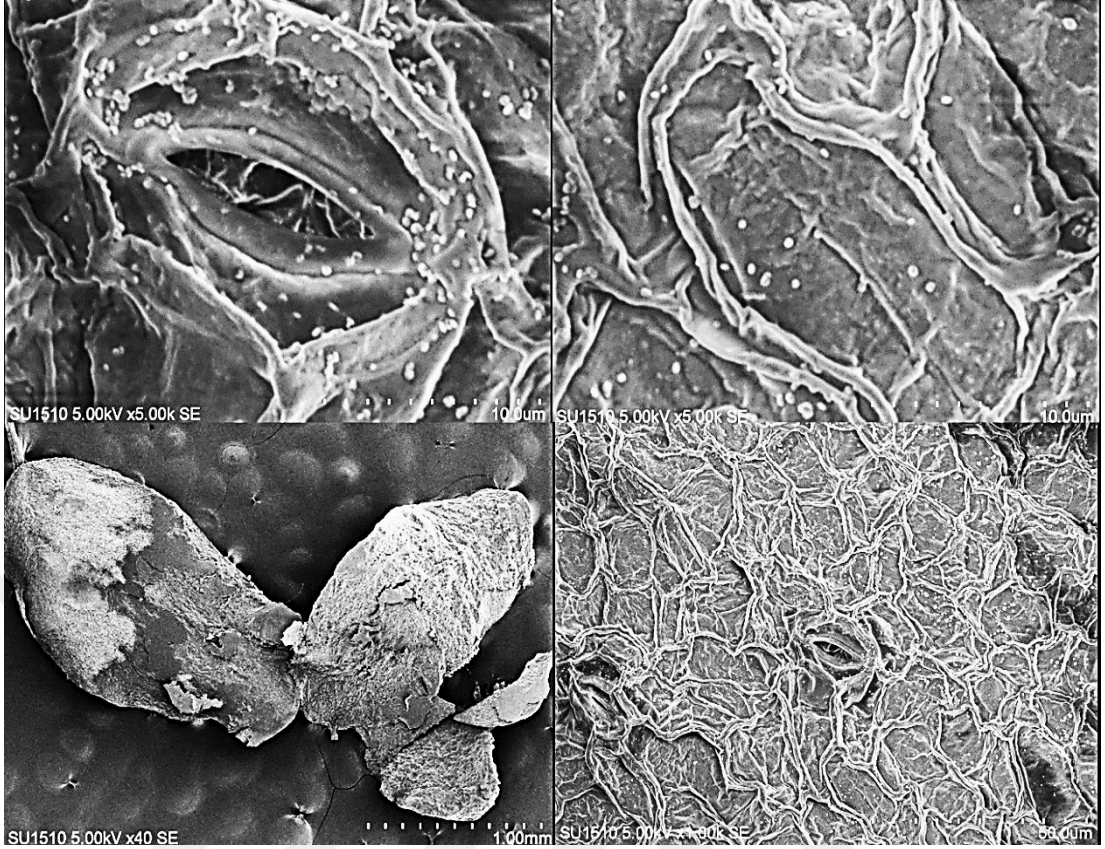
Şekil 4.24. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *L. minor*



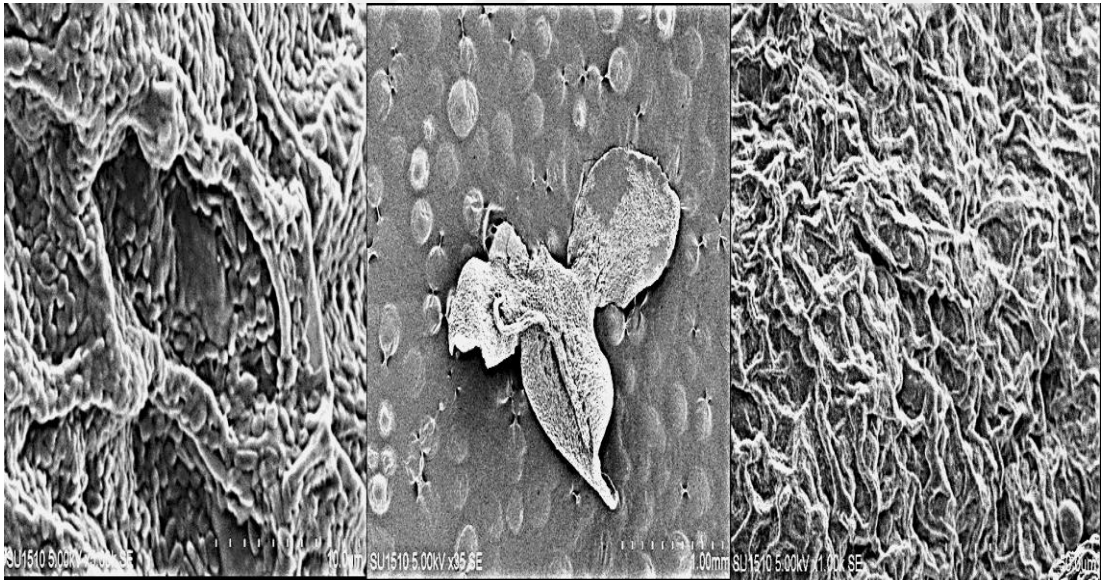
Şekil 4.25. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *L. minor*



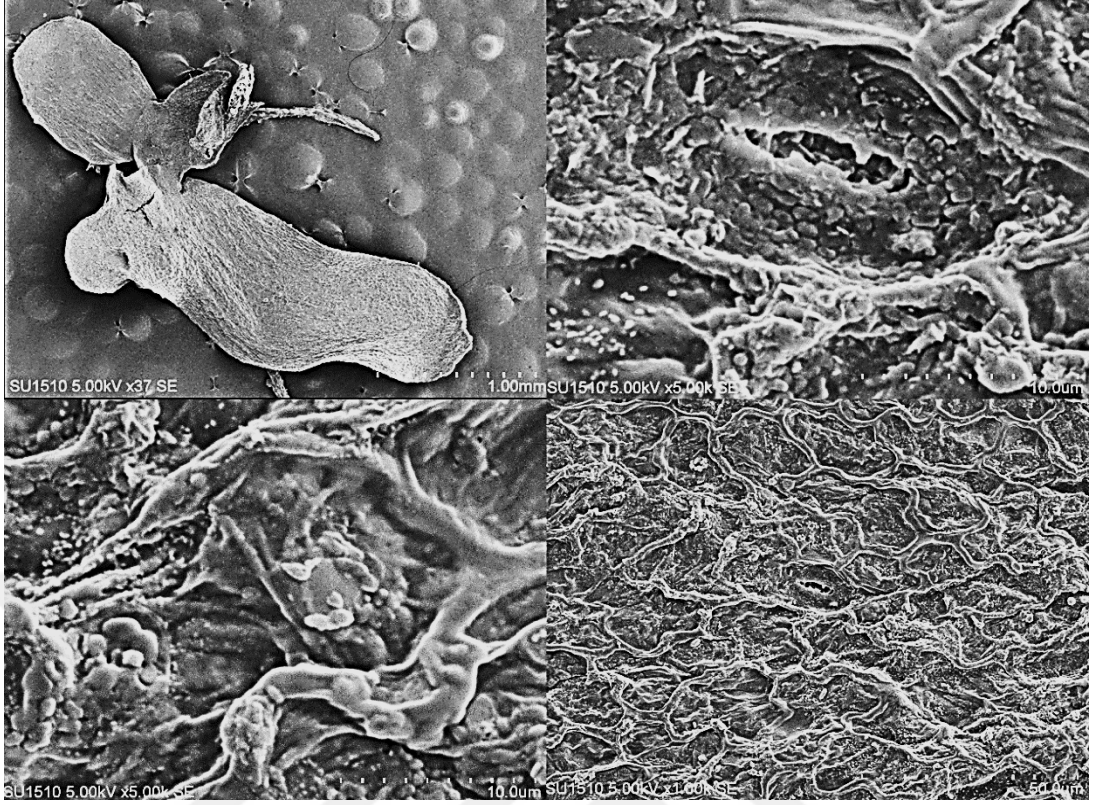
Şekil 4.26. Deneyin 72. saatinde *L. minor* kontrol grubu



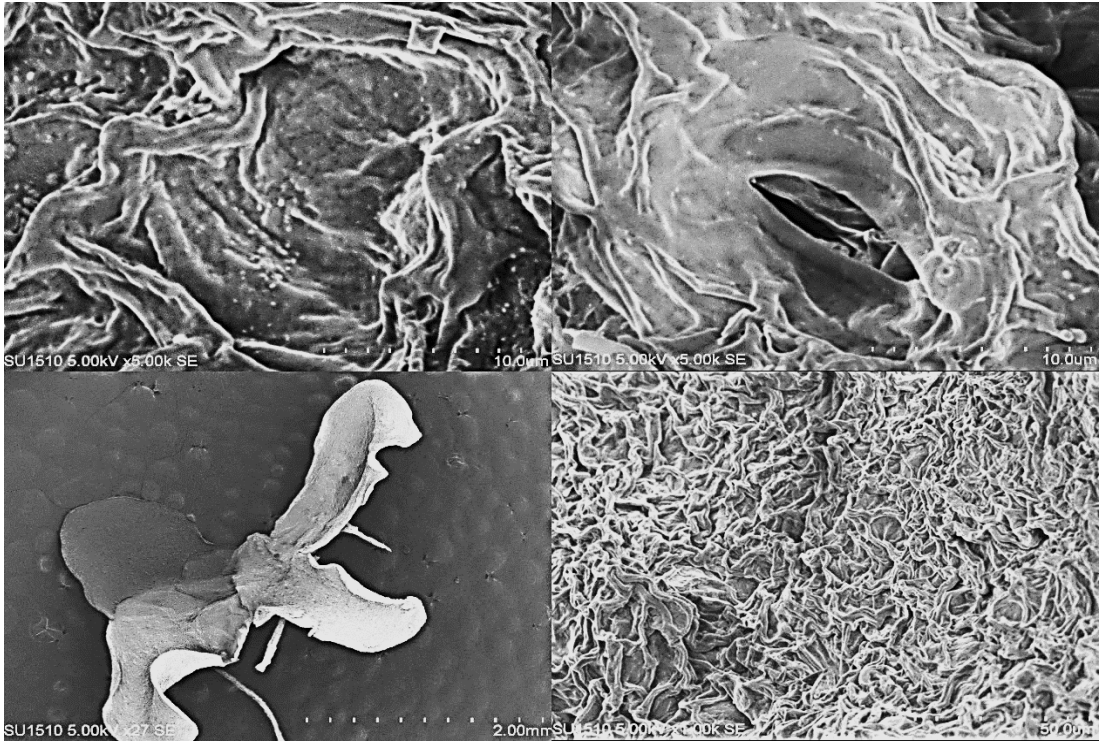
Şekil 4.27. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *L. minor*



Şekil 4.28. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *L. minor*



Şekil 4.29. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *L. minor*



Şekil 4.30. Deneyin 96. saatinde *L. minor* kontrol grubu

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Makrofitler fotosentez yaparken karbondioksiti alarak suyun pH değerini artırır, bu da karbonik asit konsantrasyonunu azaltır ve bikarbonat tampon sistemini daha fazla alkaline bikarbonat ve karbonata doğru kaydırır (Wetzel, 2001). Çalışmamızda *L. minor* içeren test ve kontrol gruplarında pH değerleri 48. saatten itibaren artış göstermiş, düşük pestisit konsantrasyonunda pH değerlerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Test gruplarının pH değerleri kontrol gruplarının pH değerlerinden daima yüksek kaydedilmiştir. 48. saatten itibaren pestisit *L. minor* türünün gelişimini düşük pestisit konsantrasyonunda diğer test ve kontrol gruplarına oranla daha fazla teşvik ettiği belirlenmiştir. Buna bağlı olarak yaprak sayısının ve fotosentetik aktivitenin artışı nedeniyle kültürlerdeki CO₂ oranının azalmasına bağlı olarak pH değerlerinin artış gösterdiği düşünülmektedir. *C. reinhardtii* içeren deney setlerinde ise pH değerleri dikkate değer bir dalgalanma göstermeyip 8.0 ila 8.7 aralığında değişim göstermiştir.

Makrofitler pestisitlerin doğrudan etkilerini hafifletmenin yanı sıra tatlısu topluluklarındaki dolaylı etkilerini de zayıflatabilir. Örneğin, makrofitler allelopati ve besleyici rekabeti yoluyla fitoplankton büyümesini baskılayabilir (Sand-Jensen ve Borum, 1991; van Donk ve van de Bund, 2002; Hilt ve Gross, 2008). Böylelikle, insektisit maruziyetini takiben zooplankton azalsa bile sucul bitkiler aşırı fitoplankton çoğalmalarını önleyebilir. Arazi koşulları altında cypermethrinin biyolojik etkileri üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bileşiğin çoğunlukla laboratuvarında akut toksisiteye neden olan konsantrasyonlarının sahada bulunan tatlısu organizmaları için toksik olmadığı bildirilmiştir. Bu durumun temel olarak, cypermethrinin askıdaki katılara adsorpsiyon yoluyla sulu fazdan uzaklaştırılarak biyoyararlanımının azaltılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Hurlbert (1975), 16 haftalık deneyinde iki gölette filamentli alglerin biyokütlesinde bir artış meydana geldiğini ve bunun sonucunda ışığın penetrasyonunu etkili bir şekilde inhibe eden ve su kolonundaki fotosentezin ve çözülmüş oksijenin giderek tükenmesine yol açan yoğun bir alg kitlesinin geliştiğini gözlemiştir. Alg büyümesindeki bu artış, normalde alglerle beslenen planktonik herbivorların mortalitesine bağlanmaktadır. Davies ve Cook, (1993), tarafından benzer sonuçlar bildirilmiştir ki, okaliptüs plantasyonuna cypermethrin uygulanmasından 21-55 gün sonra dere yatağında filamentli alglerde artış meydana gelmiştir (cypermethrin konsantrasyonu <1.0 µg/L). Yaptığımız çalışmada da *L. minor* içeren kontrol ve test

gruplarının TDS değerlerinde (392-513 mg/L aralığında) önemli bir değişim görülmezken, iletkenlik değerlerinde deney süresince belirgin bir artış meydana gelmiş ve 96. saatin sonunda 300 ve 600 ppb pestisit konsantrasyonunda en yüksek değere (sırasıyla 1 009 ve 1 008 $\mu\text{S}/\text{cm}$) ulaşmıştır. Suyun iyon kapasitesinin bir ölçüsü olan elektriksel kondüktivite (EC), sudaki çözülmüş inorganik madde derişimine ve tuzluluğa göre değişim göstermektedir. Tatlısulara elektriksel iletkenlik oldukça önemli olup, kirlilik arttıkça iletkenlik değeri 1 000 $\mu\text{S}/\text{cm}$ değerini aşmaktadır (Kara ve Çömlekçioğlu, 2004; Verep ve ark., 2005). *C. reinhardtii* içeren deney setlerinde düşük dozda TDS değerleri ilk 24 saat ani bir biçimde artarken, diğer zaman dilimlerinde kontrol grubunda ve diğer dozlarda olduğu gibi benzer bir düşüş sergilemiştir. Bununla birlikte, suyun iletkenliği ($\mu\text{S}/\text{cm}$) ve toplam çözülmüş katı madde miktarı (TDS; mg/L), tüm muamelelerde 0 ila 96. saat arasında kalan günlerde, zeta-cypermethrin konsantrasyonuna ilişkin açık bir değişim göstermemiştir. Bu faktörler, canlının birçok kimyasal maddeyi alma ve metabolize etme kabiliyetini değiştirebildiğinden, deney grupları arasındaki benzerlik daha güvenilir yorumlar yapmamızı sağlamaktadır.

C. reinhardtii kültürüne yapılan düşük miktardaki pestisit uygulamalarında (150 ppb); pestisit ilavesi ilk günde olumsuz etki yaratarak mL'deki hücre sayısında başlangıç değerine oranla % 11.7'lik bir düşüşe neden olurken, 48. saatten itibaren gelişimi kontrol gruplarına göre % 29'lara varan düzeyde artırmıştır. 96. saatin sonunda düşük konsantrasyonda zeta-cypermethrin ilavesi hücre sayısını artırarak, bu organizma üzerinde gelişmeyi artırıcı bir etkide bulunmuştur. Düşük doz herbisitlerin *C. reinhardtii* gelişimini uyarabileceği bulguları çok sayıda sentetik herbisit hedef bitki türlerinde hormitik etkilere neden olduğuna dair çalışmalarla uyum göstermektedir. Hormesis, toksikologlar tarafından, düşük doz stimülasyon veya faydalı etki ve yüksek dozda önleyici veya toksik etki ile karakterize edilen çevresel bir ajana bifazik bir doz yanıtını belirtmek için kullanılan bir terimdir (Mattson, 2008). Çalışmamızda *L. minor* büyüme oranları dikkate alındığında; 24. saatte özgül büyüme oranı kontrol grubuna oranla % 22 daha düşük olmasına rağmen, 48. saatten itibaren düşük doz uygulamasında özgül büyüme oranı artış göstermiştir. Yalnızca 96. saate gelindiğinde % 20'lik bir düşüş görülmüştür. Daha yüksek doz uygulamalarında ise tüm zaman dilimlerinde özgül büyüme oranlarının kontrol grubuna göre daha düşük değerlerde

olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar literatürdeki bilgilerle benzerlik göstermektedir. Kimyasal maddelerin büyük ölçekli taranması, herbisidal ajanların, hormonal nitelikteki iki fazlı doz-yanıt ilişkilerini indüklenme kapasitesini sürekli olarak ortaya koymuştur (Wiedman ve Appleby, 1972; Allender, 1997; Appleby, 1998). Mikroalg türlerinden olan *Pavlova lutheri* (Droop) J.C.Green, *Dunaliella tertiolecta* Butcher ve *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve ile yapılan çalışmada, algler farklı tributil kalay (TBT) konsantrasyonlarında kültüre alınmış, çalışmanın sonuçlarına göre ölüm 5 µg/L TBT’de 2 gün içinde gerçekleşmiş ve her üç türün büyümesi 1 µg/L TBT’de büyük oranda azalmıştır. 0.1 µg/L TBT’de kültürlenmiş *S. costatum* türünde neredeyse hiçbir gelişme gözlenmezken, diğer iki türün gelişimi bu konsantrasyonda kontrollere kıyasla önemli ölçüde azalmış olsa da bir miktar artış göstermiştir. Bu sonuçlar, bazı bölgelerdeki birincil üretimin yüksek TBT seviyeleri tarafından önemli ölçüde etkilenebileceğini düşündürmektedir (Beaumont ve Newman, 1986). Başka bir çalışmada, enrofloxacinin (florokinolon grubunda yer alan bir antibiyotik) bitkiler üzerindeki fitotoksitesini bir laboratuvar modelinde *Cucumis sativus*, *Lactuca sativa*, *Phaseolus vulgaris* ve *Raphanus sativus* türlerinde tespit edilmiş ve çalışmada 50, 100 ve 5 000 µg/L’lik konsantrasyonlarda enrofloxacinin etkisi, primer kök, hipokotil, kotiledon ve yaprakların post germinatif büyümesinin ölçülmesiyle 30 gün maruz bırakıldıktan sonra değerlendirilmiştir. 50 ve 5 000 µg/L arasındaki konsantrasyonların, birincil kök, hipokotil, kotiledonların uzunluğunu ve yaprakların sayısını/uzunluğunu önemli ölçüde değiştirerek, bitkilerde hem toksik etkiye hem de hormesis neden olduğu; düşük konsantrasyonlarda (50 ve 100 µg/L) hormesis, yüksek konsantrasyonda ise (5 000 µg/L) toksik etki olduğu tespit edilmiştir (Migliore ve ark., 2003). Dokuz herbisit, bir fungusit ve ikili karışımlarına maruz bırakılan dört türde (su bitkisi *Lemna minor*, mikroalg *Pseudokirchneriella subcapitata* ve iki karasal bitki *Tripleurospermum inodorum* ve *Stellaria media*) hormesis araştırılmış ve toplamda 687 doz-yanıt eğrisi veri tabanına dahil edilmiştir. Herbisitler glifosat ve metsülfuron-metilde eğrilerin >% 70’inde, akifluorfen ve terbütiazin eğrilerinin >% 50’inde hormesis bulunmuştur (Cedergreen ve ark., 2007). Bu çalışmalarda görülen benzer hormesis durumu, yaptığımız biyodeneylelerde düşük doz pestisit uygulamalarında da kaydedilmiştir.

C. reinhardtii türünde pestisit konsantrasyonu daha az olduğunda pestisit degregasyona uğrayarak alg hücreleri tarafından bir nütrientmiş gibi absorbe edilir, ancak daha yüksek dozlarda pestisit zehirli etkisi ortaya çıkarak alg gelişimini kısıtlamaktadır. Düşük konsantrasyon deneylerinde uygulanan konsantrasyon *C. reinhardtii* ve *L. minor* türlerinin gelişimi üzerinde herhangi bir baskı gerçekleştirilmemiş, aksine hormesis etkisi ile gelişimi artırmıştır. Benzer birçok çalışmada da organik kirleticilerin özellikle düşük konsantrasyonda büyümeyi teşvik ettiği ortaya konulmuştur. Bu durum çalışma sonuçlarımızla uyum içerisindedir. Mikroorganizmalar pestisitler de dahil olmak üzere bir dizi organik kirleticiyi büyümeleri için bir enerji kaynağı olarak kullanabilir ve aynı zamanda bileşikleri detoksifiye ve mineralize edebilir (Grigg ve ark., 1997; Massoud ve ark., 2008). Yeşil alglerin kullanıldığı pestisit ve ilgili bileşiklerin metabolizması üzerine yapılan diğer çalışmalar; methyl parathion, parathion, malathion, phorate, quinalphos ve monocrotophos gibi organofosforlu pestisitler üzerinde gerçekleştirilmiştir (Megharaj ve ark., 1994). Ayrıca ökaryot alglerin ve siyanobakterilerin PAH (polisiklik aromatik hidrokarbonlar)'ları metabolize edebildikleri 1980 yılından beri bilinmektedir. Yeşil, kırmızı ve kahverengi algler ve siyanobakteriler (Cerniglia, 1992) naftalini (gübrelerde ana madde) ve yeşil alg *Selenastrum capricornutum* fototropik koşullar altında benzo(a)pireni metabolize edebilir (Warshawsky ve ark., 1990). Yeşil mikroalgler tarafından metabolize edilen diğer pestisitler lindane, phenol, chlordimeform, DDT'dir (Priyadarshani ve ark., 2011).

Biyodeneyimizde, yüksek miktardaki pestisit uygulamaları *C. reinhardtii* hücre sayısında kontrol grubuna göre 24. saatte % 44, 48. saatte % 62, 72. saatte % 55, 96. saatin sonunda % 48'lik bir düşüş meydana getirmiş ve kültürlerin gelişimi baskılanmıştır. Yüksek konsantrasyon deneylerinde *L. minor* özgül büyüme oranlarında kontrol grubuna göre 24. saatte % 88, 48. saatte % 50, 72. saatte % 33, 96. saatin sonunda ise % 82'lik bir düşüş meydana gelmiştir. Kültüre eklenen pestisitler algler tarafından absorblanıp, alg gelişiminde ve protein içeriğinin artışında kullanılabilir besleyici bir madde niteliği kazanır (Shen ve ark., 1999; Yan ve ark., 1999). Ancak pestisit yüksek bir konsantrasyonda verilmesi çalışmamızda alg kültürlerinin gelişimlerini dereceli olarak geriletmiştir. Bunun sonucunda *C. reinhardtii* kültürlerinde alg hücrelerinin yapılarında meydana gelen bozulmaya bağlı

olarak (SEM görüntülerinde de görüldüğü gibi) alg hücrelerindeki kloroplast yapısı da bozulmaya başlamış, klorofil-*a* içeriği düşmüş ve hücrelerdeki sentez azalmıştır. Zamanla kültürün rengi yeşilden, yeşilimsi-sarıya dönmüştür. *L. minor* türünde ise yüksek konsantrasyonda deney sonunda yaprak sayısı azalmış ve klorozis meydana gelmiştir. Alg hücreleri ve pestisit konsantrasyonları farklı seviyelerde bulduklarında sahip oldukları fonksiyonlar farklı baskınlıkta olmaktadır. Bu nedenle farklı etkiler ve fonksiyonlar sergilenmektedir (Liu ve ark., 1998). Pestisitler, alglerin büyümesini, fotosentezi, azot fiksasyonunu, biyokimyasal kompozisyonu ve metabolik fonksiyonlarını etkileyerek zararlı etkilere neden olabilir (Bhunja ve ark., 1992). Benzer şekilde birçok pestisit, siyanobakterilerde büyüme üzerinde hiçbir etkiye sahip olmadığı, hatta büyümeyi hızlandırıcı etkiye sahip olmasına karşın, azot aktivitesi, fotosentez, karbon fiksasyonu ve siyanobakterilerdeki asimilat nitrat indirgeme ve amonyak asimilasyon enzimleri gibi çeşitli fizyolojik işlemleri etkileyebildiği belirlenmiştir (Nagpal ve Goyal, 1992).

Yaptığımız çalışmalar sonucunda, 150 ppb zeta-cypermethrin içeren *C. reinhardtii* kültürlerinde, ilk 48 saat süresince klorofil-*a* değerlerinin yükseldiği, yüksek dozun ise alglerdeki pestisitlere maruz bırakılan süre arttıkça fotosentetik kapasiteyi düşürdüğü ortaya konulmuştur. 150 ppb pestisit içeren test ortamının kontrol grubuna göre *C. reinhardtii* klorofil-*a* değerlerini 24. saatte % 15, 48. saatte ise % 17 oranında artırdığı görülmektedir. Bu durum hücre sayısındaki artışla uyum içindedir. 300 ve 600 ppb pestisit konsantrasyonlarında ise tüm zaman dilimlerinde klorofil-*a* değerleri kontrol gruplarına göre daha az hesaplanmıştır. Makrofitlerin ve alg türlerinin devamlılığı için, pestisitle kontamine suya maruz kaldıklarında yüksek fotosentez oranını korumaları gerekmektedir. *L. minor* türünde ise klorofil-*a*, klorofil-*b* ve karotenoid değerleri özgül büyüme oranları ile benzer bir değişim göstermekte olup, 150 ppb pestisit muamelesinde 48. ve 72. saatlerde kontrol gruplarına göre artış göstermiştir. Klorofil-*a* değerleri düşük doz pestisit uygulanan grupta 48. saatte kontrole göre % 81, 72. saatte ise % 43'lük bir artış gösterirken, 96. saatte yaklaşık % 6'lık bir düşüş göstermiştir. Klorofil-*b* değerleri de benzer şekilde düşük doz pestisit uygulanan grupta 48. saatte kontrole göre % 48, 72. saatte ise % 71'lik bir artış gösterirken, 96. saatte yaklaşık % 8'lik bir azalma göstermiştir. Karotenoid miktarı düşük dozda 72. saatte kontrol grubuna göre % 42, 96. saatte ise % 12.5 oranında yüksek bulunmuştur.

Diğer tüm pestisit dozlarında ve zaman dilimlerinde klorofil-*a*, klorofil-*b* ve karotenoid değerleri kontrol gruplarına göre düşük hesaplanmıştır.

Sucul kirleticilerin mikroalgler üzerindeki sitotoksik etkileri çok heterojen olup çevresel koşullar ve test türleri tarafından etkilenmektedir. Büyüme, fotosentez, klorofil flüoresansı ve diğer parametreler, kirleticilerin mikroalgler üzerindeki toksik etkilerini yansıtmaktadır (Cid ve ark., 2012). Pigmentler genellikle algler de dahil olmak üzere bitkilerdeki herbisitlere maruz kalmanın biyolojik belirteçleri olarak kullanılır (Couderchet ve Vernet, 2003). Yeşil alglerde bulunan en önemli fotosentetik pigmentler klorofiller ve karotenoidlerdir. Klorofil ölçümü, pestisitlerin alg oluşumu üzerindeki etkilerini değerlendirmek için en yaygın kullanılan parametrelerden biridir. Fotosentetik mekanizmaların fonksiyonelliği, fotosentez hızını tahmin ederek veya Fotosistem II klorofil flüoresans parametrelerini ölçerek değerlendirilebilir. Bununla bağlantılı olarak, fotosentetik pigmentlerin, özellikle klorofiller ve karotenoidlerin seviyeleri vardır. Potansiyel olarak toksik maruziyete yanıt veren diğer, daha spesifik enzimler, muhtemelen toksik bileşiklerin eliminasyonunda yer alan ksenobiyotik savunma mekanizmalarının enzimleridir (Nestler, 2012). Optimum koşullar altında, klorofil tarafından absorbe edilen ışık enerjisinin çoğu, flüoresan ve ısı emisyonuna ayrılmış küçük bir oranla kimyasal dönüşüm yoluyla giderilir, ancak organizmanın fotosentetik kapasitesi stres koşulları altında azaltılabilir. Bu durum fotosistem II seviyesinde elektron taşınımını engelleyen herbisitlere maruz kalan mikroalglerde gözlemlenmiştir (Eullaffroy ve Vernet, 2003). Anti-fotosentetik herbisitler hücre zarlarını yok eden yüksek enerjili serbest radikallerin üretimi ile bitki ölümüne neden olabilir (Dodge, 1977). Schauberger ve Wildman, (1977), iki farklı pestisit mavi-yeşil alglerin fotosentetik pigmentleri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, 100 µg/L pestisit konsantrasyonunda, pigment emiliminin belirgin biçimde azaldığını ve 1 000 µg/L'de ise ciddi bir etki meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Orus ve ark., (1990) da trichlorfonun *Anabaena* üzerinde artmış hücre hacmi, düzensiz bölünmelerin oluşması ve filament başına düşen hücre sayısının azalması gibi benzer morfolojik etkileri belirledikleri çalışmalarında, aynı zamanda pestisit fikobiliproteinlerin ve klorofillerin miktarında azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir. Toksik dozlarda carbaryl ve 1-naphthol, *Nostoc linckia* Bornet ex Bornet & Flahault türünde filamentlerin morfolojisinde ve hücresel yapıda hasar, spor

oluşumu eğilimi ve heterosist dejenerasyonu gibi değişikliklere neden olmuştur (Megharaj ve ark., 1993). *Trichormus fertilissimus* (C.B. Rao) Komárek & Anagnostidis, *Aulosira fertilissima* S.L. Ghose ve *Westiellopsis prolifica* Janet türlerinde endosulfan ve tebuconazole karşı klorofil-*a* ve karotenoidlerin yanısıra aksesuar pigmentlerin strese bağlı tepkilerini belirlemeyi hedefleyen bir çalışmanın sonucunda, yükselen konsantrasyonların pigmentleri, karbonhidratları, proteinleri ve amino asitleri önemli ölçüde azalttığı ortaya konulmuştur (Bora, 2012). Prasad ve ark. (2005), çeltik tarlasındaki siyanobakteriler üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerde endosulfanın neden olduğu değişiklikleri inceledikleri çalışmalarında ise klorofil-*a*, karotenoid ve fikosiyanın içeriklerinde azalma gözlemleyerek benzer sonuçlar elde etmişlerdir. Mohapatra ve ark., (2003), cypermethrinin 20 ppm ve 50 ppm'lik konsantrasyonlarına 45 dakika ila 30 saat süre ile maruz bıraktıkları filamentli siyanobakteri *Anabaena doliolum* türünde klorofil-*a*, karotenoid ve fikobiliprotein içeriklerinde kayda değer bir azalma gözlemlemişlerdir. Yine, Mohapatra ve Schiewer (2000), organofosforlu insektisitlerin toksik-membran etkileşimi ile *Synechocystis* PCC 6803'ün flüoresans davranışındaki ve pigment içeriğindeki değişikliklerden sorumlu olduğunu belirlediği çalışmalarında, aynı zamanda klorofil-*a* ve karotenoidin azaldığını öne süren Mostafa ve Helling'in (2002) çalışmaları ile de uyumludur. Fikobiliproteinlerin içeriği, pigment sentezinin doğrudan insektisit tarafından inhibisyonuna ya da stres esnasında fotosentetik elektron taşıma zincirinin çeşitli yerlerinde artan aktif oksijen türleri (AOS) oluşumuna bağlı olarak pigmentlerin hızlandırılmış bozunmasına atfedilebilir. Bu sonuçlar, aynı zamanda Porsbring ve ark., (2009) tarafından araştırılan mikroalg komünitelerinin klorofil-*a*, karotenoidler ve fikobiliproteinleri üzerindeki diğer fungusidlerin zararlı etkileri ile uyumaktadır. Prado ve ark., (2011), *Chlamydomonas moewusii* Gerloff türünün fotosentetik pigment içeriğinin analizi ile konsantrasyonuna ve maruz kalma süresine bağlı olarak 50 nM'nin üstündeki herbisit mikroalg hücrelerinde klorozis oluşturduğunu belirlemiştir. Mayer ve Jensen'in (1995), *Selenastrum capricornutum* türünde triazin kaynaklı alg klorofil içeriğinde artışa örnekler bildirmiştir. Bu tolerans mekanizması olarak yorumlanabilir (Francois ve Robinson, 1990). Bu işlem, herbisitlere maruz kalmanın tetiklediği homeostatik bir mekanizmadan kaynaklanabilir. Tilakoid bileşenlerin sentezi gibi tepkiler, elektron taşıma hızının fotosentez için kesinlikle

sınırlı olduğu durumlara genel bir uyum uyarısı olarak düşünülür. Fotosentetik inhibisyon işlemi sonucunda, mikroalg hücreleri CO₂ sabitlemesi için yeterli enerjiye sahip olamazlar. Denenen herbisite 96 saat maruz kaldıktan sonra kültürlerde C içeriğinin azalmasının nedeni bu olabilir (Behra ve ark., 1999). Wakabayashi ve ark., (1988), *Desmodesmus obliquus* hücrelerini kullanarak 20 farklı sıklıkta imid herbisit ve oksifluorfenin büyüme, fotosentetik pigmentlerin içeriği ve kloroplast bileşenlerinin bozunması üzerine yaptıkları çalışmada, bu bileşiklerin büyümeyi engellediğini, klorofil ve karotenoidlerin içeriğini azalttığını belirlemiştir. Klorofilin azaltılmasının, klorofil biyosentez enzimlerinin herbisitlere duyarlılığına bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Herbisit alaklorun altı farklı konsantrasyonunun (0, 1, 10, 30, 100 ve 1 000 µg/L) alg toplulukları üzerindeki etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, klorofil-a 1.0 µg/L düzeyinin haricinde tüm alaklor konsantrasyonlarında önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (Spawn ve ark., 1997). Hamala ve Kollig, (1985), 100 µg/L atrazine maruz bırakılmış suni derelerde alg yoğunluğunda belirgin bir düşüşün görüldüğünü, Krieger ve ark. (1988) ise, 134 µg/L atrazinde klorofil-a ve alg biyokütlesinin azaldığını bildirmişlerdir. Teisseire ve ark., (1999), fotosentetik inhibitör bir herbisit olan diuronun inhibisyonu indüklemek için 5 µg/L (yaklaşık 20 nM) kadarının *L. minor* büyümesinin çok güçlü bir inhibitörü olduğuna dair kanıtlar sağlamıştır. Büyümenin engellenmesi doğrudan fotosentezin ışık reaksiyonu sırasında fotosistem II'deki elektronun diuron tarafından bozulmasından kaynaklandığı ve sonuçta karbon özümlemesi ve karbonhidrat üretiminin durduğu sonucuna varılmıştır (Kleczkowski, 1994). Sun ve ark., (2015), yüksek konsantrasyonlarda chlorpyrifos ve dichlorvosun klorofil içeriğinin önemli ölçüde azalmasına neden olduğunu belirlemiştir. Emers bitkiler için fotosentetik inhibisyon, atrazin konsantrasyonu artışı ile artmıştır (Jones ve Winchell, 1984). Atrazin, kloroplastlarda elektron taşıma zincirini bloke eder ve böylece reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretilmesi dolayısıyla antioksidan savunma gelişiminin uyarılmasına neden olur (Ivanov ve ark., 2005). Fargašová (1997), yaptığı çalışmada pestisitlerin *Scenedesmus*'un büyüme eğrisi ve klorofil-a gelişimi üzerinde baskılayıcı bir etkisi olduğunu belirlemiştir. Tüm bu literatürler ışığında, bizim çalışmamızda da orta ve yüksek doz pestisit uygulamaları 24. saatten itibaren renkte bulanıklaşma, sararma, alg hücrelerinin morfolojik yapılarında bozulma ve hücrelerinde bulunan fotosentetik

pigmentlerin miktarında azalmaya neden olmuştur. Dolayısıyla kullanılan yüksek doz pestisitinin canlıların morfolojik, anatomik ve fizyolojik yapısını olumsuz yönde etkilediği, metabolik aktiviteyi ve fotosentezi baskıladığı söylenebilir.

Geniş spektrumlu bir herbisit olan glifosatın algler üzerindeki fizyolojik ve biyokimyasal etkilerini araştırmak için yapılan çalışmada; *Anabaena cylindrica* Lemmermann, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris* ve *Chroococcus turgidus* (Kützing) Nägeli türleri kullanılmış ve tüm alg hücrelerinde glifosat toksisitesine bağlı olarak ağartıcı etki ve karbonhidrat içeriğinin azaldığı gözlenmiştir. Bu sonuçlar glifosatın alg hücrelerinin fotosentetik pigmentlerini tahrip etmesi ve buna bağlı olarak da hücrelerdeki karbonhidrat içeriğinde azalmanın meydana gelmesi ile açıklanmıştır (Tsai, 1989). Carbarylın kullanıldığı benzer bir çalışmada *Jaaginema pseudogeminatum* (G.Schmid) Anagnostidis & Komárek türünde 24. günde karbonhidrat seviyesinde en yüksek konsantrasyonda (1 000 ppm) daha büyük bir azalma (% 44) ve kontrol ile kıyaslandığında 100 ppm'de daha düşük bir azalma (% 14) belirlenmiştir (Bakiyaraj ve ark., 2014). Pollegioni ve ark. (2011), bu esansiyel maddelerin biosentezinin, glifosatın hedef enzimi olan enzim 5-enolpirüvil şikimat-3-fosfat sentaz (EPSPS) tarafından desteklendiğini ve bu enzimin, enolpirüvil şikimat-3-fosfat (EPSP) ve inorganik fosfat üretmek üzere fosfoenolpirüvatın (PEP) enolpirüvil parçasının, şikimat-3-fosfatın (S3P) 5-hidroksiline transferini katalize ettiğini belirtmişlerdir. Glifosat, reaksiyon maddelerini, EPSP sentaz tarafından katalize edilen reaksiyonda ürünlere dönüştüren geçiş halini andırır. Dolayısıyla, glifosat (geçiş hali analogu olarak) EPSP sentezine doğal substratından daha sıkı bağlar ve böylece substratın enzime bağlanmasını önler. Bu bağlanma, enzimin inhibisyonuna yol açar ve tüm yolu kapatır. Sonuç olarak, organizmaların hayatta kalmak için ihtiyaç duydukları bu temel maddelerin üretiminde eksikliğe neden olur. Li ve ark., (2005), cypermethrinin mutajenik etki potansiyeline sahip olduğunu gösterdikleri çalışmalarında, alg hücrelerini optik mikroskop altında gözlemlemişler ve hücrelerin morfolojik olarak değiştiğini, bazı hücrelerin şiştiğini, hücre bölünmelerinde anormalliklerin görüldüğünü, ana hücrenin bölündüğünde yavru hücrelere bağlı kaldığını tespit etmişlerdir. Mevcut çalışmamızdaki bulgular ile literatürlerdeki bulgular benzerlik göstermektedir. *C. reinhardtii* hücrelerinde yüksek pestisit konsantrasyonlarında morfolojik bozukluk, dış çeperde parçalanma ve koloni

oluşturma eğilimi görölürken; *L. minor* türünde 150 ppb zeta-cypermethrin konsantrasyonunda (düşük doz) dikkate değer toksisite semptomları (renk değişimi, yaprak boyutlarında küçölme ve doku yumuşaması) oluşmadığı, yüksek pestisit derişimlerinde ise bu semptomların oluştuğu gözlenmiştir. Özellikle deneyin 96. saatinde 600 ppb pestisit konsantrasyonunda yapraklarda klorozisin oluştuğu görölümüştür. Zeta-cypermethrinin toksisitesinden kaynaklanan bu semptomların *L. minor* için gerekli olan elementlerin alınımı ve/veya kullanımının sınırlamasından ve fotosentetik aktivite başta olmak üzere birçok metabolik olayda meydana gelen değişiklerden dolayı olabileceği düşünölmektedir.

Büyüme, mikroalg ile toksisite testlerinde en çok incelenen ve hücrelerin fizyolojik durumunu yansıtan çok genel bir parametredir. Mikroalg popölasyonunun büyümesi, özel odacıklar veya elektronik partiköl sayaçları veya akış sitometrisi kullanılarak, mikroskop altında hücrelerin sayılmasıyla doğrudan izlenebilir. Kültürdeki bulanıklık, kuru ağırlık veya klorofil-*a* miktarıyla (fluorometri veya spektrofotometri ile) korelasyon gösterebilen dolaylı büyüme tahminleri de kullanılabilir. Alglerin sudaki miktarları pestisitlerin toksik seviyenin üzerinde olup olmadıklarını anlamak için biyolojik bir gösterge olarak kullanılabilir (Cid ve ark., 2012). Biyodenyimizde, belirlenen zaman dilimlerinde, *C. reinhardtii* ortalama hücre sayısı bakımından en yüksek değer 150 ppb pestisit konsantrasyonunda hesaplanmıştır. Farklı pestisit konsantrasyonları ve kontrol grupları hücre sayısına göre kıyaslandığında sonuç 150 ppb (4 421 250 hücre/mL) > Kontrol-0 ppb (3 999 250 hücre/mL) > 300 ppb (3 819 000 hücre/mL) > 600 ppb (1 913 750 hücre/mL) şeklinde hesaplanmıştır. Yadav ve Sharma (2013), cypermethrinin *Arthrospira platensis* Gomont türünde 0.5, 1 ve 5 ppm'de spesifik büyüme hızında belirgin ($P < 0.05$) bir değişimin gözlenmemesine karşılık, 10 ppm'de önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Lutnicka ve ark. (2014), düşük konsantrasyonlarda (0.02 µg/L) cypermethrinin 72 saatlik maruz kalma süresinden sonra *Chlorella vulgaris* türünde büyüme inhibisyonuna neden olmadığını ancak test süresinin 14 güne kadar uzamasının yaklaşık % 13 büyüme inhibisyonuna neden olduğunu tespit etmişlerdir. Cypermethrin için 72 saatlik EC₅₀ değerini 15.26 µg/L olarak bulmuşlardır. Ayrıca, Wendt-Rasch (2003), normal tarımsal faaliyetleri takiben doğa sucul ekosistemleri kirletebilecek aralıktaki konsantrasyona maruz kalan tatlısu modeli sistemlerinde pestisitlerin ekolojik dolaylı etkilerini inceledikleri

çalışmalarında, pestisite maruz kaldıktan sonra alglerin çoğaldığını gözlemiştir. Pyrethroid insektisit cypermethrin (Friberg-Jensen ve ark., 2003; Wendt-Rasch ve ark., 2003) ve sülfonilüre herbisit metsülfüron metil (Wendt-Rasch ve ark., 2003) pestisitlerine maruz kalmanın, bir sucul ekosistemde algleri baskın duruma sürükleyebileceği, ötrofikasyonun sebep olduğu değişikliklere benzer değişiklikler yapabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, pestisit kirliliğinin tarımın hakim olduğu bölgelerdeki artan besin yükünün neden olduğu etkilere katkıda bulunması olasıdır. Herbisit ve insektisitlere maruz kalma, makrofitlere ve alglere rekabet avantajı oluşturabileceğinden, bu iki pestisit grubunun dolaylı etkilerinin doğrudan toksik etkileri olmasına rağmen ekosistem seviyesinde sinerjik bir şekilde hareket etmesi mümkündür. Guanzon ve ark., (1996) tarafından, *Microcystis aeruginosa* (Cyanophyceae), *Scenedesmus communis* (Chlorophyceae) ve *Aulacoseira granulata* (Ehrenberg) Simonsen (Bacillariophyceae) türlerinde üç farklı pestisit tekli ve farklı kombinasyonlarının emilim ve birikim oranlarını belirlemek için yaptıkları çalışmada, ortamdaki pestisit konsantrasyon seviyeleri ile aşamalı olarak azaldığı bununla birlikte, pestisit konsantrasyon seviyeleri ile birlikte mortalitenin giderek arttığı belirlenmiştir. Tatlısu mikroalgi *Chlorella vulgaris* türünde büyüme, kuru ağırlık, elemental kompozisyon, fotosentetik pigmentler, protein içeriği ve hücre sistemi ile ölçülen hücre hacmi üzerine izoproturon (fenilüre) ve terbutrin (triazin) herbisitlerinin etkilerinin araştırıldığı çalışmada, alg aktivitesinin sudaki kirleticilere karşı çok farklı duyarlılıklar gösterdiği belirlenmiştir. 96 saatlik terbutrine maruz kalan kültürler izoproturon kültürlerinden iki kat daha düşük büyüme göstermiş (EC_{50} terbutrin = 0.097 μ M; EC_{50} izoproturon = 0.199 μ M), ancak triazin herbisitinin daha düşük konsantrasyonları fenilüre ile muamele görmüş kültürlerde gözlenmeyen bir hücresel yoğunluk ve büyüme hızında artışa neden olmuştur. *C. vulgaris* hücrelerinin hücre hacmi ve kuru ağırlığı, izoproturon ve terbutrin varlığında kuvvetli bir şekilde artmıştır. Pigment ve protein içeriği gibi diğer hücresel parametreler her iki herbisit ile daha yüksek konsantrasyonlarda uyarılmıştır.

Proteinler azot içeriği verilerinden belirlendiğinden, hücresel protein içeriklerinde kaydedilen artış, azotun hücresel içeriklerinde elde edilen artış ile ve daha sonra kuru ağırlığın ve hücre hacminin artmasıyla açıklanabilir (Rioboo ve ark., 2002). Organofosforlu insektisit fenitrothionun tatlısu fitoplanktonu *Chlamydomonas segnis*

Ettl, *C. reinhardtii*, *Auxenochlorella pyrenoidosa* (H.Chick) Molinari & Calvo-Pérez, *C. vulgaris*, *Cosmarium* sp., *Pediastrum* sp., *Tetradismus obliquus*, *Staurastrum* sp., *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs, *Navicula* sp., *Anabaena* sp. ve *Selenastrum capricornutum* türlerinin kullanıldığı çalışmada, fenitrothionun 10 mg/L düzeyinin büyüme oranını önemli ölçüde düşürdüğü ve bu etkiyi normal mitotik bölünme süreçlerinin oluşumunu engelleyerek, makromoleküllerin birikimine ve daha sonra hücre ağırlığının artışına neden olarak ortaya çıkardığı sonucuna varılmıştır (Kent ve Weinberger, 1991).

Çoğu pestisit spesifik bir haşere veya belirli bir zararlıyı hedef alacak şekilde tasarlanmış olsa da, pestisitlerin ve bunların ara ürünlerinin kullanılması, hedef olmayan türler üzerinde ek etkiler yaratabilir (Rohr ve ark., 2006). Örneğin, pestisite maruz kalma, biyolojik çeşitliliğin azalmasına ve zararlı alg çoğalmalarına neden olan toksisiteye ve ekosistem gıda ağlarındaki değişikliğe (heterotrofik aktivitenin artışı vb.) neden olmaktadır (Robinson ve Sutherland, 2002; Benton ve ark., 2003; Debenest ve ark., 2010; Beketov ve ark., 2013; Malaj ve ark. 2014). Kaduková ve Virčíková (2005) tarafından, *C. vulgaris* üzerine yapılan bir araştırmada, ölü hücrelerdeki bakır biyosorpsiyonu ve canlı hücrelerdeki birikim karşılaştırılmıştır. Canlı hücrelerin bağlanma kapasitesi ölü hücrelere göre önemli derecede düşük bulunmuştur. Bakır canlı hücrelerin hücre yüzeyini ciddi şekilde hasar altına almış ve bu da kapasiteyi düşürmüştür, ayrıca hasar gören hücrelerin birikmiş bakır çözeltiye geri gönderdiği belirlenmiştir. Fenvaleratın (sentetik piretroid bir pestisit) Day ve ark. (1987) tarafından incelendiği bir çalışmada, fitoplankton üzerinde kalıcı etkiler gözlemlenmemiş ve bolluktaki geçici değişikliklerin zooplankton bolluğundaki düşüşlerle ilişkili olabileceği düşünülmüştür. İki metilkarbamat insektisit olan karbofuran ve carbaryl, tek hücreli yeşil alg *Scenedesmus bijugatus* ve iki siyanobakteri *Synechococcus elongatus* (Nögeli) Nögeli ve *Nostoc linckia* Bornet ex Bornet & Flahault üzerinde etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada düşük konsantrasyonlarda (0.5 ve 1 µg/mL) karbofuranın çalışma süresi boyunca *S. elongatus* türünün hücre sayısını arttırdığı bulunmuştur. En yüksek konsantrasyonda (5 µg/mL) başlangıçta % 89'luk inhibisyon görülürken, 20. günün sonunda öldürücü olduğu belirlenmiştir. Carbaryl insektisiti de test organizması üzerinde benzer bir etki sergilemiştir. Sadece 0.1 ve 0.5 µg/mL carbaryl konsantrasyonları ile muamele edilen

hücrelerin sayısı önemli ölçüde artmıştır. Artan yoğunlukta insektisit ile büyümede aşamalı bir azalma gözlenmiş, 1 ve 2 µg/mL düzeyleri ile % 89 ila % 91 inhibisyon, dönemin sonuna doğru % 98-99'a yükselmiştir (Megharaj ve ark., 1989). Sun ve ark. (2015), düşük konsantrasyonda organofosfatlı pestisitlerin *Microcystis wesenbergii* (Komárek) Komárek ex Komárek büyümesini (1/10-1/20 arasında değişen EC₅₀), 120 saatte sırasıyla % 35.85 (chlorpyrifos) ve % 41.83 (dichlorvos) artırdığını tespit etmişlerdir.

Mevcut çalışmamızda, yaptığımız biyodeneyle sonuçunda düşük miktardaki pestisit uygulamasının *C. reinhardtii* türünde özellikle 24. ve 48. saatlerde hücre artışını teşvik ettiği, fakat pestisit konsantrasyonu ve pestisite maruz kalınan süre arttıkça kültürdeki hücre sayısının azaldığı tespit edilmiştir. *C. reinhardtii* türünün büyüme oranları her zaman kontrol kültürlerinde 300 ve 600 ppb pestisit uygulanan kültürlerle göre 24 ila 96. saatler arasında yüksektir, ancak zeta-cypermethrin ile işleme tabi tutulmuş kültürler bu zaman dilimlerinde tüm konsantrasyonlarda 24 ila 96. saatler arasında sürekli olarak azalmıştır. Genel olarak, *C. reinhardtii* türünün büyüme oranı, yüksek zeta-cypermethrin konsantrasyonları ile negatif korelasyonlu bulunmuştur. Yüksek zeta-cypermethrin konsantrasyonları algelerde potansiyel olarak bir inhibisyon etkisi meydana getirmiştir. *C. reinhardtii* türünün popülasyon yoğunluğundaki azalmanın bir nedeni olarak, zeta-cypermethrinin hücre membranlarını bozarak hücre içine girmesi ve metabolizmayı etkilemesi düşünülmektedir. Organofosfatlı pestisitler fotosentetik pigmentlerin hasar görmesine; fotosentetik aktivitenin azalması, aktif oksijen formlarının birikimi ve artan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan seviyelerine neden olur. Organofosfatlı pestisitlerin yaygın kullanımı nedeniyle, su sistemindeki kalıntıları, fitoplanktonda ilave fosfor kaynakları olarak kullanılabilir. Yani, karbon, azot ve fosfordan oluşan organofosfatlı pestisitler siyanobakteriler ve algler tarafından ek besinler olarak metabolize edilebilir ve kullanılabilir (Cáceres ve ark., 2008; Thengodkar ve Sivakami, 2010). Zeta-cypermethrinin de karbon ve azot içermesi nedeniyle *C. reinhardtii* türünde benzer bir etki yaratarak düşük dozlarda büyümeyi teşvik etmiş olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca *C. reinhardtii* içeren deney setlerinin kuru ağırlık miktarı 600 ppb zeta-cypermethrin içeren deney setlerinde kontrole göre 24. saatte % 32'lik bir artış göstermiştir. Mikroalgelerde yüksek bir büyüme oranına sahip önemli bir biyomas artışı elde edilirken, yüksek stres koşulları altında

yetiştirilenler genelde yüksek miktarlarda lipid biriktirir (Wu ve Miao, 2014). Azot eksikliğinin *Chlorella vulgaris* türünde lipid birikimine neden olduğu ve lipid miktarının yaklaşık % 80 oranında arttığı tespit edilmiştir. Azot stresinin protein sentezinden lipid sentezine kadar olan karbon akışını değiştirdiği, böylece *C. vulgaris* türünde lipid birikimine neden olduğu sonucuna varılmıştır (Ağırman ve Çetin, 2015). Çalışmamızda da yüksek pestisit konsantrasyonundaki kuru ağırlık artışının nedeni bu mekanizmaya bağlanabilir. *L. minor* türünde 96. saatin sonundaki kuru madde miktarı 600 ppb pestisit konsantrasyonunda kontrol grubuna göre % 24 oranında artarken, absorbans değeri de uyumlu biçimde % 95'lere ulaşmıştır. Ayrıca % kuru madde miktarı da 96. saatte en yüksek değere ulaşarak kontrol grubuna oranla % 75 artış göstermiştir. Bütün bu sonuçlar zeta-cypermethrinin 48. saatten itibaren *L. minor* üzerinde metabolik aktiviteyi baskılayıcı etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu durum biyomas artışını açıklayabilir. Sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda, düşük seviyelerdeki zeta-cypermethrinin algler tarafından kolaylıkla biriktirildiği düşünülmektedir. 150 ppb konsantrasyonundaki pestisit *C. reinhardtii* türünde deneyin birinci gününden 96. saate kadar artan oranlarda absorbe edildiği (% 85.8 ila % 93.6 aralığında); *L. minor* türünde ise ilk 48 saat boyunca absorbans değerlerinin yüksek ortalamalar verdiği (% 91.5 ila % 94.4), ancak 72. saatten itibaren pestisit giderim yüzdelerinin düşüş gösterdiği (% 88.4 ve % 85.8) belirlenmiştir. Bu durum bozunma kapasitesinin doymuş olması sonucu meydana gelmiş olabilir. En yüksek birikimin 2. günde (48. saat) olduğu zamandan sonra zeta-cypermethrin birikimi azalmıştır. Analizlerimiz, alglerdeki bozunma oranının, ortama uygulanan pestisit konsantrasyonları ile korelasyonlu olduğunu göstermektedir. Düşük zeta-cypermethrin konsantrasyonlarının (150 ppb), alg gelişimi ve klorofil birikimi üzerinde zararlı bir etkisinin olmadığını göstermiştir. 300 ppb zeta-cypermethrin içeren test ortamlarında en yüksek absorbans değeri 96. saatte *C. reinhardtii* türünde % 98.2 olarak hesaplanmıştır. *L. minor* türünde ise bu oranlar daha düşük olup % 35.4-95.9 aralığında değişim göstermiştir. 96. saatte 300 ppb ve 600 ppb pestisit konsantrasyonlarında *L. minor* biyokütle inhibisyon yüzdelerinin sırasıyla % 65 ve % 86.25'e ulaştığı belirlenmiş, ayrıca ortamdan absorbe edilen zeta-cypermethrin oranları sırasıyla % 95.9 ve % 95 olarak en yüksek değerleri vermiştir. Yüksek doz

pestisit (600 ppb) uygulamasında *C. reinhardtii* türünün giderim kapasitesi *L. minor* türüne göre oldukça yüksek değerler vermiş ve % 92.8 ila % 98.3 aralığında değişmiştir. *L. minor* türünde ise daha geniş bir aralıkta (% 40 ila % 95) değişim gözlenmiştir. Yapılan birçok çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir. *Chlorella* sp. kullanılarak, ahşap koruma ve boyamada kullanılan zehirli bir biyosid olan tributylinin (TBT) uzaklaştırılması için yapılan birçok çalışmada, biyosorpsiyonun söz konusu temizlemenin ana mekanizması olduğu gösterilmiştir (Tam ve ark., 2002; Luan ve ark., 2006). TBT'nin uzaklaştırılma ve bozunumunun değerlendirildiği bir çalışmada, alginatla hareketsizleştirilmiş alg boncukları boş alginat boncuklarla karşılaştırılmış, ilk TBT konsantrasyonundan bağımsız olarak hem alg içeren hem de boş boncukların TBT'nin % 90'ından fazlasını bir gün içinde giderdiğini belirlemişlerdir. Bununla birlikte, uzaklaştırmanın ana kısmı alginatın biyosorpsiyonundan kaynaklanmıştır ve sadece TBT'nin bir kısmının gerçek hücre duvarlarına adsorbe edildiğini ve hücrelerde % 10'undan daha azının biriktiğini belirlemişlerdir (Luan ve ark., 2006). Ölü ve canlı *Chlorella miniata* (Kutzing) Oltmanns ve *C. sorokiniana* Shihira & R.W. Krauss ile TBT'nin gideriminin değerlendirildiği bir başka çalışma sonucunda, ölü hücrelerin sadece 5 dakika sonra başlangıç TBT'sinin % 85'ini giderdiğini ve 14 gün sonra aynı giderim seviyesine ulaştığını ve ölü hücrelerin canlı hücrelere göre daha etkili olduğu gösterilmiştir (Tam ve ark., 2002). Tsang ve ark., (1999), canlı *C. vulgaris* üzerinde benzer bir araştırma yapmış ve iki günlük kültürden sonra TBT'nin % 40'ının giderildiğini belirlemişlerdir. Her iki çalışma da biyosorpsiyonun TBT'nin giderilmesinde ana mekanizma olduğunu iddia etmektedir. Ancak üç türden *C. sorokiniana* ve *C. vulgaris* türleri bir gün sonra, *C. miniata* türü ise 7 gün sonra TBT'yi biyolojik olarak parçalayabilir/metabolize edebilir (Tsang ve ark., 1999; Tam ve ark., 2002). *C. vulgaris* türünün ölü ve canlı hücreleri kullanılarak yapılan bir kısa süreli deney (60 dakika) ve büyüyen hücreler kullanılarak yapılan bir uzun vadeli deneyde (4 gün), büyüyen alglerin varlığında, alg içermeyen kontrolün nihai konsantrasyonuna kıyasla, ortamdaki propamokarb konsantrasyonunun yaklaşık % 50 daha düşük olmasına neden olduğu tespit edilmiştir. Kısa süreli araştırmada ise canlı alg hücrelerinin varlığı, kontrol konsantrasyonuna kıyasla propamokarbin % 30 azalmasına neden olmuştur. Propamokarbin su fazında indirgenmesinin ana

mekanizmasının, alg hücrelerine biyolojik olarak emilimi olduğu düşünülmüştür (Ardal, 2014).

Çalışmamızda kullanılan *C. reinhardtii* türünün zamana bağlı absorbans yüzdeleri ile klorofil-*a* miktarları ve mL'deki hücre sayısı arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Aynı şekilde *L. minor* türünde de klorofil-*a* miktarları ve özgül büyüme oranları absorbans değerleri ile uyum göstermektedir. Bunun yanısıra her iki test organizmasında da belirli zaman aralıklarında bünyelerinde biriktirdikleri pestisit ortama yeniden salma ve tekrar geri alma davranışı görülmektedir. Bu durum ağır metaller kullanılarak yapılan bazı çalışmalarda da vurgulanmaktadır (Üçüncü ve ark., 2013). Bakır, krom ve kurşundan oluşan karışımların *L. minor* tarafından biyolojik giderim profillerinin incelendiği bir çalışmada, krom ve kurşunun sudan başarıyla ve hızlı bir şekilde giderildiği, maksimum uzaklaştırmanın 48 saat içinde gerçekleştiği ve bunun sonrasında bu metallerin sudaki konsantrasyonlarının düzenli olarak azaldığı ve arttığı belirlenmiştir. Her iki metal için bu düşüşler ve artışlar arasında yüksek bir korelasyon belirlenmiştir. Bakırın maksimum giderim hızı ise 72 saat içinde gözlenmiştir (Üçüncü ve ark., 2013). *Lemna* tarafından metal türlerinin birikmesi ve bırakılması sadece sıcaklık ve su parametreleri gibi çevresel faktörlere değil, aynı zamanda çevredeki diğer metal(loid) (ve potansiyel olarak metal olmayan) kirleticilerin varlığına da bağlıdır ve bu durum birden fazla metal(loid) ile kontamine olan doğal tatlısu kaynaklarının iyileştirilmesi üzerinde önemli sonuçlar doğurabilir. Bununla birlikte, bu ortamlarda maksimum iyileştirme verimliliğini sağlamanın ideal araçları ve bu etkilerden sorumlu mekanizmalar açık değildir (Üçüncü Tunca ve ark., 2016). Çalışmamızda *L. minor* ve *C. reinhardtii* türlerinin azalma ve artış profili birbirine benzemektedir, ancak bu dalgalanma *L. minor* türünde daha belirgin ve geniş aralıkta gerçekleşmiştir. Düşük dozda pestisit maruziyeti süresince her iki türde de belirgin bir etki ortaya çıkmamış ve maruz kalmanın ilk birkaç saatinde kirletici hızla alındıktan sonra, organizmalar tipik olarak absorbe edilen maddenin bir kısmını çevreye geri bırakarak toksik yük ile baş etmeye çalışmış, ancak orta ve yüksek dozda pestisit uygulanan test gruplarında çevreye salınan miktar özellikle *L. minor* türünde belirgin bir artış göstermiştir.

Araştırma bulgularımızdan yapılan istatistiksel analizler sonucu, *L. minor* türünün farklı zeta-cypermethrin konsantrasyonlarından önemli oranda etkilendiğini

göstermektedir. 150 ppb konsantrasyonda (düşük doz pestisit uygulamaları) 24. ve 48. saatler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmektedir ($P < 0.05$). 48. saatteki birikimin 24. saate göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. 24. saatte ortamdaki zeta-cypermethrin konsantrasyonu 12.8 ppb olup, kademeli olarak azalmış ve 48. saatte 8.4 ppb olarak ölçülmüştür. 24 ve 72. saatler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmektedir ($P < 0.05$). Ancak 72. saatteki birikim 24. saate göre azalma göstermiş ve ortamdaki pestisit konsantrasyonu 17.3 ppb değerine yükselmiştir. Deneyin 96. saatinde 24. saate göre birikim miktarı azalma göstermeye devam etmiş ve ortamdaki zeta-cypermethrin konsantrasyonu 21.3 ppb olarak ölçülmüştür ($P < 0.05$). Bu durum *L. minor* türünün pestisiti deneyin ilk 48 saati süresince yüksek oranda absorbe ettiğini, ancak 72. ve 96. saatlerde birikim oranının giderek azalarak pestisit bir kısmının organizma tarafından ortama geri salındığını göstermektedir. 300 ppb konsantrasyonda 24. ve 48. saatler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmektedir ($P < 0.05$). 24. saatteki birikimin 48. saate göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Deney ortamında 24. saatte 175.7 ppb olan zeta-cypermethrin konsantrasyonu 48. saatte 193.9 ppb olarak ölçülmüştür. 72. saate gelindiğinde pestisit birikimi 24. ve 48. saatlere göre büyük oranda artış göstermiştir ve ortamdaki konsantrasyonu 52.2 ppb olarak ölçülmüştür ($P < 0.05$). 24. ve 96. saatler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmektedir ve ortamdaki pestisit konsantrasyonu azalmaya devam ederek 12.2 ppb seviyesine gerilemiştir ($P < 0.05$). 600 ppb (yüksek doz pestisit uygulamaları) zeta-cypermethrin konsantrasyonunda 24. saat ve 48. saatler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuş ve 24. saatteki birikim daha yüksek değerde gerçekleşmiştir ($P < 0.05$). Deney ortamında 24. saatte 148.5 ppb olarak ölçülen pestisit konsantrasyonu 48. saatte 360.1 ppb değerine yükselmiştir. Bu durum *L. minor* türünün, belirtilen zaman dilimleri arasında ortamdaki absorbe ettiği zeta-cypermethrinin büyük bir bölümünü deney ortamına geri bıraktığını göstermektedir. 72. saatte birikim oranının yeniden arttığı görülmüştür ve ortamdaki pestisit miktarı 105.7 ppb değerine düşmüştür ($P < 0.05$). 24. saat ve 96. saatler arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($P < 0.05$). Birikim 96. saatte en yüksek seviyeye ulaşmış ve deney ortamındaki pestisit konsantrasyonu 30.1 ppb olarak ölçülmüştür. *C. reinhardtii* türünde 150 ppb pestisit konsantrasyonunda 24. saatle diğer zaman dilimleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark görülmektedir

($P < 0.05$). 24. saatte ortamda kalan zeta-cypermethrin konsantrasyonu 21.3 ppb iken 48. saatte bu miktar azalarak 11.1 ppb değerine düşmüştür. 72. ve 96. saatlere gelindiğinde bu miktar sırasıyla 10.8 ve 7.1 ppb değerlerine düşmüş ve pestisit birikimi kademeli olarak artış göstermiştir. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasında düşük doz uygulamalarına benzer şekilde 24. saatle diğer zaman dilimleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). 24. saatten itibaren ortamda ölçülen pestisit konsantrasyonları sırasıyla 19.2, 40.7, 38.1 ve 5.4 ppb olarak ölçülmüştür. Bu değerler dikkate alındığında *C. reinhardtii* türünün 48. ve 72. saatlerde pestisiti deney ortamına geri bıraktığı ancak 96. saatte en yüksek biriktirme kapasitesine ulaştığı görülmektedir. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasında 24. saatle diğer zaman dilimleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark olduğu belirlenmiştir ($P < 0.05$). *C. reinhardtii* türünde deneyin başlangıcından itibaren pestisit birikiminin giderek arttığı görülmektedir. 24. saatten itibaren ortamda ölçülen pestisit konsantrasyonları sırasıyla 43.2, 35.1, 15.1 ve 10.2 ppb olarak belirlenmiştir.

Bitkiler, ekzojen organik bileşikler herbisitler de dahil olmak üzere ortamlardan alıp çıkarabilirler. Emilen kirleticiler biyokimyasal olarak fitotoksik olmayan metabolitlere dönüştürülür. Böylelikle pestisit veya bozunmuş ürünler, alglerin büyümesi için karbon kaynakları olarak kullanılabilir. Ayrıca, büyüme uyarısı pestisit uyarısı için bir düzenleyici mekanizma ile ilişkilendirilebilir (Jin ve ark., 2012). Mikroalgler aşırı besin eksikliği, yüksek ışık yoğunluğu veya yüksek tuz konsantrasyonu koşullarında hayatta kalmak için bir strateji olarak çeşitli morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere uğrarlar (Megateli ve ark., 2009). Çalışmamızda düşük doz pestisit uygulaması sonrasında her iki türde gelişimin artmış olması canlıların bu kirleticiyi kullanılabildiği metabolitlere dönüştürdüğü sonucuna bağlanabilir. Ayrıca test organizmalarında artan dozlarda morfolojik değişikliklerin belirginlik kazandığı gözlenmiştir.

Biyodeneysel sonuçlarımız, her iki türün de zeta-cypermethrinin giderilmesinde etkili olduğunu, *C. reinhardtii* türünün özellikle düşük pestisit derişimlerinde daha iyi giderim yapabileceğini göstermektedir. Bunun nedeni bitkilerle karşılaştırıldığında mikroalglerin daha basit bir hücre yapısına sahip olmaları ve çoğu zaman su ve besin maddelerinin daha kolay alımı için sıvı ile çevrili durumda bulunmaları olabilir (Chacoón-Lee ve González-Mariño, 2010).

Pestisit giderimi ile ilgili çalışmaların çoğu bakteriler üzerinde yoğunlaşırken, alglerin bu kirleticilerin biyoremediasyondaki rolü üzerine sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Alg türlerinin pestisitlere karşı göstermiş olduğu tepkiler ekolojik önem taşımaktadır. Mikroalgler ve makrofitler sucul ekosistemin biyolojik bütünlüğünün ve fizikokimyasal durumunun belirlenmesinde yaygın şekilde kullanılan biyoindikatörlerdendir. Bu canlılar içinde yaşadıkları çevreye karşı çok hassastırlar ancak, çevresel kirleticiler yaşam alanındaki tolerans, bolluk, çeşitlilik ve baskınlık durumlarında değişikliklere neden olur. Popülasyon büyüklüğü, hızlı büyüme oranı, düşük maliyet, kolay bakım ve düşük seviyedeki kirleticilere tepki onları kirlilik kontrolü için uygun bir seçenek haline getirir. Pek çok çalışma pestisitlerin solunum, fotosentez ve biyosentetik reaksiyonlara, ayrıca hücre büyümesine, bölünmesine ve moleküler kompozisyonuna müdahale ettiğini göstermiştir. Yüzey sularının zeta-cypermethrin ile kontaminasyonu, hem yeşil alg ve makrofit popülasyonlarının gerilemesi hem de siyanobakterilerin çoğalmasına izin vererek gıdada azalma ve yaşam alanı kaybına neden olarak su kalitesini düşürebilir. Sucul sistemlerde kirleticilerin etkilerini değerlendirmede geniş bir taksonomik aralıktaki test türleri gereklidir. Bu sayede kirleticilerin farklı taksonomik gruplara etkileri ve bu türlerin biyoremediasyon potansiyelleri daha açık biçimde değerlendirilebilir.

Pestisitler, yüzey akışı vasıtasıyla su ortamlarına kolayca aktarılabilir. *L. minor* ve *C. reinhardtii* gibi hedef dışı organizmalar üzerinde zeta-cypermethrinin etkilerinin incelenmesi için yapılan bu çalışma *L. minor* türünün zeta-cypermethrine karşı daha hassas olduğunu göstermektedir. Su mercimeklerinden pestisit çok düşük seviyelerde salınması, tespit edilemeyen zeta-cypermethrin konsantrasyonlarında artık fitotoksisiteye neden olabilir. Peterson ve ark. (1997) tarafından yapılan çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş olup, test organizmaları herbisitlere karşı duyarlılık bakımından büyük farklar sergilemiştir. Yeşil alg, diyatome ve su mercimeğinin heksazinona siyanobakterilerden daha duyarlı olduğu belirlenmiştir. Bu gruplarda % 50 inhibisyonun meydana geldiği ortalama konsantrasyonlar litre başına sırasıyla 0.01 (yeşil alg), 0.05 (diyatome), 0.07 (su mercimeği) ve 0.6 (siyanobakteri) mg heksazinon olarak bulunmuştur.

Zeta-cypermethrinin çevresel etkilerini değerlendirirken, uzun vadede sucul ekosistemler üzerindeki etkisi göz önüne alınmalıdır. Pestisit toksisitesine bağlı

olarak, sucul ekosistemlerde meydana gelen kirlilik, birçok mevcut alg türünün yok olmasına, tür kompozisyonunun değişmesine ve bu besin kaynağının azalmasına neden olabilir. Mevcut çalışmamızda gözlemlenen değişkenliğin yüksek derecesi, pestisitlerin doğal sistemlerdeki etkilerini anlamak için çoklu tür testinin gerekliliğini doğrulamaktadır. Laboratuvar testleri, çalışmada kullanılan türlerin belirli sulara pestisitlerin kontaminasyonundan doğrudan etkilenebileceği yaklaşık konsantrasyonu ve bu canlıların büyüme, fotosentez, canlılık, üreme, zar geçirgenliği ve diğer metabolik aktiviteleri üzerine olan etkilerini gösterebilir. Bu çalışmanın sonuçları, *L. minor* ve *C. reinhardtii* türlerinin zeta-cypermethrine duyarlılığının deneyin ilk gününde başladığını ve süreç boyunca, kültürlerdeki zeta-cypermethrin miktarının azaldığını göstermektedir. Bölgemizde fındık tarımında yoğun olarak kullanılan zeta-cypermethrinin yüksek konsantrasyonları hedef dışı canlıların gelişimini önemli ölçüde etkilemiştir.

Türkiye’de kullanılan pestisit miktarı dünya ortalamasının altında olmakla birlikte, Karadeniz Bölgesi’ndeki yoğun fındık tarımı nedeniyle pestisit kullanımı yüksektir. Pestisitlerin düşük konsantrasyon seviyesinin genel su ortamı üzerinde önemli bir etkisi olmamasına rağmen, uzun vadede birikimi nedeniyle su daha da kötüleşecektir. Sucul ekosistemlerde birincil üretimi oluşturan algler doğrudan hedef organizmalar değilse de, pestisit kontaminasyonundan olumsuz etkilenmektedir. Biyodeneysel sonuçları da bunu göstermektedir.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde, tarımsal kirlleticilerle ilgili olarak sıkı çevresel düzenlemeler yapılmaktadır. “Kıyı tampon şeritleri” bu düzenlemelere örnek olarak verilebilir. Bu düzenleme genellikle akarsulara doğru akan yeraltı veya yerüstü suları içerisindeki kirleticilerin giderilmesi amacıyla akıntı boyunca, akarsuların kıyılarına, şeritler halinde uygun bitkilerin ekilmesi işlemidir. Bu ıslah, kirliliğin çevreye yayılmaması, taban suyuna karışmaması gibi görevler üstlenir. Sistem erozyonu da kontrol eder ve sedimenti azaltır. Kanada’da yapılan çalışmalarla tampon şerit uygulamalarının toprak erozyonunu % 90, herbisit akışını % 42-70 oranlarında azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca sistemle sudaki sediment % 71-91, azot % 67-96, fosfor % 27-97, pestisitler % 8-100 ve fekal koliformlar % 70-74 oranlarında azalabilmektedir (Braam ve Klapwijk, 1981). Pestisitlerin sucul ekosistemlerde kabul edilebilir seviyelerde konsantrasyonlara düşürebilmek için buna benzer çeşitli

teknolojilere ihtiyaç duyulmaktadır. “Doğal arıtma sistemleri”; ekonomik olması, fazla insan gücü gerektirmemesi, kolay işletilmesi ve enerji gereksinimi az olmasından dolayı tercih edilmektedir. Mikroalgler ve makrofitler biyoreaktörlerde büyük ölçekli olarak yetiştirilerek pestisit, herbisit ve diğer toksik bileşiklerin ortamdaki uzaklaştırılmasını sağlayabilir ve hedef bileşiği saflaştırmanın nispeten kolay olmasını sağlar. Günümüzde oldukça ön plana çıkan doğal arıtım yöntemlerinden biri olan “yapay sulak alan sistemleri” de pestisitle kontamine olmuş atık suların arıtımı için doğal bir çözüm sunabilir. Bu sistemler, düşük maliyetli, basit, etkili ve çevreye uyumlu olduğu için idealdir. Ancak saflaştırma işleminin etkinliğini en üst düzeye çıkarmak için, fitoremediasyon çalışmalarında toksisite düşük olmalıdır. Özellikle su mercimeklerine dayalı olarak bazı tam ölçekli sistemler Tayvan, Çin, Bangladeş, Belçika ve ABD’de işletilmektedir (Körner ve ark., 1998). Biyolojik arıtma sistemlerinde pestisit gideriminde kullanılan algler ve makrofitler, daha sonra hasat edilerek yenilenebilir enerji kaynağı yeşil enerji-biyoyakıt olarak değerlendirilebilir ve ekonomiye katkı sağlayabilir. Ancak, mikro ve makro su bitkileriyle, bu yenilikçi teknolojinin (fitoremediasyon-yeşil ıslah) pestisit ile kontamine suyun temizlenmesinde etkin bir şekilde kullanılması için, giderim mekanizmalarını daha iyi anlamak ve pestisit iyileştirme kapasitelerini optimize etmek için daha ileri seviyede çalışmalara ihtiyaç vardır. Alglerdeki pestisit uzaklaştırma mekanizması organizmanın ve kirleticinin türüne göre değişmektedir ve ilgili bileşiklerin katabolizmasından sorumlu enzimatik sistemler büyük oranda bilinmemektedir.

Sonuç olarak;

Çalışmadan elde ettiğimiz bulgular, zeta-cypermethrin insektisitinin fitoremediasyonunda *C. reinhardtii* ve *L. minor* türlerinin potansiyel kullanılabilirliğini ortaya koymaktadır. *C. reinhardtii* türünün özellikle düşük pestisit konsantrasyonlarında daha iyi giderim yapabileceği görülmüştür. Çünkü yüksek bitkilerle karşılaştırıldığında mikroalgler daha basit bir hücre yapısına sahiptir ve tamamen su içinde yaşadığı için su ve besin maddelerini daha kolay alırlar. Yüksek doz pestisit (600 ppb) uygulamasında *C. reinhardtii* türünün giderim kapasitesi % 92.8 - % 98.3’tür. *L. minor* türünün daha geniş bir aralıkta (% 40 ila % 95) giderim kapasitesine sahip olduğu kaydedilmiştir. Ancak, zeta-cypermethrinin yüksek dozlarının (600 ppb) etki süresine de bağlı olarak hedef dışı organizmalar üzerinde de

olumsuz etkiler yaptığı tespit edilmiştir: *C. reinhardtii* hücrelerinde; morfolojik, anatomik, fizyolojik bozukluklar hücre çeper yapısının bozulması, hücre sayısının ve fotosentetik pigment içeriğinin azalması şeklinde kendini göstermiştir. *L. minor* türünde ise renk değişimi, yaprak boyutlarında küçülme, doku yumuşaması ve klorozis gibi septomlar tespit edilmiştir. Düşük zeta-cypermethrin konsantrasyonları (150 ppb) her iki bitki türünde de zararlı etki göstermemiş, aksine pestisite maruz kaldıktan sonra büyümeyi teşvik etmiştir. Bu durum zeta-cypermethrinin karbon ve azot içermesi nedeniyle muhtemelen türler tarafından ek besin olarak metabolize edilip kullanılmış olmasıyla açıklanabilir. *C. reinhardtii* türünde farklı zeta-cypermethrin konsantrasyonları ve kontrol grupları hücre sayısına göre kıyaslandığında; 150 ppb > Kontrol-0 ppb > 300 ppb > 600 ppb şeklindedir. Her iki test organizmasında da belirli zaman aralıklarında bünyelerinde biriktirdikleri zeta-cypermethrini ortama yeniden salma ve tekrar geri alma davranışı kaydedilmiştir. Ancak orta ve yüksek dozda pestisit uygulanan test gruplarında çevreye salınan miktar özellikle *L. minor* türünde belirgin bir artış göstermiştir. İnsektisit absorpsiyon yüzdeleri, zamana bağlı olarak; *C. reinhardtii* türünde klorofil-*a* konsantrasyonu ve hücre sayısı ile, aynı şekilde *L. minor* türünde de klorofil-*a* miktarları ve özgül büyüme oranları arasında pozitif korelasyon göstermiştir.

Su Çerçeve Direktifi'nde de yer alan tehlikeli madde/madde grupları ve metabolitleri ve/veya endokrin bozucuların belirlenmesi ve ekotoksikolojik veri eksikliğinin giderilerek etkin kontrol yöntemlerinin geliştirilmesi ülkemiz için öncelikli konulardır. Sudaki zararlı maddelerin etkilerinin belirlenmesi için yapılacak olan biyodeneyle, hidrofütlerin hayatta kalmaları, gelişmeleri ve çoğalmaları büyük ölçüde tespit edilebilecektir. Türkiye'de mikroalgler ve makrofitlerin atıksulardaki ağır metal absorpsiyon kapasitelerine yönelik çalışmaların sayısı giderek artmasına rağmen pestisit giderim potansiyelleri henüz yeterince araştırılmamıştır. Günümüzde yerüstü ve yeraltı sularının tarımsal faaliyetler sonucu pestisitlerce hızla kirlendiği dikkate alındığında, kontamine olmuş sucul alanların biyolojik arıtımı için bu araştırmanın ileride yapılacak çalışmalara destek olacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abou-Waly, H., Abou-Setta, M. M., Nigg, H. N., Mallory, L. L. 1991. Growth response of freshwater algae, *Anabaena flos-aquae* and *Selenastrum capricornutum* to atrazine and hexazinone herbicides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(2): 223-229.
- Ağar, S., Aydınoglu, H., Temel, O., İkizunal, K., Ece, H. 1991. Pestisit kullanımının tarihçesi, bugünü ve geleceği. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 15(4): 247-56.
- Ağırman, N., Çetin, A. K. 2012. *Chlorella vulgaris*'in Gelişimi Üzerine Bazı Pestisitlerin Etkilerinin Araştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi, 03–07 Eylül 2012, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye.
- Ağırman, N., Bedil, B., Kendirlioğlu, G., Çetin, A. K. 2015. Toxic effects of fungicides (penconazole and triadimenol) on growth and protein amount of *Scenedesmus acutus*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 37(6): 1220-1225.
- Ağırman, N., Çetin, A. K. 2015. Effects of nitrogen starvations on cell growth, protein and lipid amount of *Chlorella vulgaris*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(11): 3643-3648.
- Ahioğlu, S.S. 2008. Tarım sektöründe iş sağlığı ve güvenliği ve risk değerlendirmesi. İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanlık Tezi, T.C. Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı, İş Sağlığı ve Güvenliği Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Akan, J. C., Battah, N., Waziri, M., Mahmud, M. M. 2015. Organochlorine, organophosphorus and pyrethroid pesticides residues in water and sediment samples from river benue in vinikilang, yola, adamawa state, Nigeria using gas chromatography-mass spectrometry equipped with electron capture detector. *American Journal of Environmental Protection*, 3(5): 164-173.
- Aktar, W., Sengupta, D., Chowdhury, A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1): 1-12.
- Allender, W. J. 1997. Effect of trifluoperazine and verapamil on herbicide stimulated growth of cotton. *Journal of Plant Nutrition*, 20(1): 69-80.
- Altıkat, A., Turan, T., Ekmekyapar Torun, F., Bingül, Z. 2009. Türkiye’de pestisit kullanımı ve çevreye olan etkileri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(2): 87-92.
- Angelini, V. A., Orejas, J., Medina, M. I., Agostini, E. 2011. Scale up of 2,4-dichlorophenol removal from aqueous solutions using *Brassica napus* hairy roots. *Journal of Hazardous Materials*, 85(1): 269–274.
- Anonim, 1998. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. <http://did.ormansu.gov.tr/did/Files/98-83-EC.pdf> -(Erişim tarihi: 28.10.2017).
- Anonim, 2005. TS 266 İnsani Tüketim Amaçlı Sular Hakkında Yönetmelik. Resmi Gazete tarihi: 17.02.2005, sayı: 25730, Ankara.
- Anonim, 2012. Global Agrochemical Industry 2012-2017: Trend, Profit, and Forecast Analysis. [http:// www.reportlinker.com/p01023598-summary/Global-](http://www.reportlinker.com/p01023598-summary/Global-)

- Agrochemicals Industry-Trend-Profit-and -Forecast-Analysis.html. Erişim tarihi: 05.06.2014.
- Anonim, 2014. Pesticide Industry: Market Research Reports, Statistics and Analysis. <http://www.reportlinker.com/ci02012/Pesticide.html/>- (Erişim Tarihi:31.10.2017).
- Anonim, 2017a. *Chlamydomonas reinhardtii* P.A. Dangeard 1888'in sistematığı http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=27356. -(Erişim Tarihi:30.10.2017).
- Anonim, 2017b. SIVI Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) [http://merlab.kastamonu.edu.tr/portfolio-posts/sivi-kromatografisi kutle spektrometresi-lc-msms/](http://merlab.kastamonu.edu.tr/portfolio-posts/sivi-kromatografisi-kutle-spektrometresi-lc-msms/)-(Erişim Tarihi:31.10.2017).
- Appleby, A. P. 1998. The practical implications of hormetic effects of herbicides on plants. *Human & Experimental Toxicology*, 17(5): 270-271.
- Ardal, E. 2014. Phycoremediation of pesticides using microalgae. Master thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Faculty of Landscape Architecture, Horticulture and Crop Production Science, Department of Plant Breeding, Uppsala, Swedish.
- Asma, V. M., Mathew, K. J. 2001. Uptake of an organochlorine insecticide by a microalga *Tetraselmis gracilis*. *Indian Journal of Fisheries*, 48(1): 49-53.
- Asselborn, V., Fernández , C., Zalocar, Y., Parod, E.R. 2015. Effects of chlorpyrifos on the growth and ultrastructure of green algae, *Ankistrodesmus gracilis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 120: 334–341.
- Bakiyaraj, R., Baskaran, L., Senthilkumar, T. 2014. Isolation and identification of cyanobacteria (*Oscillatoria pseudogeminata* G. schmid) from marine water and its potential on remediation of pesticide. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3): 256-267.
- Beaumont, A. R., Newman, P. B. 1986. Low levels of tributyl tin reduce growth of marine micro-algae. *Marine Pollution Bulletin*, 17(10): 457-461.
- Bedil, B., Kendirlioglu, G., Agirman, N., Cetin, A. K. 2015. Effects of azoxystrobin and flusilazole on growth and protein amount of *Scenedesmus acutus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 24(4): 1258-1262.
- Behra, R., Genoni, G. P., Joseph, A. L. 1999. Effect of atrazine on growth, photosynthesis, and between-strain variability in *Scenedesmus subspicatus* (Chlorophyceae). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(1): 36-41.
- Beketov, M. A., Kefford, B. J., Schäfer, R. B., Liess, M. 2013. Pesticides reduce regional biodiversity of stream invertebrates. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(27): 11039-11043.
- Benton, T. G., Vickery, J. A., Wilson, J. D. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(4): 182-188.
- Bergmann, M., R. H. Peters. 1980. A simple reflectance method for the measurement of particulate pigment in lake water and its application to phosphorus-

- chlorophyll-seson relationships. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 37: 111-114.
- Bhunja, A. K., Johnson, M. G. 1992. A modified method to directly detect in SDS-PAGE the bacteriocin of *Pediococcus acidilactici*. Letters in Applied Microbiology, 15(1): 5-7.
- Bontje, D., Kooi, B. W., Liebig, M., Kooijman, S. A. L. M. 2009. Modelling long-term ecotoxicological effects on an algal population under dynamic nutrient stress. Water Research, 43(13): 3292-3300.
- Bora, A. A. 2012. Biochemical and Molecular approaches to investigate the impact of endosulfan and tebuconazole on the three species of cyanobacteria *Anabaena fertilissima* Rao *Aulosira fertilissima* Ghose and *Westiellopsis prolifica* Janet. PhD Thesis (Biotechnology), Institute of Science and Technology for Advanced Studies and Research (ISTAR), Sardar Patel University, India.
- Borecka, M., Białk-Bielińska, A., Haliński, Ł. P., Pazdro, K., Stepnowski, P., Stolte, S. 2016. The influence of salinity on the toxicity of selected sulfonamides and trimethoprim towards the green algae *Chlorella vulgaris*. Journal of Hazardous Materials, 308: 179-186.
- Braam, F., Klapwijk, A. 1981. Effect of copper on nitrification in activated sludge. Water Research, 15(9): 1093-1098.
- Brooks, G. T., Roberts, T. R. 1999. Pesticide Chemistry and Bioscience: The food-environment challenge. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, pp: 438.
- Buchanan, I., Liang, H. C., Liu, Z., Razaviarani, V., Rahman, M. 2010. Pesticides and herbicides. Water Environment Research, 82(10): 1594-1693.
- Buonasera, K., Pezzotti, G., Scognamiglio, V., Tibuzzi, A., Giardi, M. T. 2009. New platform of biosensors for prescreening of pesticide residues to support laboratory analyses. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(10): 5982-5990.
- Burçak, A. A. 2014. İlaç, Alet ve Toksikoloji Araştırmaları Çalışma Grubu..https://www.tarim.gov.tr/TAGEM/Belgeler/SUNULAR/%C4%B01a%C3%A7,%20Alet%20ve%20Toksikoloji%20Ara%C5%9Ft%C4%B1rma%20%C3%87al%C4%B1%C5%9Fmalar%C4%B1_Dr.%20A.Alev%20Bur%C3%A7ak.pdf. (Erişim tarihi:09.11.2017).
- Cáceres, T., Megharaj, M., Naidu, R. 2008. Toxicity and transformation of fenamiphos and its metabolites by two micro algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorococcum* sp. Science of the Total Environment, 398(1): 53-59.
- Carafa, R., Marinov, D., Dueri, S., Wollgast, J., Giordani, G., Viaroli, P., Zaldivar, J. M. 2009. A bioaccumulation model for herbicides in *Ulva rigida* and *Tapes philippinarum* in Sacca di Goro lagoon (Northern Adriatic). Chemosphere, 74(8): 1044-1052.
- Casserly, D. M., Davis, E. M., Downs, T. D., Guthrie, R. K. 1983. Sorption of organics by *Selenastrum capricornutum*. Water Research, 17(11): 1591-1594.

- Ccanccapa, A., Masiá, A., Navarro-Ortega, A., Picó, Y., Barceló, D. 2016. Pesticides in the Ebro River basin: occurrence and risk assessment. *Environmental Pollution*, 211: 414-424.
- Cedergreen, N., Streibig, J. C., Kudsk, P., Mathiassen, S. K., Duke, S. O. 2007. The occurrence of hormesis in plants and algae. *Dose Response*, 5(2): 150-162
- Cerniglia, C. E. 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3(2-3): 351-368.
- Chacón-Lee, T. L., González-Mariño, G. E. 2010. Microalgae for “healthy” foods—possibilities and challenges. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(6): 655-675.
- Chapman, R. A., Cole, C. M. 1982. Observations on the influence of water and soil pH on the persistence of insecticides. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, 17(5): 487-504.
- Cid, Á., Prado, R., Rioboo, C., Suarez-Bregua, P., Herrero, C. 2012. Use of Microalgae as Biological Indicators of Pollution: Looking for New Relevant Cytotoxicity Endpoints. In: *Microalgae: Biotechnology, Microbiology and Energy*, Ed.: Johnsen, M. N, Nova Science Publishers, New York, pp: 311-323.
- Clegg, T. J., Koevenig, J. L. 1974. The effect of four chlorinated hydrocarbon pesticides and one organophosphate pesticide on ATP levels in three species of photosynthesizing freshwater algae. *Botanical Gazette*, 135(4): 368-372.
- Conway, G. R., Pretty, J. N. 1991. *Unwelcome Harvest: Agriculture and Pollution*. Earthscan Publications Ltd., London, UK, pp: 672.
- Costa, L.G. 2008. Toxic effects of pesticides: Casarett and Doull’s *Toxicology the Basic Science of Poisons*, Ed.: Klaassen, C. D., McGraw-Hill, New York, pp: 883-930.
- Couderchet, M., Vernet, G. 2003. Pigments as biomarkers of exposure to the vineyard herbicide flazasulfuron in freshwater algae. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55(3): 271-277.
- Crane, M., Johnson, I., Sorokin, N., Atkinson, C., Hope, S. J. 2007. Science Report Proposed EQS for cypermethrin. Proposed EQS for water framework directive annex VIII substances: Cypermethrin. Science Report: SC040038/SR7 SNIFFER Report: WFD52(vii). Bristol: Environment Agency.
- Cui, Y., Li, D., Lv, W. 2014. Effects of six pesticides on the growth of *Chlorella vulgaris*. In: *Advanced Research and Technology in Industry Applications (WARTIA)*, 2014 IEEE Workshop, pp: 106-109.
- Cuppen, J. G., Van den Brink, P. J., Van der Woude, H., Zwaardemaker, N., Brock, T. C. 1997. Sensitivity of macrophyte-dominated freshwater microcosms to chronic levels of the herbicide linuron. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38(1): 25–35.
- Çetin, A. K., Mert, N. 2006. Growth Rate of *Scenedesmus acutus* (Meyen) in cultures exposed to trifluralin. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4): 631-633.

- Çetin, A. K., Gur, N., Fırat, Z. 2011. Growth rate of *Scenedesmus acutus* in laboratory cultures exposed to diazinon. African Journal of Biotechnology, 10(34): 6540-6543.
- Çömelekoğlu, Ü., Mazmancı, B., Arpacı, A. 2000. Pestisidlerin kronik etkisine maruz kalan tarım işçilerinde karaciğer fonksiyonlarının incelenmesi. Turkish Journal of Biology, 24: 461-466.
- Daly, G. L., Lei, Y. D., Teixeira, C., Muir, D. C., Castillo, L. E., Wania, F. 2007. Accumulation of current-use pesticides in neotropical montane forests. Environmental Science and Technology, 41(4): 1118-1123.
- Daş, Y. K., Aksoy, A. 2016. Pestisitler. Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics, 2(2): 1-17.
- Davies, P. E., Cook, L. S. J. 1993. Catastrophic macroinvertebrate drift and sublethal effects on brown trout, *Salmo trutta*, caused by cypermethrin spraying on a Tasmanian stream. Aquatic Toxicology, 27(3-4): 201-224.
- Day, K. E., Kaushik, N. K., Solomon, K. R. 1987. Impact of fenvalerate on enclosed freshwater planktonic communities and on in situ rates of filtration of zooplankton. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 44(10): 1714-1728.
- De Carvalho, R. F., Bromilow, R. H., Greenwood, R. 2007. Uptake of pesticides from water by curly waterweed *Lagarosiphon major* and lesser duckweed *Lemna minor*. Pest Management Science, 63(8): 789-797.
- Debenest, T., Silvestre, J., Coste, M., Pinelli, E. 2010. Effects of pesticides on freshwater diatoms. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 203: 87-103.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Günçan, A., Güngör, N., Turgut, C., Burçak, A. 2005. Türkiye’de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongre, 3-7 Ocak 2005, Ankara.
- DeLorenzo, M. E., Scott, G. I., Ross, P. E. 1999. Effects of the agricultural pesticides atrazine, deethylatrazine, endosulfan, and chlorpyrifos on an estuarine microbial food web. Environmental Toxicology and Chemistry, 18(12): 2824-2835.
- DeLorenzo, M. E., Scott, G. I., Ross, P. E. 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: a review. Environmental Toxicology and Chemistry, 20(1): 84-98.
- DeLorenzo, M. E., Taylor, L. A., Lund, S. A., Pennington, P. L., Strozier, E. D., Fulton, M. H. 2002. Toxicity and bioconcentration potential of the agricultural pesticide endosulfan in phytoplankton and zooplankton. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 42(2): 173-181.
- Dere, Ş., Sivacı, R. 2003. Bazı pestisitlerin farklı dozlarının *Monoraphidium contortum* (Thur) Komark-Legn. türünün populasyon yoğunluğuna etkisi. Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi, 4(1): 93-100.
- Dodge, A. D. 1977. Herbicides and Fungicides: Factors Affecting their Activity. Ed. McFarlane, A. M. pp: 7-21, Chemical Society, London.

- Domagalski, J. L., Kuivila, K. M. 1993. Distributions of pesticides and organic contaminants between water and suspended sediments, San Francisco Bay, California. *Journal of Environmental Quality*, 16(3): 416-426.
- Dosnon-Olette, R., Couderchet, M., Eullaffroy, P. 2009. Phytoremediation of fungicides by aquatic macrophytes: toxicity and removal rate. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(8): 2096–2101.
- Dosnon-Olette, R., Trotel-Aziz, P., Couderchet, M. ve Eullaffroy, P. 2010. “ungicide and herbicide removal in *Scenedesmus* cell suspension. *Chemosphere*, 79(2): 117-123.
- Dosnon-Olette, R., Couderchet, M., Oturan, M. A., Oturan, N., Eullaffroy, P. 2011. Potential use of *Lemna minor* for the phytoremediation of isoproturon and glyphosate. *International Journal of Phytoremediation*, 13(6): 601-612.
- Eullaffroy, P., Vernet, G. 2003. The F684/F735 chlorophyll fluorescence ratio: a potential tool for rapid detection and determination of herbicide phytotoxicity in algae. *Water Research*, 37(9): 1983-1990.
- EPA. 1992. Another look: National survey of pesticides in drinking water wells: Phase II report. Office of Water. U.S. Environmental Protection Agency. Office of Pesticides and Toxic Substances, EPA 579/09-91-020.
- EPA. 2000. Synthetic pyrethroids for mosquito control. U.S. Environmental Protection Agency. 735F-00-004. May 2000.
- Fargašová, A. 1997. The effects of organotin compounds on growth, respiration rate, and chlorophylla content of *Scenedesmus quadricauda*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 37(3): 193-198.
- Firat, Z., Çetin, A. K. 2009. Effect of dichlorvos on growth of *Scenedesmus acutus*. *Journal of Applied Biological Sciences*, 3(1): 41-43.
- Fischer, B. B., Eggen, R. I. L., Trebst, A., Krieger-Liszkay, A. 2006. The glutathione peroxidase homologous gene *Gpxh* in *Chlamydomonas reinhardtii* is upregulated by singlet oxygen produced in photosystem II. *Planta*, 223: 583-590.
- Fishel, F. M. 2009. Pest management and pesticides: A historical perspective. Agronomy Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Publication pp: I219. p 1–5. [cited 2014 June 30]. Available from: <http://edis.ifas.ufl.edu/pi219>-(Erişim tarihi: 18.09.2017).
- Fouilland, E. 2012. Biodiversity as a tool for waste phycoremediation and biomass production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(1): 1-4.
- Francois, D. L., Robinson, G. G. C. 1990. Indices of triazine toxicity in *Chlamydomonas geitleri* Ettl. *Aquatic Toxicology*, 16(3): 205-227.
- Friberg-Jensen, U., Wendt-Rasch, L., Woin, P., Christoffersen, K. 2003. Effects of the pyrethroid insecticide, cypermethrin, on a freshwater community studied under field conditions. I. Direct and indirect effects on abundance measures of organisms at different trophic levels. *Aquatic Toxicology*, 63(4): 357-371.

- Fujisawa, T., Kurosawa, M., Katagi, T. 2006. Uptake and transformation of pesticide metabolites by duckweed (*Lemna gibba*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54(17): 6286-6293.
- Gaggi, C., Duccini, M., Bacci, E., Sbrilli, G., Bucci, M., Naby, A. M. 1995. Toxicity and hazard ranking of s-triazine herbicides using microtox® two green algal species and a marine crustacean. Environmental Toxicology and Chemistry, 14(6): 1065-1069.
- Gao, J., Garrison, A. W., Hoehamer, C., Mazur, C. S., Wolfe, N. L. 2000. Uptake and phytotransformation of organophosphorus pesticides by axenically cultivated aquatic plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(12): 6114-6120.
- Gilliom, R. J. 2007. Pesticides in US streams and groundwater. Environmental Science and Technology, 41(10): 3408-3414.
- Gilliom, R. J., Barbash, J. E., Kolpin, D. W., Larson, S. J. 1999. Peer reviewed: testing water quality for pesticide pollution. Environmental Science & Technology, 33(7): 164A-169A.
- Grigg, B. C., Bischoff, M., Turco, R. F. 1997. Cocontaminant effects on degradation of triazine herbicides by a mixed microbial culture. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 45(3): 995-1000.
- GTHB, 2015. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı ve Karantina Daire Başkanlığı, Ankara.
- Guanzon, N. G., Fukuda, M., Nakahara, H. 1996. Accumulation of agricultural pesticides by three freshwater microalgae. Fisheries Science, 62(5): 690-697.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. 1997. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52. İlköz Matbaası, Ankara, 173 s.
- Haitzer, M., Höss, S., Traunspurger, W., Steinberg, C. 1998. Effects of dissolved organic matter (DOM) on the bioconcentration of organic chemicals in aquatic organisms-a review. Chemosphere, 37(7): 1335-1362.
- Hamala, J. A., Kollig, H. P. 1985. The effects of atrazine on periphyton communities in controlled laboratory ecosystems. Chemosphere, 14(9): 1391-1408.
- Hamers, T., Krogh, P. H. 1997. Predator-prey relationships in a two-species toxicity test system. Ecotoxicology and Environmental Safety, 37(3): 203-212.
- Hamutoğlu, R., Dinçsoy, A., Cansaran, B., Duman, D., Aras, S. 2012. Biyosorpsiyon, adsorpsiyon ve fitoremediasyon yöntemleri ve uygulamaları. Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi, 69(4): 235-253.
- Harris, E. H. 2001. *Chlamydomonas* as a model organism. Annual Review of Plant Biology, 52(1): 363-406.
- He, F. 1994. Synthetic Pyrethroids. Toxicology, 91(1): 43-49.
- He, H., Yu, J., Chen, G., Li, W., He, J., Li, H. 2012. Acute toxicity of butachlor and atrazine to freshwater green alga *Scenedesmus obliquus* and cladoceran *Daphnia carinata*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 80: 91-96.

- He, J., Sung, Y., Krajmalnik-Brown, R., Ritalahti, K. M., Löffler, F. E. 2005. Isolation and characterization of *Dehalococcoides* sp. strain FL2, a trichloroethene (TCE)-and 1, 2-dichloroethene-respiring anaerobe. *Environmental Microbiology*, 7(9): 1442-1450.
- Hill, I. R., 1989, Aquatic organisms and pyrethroids: *Pesticide Science*, 27: 429-465.
- Hill, M. K. 2010. *Understanding Environmental Pollution*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp: 562.
- Hilt, S., Gross, E. M. 2008. Can allelopathically active submerged macrophytes stabilise clear-water states in shallow lakes. *Basic and Applied Ecology*, 9(4): 422-432.
- Hoagland, D. R., Amon, D. I. 1938. The water culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station, Circular 347, 32 pp.
- Hogendoorn, E., Van Zoonen, P. 2000. Recent and future developments of liquid chromatography in pesticide trace analysis. *Journal of Chromatography A*, 892(1): 435-453.
- Hooper, H. L., Sibly, R. M., Hutchinson, T. H., Maund, S. J. 2003. The influence of larval density, food availability and habitat longevity on the life history and population growth rate of the midge *Chironomus riparius*. *Oikos*, 102(3): 515-524.
- Huebert, D. B., McIlraith, A. L., Shay, J. M., Robinson, G. G. C. 1990. Axenic culture of *Lemna trisulca* L. *Aquatic Botany*, 38(2-3): 295-301.
- Hultberg, M., Bodin, H., Ardal, E., Asp, H. 2015. Effect of microalgal treatments on pesticides in water. *Environmental Technology*, 7: 1-6.
- Hurlbert, S. H. 1975. Secondary effects of pesticides on aquatic ecosystems. In *Residue Reviews* Springer, New York, NY, 81-148 pp.
- Ivanov, S. V., Alexieva, V. S., Karanov, E. N. 2005. Cumulative effect of low and high atrazine concentrations on *Arabidopsis thaliana* plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, 52(2): 213-219.
- Iwamoto, T., Nasu, M. 2001. Current bioremediation practice and perspective. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92(1): 1-8.
- Jansson, C., Kreuger, J. 2010. Multiresidue analysis of 95 pesticides at low nanogram/liter levels in surface waters using online preconcentration and high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of AOAC International*, 93(6): 1732-1747.
- Jin, Z. P., Luo, K., Zhang, S., Zheng, Q., Yang, H. 2012. Bioaccumulation and catabolism of prometryne in green algae. *Chemosphere*, 87: 278-284.
- Jones, T. W., Winchell, L. 1984. Uptake and photosynthetic inhibition by atrazine and its degradation products on four species of submerged vascular plants. *Journal of Environmental Quality*, 13(2): 243-247.
- Kaduková, J., Virčíková, E. 2005. Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption. *Environment International*, 31(2): 227-232.

- Kamalaveni, K., Gopal, V., Sampson, U., Aruna, D. 2001. Effect of pyrethroids on carbohydrate metabolic pathways in common carp, *Cyprinus carpio*. Pest Management Science, 57(12): 1151-1154.
- Kanoun-Boule M., Vicente J. A. F., Nabais C., Prasad M. N. V., Freitas H. 2009. Ecophysiological tolerance of duckweed exposed to copper. Aquatic Toxicology, 91, 1-9.
- Kara, C., Çömlekçioğlu, U. 2004. Karaçay (Kahramanmaraş)'ın kirliliğinin biyolojik ve fiziko-kimyasal parametrelerle incelenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi, 7(1): 1-7.
- Kaymak, S. 2015. Pestisit sektöründe araştırma ve geliştirme. Meyve Bilimi, 2(1), 27-34.
- Kent, R. A., Weinberger, P. 1991. Multibiological-level responses of freshwater phytoplankton to pesticide stress. Environmental Toxicology and Chemistry, 10(2): 209-216.
- Kähkönen, M. A., Manninen, P. K. 1998. The uptake of nickel and chromium from water by *Elodea canadensis* at different nickel and chromium exposure levels. Chemosphere, 36(6): 1381-1390.
- Kielak, E., Sempruch C., Mioduszevska, H., Klocek, J., Leszczynski, B. 2011. Phytotoxicity of Roundup Ultra 360 SL in aquatic ecosystems: Biochemical evaluation with duckweed (*Lemna minor* L.) as a model plant. Pesticide Biochemistry and Physiology, 99(3), 237-243.
- Kiely, T., Donaldson, D., Grube, A. 2004. Pesticides industry sales and usage: 2000 and 2001 market estimates. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 114.
- Kleczkowski, L. A. 1994. Inhibitors of photosynthetic enzymes/carriers and metabolism. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 45, 339-367.
- Klekner, V., Kosaric, N., 1992. Degradation of phenols by algae. Environmental Technology, 13(5): 493-501.
- Klöppel, H., Kördel, W., Stein, B. 1997. Herbicide transport by surface runoff and herbicide retention in a filter strip-rainfall and runoff simulation studies. Chemosphere, 35(1-2): 129-141.
- Kobayashi, H., Rittman, B. E. 1982. Microbial removal of hazardous organic compounds. Environment Science and Technology 16(3): 170A-183A.
- Körner, S., Lyatuu, G. B., Vermaat, J. E. 1998. The influence of *Lemna gibba* L. on the degradation of organic material in duckweed-covered domestic wastewater. Water Research, 32(10): 3092-3098.
- Kösesakal, T. 2011. Organik kirleticilerin bitkilerle temizlenmesi: Alınma ve parçalanma mekanizmaları. Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 23(3): 123-139.
- Kreutzweiser, D. P., Gunn, J. M., Thompson, D. G., Pollard, H. G., Faber, M. J. 1998. Zooplankton community responses to a novel forest insecticide, tebufenozide

- (RH-5992), in littoral lake enclosures. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 55(3): 639-648.
- Krieger, K. A., Baker, D. B., Kramer, J. W. 1988. Effects of herbicides on stream Aufwuchs productivity and nutrient uptake. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 17(3): 299-306.
- Kumar, A., Sharma, B., Pandey, R. S. 2010. Toxicological assessment of pyrethroid insecticides with special reference to cypermethrin and λ -cyhalothrin in freshwater fishes. International Journal of Biological and Medical Research, 1(4): 315-325.
- Kuster, M., Azevedo, D. A., De Alda, M. L., Neto, F. A., Barceló, D. 2009. Analysis of phytoestrogens, progestogens and estrogens in environmental waters from Rio de Janeiro (Brazil). Environment International, 35(7): 997-1003.
- Laskowski, D. A. 2002. Physical and chemical properties of pyrethroids. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 174(1): 49-170.
- Lee, G. F., Jones-Lee, A. 2006. Agriculture-related water quality problems in the San Joaquin River. In Proceedings of 2006 International Conference on the Future of Agriculture: Science, Stewardship, and Sustainability. Center for Hazardous Substance Research, Kansas State University, Manhattan, US.
- Lee, R. E. 2008. Phycology. Cambridge University Press, London, UK, pp: 561.
- Lewis, M. A. 1995. Use of freshwater plants for phytotoxicity testing: a review. Environmental Pollution, 87(3): 319-336.
- Li, X., Ping, X., Xiumei, S., Zhenbin, W., Liqiang, X. 2005. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 60(2): 188-192.
- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R. 1985. Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11(5): 591-592.
- Liu, Z., Tian, S. Z., Wong, J. H. 1998. Studies on positive growth response of *Chlorella pyrenoidosa* to low concentration Bis (2-Ethylhexyl) phosphoric acid. Environmental Chemistry, 17(2): 120-126.
- Luan, T. G., Jin, J., Chan, S. M., Wong, Y. S., Tam, N. F. 2006. Biosorption and biodegradation of tributyltin (TBT) by alginate immobilized *Chlorella vulgaris* beads in several treatment cycles. Process biochemistry, 41(7): 1560-1565.
- Lutnicka, H., Fochtman, P., Bojarski, B., Ludwikowska, A., Formicki, G. 2014. The influence of low concentration of cypermethrin and deltamethrin on phyto- and zooplankton of surface waters. Folia Biologica, 62(3): 251-257.
- Ma, J. 2005. Differential sensitivity of three cyanobacterial and five green algal species to organotins and pyrethroids pesticides. Science of the Total Environment, 341(1): 109-117.
- Ma, J., Liang, W. 2001. Acute toxicity of 12 herbicides to the green algae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 67(3): 347-351.

- Ma, J., Lu, N., Qin, W., Xu, R., Wang, Y., Chen, X. 2006. Differential responses of eight cyanobacterial and green algal species, to carbamate insecticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 63(2): 268–274.
- Ma, J., Wang, P., Chen, J., Sun, Y., Che, J. 2007. Differential response of green algal species *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Chlorella pyrenoidosa* to six pesticides. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16(6): 847-851.
- Malaj, E., Peter, C., Grote, M., Kühne, R., Mondy, C. P., Usseglio-Polatera, P., Schäfer, R. B. 2014. Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(26): 9549-9554.
- Manthey, M., Faust, M., Smolka, S., Grimme, L. H. 1993. Herbicide bioconcentration in algae: studies on lipophilicity-sorption-activity relationships (LSAR) with *Chlorella fusca*. *Science of the Total Environment*, 134, 453-459.
- Massoud, A. H., Derbalah, A. S., Belal, E. S. B. 2008. Microbial detoxification of metalaxyl in aquatic system. *Journal of Environmental Sciences*, 20(3): 262-267.
- Mattson, M. P. 2008. Hormesis defined. *Ageing Research Reviews*, 7(1): 1-7.
- Mayer, P., Jensen, J. F. 1995. Factors affecting results of algal toxicity tests. MS Thesis, Institute for Environmental Science and Technology, Technical University of Denmark, Lyngby, Denmark.
- Mazmancı, B., Aşkın, A., Tamer, L. 2008. Sıçanlarda lambda siyalotrinin akut toksik etkisinin araştırılması. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1(1): 15-19.
- MEB, 2012. Milli Eğitim Bakanlığı, Çevre Sağlığı “Pestisitler”. Ankara, 2012 http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/pestisitler.pdf (Erişim Tarihi :14.07.2017).
- Megateli, S., Semsari, S., Couderchet, M. 2009. Toxicity and removal of heavy metals (cadmium, copper, and zinc) by *Lemna gibba*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(6): 1774-1780.
- Megharaj, M., Madhavi, D. R., Sreenivasulu, C., Umamaheswari, A., Venkateswarlu, K. 1994. Biodegradation of methyl parathion by soil isolates of microalgae and cyanobacteria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 53(2): 292-297.
- Megharaj, M., Pearson, H. W., Venkateswarlu, K. 1993. Physiological and morphological alterations induced by carbaryl and 1-naphthol combinations in *Nostoc linckia* isolated from soil. *Current Microbiology*, 27(1): 41-45.
- Megharaj, M., Venkateswarlu, K., Rao, A. S. 1989. Effects of carbofuran and carbaryl on the growth of a green alga and two cyanobacteria isolated from a rice soil. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 25(4): 329-336.
- Mendez-Alvarez, S., Leisinger, U., Eggen, R. I. 1999. Adaptive responses in *Chlamydomonas reinhardtii*. *International Microbiology*, 2(1): 15-22.

- Michel, A., Johnson, R.D., Duke, S.O., Scheffler, B.E. 2004. Dose-response relationships between herbicides with different modes of action and growth of *Lemna paucicostata*: an improved ecotoxicological method. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23(4): 1074-1079.
- Migliore, L., Cozzolino, S., Fiori, M. 2003. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants. *Chemosphere*, 52(7): 1233-1244.
- Milam, C. D., Farris, J. L., Wilhide, J. D. 2000. Evaluating mosquito control pesticides for effect on target and nontarget organisms. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 39(3): 324-328.
- Mitsou, K., Koulianou, A., Lambropoulou, D., Pappas, P., Albanis, T., Lekka, M. 2006. Growth rate effects, responses of antioxidant enzymes and metabolic fate of the herbicide Propanil in the aquatic plant *Lemna minor*. *Chemosphere*, 62(2): 275-284.
- Mohapatra, P. K., Mohanty, R. C. 1992. Growth pattern changes of *Chlorella vulgaris* and *Anabaena doliolum* due to toxicity of dimethoate and endosulfan. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 49(4): 576-581.
- Mohapatra, P. K., Patra, S., Samantaray, P. K., Mohanty, R. C. 2003. Effect of the pyrethroid insecticide cypermethrin on photosynthetic pigments of the cyanobacterium *Anabaena doliolum* Bhar. *Polish Journal of Environmental Studies*, 12(2): 207-212.
- Mohapatra, P. K., Schiewer, U. 2000. Dimethoate and quinalphos toxicity: Pattern of photosynthetic pigment degradation and recovery in *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Archiv für Hydrobiologie*, 134: 79-94.
- Moore, A., Waring, C. P. 2001. The effects of a synthetic pyrethroid pesticide on some aspects of reproduction in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Aquatic Toxicology*, 52(1): 1-12.
- Mostafa, F. I., Helling, C. S. 2002. Impact of four pesticides on the growth and metabolic activities of two photosynthetic algae. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 37(5): 417-444.
- MSDS, 2012. Material Safety Data Sheet, MustangMaxx Insecticide. SDS # : 6540-A, Revision Date: 2012-06-13, Version 2, FMC Corporation, USA.
- Nagpal, V., Goyal, S. K. 1992. Growth responses of cyanobacteria to herbicides. *Acta Botanica Indica*, 20: 173-176.
- Nestler, H. 2012. Herbicide effects on *Chlamydomonas reinhardtii* assessed on physiological and molecular levels. PhD Thesis, Technische Universität Bergakademie Freiberg, Germany.
- Netrawali, M. S., Gandhi, S. R., Pednekar, M. D. 1986. Effect of endosulfan, malathion, and permethrin on sexual life cycle of *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 36(1): 412-420.
- Nirmal Kumar, J. I., Bora, A., Amb, M. K. 2010. Chronic toxicity of the triazole fungicide tebuconazole on a heterocystous, nitrogen-fixing rice paddy field

- cyanobacterium, *Westiellopsis prolifica* Janet. Journal of Microbiology and Biotechnology, 20(7): 1134-1139.
- OECD, 2002. OECD Guidelines for the testing of chemicals. Revised proposal for a new guideline 221. *Lemna* sp. Growth inhibition test, 22 pp. www.oecd.org/chemicalsafety/testing/1948054.pdf
- Olette, R., Couderchet, M., Biagianti, S., Eullaffroy, P. 2008. Toxicity and removal of pesticides by selected aquatic plants. Chemosphere, 70(8): 1414-1421.
- Orus, M. I., Marco, E., Martinez, F. 1990. Effect of trichlorfon on N 2-fixing cyanobacterium *Anabaena* PCC 7119. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 19(3): 297-301.
- Oswald, W. J. 1988. Micro-Algae and Wastewater Treatment. Microalgal Biotechnology, M.A. Borowitzka and L.J. Borowitzka (Eds). Cambridge University Press, New York, pp: 357-94.
- Oswald, W. J., Gotaas, H. B., Ludwig, H. F., Lynch, V. 1953. Algae symbiosis in oxidation ponds: II. Growth characteristics of *Chlorella pyrenoidosa* cultured in sewage. Sewage and Industrial Wastes, 25(1): 26-37.
- Öğreten, A. 2017. Zirai Mücadele Araştırma İstasyonu Müdürlüğü, Diyarbakır. <http://www.gapteyap.org/wp-content/uploads/2017/05/Pestisitler.pdf> (Erişim tarihi:10.11.2017).
- Öncüler, C. 1995. Tarımsal Zararlılarla Savaş Yöntemleri. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Bitki Koruma Bölümü, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 260 s.
- Öterler, B. 2009. 3 tatlı su fitoplankton türünün (*Chlorella vulgaris* Beij. 1890, *Scenedesmus quadricauda* (Turpin) Bréb. 1835 ve *Cyclotella meneghiniana* Kütz. 1844) gelişimi üzerine 5 farklı pestisit (azinphos-methyl, malathion, parathion-ethyl, terbufos, trichlorfon) toksisitesi. Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Edirne.
- Özgüven, N. Ç., Katkat, A. V., 1997. Tarımsal uygulamaların su kirliliği üzerine etkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 13: 165-177.
- Palmquist, K., Salatas, J., Fairbrother, A. 2012. Pyrethroid insecticides: use, environmental fate, and ecotoxicology. InTech Open Access Publisher, 30 pp.
- Papadakis, E. N., Tsaoulas, A., Kotopoulou, A., Kintzikoglou, K., Vryzas, Z., Papadopoulou-Mourkidou, E. 2015. Pesticides in the surface waters of Lake Vistonis Basin, Greece: occurrence and environmental risk assessment. Science of the Total Environment, 536: 793-802.
- Pérez-Legaspi, I. A., Ortega-Clemente, L. A., Moha-León, J. D., Ríos-Leal, E., Gutiérrez, S. C. R., Rubio-Franchini, I. 2016. Effect of the pesticide lindane on the biomass of the microalgae *Nannochloris oculata*. Journal of Environmental Science and Health, Part B, 51(2): 103-106.
- Peterson, H. G., Boutin, C., Freemark, K. E., Martin, P. A. 1997. Toxicity of hexazinone and diquat to green algae, diatoms, cyanobacteria and duckweed. Aquatic Toxicology, 39(2): 111-134.

- Peterson, H. G., Boutin, C., Martin, P. A., Freemark, K. E., Ruecker, N. J., Moody, M.J. 1994. Aquatic phytotoxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations. *Aquatic Toxicology*, 28: 275-292.
- Plumer, B. 2013. We've covered the world in pesticides. Is that a problem? *The Washington Post*, August 18, 2013.
- Pollegioni, L., Schonbrunn, E., Siehl, D. 2011. Molecular basis of glyphosate resistance—different approaches through protein engineering. *The FEBS Journal*, 278(16): 2753-2766.
- Porsbring, T., Blanck, H., Tjellström, H., Backhaus, T. 2009. Toxicity of the pharmaceutical clotrimazole to marine microalgal communities. *Aquatic Toxicology*, 91(3): 203-211.
- Prado, R., Rioboo, C., Herrero, C., Cid, A. 2011. Characterization of cell response in *Chlamydomonas moewusii* cultures exposed to the herbicide paraquat: Induction of chlorosis. *Aquatic Toxicology*, 102, 10-17.
- Prasad, S. M., Kumar, D., Zeeshan, M. 2005. Growth, photosynthesis, active oxygen species and antioxidants responses of paddy field cyanobacterium *Plectonema boryanum* to endosulfan stress. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 51(2): 115-123.
- Prasertsup, P., Ariyakanon, N. 2011. Removal of chlorpyrifos by water lettuce (*Pistia stratiotes* L.) and duckweed (*Lemna minor* L.). *International Journal of Phytoremediation*, 13(4): 383-395.
- Priyadarshani, I., Sahu, D., Rath, B. 2011. Microalgal bioremediation: current practices and perspectives. *Journal of Biochemical Technology*, 3(3), 299-304.
- Raina, R. 2011. Chemical Analysis of Pesticides Using GC/MS, GC/MS/MS, and LC/MS/MS. In *Pesticides-Strategies for Pesticides Analysis*. InTech Open Access Publisher, 28 pp.
- Reddy, P. M., Bashamohideen, M. D. 1989. Fenvalerate and cypermethrin induced changes in the haematological parameters of *Cyprinus carpio*. *CLEAN—Soil, Air, Water*, 17(1): 101-107.
- Rioboo, C., González, O., Herrero, C., Cid, A. 2002. Physiological response of freshwater microalga (*Chlorella vulgaris*) to triazine and phenylurea herbicides. *Aquatic Toxicology*, 59(3): 225-235.
- Robinson, R. A., Sutherland, W. J. 2002. Post-war changes in arable farming and biodiversity in Great Britain. *Journal of Applied Ecology*, 39(1): 157-176.
- Rohr, J. R., Kerby, J. L., Sih, A. 2006. Community ecology as a framework for predicting contaminant effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 21(11): 606-613.
- Roy, S., Hänninen, O. 1994. Pentachlorophenol: Uptake/elimination kinetics and metabolism in an aquatic plant, *Eichhornia crassipes*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 13(5): 763-773.

- Sabater, C., Carrasco, J.M. 2001. Effects of pyridapenthion on growth of five freshwater species of phytoplankton: A laboratory study. *Chemosphere*, 44: 1775-1781.
- Sand-Jensen, K., Borum, J. 1991. Interactions among phytoplankton, periphyton, and macrophytes in temperate freshwaters and estuaries. *Aquatic Botany*, 41(1-3): 137-175.
- Saygıdeğer, S. 1996. *Lemna gibba* L. ve *Lemna minor* L. (Lemnaceae)'nin morfolojik, anatomik, ekolojik ve fizyolojik özellikleri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 18: 8-11.
- Schauberg, C. W., Wildman, R. B. 1977. Accumulation of aldrin and dieldrin by blue-green algae and related effects on photosynthetic pigments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 17(5): 534-541.
- Shen, W., Nada, K., Tachibana, S. 1999. Effect of cold treatment on enzymic and nonenzymic antioxidant activities in leaves of chilling-tolerant and chilling-sensitive cucumber (*Cucumis sativus* L.) cultivars. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 68(5): 967-973.
- Schimmel, S. C., Garnas, R. L., Patrick Jr, J. M., Moore, J. C. 1983. Acute toxicity, bioconcentration, and persistence of AC 222,705, benthocarb, chlorpyrifos, fenvalerate, methyl parathion, and permethrin in the estuarine environment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(1): 104-113.
- Schmitt, E.T., Linder, R.E. 1990. Bioaccumulation and Bio Availability in Multiphase System. In: Rand, G.M. (Ed.), *Fundamental of Aquatic Toxicology: Effects, Environ Fate and Risk Assessment*. 2nd edn., Taylor and Francis, Washington, D.C. pp: 43.
- Shoab, N., Siddiqui, P. J. A., Khalid, H. 2012. Toxicity of chlorpyrifos on some marine cyanobacteria species. *Pakistan Journal of Botany*, 44(3): 1131-1133.
- Solomon, K. R., Giddings, J. M., Maund, S. J. 2001. Probabilistic risk assessment of cotton pyrethroids: I. Distributional analyses of laboratory aquatic toxicity data. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(3): 652-659.
- Solomon, K.R., Baker, D.B., Richards, P., Dixon, K.R., Klaine, S.J., La Point, T.W., Kendall, R.J., Giddings, J.M., Giesy, J.P., Hall, L.W.J., Weisskopf, C., Williams, M. 1996. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 15(1): 31-76.
- Somasundaram, L., Coats, J. R., Racke, K. D., Stahr, H. M. 1990. Application of the Microtox system to assess the toxicity of pesticides and their hydrolysis metabolites. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 44(2): 254-259.
- Spawn, R. L., Hoagland, K. D., Siegfried, B. D. 1997. Effects of alachlor on an algal community from a midwestern agricultural stream. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(4). 785-793.
- Starckx, S. 2012. A place in the sun-algae is the crop of the future, according to researchers in Geel, Flanders Today. <http://www.flanderstoday.eu/content/place-sun->(Erişim tarihi: 22.04.2017).

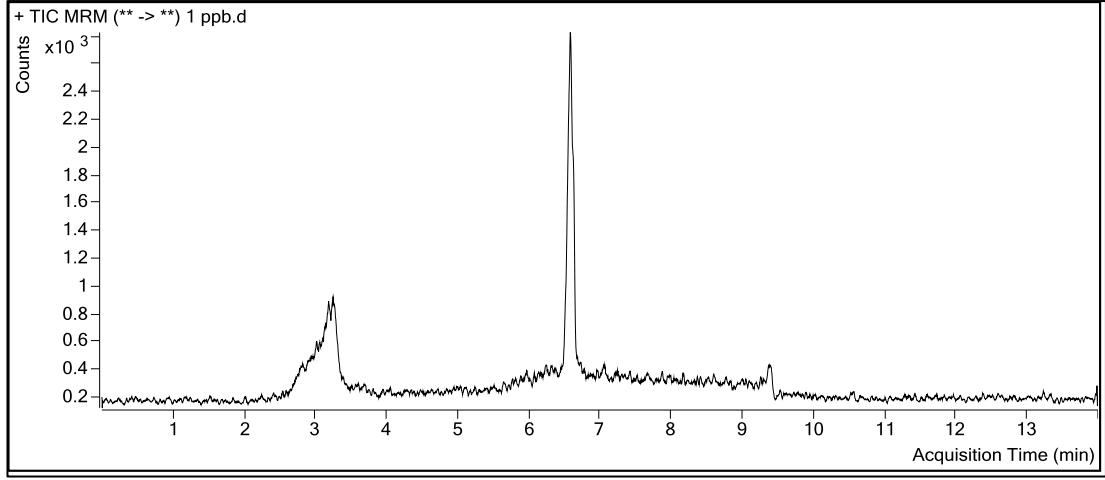
- Steinman, A. D., Lamberti, G. A. 1996. Biomass and pigments of benthic algae: Methods in stream ecology, Eds.: Hauer, F. R., Lamberti G. A., Academic Press, San Diego, CA, pp: 357-379.
- Stevenson, R. J., Pan, Y. 1999. Assessing environmental conditions in rivers and streams with diatoms: The Diatoms: applications for the environmental and earth sciences, Eds.: Stoermer, E. F., Smol, J. P., Cambridge University Press, Cambridge, pp: 11-40.
- Sun, K. F., Xu, X. R., Duan, S. S., Wang, Y. S., Cheng, H., Zhang, Z. W., Hong, Y. G. 2015. Ecotoxicity of two organophosphate pesticides chlorpyrifos and dichlorvos on non-targeting cyanobacteria *Microcystis wesenbergii*. *Ecotoxicology*, 24(7-8): 1498-1507.
- Szivák, I., Behra, R., Sigg, L. 2009. Metal-induced reactive oxygen species production in *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae). *Journal of Phycology*, 45(2): 427-435.
- Tam, N. F., Chong, A. M. Y., Wong, Y. S. 2002. Removal of tributyltin (TBT) by live and dead microalgal cells. *Marine Pollution Bulletin*, 45(1): 362-371.
- Tasmin, R., Shimasaki, Y., Tsuyama, M., Qiu, X., Khalil, F., Okino, N., Oshima, Y. 2014. Elevated water temperature reduces the acute toxicity of the widely used herbicide diuron to a green alga, *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2). 1064-1070.
- Taş, B., Yılmaz, Ö. 2017. Zeta-cypermethrin insektisitinin yeşil alg *Desmodesmus multivariabilis* türünün gelişimi üzerine etkisi. II. International Academic Research Congress (INES 2017), 18-21 October 2017, Alanya/Antalya, abstract book, s. 431.
- Taylor, E. L., Holley, A. G., Kirk, M. 2007. Pesticide development: a brief look at the history. Southern Regional Extension Forestry A Regional Peer Reviewed Publication SREF-FM-010 (Also published as Texas A & M Publication) pp: 805-124.
- Teisseire, H., Couderchet, M., Vernet, G. 1999. Phytotoxicity of diuron alone and in combination with copper or folpet on duckweed (*Lemna minor*). *Environmental Pollution*, 106(1): 39-45.
- Thengodkar, R. R. M., Sivakami, S. 2010. Degradation of chlorpyrifos by an alkaline phosphatase from the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Biodegradation*, 21(4): 637-644.
- Thurman, E. M., Bastian, K. C., Mollhagen, T. 2000. Occurrence of cotton herbicides and insecticides in playa lakes of the high plains of West Texas. *Science of the Total Environment*, 248(2): 189-200.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S. 2010. Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(2): 154-169.
- Toumi, H., Burga-Perez, K. F., Ferard, J. F. 2016. Acute and chronic ecotoxicity of carbaryl with a battery of aquatic bioassays. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 51(1): 57-62.

- Tsai, B. 1989. The fate of glyphosate in water hyacinth and its physiological and biochemical influences on growth of algae. PhD Thesis, North Carolina State University, Raleigh, NC, USA.
- Tsang, C. K., Lau, P. S., Tam, N. F. Y., Wong, Y. S. 1999. Biodegradation capacity of tributyltin by two *Chlorella* species. *Environmental Pollution*, 105(3): 289-297.
- TÜİK, 2017. Türkiye İstatistik Kurumu. <http://www.tuik.gov.tr>.-(Erişim tarihi: 13.07.2017).
- Turabi, M.S. 2007. Bitki koruma ürünlerinin ruhsatlandırılması. Tarım İlaçları Kongre ve Sergisi Bildirileri, Ankara, 25-26 Ekim, 50-61.
- USDA. 2001. ARS Pesticide properties database. U.S. Department of Agriculture. <http://wizard.arsusda.gov/acsl/textfiles/Pyrethrins>. February 8, 2001.-(Erişim tarihi: 17.08.2017).
- Üçüncü Tunca, E., Ölmez, T. T., Özkan, A. D., Altındağ, A., Tunca, E., Tekinay, T. 2016. Correlations in metal release profiles following sorption by *Lemna minor*. *International Journal of Phytoremediation*, 18(8): 785-793.
- Üçüncü, E., Tunca, E., Fikirdeşici, Ş., Altındağ, A. 2013. Decrease and increase profile of Cu, Cr and Pb during stable phase of removal by duckweed (*Lemna minor* L.). *International Journal of Phytoremediation*, 15(4): 376-384.
- Van Donk, E., van de Bund, W. J. 2002. Impact of submerged macrophytes including charophytes on phyto-and zooplankton communities: allelopathy versus other mechanisms. *Aquatic Botany*, 72(3): 261-274.
- Vandenberg, L. N., Colborn, T., Hayes, T. B., Heindel, J. J., Jacobs Jr, D. R., Lee, D. H., Zoeller, R. T. 2012. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocrine Reviews*, 33(3): 378-455.
- Verep, B., Serdar, O., Turan, D., Şahin, C. 2005. İyidere (Trabzon)'nin fiziko-kimyasal açıdan su kalitesinin belirlenmesi. *Ekoloji*, 14(57): 26-35.
- Vijverberg, H. P., Van den Bercken, J. 1990. Neurotoxicological effects and the mode of action of pyrethroid insecticides. *Critical Reviews in Toxicology*, 21(2): 105-126.
- Wahaab, R. A., Lubberding, H. J., Alaerts, G. J. 1995. Copper and chromium (III) uptake by duckweed. *Water Science and Technology*, 32(11): 105-110.
- Wakabayashi, K., Sandmann, G., Ohta, H., Böger, P. 1988. Peroxidising herbicides: comparison of dark and light effects. *Journal of Pesticide Science*, 13(3): 461-471.
- Wakeling, E. N., Atchison, W. D., Neal, A. P. 2012. Pyrethroids and their effects on Ion Channels: Pesticides-Advances in Chemical and Botanical Pesticides, Ed.: Soundararajan, R.P. InTech Open Access Publisher, pp: 28.
- Wang, C. Y., Fu, C. C., Liu, Y. C. 2007. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. *Biochemical Engineering Journal*, 37(1): 21-25.

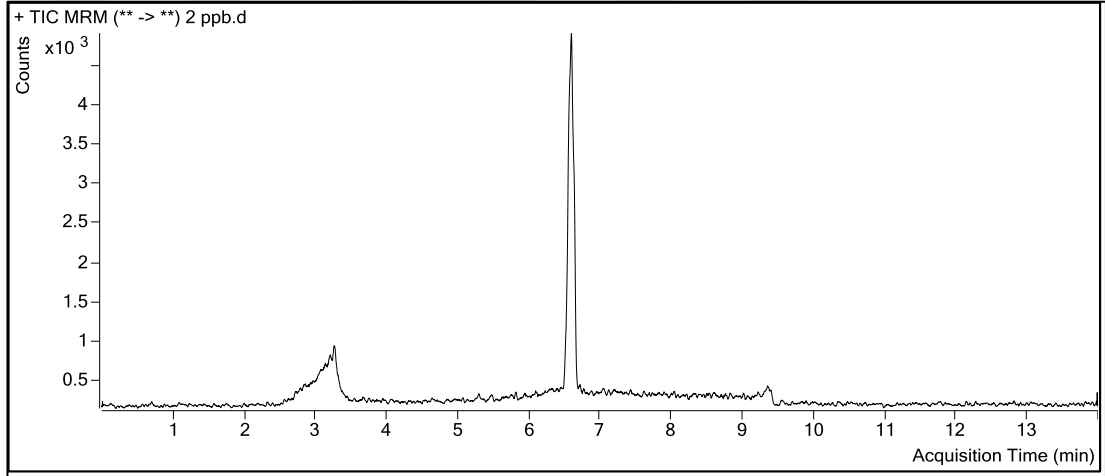
- Wang, Q., Que, X., Zheng, R., Pang, Z., Li, C., Xiao, B. 2015. Phytotoxicity assessment of atrazine on growth and physiology of three emergent plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(13): 9646-9657.
- Wang, W. 1990. Literature review on duckweed toxicity testing. *Environmental Research*, 52(1): 7-22.
- Wang, X. D., Liu, X. J., Yang, S., Li, A. L., Yang, Y. L. 2007. Removal and toxicological response of triazophos by *Chlamydomonas reinhardtii*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 78(1): 67-71.
- Ware, G. W. 1983. Pesticides: chemical tools. In *Pesticides: Theory and Application*, H. W. Freeman, New York, pp. 3-25.
- Warshawsky, D., Keenan, T. H., Reilman, R., Cody, T. E., Radike, M. J. 1990. Conjugation of benzo [a] pyrene metabolites by freshwater green alga *Selenastrum capricornutum*. *Chemico-Biological Interactions*, 74(1-2): 93-105.
- Wei, Y. Y., Zheng, Q., Liu, Z. P., Yang, Z. M. 2011. Regulation of tolerance of *Chlamydomonas reinhardtii* to heavy metal toxicity by heme oxygenase-1 and carbon monoxide. *Plant and Cell Physiology*, 52(9): 1665-1675.
- Wendt-Rasch, L, Friberg-Jensen, U, Woin, P., Christoffersen, K. 2003. Effects of the pyrethroid insecticide cypermethrin on a freshwater community studied under field conditions. II. Direct and indirect effects on the species composition. *Aquatic Toxicology*, 63: 373-389.
- Werner, I., Geist, J., Okihira, M., Rosenkranz, P., Hinton, D. E. 2002. Effects of dietary exposure to the pyrethroid pesticide esfenvalerate on medaka (*Oryzias latipes*). *Marine Environmental Research*, 54(3): 609-614.
- Wetzel, R. G. 2001. *Limnology: lake and river ecosystems*. Gulf Professional Publishing, 250 pp.
- WHO. The WHO recommended classification of pesticides by hazard. http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf (Erişim tarihi: 12.06.2016).
- Wiedman, S. J., Appleby, A. P. 1972. Plant growth stimulation by sublethal concentrations of herbicides. *Weed Research*, 12(1): 65-74.
- Wu, H., Miao, X. 2014. Biodiesel quality and biochemical changes of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in response to nitrate levels. *Bioresource Technology*, 170: 421-427.
- Yadav, N. R., Sharma, S. 2013. Toxic effect of organophosphate, pyrethroids and organochlorine pesticides on *Spirulina platensis* growth rate. *International Journal of Scientific Research*, 2(6): 286-287.
- Yalvaç, M., Avcı, D. E., Taner, F. 2004. Gökusu Deltası derin kuyu sularında methamidophosun araştırılması. *Türk Sucul Yaşam Dergisi*, 2(3): 424-432.
- Yan, G. A., Shen, G. X., Yan, X., Peng, J. L. 1999. Study on ecotoxicology for pesticides to algae II: toxic effect. *Advances in Environmental Science*, 7: 96-106.

- Yavuz, O. 2001. Kemiriciler-Vektör ve Haşerelerden Korunma. Sağlık Meslek Liseleri Çevre Sağlığı Bölümü Ders Kitabı, ISBN 975-6556-22-6, Çare Tek Bilim Eğitim Ltd. Şti, Ankara, 189 s.
- Yenice, Z. 2010. Geçici Daldırma Sistem Biyoreaktörlerle Su Mercimeği (*Lemna minor* L.) Bitkisinin İn Vitro Çoğaltımı. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü, Ankara.
- Yeşil, S., Öğür, E. 2011. Zirai mücadelede pestisit kullanımının Türkiye’de ve Konya ölçeğinde değerlendirilmesi ve pestisit kullanımının olası sakıncaları. I. Konya Kent Sempozyumu, 26-27 Kasım 2011, Konya.
- Yıldız, M., Gürkan, O., Turgut, C., Kaya, Ü., Ünal, G. 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara.- (Erişim tarihi: 26.07.2017).
- Yu, X. B., Hao, K., Ling, F., Wang, G. X. 2014. Aquatic environmental safety assessment and inhibition mechanism of chemicals for targeting *Microcystis aeruginosa*. *Ecotoxicology*, 23(9): 1638-1647.
- Zacharia, J. T. 2011. Identity, physical and chemical properties of pesticides: Pesticides in the modern world-trends in pesticides analysis, Ed.: Stoytcheva, M, InTech, pp: 18.
- Zhang, S., Qiu C. B., Zhou, Y. Jin, Z. P., Yang, H. 2011. Bioaccumulation and degradation of pesticide fluroxypyr are associated with toxic tolerance in green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Ecotoxicology*, 20: 337–347.

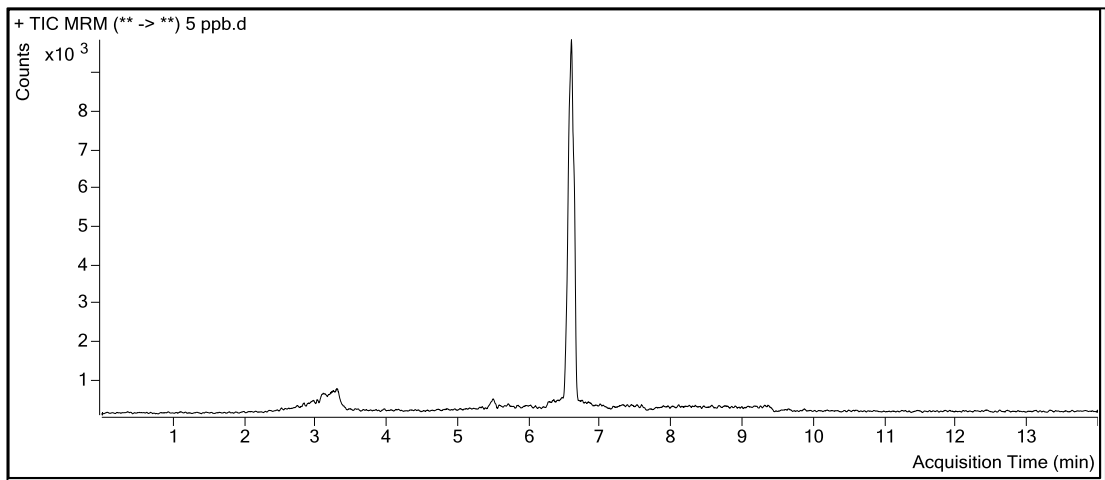
EKLER



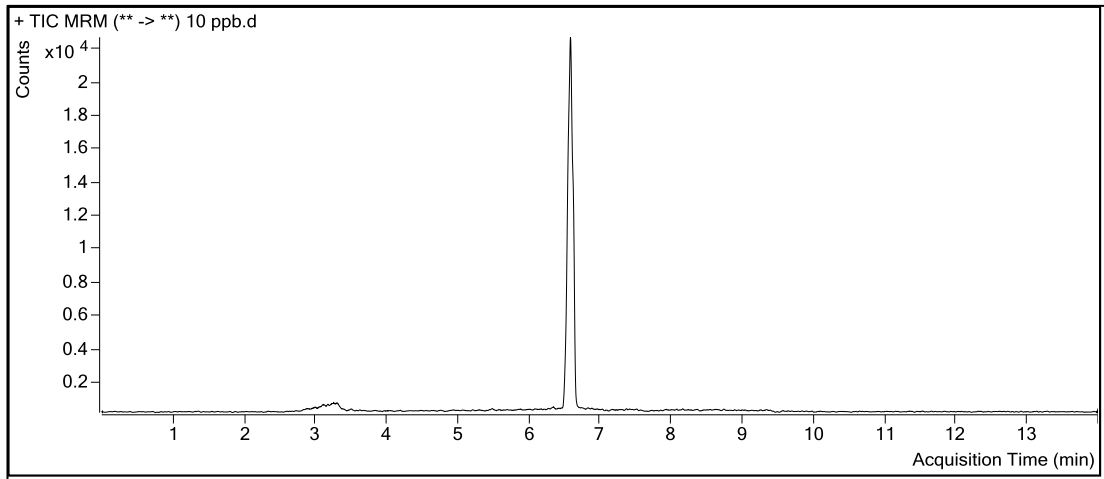
EK 1. 1 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



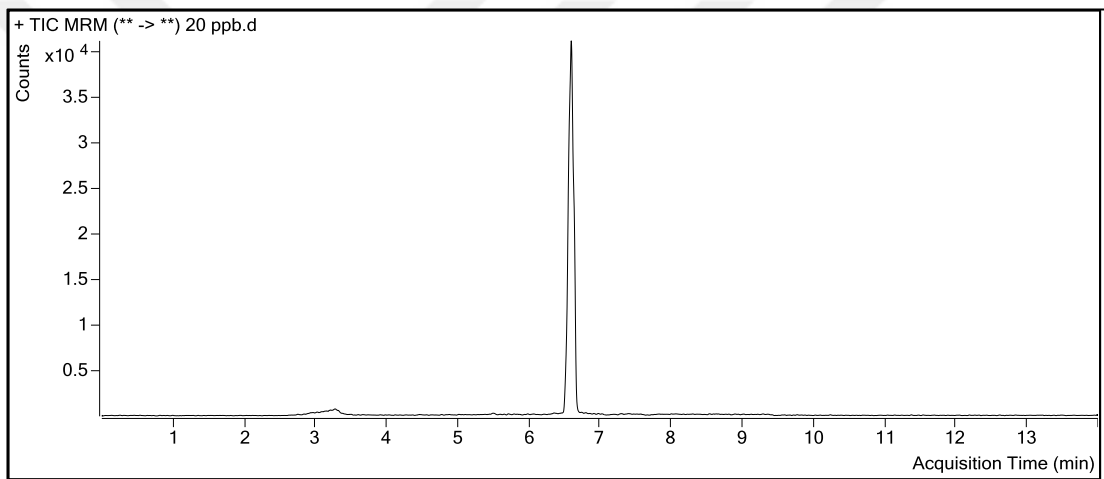
EK 2. 2 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



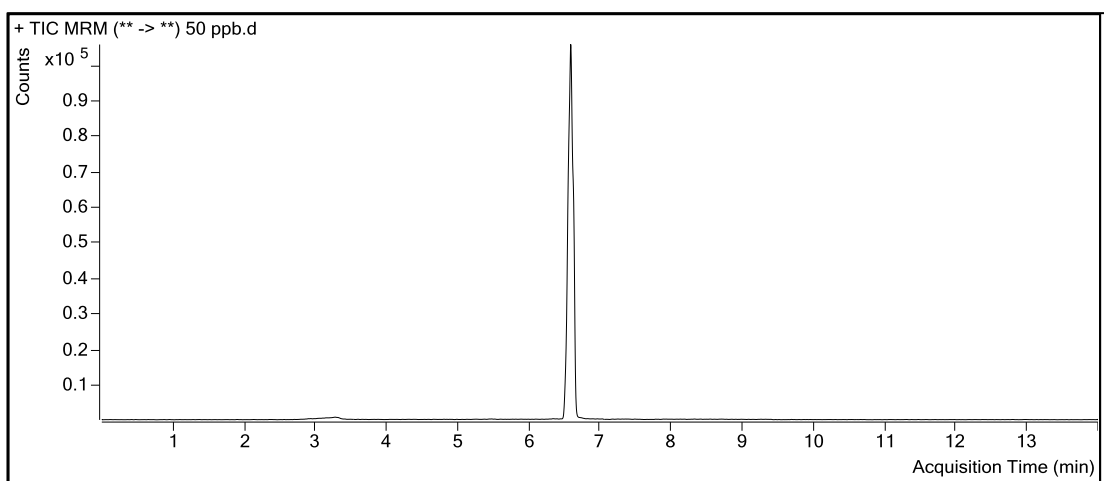
EK 3. 5 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



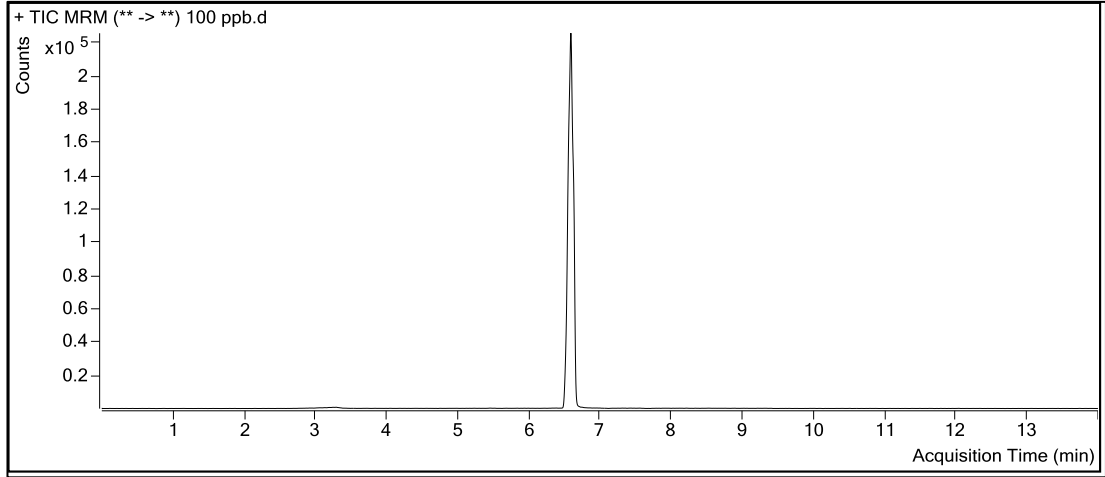
EK 4. 10 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



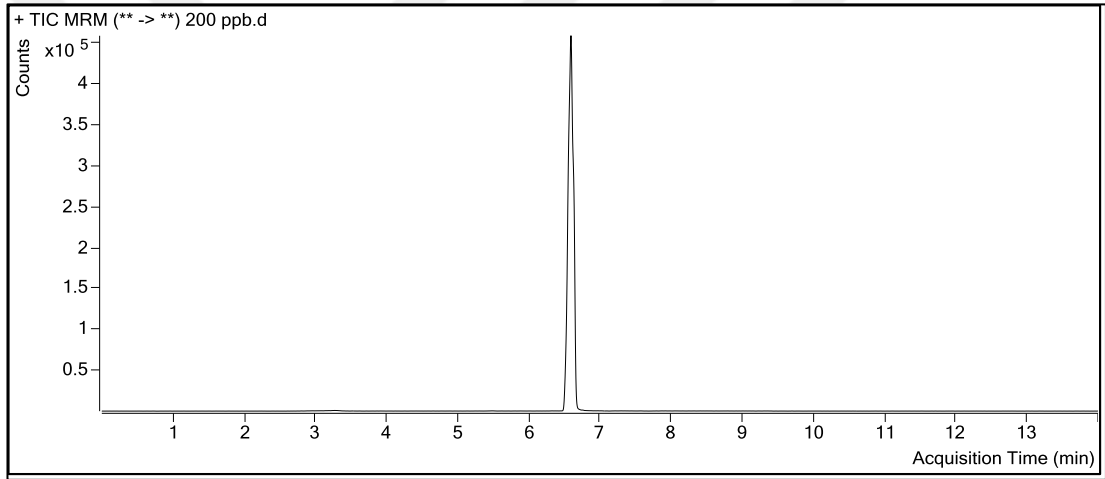
EK 5. 20 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



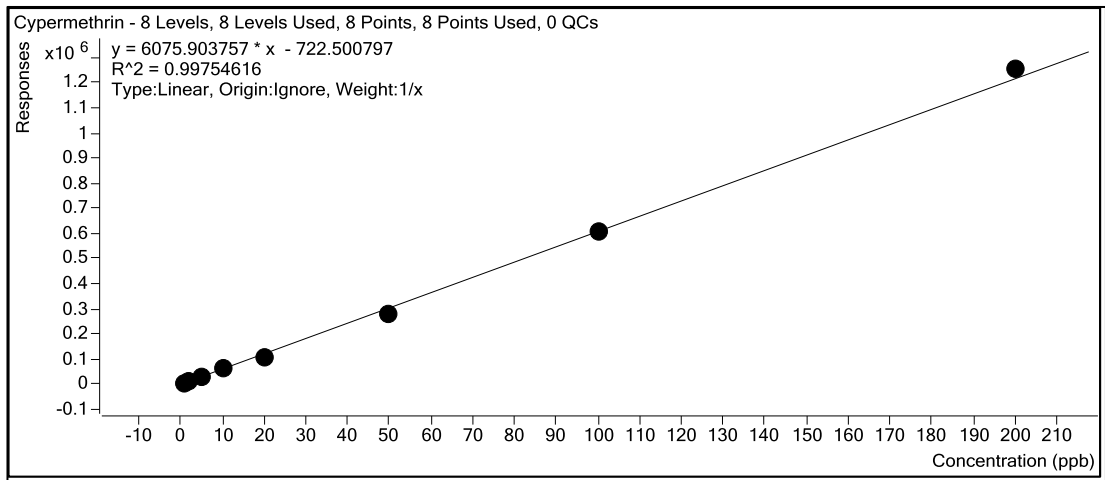
EK 6. 50 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



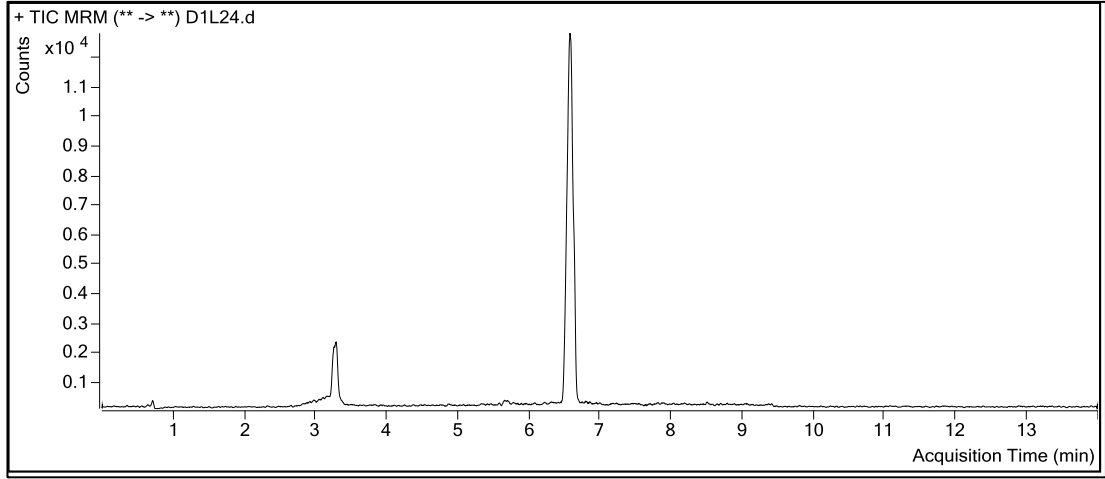
EK 7. 100 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



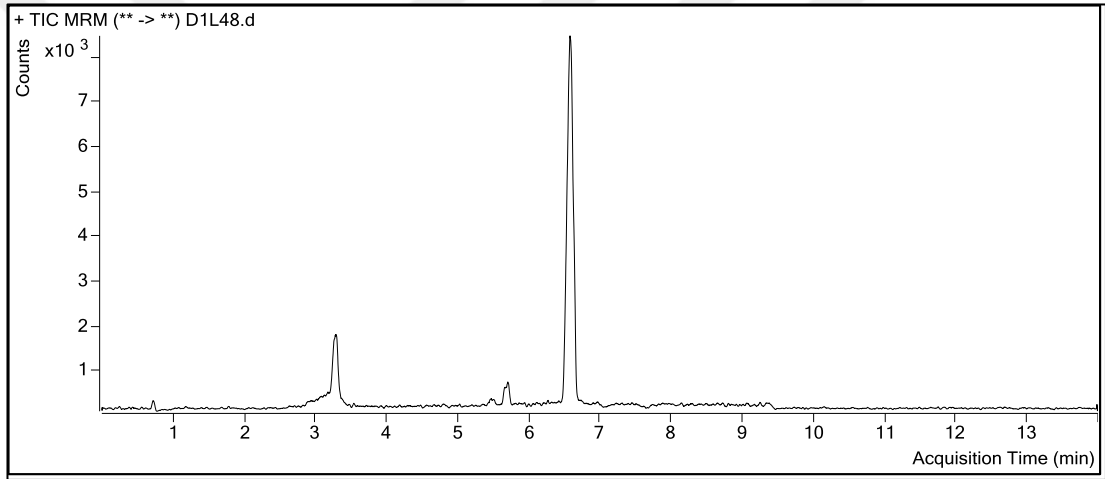
EK 8. 200 ppb konsantrasyonundaki zeta-cypermethrin standartının LC-MS/MS kromatogramı



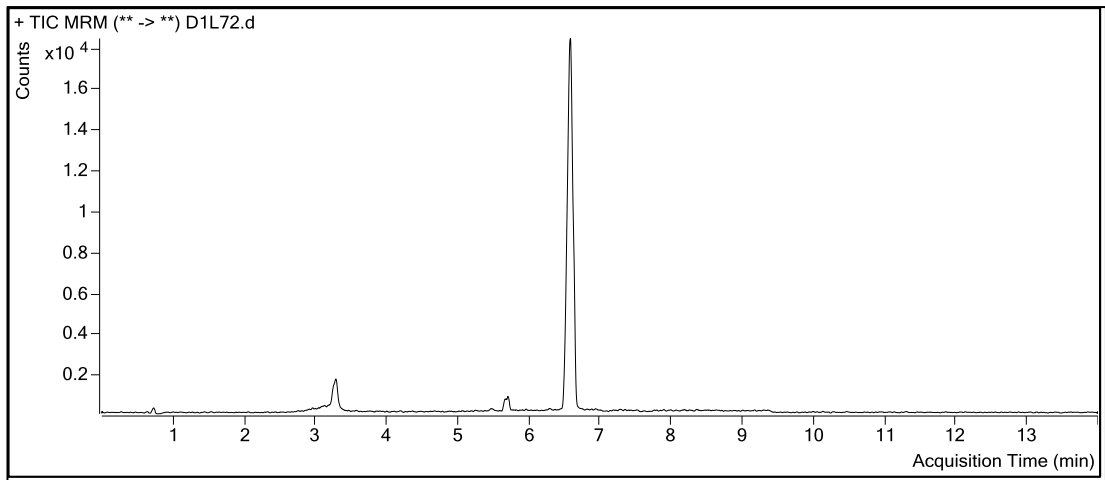
EK 9. Zeta-cypermethrin standartlarının kalibrasyon eğrisi



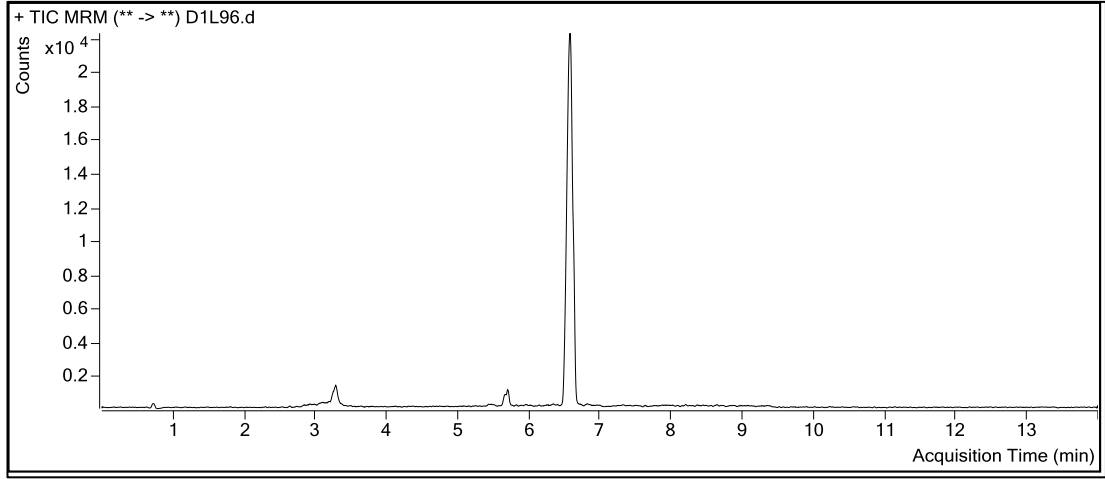
EK 10. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



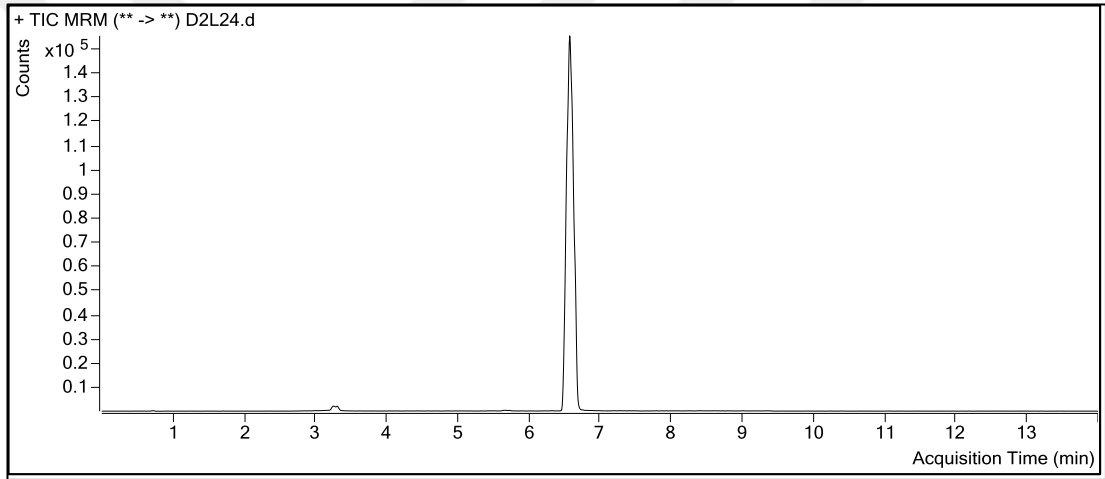
EK 11. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



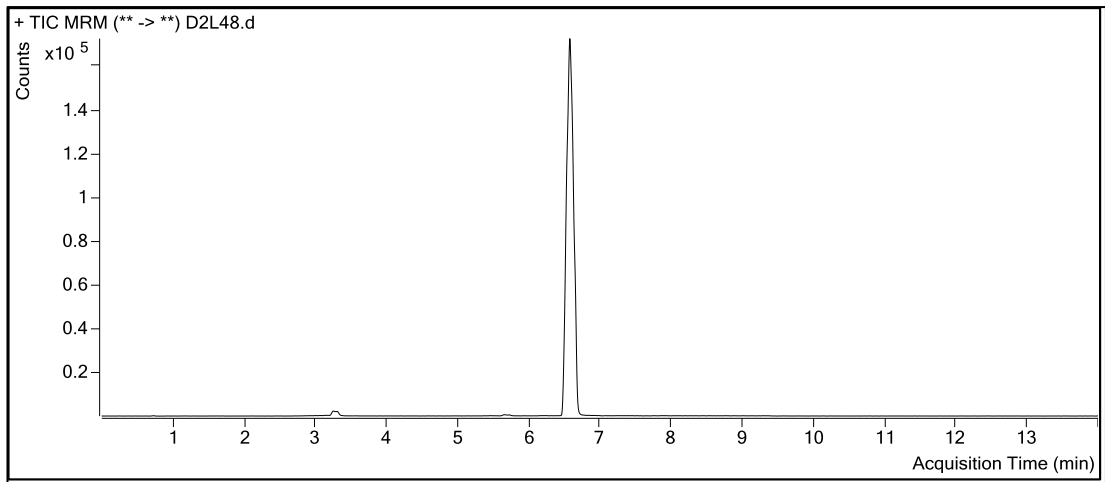
EK 12. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



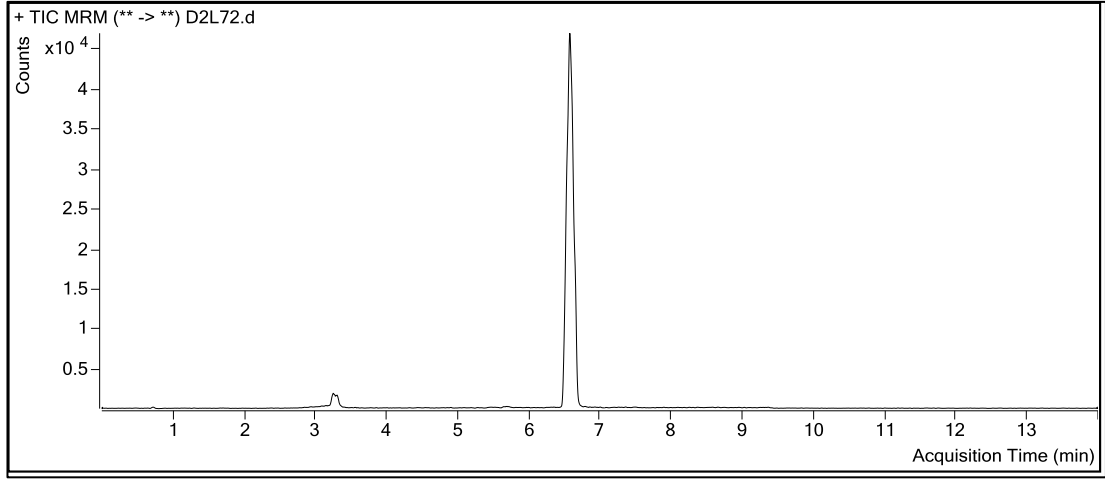
EK 13. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



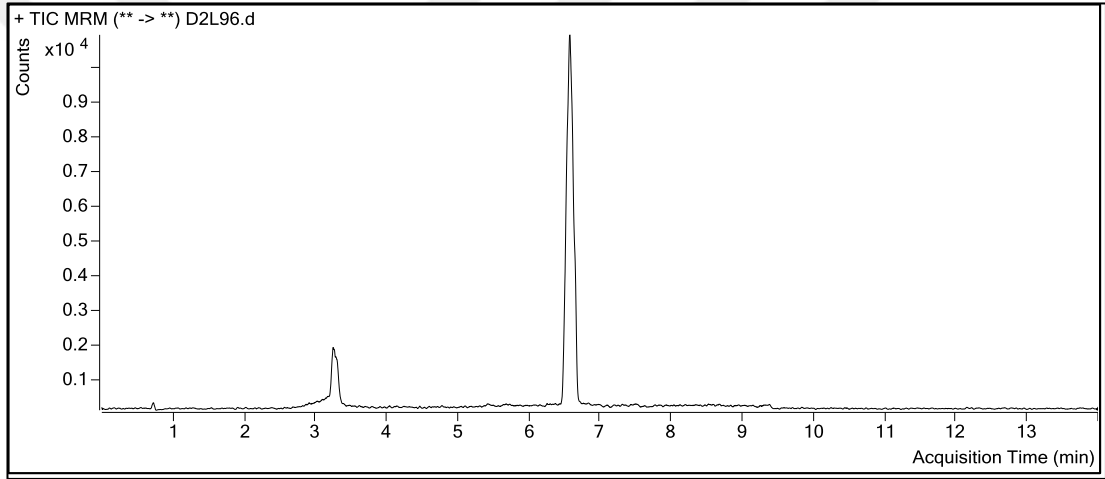
EK 14. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



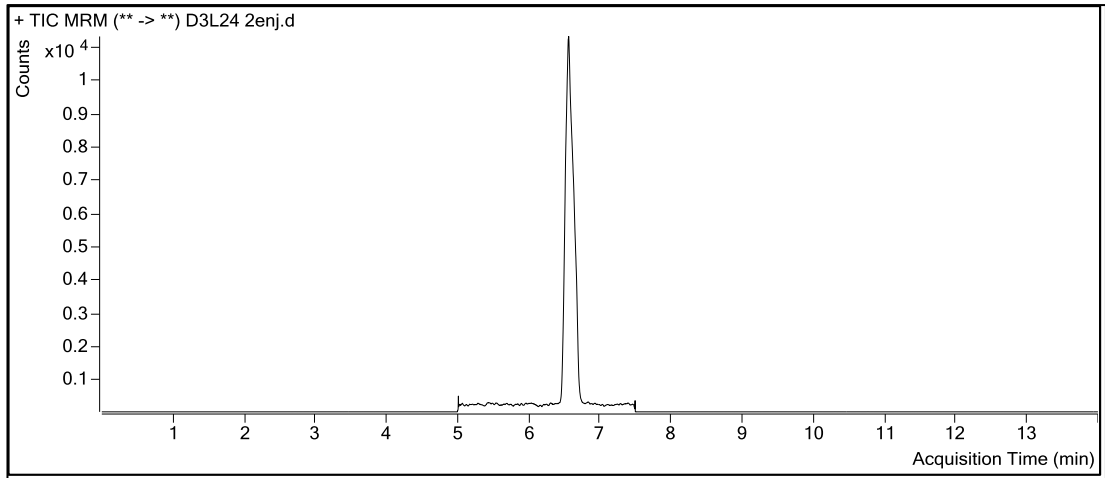
EK 15. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



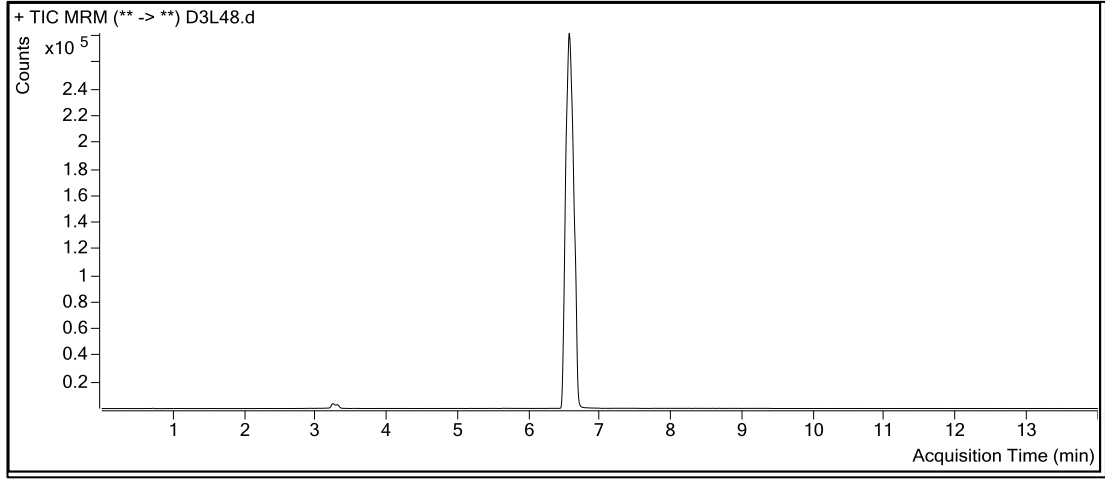
EK 16. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



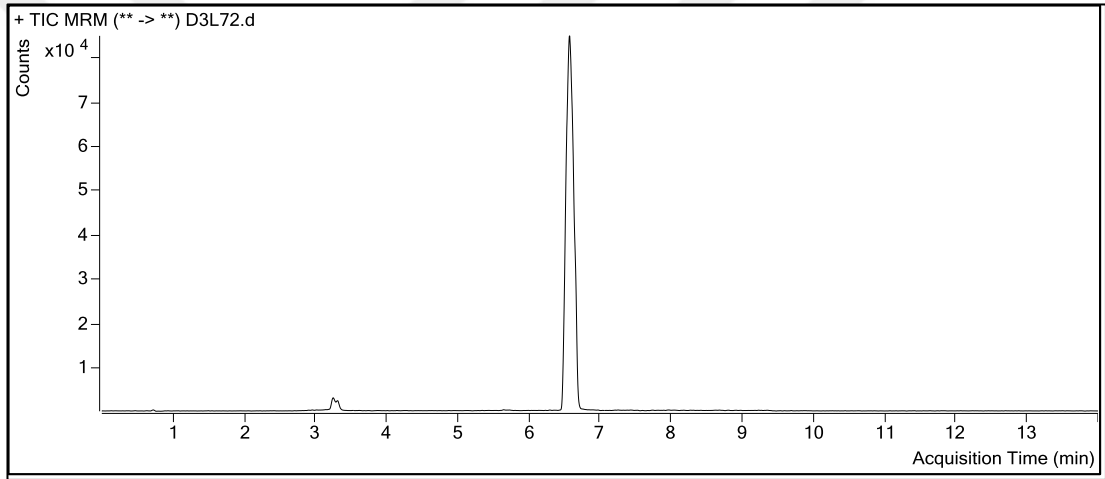
EK 17. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



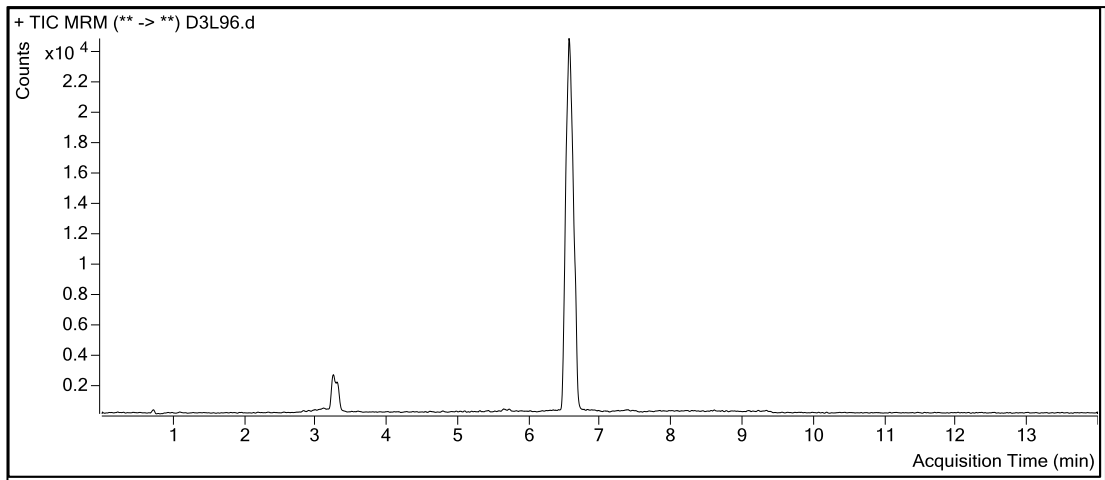
EK 18. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



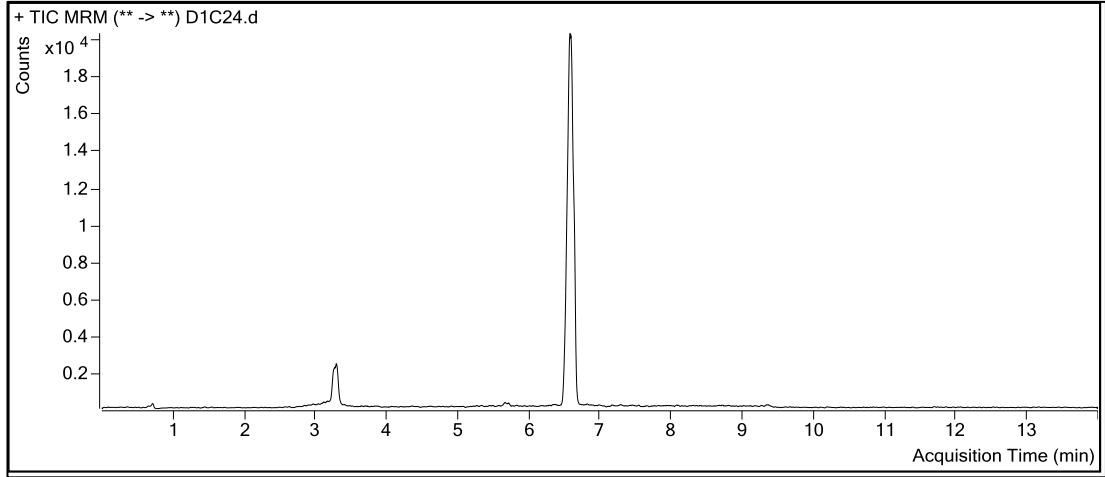
EK 19. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



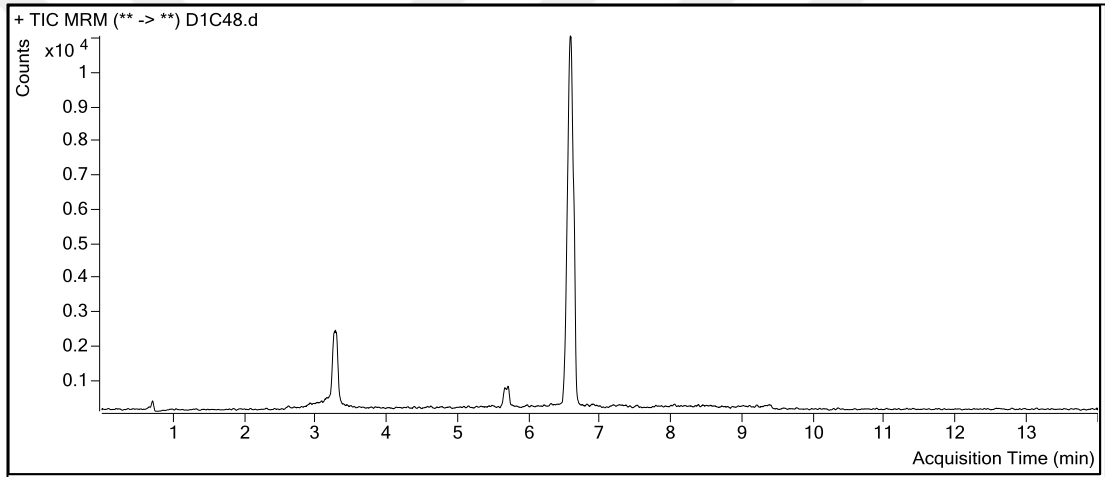
EK 20. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



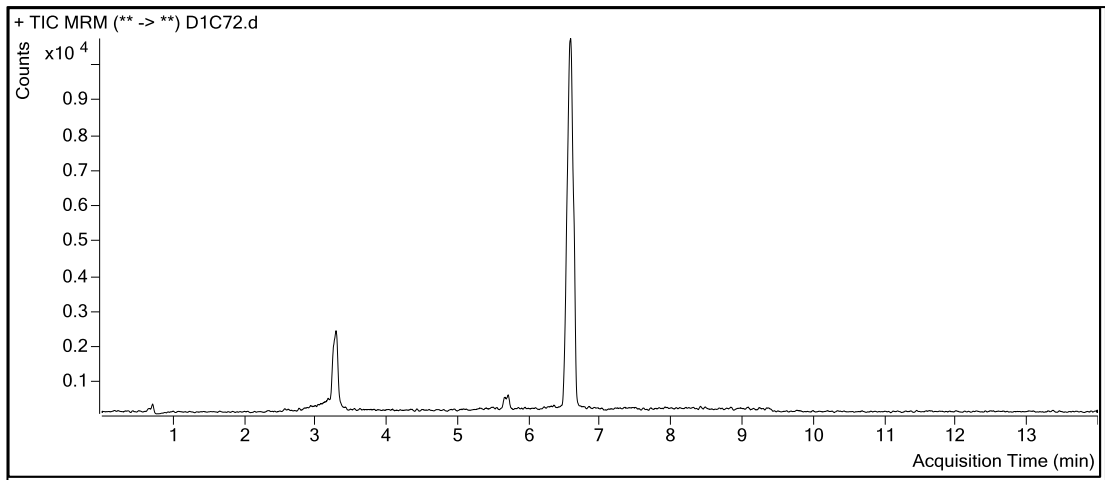
EK 21. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *L. minor* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



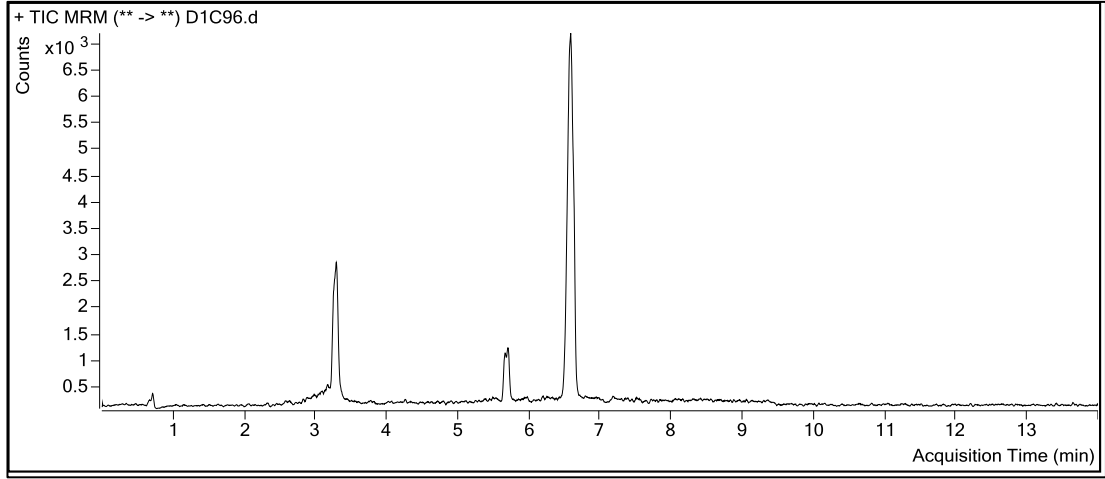
EK 22. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



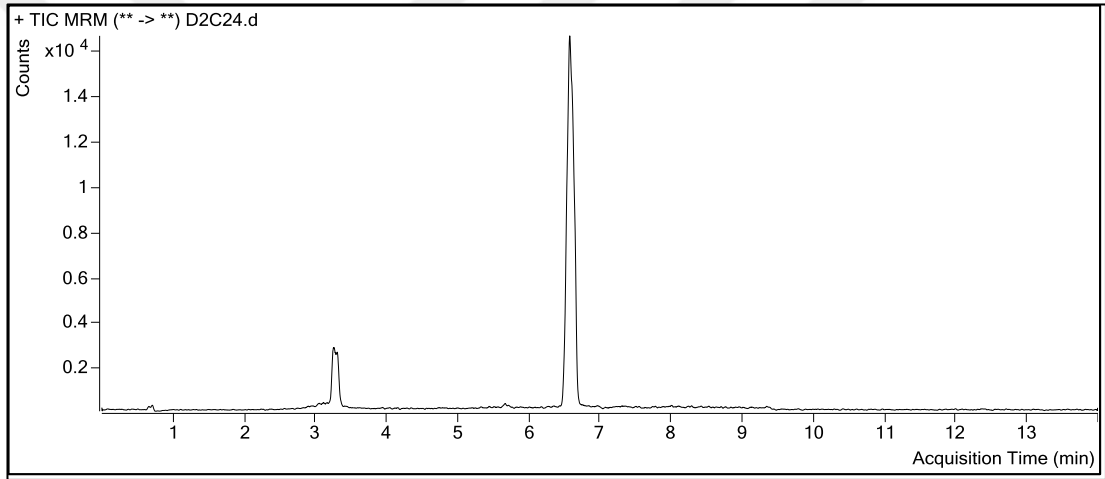
EK 23. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



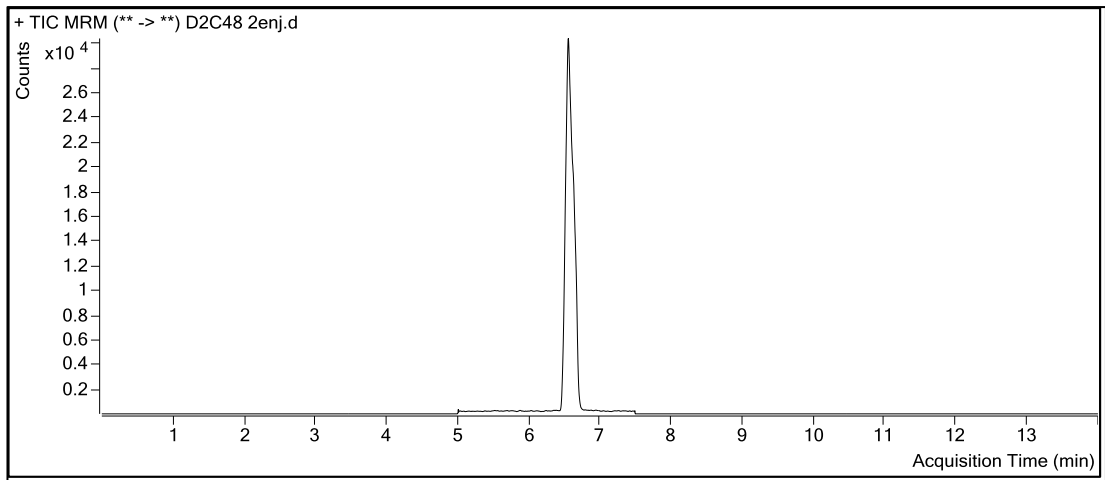
EK 24. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



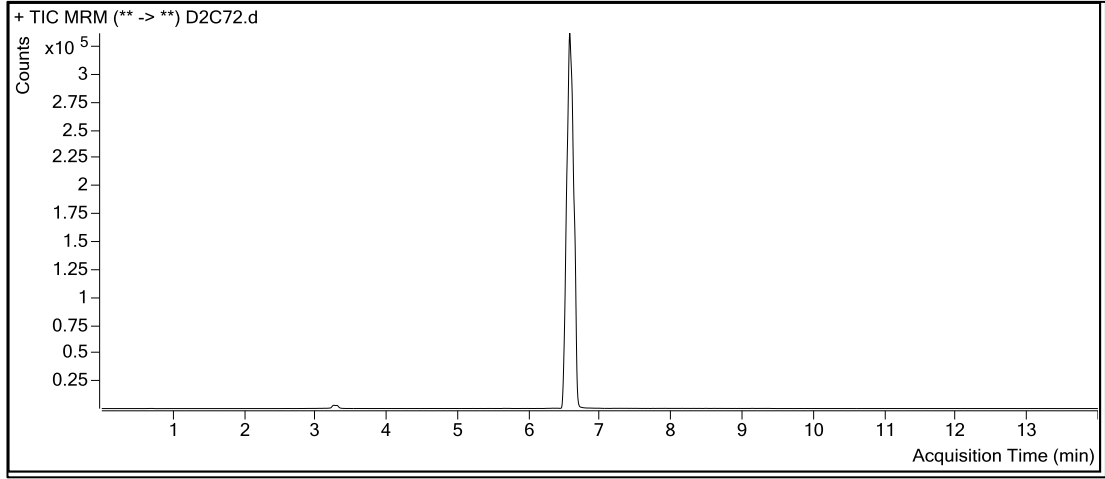
EK 25. 150 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



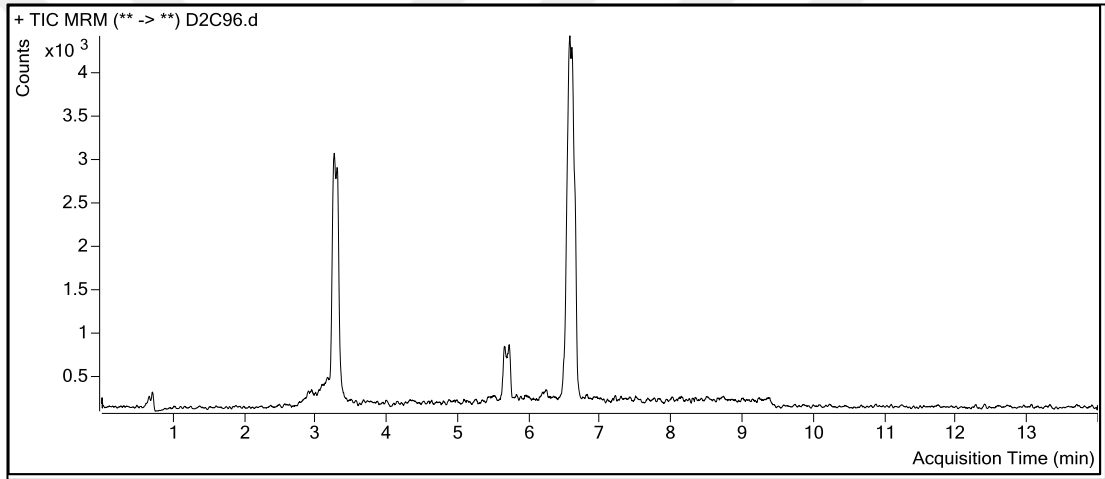
EK 26. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



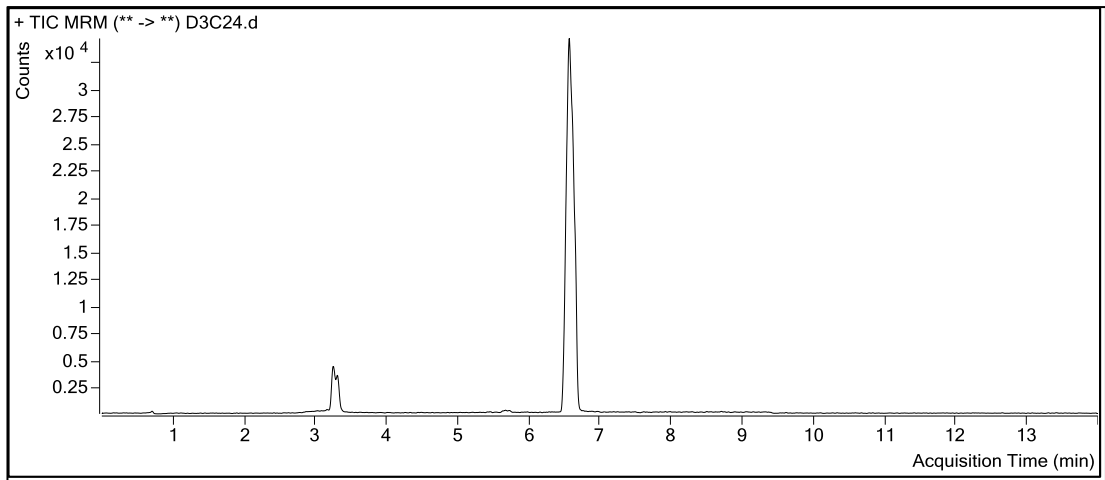
EK 27. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



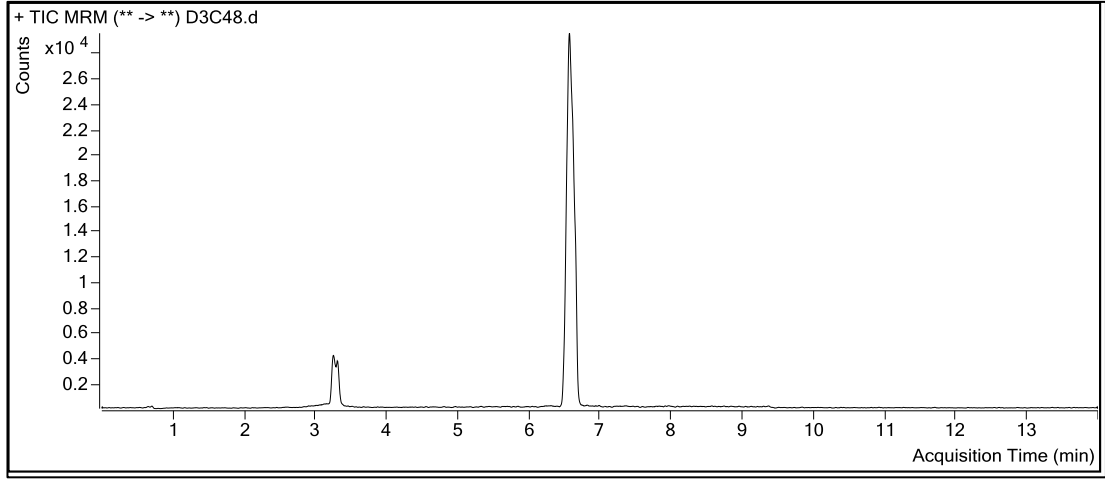
EK 28. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



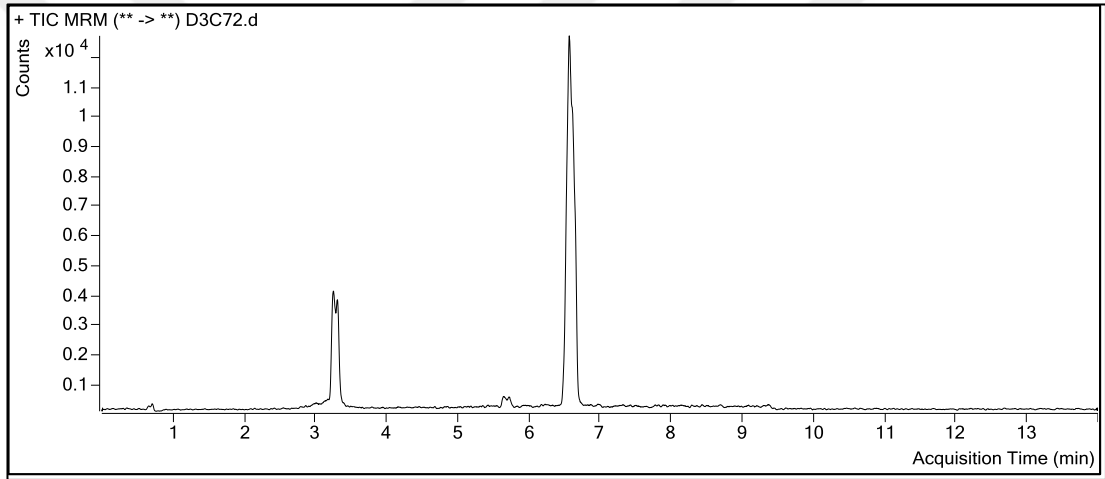
EK 29. 300 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



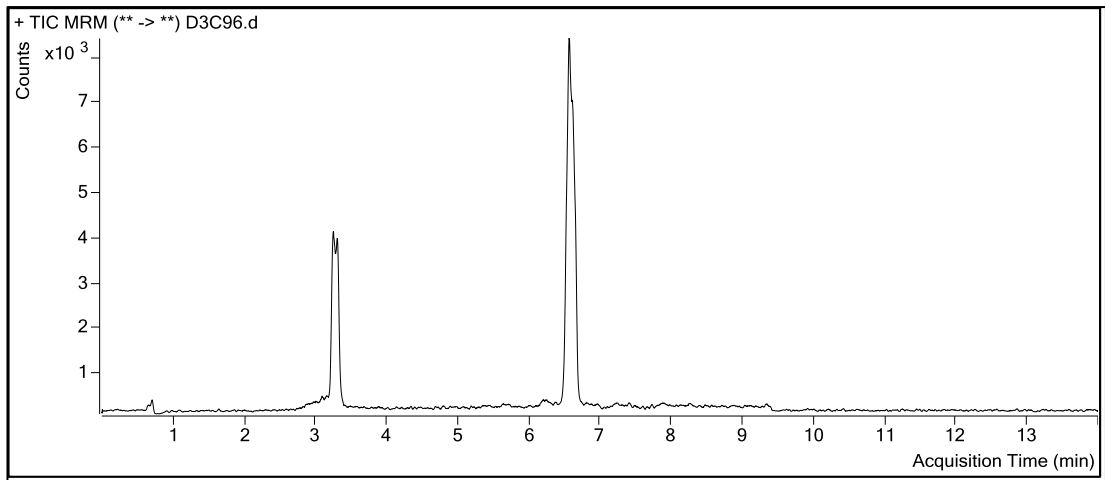
EK 30. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 24. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



EK 31. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 48. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



EK 32. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 72. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı



EK 33. 600 ppb zeta-cypermethrin uygulamasının 96. saatinde *C. reinhardtii* türüne ait LC-MS/MS kromatogramı

ÖZGEÇMİŞ

- Adı Soyadı** : Özlem YILMAZ
- Doğum Yeri** : Fatsa, ORDU
- Doğum Tarihi:** : 08.12.1978
- Yabancı Dili :** : İngilizce (ÜDS: 66.250)
- E-mail** : ozlemyilmaz5255@hotmail.com
- İletişim Bilgileri** : 0546 270 74 44
- Eğitim Bilgileri**
- 1996-2000** : Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Lisans
- 2011-2013** : Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans
- 2013-2018** : Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora
- İş Deneyimi** : Fatsa SSK Dispanseri (2001-2002)
- : Fatsa Yassıtaş Köyü İ.O. (2002-2003)
- : Fatsa Büyükata İ.O. (2003-2004)
- : Aroma-Polifarma İlaç San. ve Tic. A.Ş. Çatalca, İSTANBUL (2005)
- : Özel Dörtçınar Öğrenci Etüt Eğitim Merkezi, Fatsa, ORDU (2005-2006)
- : Özel Birey Dershanesi, Fatsa, ORDU (2007-2008)
- : Özel Fatsa Başarı-Kültür Dershanesi, Fatsa, ORDU (2008-2009)
- : Çatalpınar Çok Programlı Lisesi (2010)
- : Ordu Özel Atılım Kampüs Dershanesi (2011)
- : Ünye Sınav Dergisi Dershanesi (2013)
- : Ordu Büyükşehir Belediyesi (2014-2015)
- : Sinop Şehit Ömer Can Açıkgöz Anadolu İmam Hatip Lisesi (2015-halen)

Yayınlar

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

Taş, B., Ertürk, Ö., **Yılmaz, Ö.**, Çol Ayvaz, M., Yurdakul Ertürk, E. 2015. Chemical component sand biological activities of two fresh water green algae from Ordu, Turkey. Turkish Journal of Biochemistry, 40(6): 508–517.

B. Ulusal/Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

Taş, B., **Yılmaz, Ö.** 2015. Cimil Deresi (Rize, Türkiye)'nin epilitik alg çeşitliliği. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(10): 826-833.

Taş, B., **Yılmaz, Ö.**, Kurt, I. 2015. Aşağı Melet Irmağı (Ordu, Türkiye)'nda su kalitesinin göstergesi olan epipelik diyatomeler. Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 3(7): 610-616.

Taş, B., **Yılmaz, Ö.** 2016. Ordu sahilinde biyolojik bir durum: yeşil gelgit. Yunus Araştırma Bülteni, 16(2), 57-69.

C. Ulusal/Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan (özet) bildiriler:

Yılmaz, Ö., Taş, B. 2013a. Water Quality of Elekci Stream (Ordu). International Conference on Environmental Science and Technology (ICOEST'2013-Cappadocia), June 18-21 Ürgüp, Nevşehir, Turkey.

Taş, B., **Yılmaz, Ö.**, Özoktay, S. 2013a. Accumulation of Metals in *Ceramiumciliatum* and *Cladophora glomerata* in Melet River Basin (Ordu, Turkey) International Conference on Environmental Science and Technology (ICOEST'2013-Cappadocia) June 18-21, Ürgüp, Nevşehir, Turkey.

Taş, B., Özoktay, S., **Yılmaz, Ö.** 2013b. Investigating of Nitrogen, Phosphorus and Metal Accumulation in a Hydrophyte Found in Wetland of Melet River (Ordu, Turkey). International Conference on Environmental Science and Technology (ICOEST'2013-Cappadocia), June 18-21, Ürgüp, Nevşehir, Turkey.

Yılmaz, Ö., Taş, B. 2013b. Elekçi Deresi'nin Epilitik Diyatomeleri (Ordu, Türkiye). III. Ulusal Sulak Alanlar Kongresi, 23-25 Ekim, Samsun, Türkiye.

Yılmaz, Ö., Taş, B. 2016. Elekçi Stream's (Fatsa, Ordu) Algae Except Epilithic Diatome. FABA 2016: International Symposium on Fisheries and Aquatic Science, November 3-5, Antalya, Turkey.

Taş, B., **Yılmaz, Ö.** 2017. Zeta-cypermethrin İnektisitinin Farklı Dozlarının Yeşil Alg *Desmodesmus multivariabilis* Türünün Gelişimi Üzerine Etkisi. II. International Academic Research Congress (INES 2017), 18-21 October 2017, Alanya/Antalya, Turkey.

Projeler

Araştırmacı: Elekçi Deresi (Fatsa, Ordu)'nin Fizikokimyasal Özellikleri ve Epilithic Alg Florasının İncelenmesi. ODÜ BAP Araştırma Fonu, Proje No: TF-1202, 2011-2013, Ordu.

Araştırmacı: Zeta-cypermethrin İnektisitinin Farklı Dozlarının Yeşil Alg *Desmodesmus multivariabilis* Türünün Gelişimi Üzerine Etkisi. ODÜ BAP Araştırma Fonu, Proje No: HD-1602, 2017, Ordu.

Araştırmacı: Zeta-cypermethrin İnektisitinin *Chlamydomonas reinhardtii* (mikro yeşil alg) ve *Lemna minor* (su mercimeği) Üzerine Fitotoksik Etkilerinin Araştırılması. ODÜ BAP Araştırma Fonu, Proje No: AP-1708, devam ediyor.

Katıldığı Kurslar ve Aldığı Sertifikalar

- Pedagojik Formasyon Sertifikası
 - HACCP Eğitimi (Kritik Kontrol Analizi),
 - ÇED (Çevresel Etki Değerlendirme) Raporu Hazırlama Eğitimi,
 - ISO 22000:2005 Gıda Güvenliği Yönetimi Sistemi Temel Eğitimi,
 - ISO 17025 Deney ve Kalibrasyon Laboratuvarı Temel Eğitimi,
- Ordu Üniversitesi, Sürekli Eğitim Merkezi (ODÜSEM), 05-07 Nisan 2013, Ordu.*