

***CHLORELLA VULGARIS*'İN GELİŞİMİ VE PROTEİN
MİKTARI ÜZERİNDE BAZI FUNGUSİTLERİN
(AZOXYSTROBIN, FLUSILAZOLE, PENCONAZOLE VE
TRIADIMENOL) ETKİLERİ**

Burçin BEDİL

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN
OCAK - 2015**

**T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

***CHLORELLA VULGARIS*'İN GELİŞİMİ VE PROTEİN MİKTARI ÜZERİNDE
BAZI FUNGUSİTLERİN (AZOXYSTROBIN, FLUSILAZOLE, PENCONAZOLE
VE TRIADIMENOL) ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Burçin BEDİL

121110102

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Genel Biyoloji

Tez Danışmanı: Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 29 Aralık 2014

OCAK- 2015

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***CHLORELLA VULGARIS*'İN GELİŞİMİ VE PROTEİN MİKTARI ÜZERİNDE
BAZI FUNGUSİTLERİN (AZOXYSTROBIN, FLUSILAZOLE, PENCONAZOLE
VE TRIADIMENOL) ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BURÇİN BEDİL
121110102

Anabilim Dalı: Biyoloji
Programı: Genel Biyoloji

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 29.12.2014
Tezin Savunulduğu Tarih: 15.01.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN

Jüri Üyeleri : Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN

Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU

Doç. Dr. Vesile YILDIRIM

OCAK- 2015

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde destek ve ilgilerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. A. Kadri ÇETİN' e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Yüksek lisans çalışmamın **FF.13.32** no' lu proje ile mali desteğini sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Yönetim Birimi'ne (FÜBAP) teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmam esnasında benden desteklerini esirgemeyen aileme de sonsuz teşekkür ederim.

BURÇİN BEDİL
ELAZIĞ- 2015

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL VE METOT.....	9
2.1. Materyal.....	9
2.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i>	9
2.2. Metot	10
2.2.1. Sıvı Besi Ortamının Hazırlanması	10
2.2.2. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in İzolasyonu ve Sıvı Besi Ortamında Çoğaltılması.....	11
2.2.3. Stok <i>Chlorella vulgaris</i> Kültürlerinin Hazırlanması	11
2.2.4. Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> ' in Hücre Sayılarının Belirlenmesi	12
2.2.5. Protein Analizi	13
3. BULGULAR.....	15
3.1. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Gelişimi.....	15
3.1.1. Azoxystrobin Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Gelişimi.....	15
3.1.2. Flusilazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Gelişimi... 16	
3.1.3. Penconazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Gelişimi..17	
3.1.4. Triadimenol Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Gelişimi..19	
3.2. <i>Chlorella vulgaris</i> ' in Protein Miktarındaki Değişim	20
3.2.1. Azoxystrobin Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Protein Miktarındaki Değişim.....	20
3.2.2. Flusilazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Protein Miktarındaki Değişim.....	22
3.2.3. Penconazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Protein Miktarındaki Değişim	23
3.2.4. Triadimenol Uygulaması Yapılan Kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in Protein	

Miktarındaki Değişim.....	24
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	27
KAYNAKLAR.....	30
ÖZGEÇMİŞ.....	34

ÖZET

Bu çalışmada, azoxystrobin, flusilazole, penconazole ve triadimenol adlı pestisitlerin *Chlorella vulgaris*'in gelişimi ve protein miktarı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Karasal ortamda zararlılara karşı kullanılan azoxystrobin, flusilazole, penconazole ve triadimenol yalnızca hedef organizma üzerinde etkili olmadıkları alıcı ortamlara ulaşarak hedef olmayan organizmaları da etkiledikleri tespit edilmiştir. Sıvı besi yerindeki kültürlerde, pestisitlerin konsantrasyonlarına ve maruz bırakılma süresine bağlı olarak *Chlorella vulgaris*' in birey sayısında ve protein miktarında değişiklikler olduğu gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Chlorella vulgaris*, Pestisit, Fungusit, Azoxystrobin, Flusilazole, Penconazole, Triadimenol

SUMMARY

Effects of Some Fungicides (Azoxystrobin, Flusilazole, Penconazole and Triadimenol) on Growth and Protein amount of *Chlorella vulgaris*

In this study, the effects of azoxystrobin, flusilazole, penconazole and triadimenol on growth and protein amount of *Chlorella vulgaris* was examined. Effects of azoxystrobin, flusilazole, penconazole and triadimenol in terrestrial ecosystems do not only remain restricted to target organisms but also rather extend to non-target organisms. It was observed of growth and protein amount of *Chlorella vulgaris* decreased with the increasing pesticide concentration and time.

Key Words: *Chlorella vulgaris*, Pestisit, Fungusit, Azoxystrobin, Flusilazole, Penconazole, Triadimenol

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.2.4.1. Hücre sayısı standart eğrisi.....	12
Şekil 2.2.5.1. Protein standart eğrisi	13
Şekil 3.1.1.1. Azoxystrobin uygulaması yapılan kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> ' in hücre sayısındaki değişim	16
Şekil 3.1.2.1. Flusilazole uygulaması yapılan kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> ' in hücre sayısındaki değişim	17
Şekil 3.1.3.1. Penconazole uygulaması yapılan kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> ' in hücre sayısındaki değişim	19
Şekil 3.1.4.1. Triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde <i>Chlorella vulgaris</i> ' in hücre sayısındaki değişim.....	20
Şekil 3.2.1.1. Azoxystrobin uygulaması yapılan kültürde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in protein miktarındaki değişim.....	22
Şekil 3.2.2.1. Flusilazole uygulaması yapılan kültürde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in protein miktarındaki değişim.....	23
Şekil 3.2.3.1. Penconazole uygulaması yapılan kültürde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in protein miktarındaki değişim.....	24
Şekil 3.2.4.1. Triadimenol uygulaması yapılan kültürde <i>Chlorella vulgaris</i> 'in protein miktarındaki değişim.....	26

TABLÖLAR LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i> 'in sistematığı	9
Tablo 2.2.1.1. Jaworski besin çözeltisi	10

1. GİRİŞ

Tarımsal alanların her geçen gün azaldığı, nüfus artışının kontrol edilemediği dünyamızda açlık sorunu kendini her geçen gün daha fazla hissettirmekte ve insanoğlunun çevresi ile olan ilişkilerini yeniden düzenleme ihtiyacını doğurmaktadır. Açlık sorununun üstesinden gelebilmek amacıyla birim alandan daha fazla ürün alabilmek maksadı ile yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Özellikle ikinci dünya savaşından sonra çeşitli kimyasalların tarımda kullanılmasına başlanılmıştır. Bu yıllarda DDT'nin yaygın kullanımı ile başlayan tarımsal uygulamalar, günümüze kadar artarak devam etmektedir. Bu uygulamalarda temel amaç; ürün kalitesinin artırılmasının yanında zararlılarla da mücadele etmektir. Bu amaçla zararlı organizmaları engellemek, kontrol altına almak ya da zararlarını azaltmak için kullanılan madde ya da maddelerden oluşan karışımlar genel olarak **pestisit** olarak isimlendirilmektedirler.

Pestisitlerin tümü karbon, hidrojen ve klor içerdiklerinden klorlu hidrokarbonlar olarak da adlandırılırlar. Genel anlamda pestisitlerin doğada uzun süre bozulmadan kalabilmeleri, hedeflenen organizmalar üzerinde seçiciliklerinin olmaması ve besin zinciri boyunca birikimleri sonucunda bazı bölgelerde yararlı türlerin de yok olmasına dolayısıyla ekosistemdeki dengenin bozulmasına ve bu tür ürünlere karşı direnç gösteren yeni soyların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Pestisitler; etkiledikleri organizmalara göre insektisitler, fungusitler, herbisitler, mollusitler, rodentisitler, nematisitler ve akarisitler olmak üzere çeşitli şekillerde isimlendirilirler.

Dünyada tarım ilacı üretimi 3 milyon ton, yıllık satış tutarı ise 25-30 milyar \$ arasında değişmektedir. Dünya pestisit pazarında tonaj olarak yılda %1 civarında bir büyüme beklenmektedir. Herbisitler tarım ilaçları içinde % 47'lik bir payla birinci sırayı almaktadır. Bunu %29 ile insektisitler izlemekte, fungusitlerin ise % 19'luk bir payı bulunmaktadır. Türkiye'de tarım ilacı tüketimi ortalama 33.000 tondur. Bu miktarın %47'sini insektisitler, %24'ünü herbisitler, %16'sını fungusitler, %13'ünü de diğer gruplar oluşturmaktadır. Bu pestisitlerin yıllık satış tutarı da yaklaşık 230-250 milyon \$ 'dır.

Zararlılarla mücadelede kullanılan pestisitlerin etkileri her zaman sadece hedef organizma gurubu ile sınırlı kalmayıp uygulama alanlarından çok uzaklardaki organizmaları da etkileyebilmektedir. Pestisitlerin uygulama alanlarından sulama suları ve yağmur suları

aracılığı ile yeraltı suları veya yüzey su kaynaklarına taşınmaları bu ortamlarda yaşayan sucul organizmalar üzerinde de son derece etkili olmaktadır. Sulardaki primer üreticiler olan algler, pestisit kontaminasyonundan etkilenen en hassas organizmalardır.

Sularda besin zincirinin ilk halkasını oluşturan algler, fotosentez sonucunda sucul ortama kazandırdıkları çözünmüş O₂ ile sucul ortamı diğer organizmalar için yaşanabilir hale getirirken fotosentezde ürettikleri organik madde ile de kendileri üzerinden beslenen organizmaların temel besinini oluştururlar. Ancak, çevre koruma tedbirlerinin yetersizliği ve insanımızın çevreyi korumada yeterince bilinçli olmaması sonucu özellikle iç sularımızda gözle görülür derecede kirliliğin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Özellikle tarım alanlarında kullanılan pestisitlerin, sulama suları veya yağmur suları ile yüzey sularına taşınmaları sucul organizmalar için önemli derecede tehlike oluşturmaktadır. Sucul ortamlarda bu denli önemli rolleri olan alglerin sulara karışan pestisitlerden etkilenmeleri de besin zincirinde bir kırılmaya neden olacağından suların besleme kapasitelerini azaltacaktır. İşte alglerin sulara karışan pestisitler tarafından nasıl etkilendiklerini ortaya koymak amacıyla son yıllarda gerek yurt dışında gerekse ülkemizde yapılan çalışmaların sayısı her geçen gün artmaktadır. Farklı kirleticilerin alglerin gelişimi, üremesi ve kimyasal içeriği üzerindeki etkileri farklı çalışmalar ile ortaya konulmaya çalışılmaktadır.

Kosinski ve arkadaşları (1984), akarsularda bulunan perifiton topluluklarının yapısı üzerinde atrazin ve trifluralinin etkilerini inceledikleri çalışmada, atrazinin *Rhopalodia*, *Phormidium* ve *Cladophora* üzerinde önemli hasarlara yol açarak biyomassı azalttığını, paraquatın ise ipliksi mavi-yeşil alglerin azalmasına neden olduğunu tespit etmişlerdir.

El-Sheekh ve arkadaşları (1994), yeşil alglerden *Chlorella kessleri* 'nin atrazine herbisitine karşı bazı fizyolojik süreçlerde olası değişikliklerin neler olduğunu belirlemek için çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada 72 saat boyunca atrazine herbisitinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Chlorella kessleri* 'nin büyümesi 3 µM'lik atrazine konsantrasyona kadar inhibe olmadığı, kontrol grubuna göre de kuru ağırlığındaki farkın da 48 saat sonra 5 µM 'lik atrazin konsantrasyonunda görüldüğü belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre değişik konsantrasyonlarda atrazine uygulanmış kültürlerde protein sentezindeki azalma 24 saat sonunda belirgin olarak gözlenirken 5, 10, 15 µM 'lik atrazine konsantrasyonlarında protein sentezinde kademeli olarak % 6.7, 37 ve 70 oranında bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir.

Sáenz ve arkadaşlarının (1997) yapmış olduğu çalışmada, *Scenedesmus quadricauda* türü paraquata (48-96 saat) maruz bırakılmış düşük konsantrasyonlarda birey sayısında artış gözlenmişse de yüksek konsantrasyonlarda birey sayısındaki azalmanın çok net olduğu belirtilmiştir.

Fairchild ve arkadaşları (1998), altı alg türü ile beş makrofit üzerinde atrazin, metribuzin, alachlor ve metolachlorun etkilerini inceledikleri çalışmada, alglerin makrofitlere oranla pestisitlere daha duyarlı oldukları tespit edilmiştir.

Elliott (1998), bir golf sahasında kullanılan herbisitlerin algler üzerindeki etkilerini incelediği çalışmasında, mancozeb ve chlorothalonil etken maddeli fungusitleri kullanmıştır. Golf sahasında yetiştirilen Bermuda Çiminin yüzeyinde gelişen mavi-yeşil alglerin gelişimini önlemede mancozeb ve chlorothalonil etken maddeli fungusitlerin etkili olduğunu araştırmalarında gözlemlemiştir. Bu sayede bu yüzeylerin kalitesinin korunduğu belirtilmektedir.

Rojičková-Padrtoová ve arkadaşları (1999), Mavi-yeşil ve yeşil alglere ait 7 alg türünün 3 metal bileşiği ($K_2Cr_2O_7$, $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ ve $ZnSO_4$) ile üç herbisite (Oxyfluorophene, pendimetalin, atrazine) olan duyarlılıklarının incelendikleri çalışmalarında, çalışmada kullanılan algleri herbisitlere duyarlı ve toleranslı türler olmak üzere iki gruba ayrılacaklarını ifade etmişlerdir. *Chlorella kessleri* ve *Stichococcus bacillaris*'in herbisitlere toleranslı, *Selenastrum capricornutum*, *Scenedesmus quadricauda*, *Scenedesmus subspicatus* ve *Chlamydomonas reinhardtii*'nin ise herbisitlere karşı duyarlı türler olduğu belirtilmiştir.

Kotrikla ve arkadaşları (1999), *Chlorella fusca* var. *fusca* üzerinde atrazin, deethyl-atrazine, deisporpropyl-atrazine ve metolachlor'un toksik etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada 4 gün süresince *Chlorella fusca* var. *fusca*'nın hücre sayısındaki değişimler ve büyüme oranları hesaplanmıştır. Tek bir herbisit ile karışım halindeki herbisitlerin antagonistik etkilerini ortaya koymuşlardır.

Nyström ve arkadaşları (1999), Bacillariophyta, Cyanobacteria ve Dinoflagellata'dan oluşan bir grup organizmanın sulfonilureaya duyarlılıklarını incelemek amacıyla 20 deniz ve 20 tatlı su türü kullanarak sulfonilurea, clorosulfuron ve metsulfuron metil'in organizmaların gelişmeleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Türlerin varyasyonunun algal duyarlılıkta önemli olduğunu ve cyanobakteriler ile dinoflagellatların diyatomelere oranla bu pestisitlere

karşı daha duyarlı olduğunu belirtmişlerdir.

Ma ve arkadaşları farklı zamanlarda (2001, 2003, 2004, 2005) değişik pestisitler kullanarak bu pestisitlerin aquatik organizmalar üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmalarda her bir pestisit grubunun algleri değişik şekillerde etkilediklerini ortaya koymuşlardır.

Sabater ve Carrasco (2001), beş fitoplankton türünün (*Scenedes musacutus*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella saccharophila* ve *Pseudanabaena galeata*) büyümesi üzerine bir insektisit olan piridafention'un akut toksisitesini belirlemek için bu türler üzerinde değişik konsantrasyonlarda piridafention uygulaması yapmışlar ve 2.2-30.9 ml/L arası piridafention 96 saat boyunca uygulanması sonucu büyümede %50 azalmanın olduğunu gözlemlemişlerdir. *Chlorella*'nın iki türü ile *Pseudoanabaena galeata*'nın ve *Scenedesmus*'un iki türüne göre daha toleranslı olduğunu tespit etmişlerdir.

Ma ve arkadaşları (2002), *Scenedesmus obliquus* ve *Chlorella pyrenoidosa*'nın 12 pestisite duyarlılıklarını incelemişler ve bu alglerin pestisitlere farklı duyarlılık gösterdiklerini tespit etmişlerdir. *Chlorella pyrenoidosa* ve *Scenedesmus obliquus*'un benomye adlı pestisite, test edilen diğer pestisitlerden daha duyarlı olduğunu yaptıkları çalışmada ifade etmişlerdir.

Sabater ve arkadaşları (2002), *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella saccharophila* üzerinde bensülfuron-metil ve cinosulfuron'un etkilerini incelemişlerdir. 8-14mg/L cinosulfuron ile 0.015-6.2 mg/L bensülfuron-metil'in 96 saatte alglerin gelişimini yaklaşık olarak % 50 oranında azalttığını kaydetmişlerdir. Bensülfuron-metil, atrazin ve bentiokarp'in cinosulfuron, klorosulfuron, molinat, fenitrothion ve pridapentiondan daha toksik olduğunu yaptıkları çalışmada vurgulamışlardır. Sülfonilurae herbisitinin potansiyel bir çevre kirleticisi olduğu, hatta çok düşük konsantrasyonlarda bile tehlikeli olabileceğini bu çalışmada belirtmişlerdir.

Couderchet ve arkadaşları (2003), *Scenedesmus obliquus*'un, herbisit uygulaması ile pigment içeriğinde meydana gelen değişikliklerini inceledikleri çalışmada, 10µg/L flazasulfuron uygulamasıyla pigment miktarında önemli miktarda azalmanın olduğunu tespit etmişlerdir.

Geoffroy ve arkadaşları (2003), oxyfluorfen'in *Scenedesmus obliquus* üzerindeki toksik etkilerini inceledikleri çalışmalarında 12 parametredeki değişimleri gözlemlemişler ve sonuç olarak bazı fotosentetik ve enzimatik biomarkerlerin toksikolojik çalışmalarda hedef olmayan organizmaların nasıl etkilendiklerinin belirlenmesinde kullanılabileceklerini ortaya

koymuşlardır.

Kuang ve arkadaşları (2003), dibutylphthalate'ın bir yeşil alg olan *Scenedesmus obliquus*'un gelişimi ve klorofil a miktarı üzerindeki etkilerini 96 saatlik bir zaman periyodunda incelemişlerdir. Sonuç olarak 60 mg/L dibutylphthalate maruz bırakılan *Scenedesmus obliquus*' ta %50 oranında bir azalmanın meydana geldiğini tespit etmişlerdir.

Ferraz ve arkadaşları (2004), dört fitoplankton türü olan *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella saccharophila*'nın gelişimi üzerine çeşitli pestisitlerin etkilerini araştırmışlardır. Herbisitlerin etkileri 24, 48 ve 72 saatlik periyotlarda incelenmiş ve tebufenozidi'nin, *Scenedesmus* ve *Chlorella* türlerinin gelişimini birinci derecede etkileyen herbisit olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada *Chlorella* türlerinin *Scenedesmus* türlerine göre herbisitlere daha dayanıklı olduklarını belirlemişlerdir.

Ma (2005), üç mavi-yeşil alg ve beş yeşil alg türünün organotinler ve pyrethroids pestisitlerine duyarlılıklarını incelemişler ve organotinlerin pyrethroidlerden daha toksik olduklarını tespit etmişlerdir.

Yeh ve Chen (2006) atrazine, parathion, dichlorvos, malathion, fenthion, 2-methyl-4-chlorophenoxyacetic acid ve pentachlorophenol'un *Pseudokirchneriella subcapitata*'nın gelişimi üzerindeki etkilerini incelemişler ve bu pestisitlerin hedef olmayan canlıların gelişimini etkilediklerini ortaya koymuşlardır.

Dosnon-Oletta ve arkadaşları (2010), *Scenedesmus obliquus* ve *Scenedesmus quadricauda* 'nın gelişimi üzerinde bazı fungusitlerin (dimethomorph ve pyrimethanil) ve isoproturon herbisitinin etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalarında bu alglerin gelişimleri ve büyüme hızları üzerinde bu pestisitlerin etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Dimethomorph ve pyrimethanil fungusitleri ile 4 gün muamele edilen *S.obliquus* ve *S.quadricauda* 'nın büyüme hızının kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir azalmanın olduğunu, bu iki türün isoproturon herbisiti ile 4 günlük muamelesi de kontrol grubuyla karşılaştırıldığında büyüme hızında azalmanın olduğunu belirtmişlerdir.

Azizullah ve arkadaşları (2011), tatlısularda yaşayan bir flagellat olan *Euglena gracilis*'in gelişimi üzerinde carbofuran'nın ve malathion'un etkilerini incelemişler ve çalışmada pestisitlerin hedef organizmalar yanında uygulama alanlarının dışına taşınarak hedef olmayan organizmalar üzerinde de önemli etkilere sahip olduklarını belirlemişlerdir. Kısa ve uzun süreli uygulamalarda *Euglena gracilis*'in bu pestisitlerden etkilendiklerini kamçı, hücre yoğunluğu, hareket, hücre şekli, fotosentez üzerinde etkili olduğunu tespitini

yapmışlardır.

Liu ve arkadaşları (2013), bir yeşil alg olan *Chlorella pyrenoidosa* ve fotobakterilerden *Vibrio qinghaiensis* üzerinde bazı herbisit (simetryn, bromacil, hexazinone), fungusit (dodine, metalaxyl) ve insektisitlerin (propoxur) toksisitesini incelemişlerdir. Yapılan bu çalışmada, bir pestisitlerin organizmalar üzerinde farklı toksik etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Herbisitlerin (simetryn, bromacil, hexazinone) toksit etkisinin *C. pyrenoidosa* üzerinde *V. qinghaiensis* 'e oranla çok daha fazla olduğunu, metalaxyl ve propoxur 'un ise toksik etkisinin *V. qinghaiensis* üzerinde *C. Pyrenoidosa* ' ya göre daha fazla olduğunu; dodine toksitesinin ise her ikisinde de benzer olduğunu tespit etmişlerdir.

Li ve arkadaşları (2014), triadimenol ve triadimefon adlı iki izomer fungusitin direkt hedef olmayan *Daphnia magna* üzerindeki toksik etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada, sera bitkilerinden domates ve salatalık bitkilerine yapraklarından ve topraktan olmak üzere iki farklı şekilde pestisit muamelesi yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda, bu pestisitlerin toprak partiküllerine adsorbe olarak ve su içerisinde çözünerek sucul ortamlara kolaylıkla ulaştıkları gözlemlenmiştir. Bunun sonucunda da *Daphnia magna* gibi hedef olmayan sucul organizmaların da triadimenol ve triadimefon'un farklı toksik etkilerine maruz kaldığı tespit edilmiştir.

Shen ve arkadaşları (2014), trifloxystrobin adlı fungusitin *Chlorella vulgaris* üzerindeki toksik etkisini 96 saat süresince araştırmışlardır. 96 saatin sonunda *Chlorella vulgaris*'in büyümesi kontrol grubuyla karşılaştırıldığında %63.45 oranında azalmanın olduğu gözlemlenmiştir. *Chlorella vulgaris*'in hücresel yapısında da 96 saat sonunda bazı değişiklikler olduğu görülmüştür. 300 µg/L trifloxystrobin uygulanan kültürdeki hücrelerde hafif büzülme olduğu, 600 µg/L trifloxystrobin uygulanan kültürde ise hücresel yapıdaki büzülme ve küçülmenin daha belirgin olduğu görülmüştür. *Chlorella vulgaris* 'in protein miktarında da değişiklikler meydana geldiği görülmüştür. Çeşitli konsantrasyonlarda (37.5, 75.0 ve 150.0 µg/L) trifloxystrobin uygulanan kültürlerde 96 saatin sonunda protein miktarlarındaki azalış kontrol grubuyla karşılaştırıldığında büyük bir fark olduğu ve protein miktarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür (% 17.19, 22.60 ve 23.09) .

Özellikle bölgemizde zararlılara karşı kullanılan pestisitler arasında azoxystrobin, flusilazole, penconazole ve triadimenol önemli bir yer tutmaktadır.

Azoxystrobin; beyaz renkli, katı fiziksel halde bulunan koruyucu fungusit kimyasal grubu içerisinde yer alan pestisittir. Kimyasal adı (methyl (E)-2-[2-[6-(2-

cyanophenoxy)pyrimidin-4-yloxy]phenyl]-3-methoxyacrylate)'dir. Baę Mildiyösü (*Plasmopara viticola*), ölü kol (*Phomopsis viticola*) ve külleme (*Uncinula necator*); kabakgillerde yalancı mildiyö ve külleme; domateste mildiyö ve erken yaprak yanıklığı etmenine karşı kullanılmaktadır. Hayvan deneylerinde mutajenik, kanserojen etki ve üreme toksisitesi göstermemiştir. Tek seferde maruziyette solunum yolu tahrişine neden olabilir. Uzun süreli etkilerde sudaki canlılara çok zehirlidir. Önemli bir miktarda yutulduğunda karın ağrısı, mide bulantısı, ishal görülebilir. Orta derece biyobirikim potansiyeli de mevcuttur.

Flusilazole; koruyucu, tedavi edici, süt beyazı renginde, sıvı, aromatik kokulu sistemik bir fungusittir. Kimyasal adı; Bis(4-fluorophenyl) (methyl)(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) silane'dir. Baęlarda, elma ve şekerpancarında külleme; elmada kara leke; şekerpancarında yaprak leke hastalığında yaygın olarak kullanılmaktadır. Hayvanlar için toksik etkiye sahiptir, doğum kusurlarına da sebep olabilmektedir. Ayrıca yüksek dozları embriyo toksisitesine sebep olmaktadır. Ergosterol biyosentezini inhibe etmektedir. Yapılan deneylerde hem dişi hem de erkek laboratuvar hayvanları üzerinde reproduktif zehirlenme etkileri göstermiştir. Kanseröjen etkisi hakkında yeterli bilgi yoktur. Sudaki organizmalar için toksik bir maddedir. Su ortamında uzun süreli olumsuz etkilere neden olabilir. Anne karnındaki çocuğa zarar verebileceği belirtilmektedir.

Penconazole; beyazımsı renkli, kokusuz sistemik bir fungusittir. Kimyasal adı; 1-(2,4-dichloro-propylphen ethyl)-1H-1,2,4-triazole 'dir. Baę, gül, domates (sera), biber (sera), hıyar (sera), patlıcan (sera), tütün ve çilekte külleme hastalığı mücadelesinde kullanılır. Arılara zehirsiz, balıklara zehirli bir pestisittir. Sudaki yaşama ortamında uzun vadeli etkilere yol açabilir. Hayvan deneylerinde kanserojenik, teratojenik ya da mutajenik etkiler görülmemiştir. Gözleri tahriş eder. Çevre kirletici bir fungusittir.

Triadimenol; triazole grubu, sarı renkli kokusuz sistemik bir fungusittir. Kimyasal adı; 1-(4-Chlorophenoxy)-3,3-dimethyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-2-butan-2-ol 'dür. Baęda, domates, hıyar, patlıcan ve tütünde külleme hastalığı tedavisinde yaygın olarak kullanılır. Bal arılarına ve balıklara zehirlidir. Sülfür hidrojen bağlarını bağlayarak mantarın solunum prosesini engeller. Düşük toksisiteli olmasına rağmen dikkatsizce kullanılır veya kazayla yutulursa kaslarda gerilme, refleks azalması ve hareketlerde dengesizlik görülebileceği belirtilmektedir.

Özellikle son yıllarda bağcılığın geliştiği bölgemizde, önemli miktarda ürün kayıplarına sebep olan küllemeye karşı kullanılan fungusitlerin başında gelen azoxystrobin,

flusilazole, penconazole ve triadimenol yoğun bir şekilde tarım alanlarında kullanılmaktadır. Ziraatın yoğun olarak yapıldığı bölgemizde önemli gelir kaynaklarından biri de balıkçılıktır. Özellikle iç sularımızdan daha fazla ürün almak amacıyla son yıllarda önemli çalışmalar yapılmaktadır. Sulardaki primer üreticiler olan algler organik maddenin aquatik ortamdaki temel yapıcılardır. Fotosentez sonucu ortama kazandırdıkları O₂ ve organik madde ile sucul ortamdaki diğer canlıların da temel besinini oluştururlar. Algler yaşadıkları ortamdaki fiziksel ve kimyasal değişikliklere son derece duyarlı organizmalardır. Zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan bu fungusitlerin etkileri yalnızca hedef organizma grubu ile sınırlı kalmayıp gerek sulama gerekse yağmur suları ile karışarak uygulama alanlarının çok uzağına taşınarak oralarda yaşayan canlıları da etkilemektedir. Tarım alanlarında bitkisel zararlılarla mücadelede kullanılan pestisitlerin bir kısmı gerek sulama gerekse yağmur suları ile taşınarak akarsu, göl, gölet ve baraj gölü gibi alıcı ortamlara ulaşarak hedef olmayan organizmaları da etkilemektedir.

Bu amaçla, çalışmamızda bölgemiz iç sularında yaygın olarak bulunan yeşil alglerden *Chlorella vulgaris* 'in gelişimi ve protein miktarı üzerinde azoxystrobin, flusilazole, penconazole ve triadimenol adlı fungusitlerin etkileri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. *Chlorella vulgaris*

Chlorella vulgaris, Latince’de “küçük, taze yeşil” anlamına gelen ve bitkiler aleminde adını içinde taşıdığı klorofilden alan yeşil bir alg türüdür. Bilinen en eski canlılardan ve besin kaynaklarından biridir. *Chlorella*’nın ilk saf kültürü 1890 yılında Hollandalı mikrobiyolog M. J. Beijerinck tarafından yapılmıştır. Hücreleri genellikle 5-8.5µm çapında olup küresel şekilli olan *Chlorella* at nalı şeklinde büyük tek parça kloroplasta sahiptir (Prescott,1973). Eukaryota üst alemi içerisinde yer alan *Chlorella vulgaris*’in taksonomik durumu aşağıdaki gibidir.

Tablo 2.1.1.1. *Chlorella vulgaris*’in sistematigi (URL-8, 2014)

Superregnum	Eukaryota
Regnum	Plantae
Divisio	Chloropyta
Classis	Trebouxiphyceae
Ordo	Chlorellales
Familia	Chlorellaceae
Genus	Chlorella
Species	<i>Chlorella vulgaris</i>

2.2. METOT

2.2.1. Sıvı Besi Ortamının Hazırlanması

Üretimi yapılan *Chlorella vulgaris*'in besi ortamı olan Jaworski aşağıdaki besin elementlerinden oluşmaktadır. Jaworski sıvı besi ortamı tablo 2.2.1.1' de gösterilmiştir.

Tablo 2.2.1.1. Jaworski besin çözeltisi (Thompson ve ark., 1988)

Stok Çözeltiler	200 mL
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	4.00 g
KH ₂ PO ₄	2.48 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	10.00 g
NaHCO ₃	3.18 g
EDTA FeNa	0.45 g
EDTA Na	0.45 g
H ₃ BO ₃	0.496 g
MnCl ₂ . 4H ₂ O	0.278 g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂ . 4H ₂ O	0.20 g
Cyanocobalamin	0.008 g
Thiamine HCL	0.008 g
Biotin	0.008 g
NaNO ₃	16.0 g
Na ₂ HPO ₄ . 12H ₂ O	7.2 g

Hazırlanan stok çözeltilerden 1 er ml alınıp bu karışım saf su ile 1000 ml' ye tamamlanarak *Chlorella vulgaris* örneklerinin çoğaltılmasında kullanılan sıvı besi ortamı hazırlanmıştır. Hazırlanan sıvı besi ortamı daha sonra sterilizasyon işlemi için otoklava konmuştur. Sterilizasyon işlemi 1 atm basınçta, 121 °C 'de 15-20 dk arasında otoklavda yapılmıştır.

2.2.2. *Chlorella vulgaris*'in İzolasyonu ve Sıvı Besi Ortamında Çoğaltılması

Sucul ortamlarda yaygın olarak bulunan ve fitoplanktonun önemli bir üyesi olan *Chlorella* türlerini de içerisinde bulunduran plankton örnekleri, plankton ağı kullanılarak araziden toplanarak Fırat Üniversitesi Araştırma Laboratuvarına getirilmiştir. Inverted mikroskop altında mikro pipetler yardımı ile fitoplankton örnekleri içerisinde *Chlorella vulgaris* izole edilmiştir.

100 mL Jaworski sıvı besisi ortamından 250 mL'lik erlenmayerlere konmuş ve bu ortama 1.5 gr agar-agar (Difco) ilave edilerek katı besisi ortamı hazırlanmıştır. Daha sonra erlenmayerin ağzı pamuk tıkaçla kapatılıp otoklavda 121 °C de 1 atm basınçta 15 dk süre ile steril edilmiş ve aynı zamanda katı olan agar agarın erimesi sağlanmıştır. Sterilizasyon işlemi bittikten sonra erlenmayer el yakmayacak sıcaklığa gelene kadar soğutulmuş ve daha önceden steril edilmiş iki ayrı petri kutusuna eşit miktarda ilave edilmiştir. Petri kutularının kapağını kapattıktan sonra besisi ortamının homojen bir şekilde petri kutusu tabanına yayılması için düz bir zemin üzerinde hafifçe çalkalanmıştır.

Bu işlemlerden sonra sıvı halde olan besisi ortamının donması ve sertleşmesi için bir gün süreyle buzdolabında bekletilmiştir. Katı besisi ortamının bulunduğu petrilere sonraki gün alglerin bulunduğu örnekten ekim yapılmıştır. Ekim yapmak için kullanılan öze, bek alevinde steril edildikten sonra yine öze yardımıyla örnekten numune alınıp katı besisi ortamına yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim işleminden sonra petri kutuları, 16 saat aydınlık, 8 saat karanlık (16/8) olacak şekilde sıcaklığı $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ' ye ayarlı bitki büyüme kabinde gelişmeye bırakılmıştır. Aydınlatma için floresans lambalar kullanılarak ortamın ışık yoğunluğunun 2000 lux olması sağlanmıştır. Ekimden dört gün sonra petri kutularında farklı alg kolonilerinin oluştuğu gözlenmiştir. Bu koloniler mikroskop altında incelenmiş ve bu koloniler arasından *Chlorella vulgaris* kolonileri belirlenmiştir. Bu işlemlerden sonra *Chlorella vulgaris* kolonisinden Jaworski besisi ortamına aşılama yapılmıştır. Aşılama işleminden dört gün sonra sıvı kültür ortamında gözle görülür bir gelişme gerçekleşmiştir. Mikroskopta incelendiğinde ortamda sadece *Chlorella vulgaris* örneklerinin olduğu görülmüştür.

2.2.3. Stok *Chlorella vulgaris* Kültürlerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanacağımız *Chlorella vulgaris* saf olarak elde ettikten sonra yeterli miktarda kültür ortamı hazırlayıp bu kültür ortamlarına fungusitlerin uygulanmasına

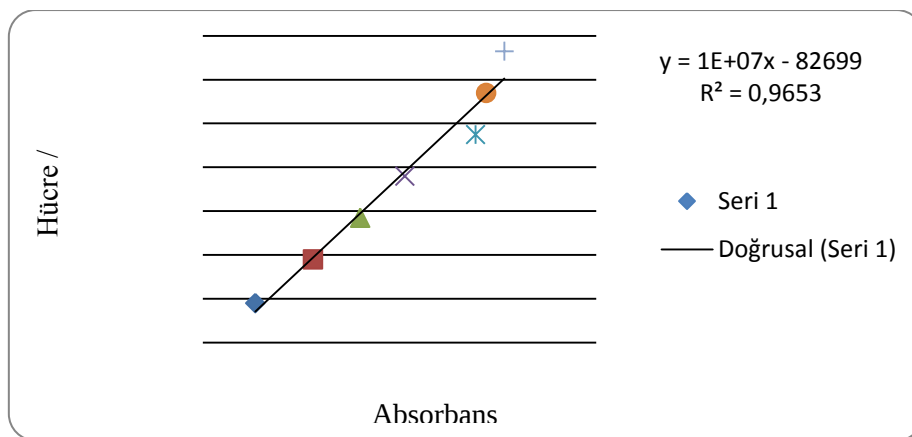
geçilmiştir. Öncelikle çalışmada kullanacağımız pestisitler olan azoxystrobin, flusilazole, penconazole ve triadimenol ‘ün 100 ppm’ lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Hem hazırlanan sıvı besi ortamı hem de stok fungusit çözeltilerinin ağzı pamuk tıkaç ile kapatıldıktan sonra otoklavda; 1 atm basınçta, 121 °C ‘de 15-20 dk steril edilmiştir.

Sterilizasyon işlemi tamamlandıktan sonra 24 adet 250 mL’lik steril erlenmayer içerisine ayrı ayrı 100 mL steril Jaworski sıvı besi yeri konulmuştur. Bunlardan 1’er tanesi kontrol grubu olmak üzere sırası ile 100 mL’ deki son konsantrasyonları 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde stok çözeltilerden eklenmiştir. Kontrol gruplarına ise pestisit ilave edilmemiştir. Daha sonra stok *Chlorella vulgaris* kültüründen 20’şer mL alınarak kontrol ve içerisinde farklı miktarda pestisit bulunan erlenmayerlere eklenmiştir. Ağızları pamuk tıkaçlar ile düzgünce kapatıldıktan sonra iklimlendirme dolabına birbirlerini engellemeyecek şekilde ışık kaynağına eşit uzaklıkta yerleştirmeye özen gösterilmiştir. Erlenmayerler günde üç defa tıkaçları açılarak çalkalanıp havalandırılmıştır.

2.2.4. Kültürlerde *Chlorella vulgaris*’ in Hücre Sayılarının Belirlenmesi

Belirli konsantrasyonlarda hazırlanan kültürlerden 1 mL örnek alınarak ışık mikroskobu altında Thoma Lamı kullanılarak sayım yapılmıştır. Aynı örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrede 500 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Bulunan değerlerle bir grafik çizilmiştir ve regresyon eğrisi belirlenerek absorbansa karşılık gelen hücre sayısı tespit edilmiştir. Aşağıdaki formül bulunmuştur:

$$y = 1E+07x - 82699$$

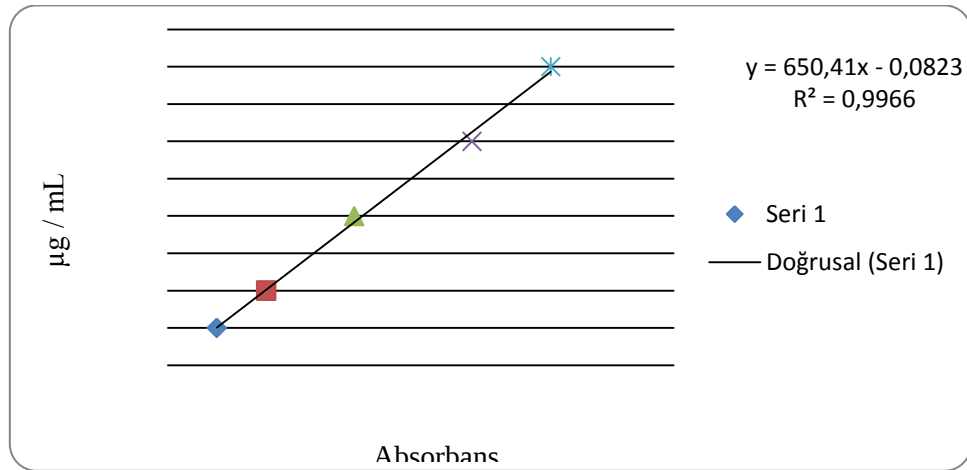


Şekil 2.2.4.1. Hücre sayısı standart eğrisi

Hücre sayılarının belirlenmesinde kalibrasyon eğrisinden elde edilen doğrunun denklemi kullanılarak sıvı kültürlerdeki hücre sayıları belirlenmiştir. Bu sayımlar üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

2.2.5. Protein Analizi

Protein analizleri Lowry metoduna göre yapılmıştır. Lowry ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu metot laboratuvar çalışmalarında en çok kullanılan ve en eski protein miktarı ölçüm metodudur. Metodun esas biüret yöntemine dayanmaktadır. Bu metoda göre; hazır protein kitindeki protein standartları kullanılarak standart grafik oluşturulmuş ve örneklerde okunan absorbans değerleri standart eğriden değerlendirilmiştir. Bu standart eğri için uygun eğri eşitliği $y = 650,41x - 0,0823$ olarak bulunmuştur. Protein miktarlarının belirlenmesinde kalibrasyon eğrisinden elde edilen doğrunun denklemi kullanılarak sıvı kültürlerdeki protein miktarı belirlenmiştir. Bulunan değerlerle bir grafik çizilmiştir ve regresyon eğrisi belirlenerek absorbansa karşılık gelen protein miktarı tespit edilmiştir.



Şekil 2.2.5.1. Protein standart eğrisi

Protein analizleri için kontrol grubu ve farklı konsantrasyonlarda pestisit uygulamasına tabii tutulan örneklerden aşılamanın yapıldığı ilk günden başlamak üzere 24, 72, ve 96 saat sonra, sıvı kültürlerden 5' er mL örnek alınmış ve DOC çözeltisinden ilave

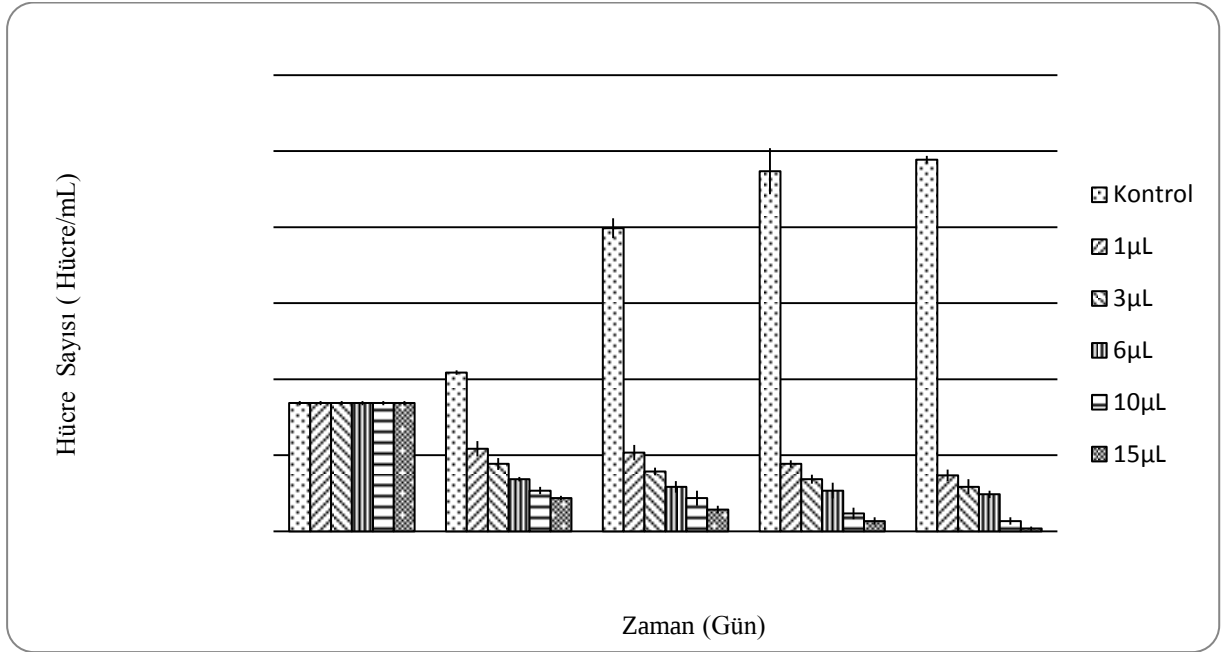
edilip iyice çalkalanmıştır. TCA çözeltisinin ilavesiyle 10 dakika bekletilmiş ve 7500 devirde 15 dakika kadar santrifüjlenmiştir. Bu işlemle örneklerin supernatant kısımları dökülerek her bir örneğe Lowry çözeltisi ilave edilmiş yarım saat süreyle bekletilmiş ve Folin ayıracı ilave edilmiştir. 750 nm dalga boyunda absorbansları ölçülen numunelerin protein miktarları daha önceden bulunan $y = 650,41x - 0,0823$ formülünde yerine konularak hesaplanmıştır. Burada X protein derişimini ($\mu\text{g/ mL}$); Y değeri de absorbansı göstermektedir. Bu regresyon formülü kullanılarak protein miktarları hesaplanmıştır. Protein analizleri üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

3. BULGULAR

3.1. *Chlorella vulgaris*'in Gelişimi

3.1.1. Azoxystrobin Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Gelişimi

Chlorella vulgaris' in gelişimi üzerine pestisitlerin etkisini belirlemek amacı ile azoxystrobin uygulamasını takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat sonra; kontrol ve son konsantrasyonu 1 μ L, 3 μ L, 6 μ L, 10 μ L ve 15 μ L olacak şekilde azoxystrobin ilave edilen örneklerden 1 mL alınarak spektrofotometrede absorbansları ölçülmek suretiyle sıvı kültürlerdeki hücre sayıları hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 3.1.1.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün (0. gün) sıvı kültürlerde hücre sayısının 337301 hücre/mL olduğu tespit edilmiştir. 24 saat sonra kontrol kültüründe hücre sayısı 417301 hücre/mL, 48 saat sonunda 797301 hücre/mL, 72 saat sonra 947301 hücre/mL ve 96 saat sonunda da 977301 hücre/mL 'ye ulaştığı belirlenmiştir. Kontrol grubunda bu artışlar görülürken; 24 saat sonundaki 1 μ L, 3 μ L, 6 μ L, 10 μ L ve 15 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde hücre sayısının azalarak sırasıyla 217301 hücre/mL, 177301 hücre/mL, 137301 hücre/mL, 107301 hücre/mL, 87301 hücre/mL' ye düştüğü tespit edilmiştir. İkinci gün yani 48 saat sonra ise 1 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde (207301 hücre/mL), 3 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde (157301 hücre/mL), 6 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde (117301 hücre/mL), 10 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde (87301 hücre/mL) ve 15 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde (57301 hücre/mL) hücre sayılarında azalmanın devam ettiği görülmüştür. Azoxystrobin uygulamasından 72 saat sonra, *Chlorella vulgaris* sayılarında önemli azalmalar kaydedilmiştir. Hücre sayısının 1 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde 177301 hücre/mL, 3 μ L uygulanan kültürde 137301 hücre/mL, 6 μ L uygulanan kültürde 107301 hücre/mL, 10 μ L uygulanan kültürde 47301 hücre/mL ve 15 μ L uygulanan kültürde 27301 hücre/mL' ye kadar azaldığı tespit edilmiştir. Azoxystrobin uygulamasının yapıldığı 96 saatin sonunda ise hücre sayısında gözle görülür bir azalmanın olduğu izlenmiş ve 1 μ L, 3 μ L, 6 μ L, 10 μ L ve 15 μ L azoxystrobin uygulanan kültürde hücre sayılarının sırasıyla 147301 hücre/mL, 117301 hücre/mL, 97301 hücre/mL, 27301 hücre/mL, 7301 hücre/mL olduğu belirlenmiştir (Şekil 3.1.1.1.).

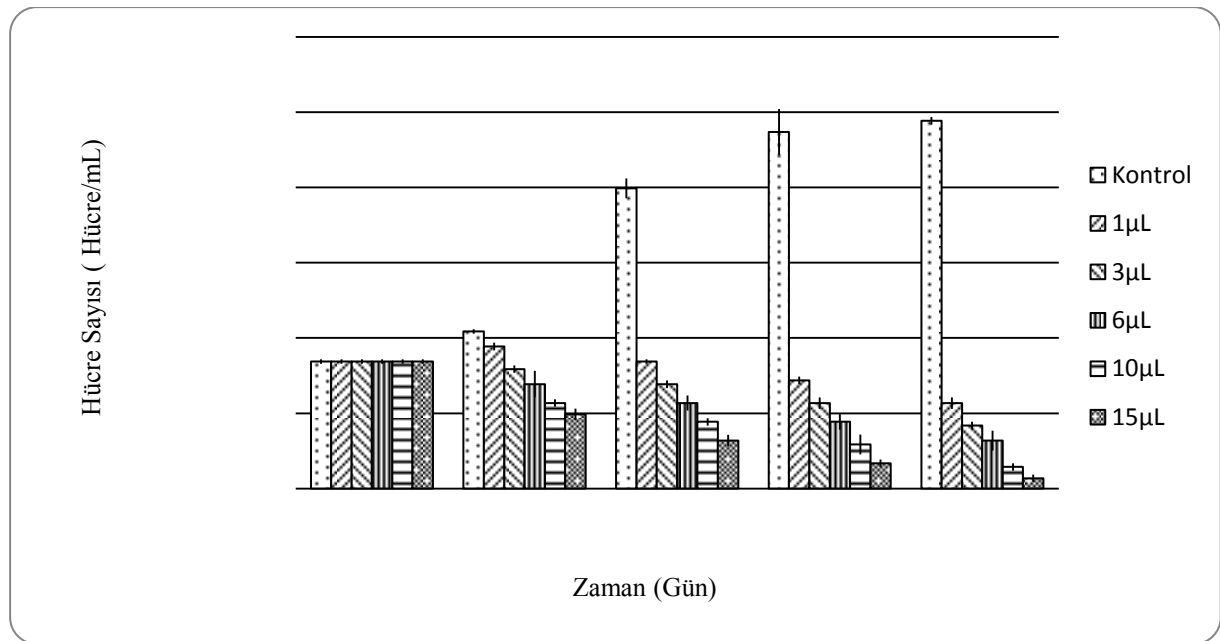


Şekil 3.1.1.1. Azoxystrobin uygulaması yapılan kültürlerde *Chlorella vulgaris*' in hücre sayısındaki değişim

3.1.2. Flusilazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Gelişimi

Chlorella vulgaris' in gelişimi üzerine flusilazol etkisini belirlemek amacı ile aşılamaı takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat sonra; kontrol ve son konsantrasyonu 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde flusilazole ilave edilen örneklerden 1mL alınarak spektrofotometrede absorbanları ölçölmek suretiyle sıvı kültürlerdeki hücre sayıları hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 3.1.2.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün (0. gün) sıvı kültürlerde hücre sayısının 337301 hücre/mL olduğu belirlenmiştir. 24 saatin sonunda yapılan hesaplamada kontrol grubundaki hücre sayısının artarak 417301 hücre/mL 'ye, 1 µL flusilazole uygulanan kültürde de artış gözlenerek hücre sayısının 377301 hücre/mL ulaşıldığı tespit edilmiştir. Bunların aksine 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL flusilazole uygulanan kültürlerde hücre sayısının azalarak sırasıyla, 317301 hücre/mL, 277301 hücre/mL, 227301 hücre/mL ve 197301 hücre/mL olduğu görölmüştür. 48 saatin sonunda kontrol grubunun hücre sayısı artışı devam etmiş ve 797301 hücre/mL olmuştur. 48 saatin sonunda 1 µL flusilazole uygulanan kültürde bu defa, 24 saatin sonunda yapılan ölçüme göre, azalma gözlenerek tekrar aşılamanın yapıldığı gündeki hücre sayısına ulaşıldığı tespit edilmiştir (337301 hücre/mL). Bunun yanı sıra 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL flusilazole uygulanan kültürlerde hücre sayısındaki azalma devam etmiş ve 48 saatin sonunda sırasıyla

277301 hücre/mL, 227301 hücre/mL, 177301 hücre/mL ve 127301 hücre/mL'ye kadar azaldığı tespit edilmiştir. 72 saatin sonunda kontrol grubundaki hücre sayısı 947301 hücre/mL olurken 1 µL flusilazole uygulanan kültürde 287301 hücre/mL, 3µL uygulanan kültürde 227301 hücre/mL, 6 µL uygulanan kültürde 177301 hücre/mL, 10 µL uygulanan kültürde 117301 hücre/mL ve 15 µL uygulanan kültürde 67301 hücre/mL olmuştur. 96 saatin sonunda ise kontrol grubundaki hücre sayısında önemli miktarda artış olduğu tespit edilmiş ve hücre sayısı 977301 hücre/mL 'ye ulaşmıştır. 1 µL flusilazole uygulanan kültürde (227301 hücre/mL) , 3 µL flusilazole uygulanan kültürde (167301 hücre/mL), 6 µL flusilazole uygulanan kültürde (127301 hücre/mL), 10 µL flusilazole uygulanan kültürde (57301 hücre/mL) ve 15 µL flusilazole uygulanan kültürde (27301 hücre/mL) hücre sayılarının azalma gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 3.1.2.1.).

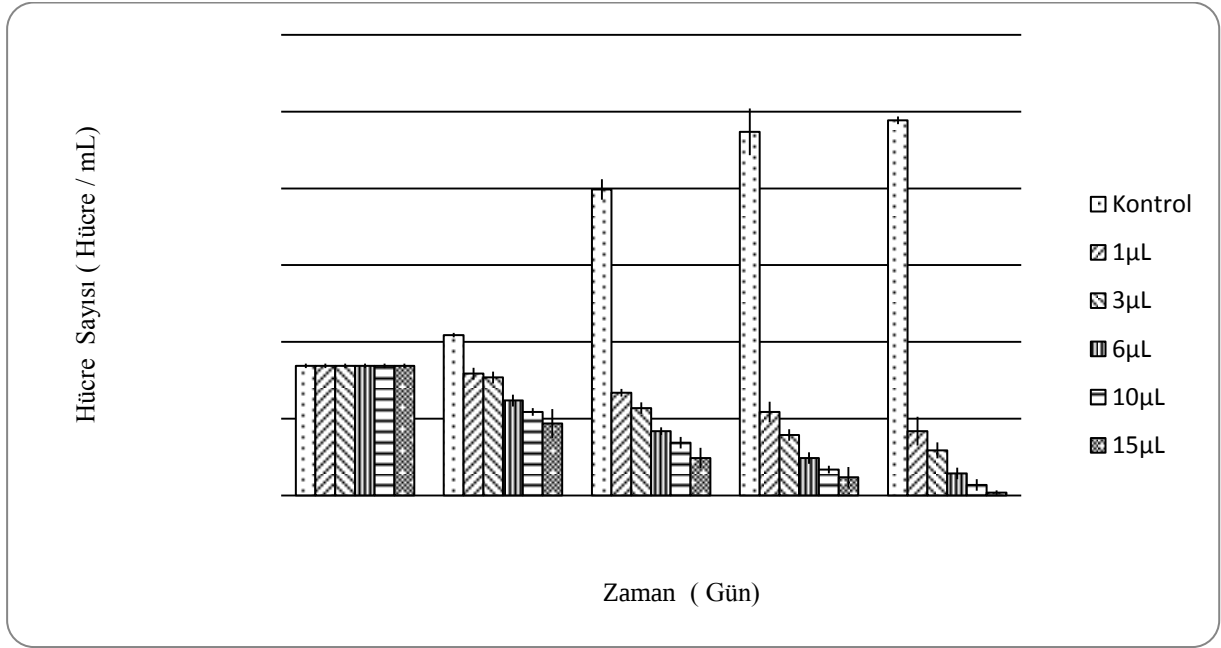


Şekil 3.1.2.1. Flusilazole uygulaması yapılan kültürlerde *Chlorella vulgaris*' in hücre sayısındaki değişim

3.1.3. Penconazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Gelişimi

Chlorella vulgaris' in gelişimi üzerine penconazole etkisini belirlemek amacı ile aşılamaı takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat sonra, kontrol ve son konsantrasyonu 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde penconazole ilave edilen örneklerden 1 mL alınarak spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmek suretiyle sıvı

kültürlerdeki hücre sayıları hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 3.1.3.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün sıvı kültürlerde hücre sayısının 337301 hücre/mL olduğu, 24, 48, 72 ve 96 saat sonunda yapılan gözlemlerde ise kontrol grubundaki hücre sayısının giderek bir artma eğiliminde olduğu belirlenmiştir ve hücre sayısı 24 saatin sonunda 417301 hücre/mL 'ye, 48 saatin sonunda 797301 hücre/mL 'ye, 72 saatin sonunda 947301 hücre/mL 'ye ve 96 saatin sonunda ise 977301 hücre/mL 'ye ulaştığı saptamıştır. 1 µL penconazole uygulanan kültürde ise hücre sayısının 24 saatin sonunda 317301 hücre/mL, 48 saatin sonunda 267301 hücre/mL, 72 saatin sonunda 217301 hücre/mL ve 96 saatin sonunda 167301 hücre/mL olduğu gözlenmiştir. 3 µL penconazole uygulanan kültürde ise 24, 48, 72 ve 96 saatin sonunda yapılan sayımlarda hücre sayısının sırasıyla; 307301 hücre/mL, 227301 hücre/mL, 157301 hücre/mL ve 117301 hücre/mL olduğu tespit edilmiştir. 6 µL penconazole uygulanan kültürlerde 24 saatin sonunda hücre sayısının 247301 hücre/mL, 48 saatin sonunda 167301 hücre/mL, 72 saatin sonunda 97301 hücre/mL ve 96 saatin sonunda 57301 hücre/mL 'ye düştüğü görülmüştür. 24, 48, 72 ve 96 saatlerin sonunda 10 µL penconazole uygulanan kültürlerde hücre sayılarının sırasıyla 217301 hücre/mL, 137301 hücre/mL, 67301 hücre/mL ve 27301 hücre/mL olduğu tespit edilmiştir. 15 µL penconazole uygulanan kültürlerde ise 24 saatin sonunda hücre sayısının 187301 hücre/mL olduğu belirlenirken; 48 saatin sonunda 97301 hücre/mL, 72 saatin sonunda 47301 hücre/mL olduğu ve artık 96 saatin sonunda gözle görülür bir azalış da fark edilerek hücre sayısının 7301 hücre/mL 'ye düştüğü belirlenmiştir (Şekil 3.1.3.1.).

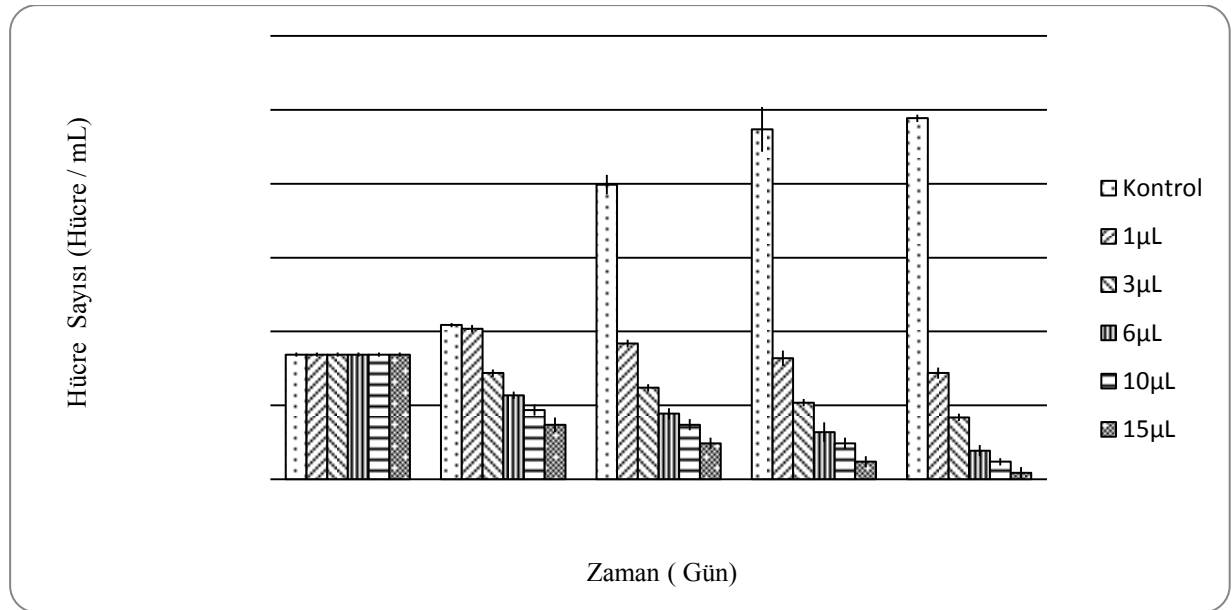


Şekil 3.1.3.1. Penconazole uygulaması yapılan kültürlerde *Chlorella vulgaris*' in hücre sayısındaki değişim

3.1.4. Triadimenol Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Gelişimi

Chlorella vulgaris' in gelişimi üzerinde triadimenol etkisini belirlemek amacı ile aşılamanı takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat sonra, kontrol ve son konsantrasyonu 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde triadimenol ilave edilen örneklerden 1mL alınarak spektrofotometrede absorbansları ölçülmek suretiyle sıvı kültürlerdeki hücre sayıları hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 3.1.4.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün kültürlerde hücre sayısının 337301 hücre/mL olduğu tespit edilmiştir. 24 saatin sonunda kontrol grubundaki hücre sayısında artış olduğu (417301 hücre/mL.) 1 µL triadimenol uygulanan kültürde de hücre sayısının artarak 407301 hücre/mL 'ye ulaştığı görülürken; bunun aksine 3 µL, 6 µL, 10 µL, 15 µL triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde hücre sayılarında azalma belirlenmiş ve sırasıyla 287301 hücre/mL, 227301 hücre/mL, 187301 hücre/mL, 147301 hücre/mL olduğu tespit edilmiştir. 48 saatin sonunda kontrol grubundaki hücre sayısındaki artış devam etmiş ve 797301 hücre/mL 'ye ulaşmıştır. 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL, 15 µL triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde hücre sayılarında azalma görülmüş ve sırasıyla 367301 hücre/mL, 247301 hücre/mL, 177301 hücre/mL, 147301 hücre/mL ve 97301 hücre/mL olduğu belirlenmiştir. 72 saat sonunda

kontrol grubundaki hücre sayısının 947301 hücre/mL olduğu; 1 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde 327301 hücre/mL, 3 μ L uygulanan kültürde 207301 hücre/mL, 6 μ L uygulanan kültürde 127301 hücre/mL, 10 μ L uygulanan kültürde 97301 hücre/mL, 15 μ L uygulanan kültürde ise 47301 hücre/mL olduğu tespit edilmiştir. 96 saatin sonunda kontrol grubundaki hücre sayısında artma devam ederek hücre sayısının 977301 hücre/mL olduğu görülmüştür. 1 μ L triadimenol uygulanan kültürde hücre sayısı 287301 hücre/mL, 3 μ L triadimenol uygulanan kültürde 167301 hücre/mL, 6 μ L triadimenol uygulanan kültürde 77301 hücre/mL, 10 μ L triadimenol uygulanan kültürde 47301 hücre/mL 'ye ulaştığı belirlenirken; 15 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde hücre sayısında önemli miktarda azalma gözlenmiş ve hücre sayısı 17301 hücre/mL olarak tespit edilmiştir (Şekil 3.1.4.1.).



Şekil 3.1.4.1. Triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde *Chlorella vulgaris*' in hücre sayısındaki değişim

3.2. *Chlorella vulgaris*' in Protein Miktarındaki Değişim

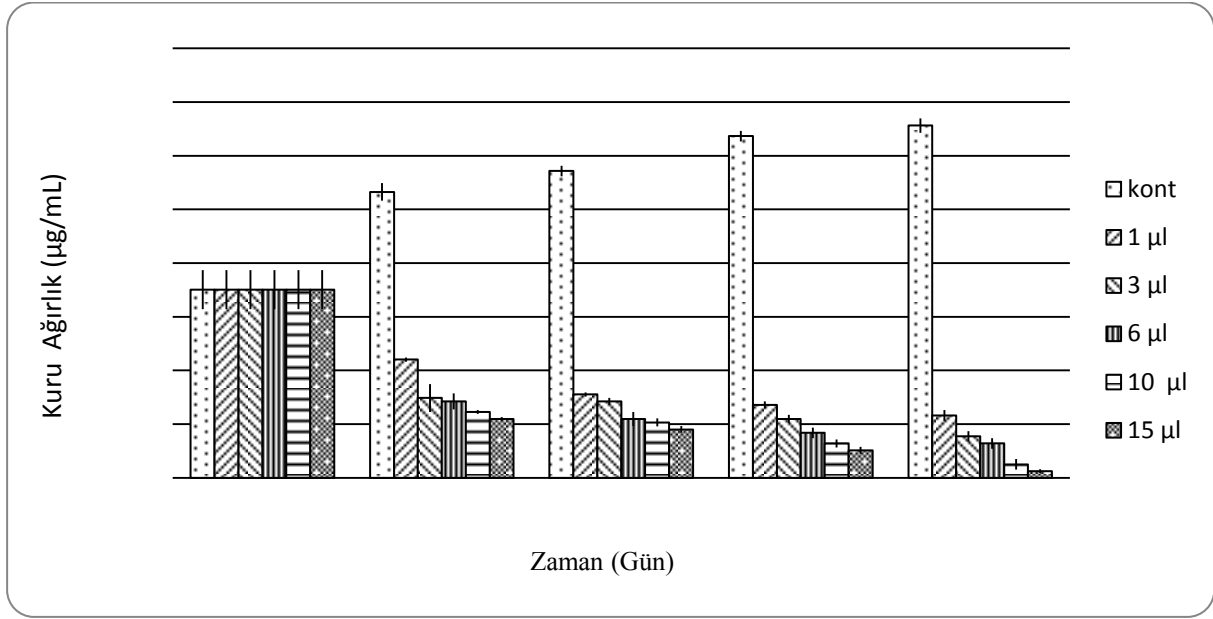
3.2.1. Azoxystrobin Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Protein Miktarındaki Değişim

Chlorella vulgaris' in içerdiği protein miktarı üzerine pestisitlerin etkisini belirlemek amacı ile azoxystrobin uygulamasını takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat

sonra; kontrol ve son konsantrasyonu 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde azoxystrobin ilave edilen örneklerden 1 mL alınarak spektrofotometrede absorbansları ölçülmek suretiyle sıvı kültürlerdeki protein miktarları hesaplanmıştır.

24, 72 ve 96 saat boyunca azoxystrobin uygulaması yapılan kültürlerdeki protein miktarındaki değişim Şekil 3.2.1.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün sıvı kültürlerde protein miktarının 35.039 µg/mL olduğu, 24 saat sonra kontrol grubundaki protein miktarı artış göstererek 53.251 µg /mL 'e ulaştığı tespit edilmiştir. Bunun aksine 1 µL ,3 µL ,6 µL,10 µL ve 15 µL azoxystrobin uygulaması yapılan kültürlerde protein miktarında azalma olduğu görülmüştür ve sırasıyla protein miktarları; 22.031 µg/mL, 14.877 µg/mL, 14.226 µg/mL, 12.275 µg/mL ve 10.974 µg/mL olduğu belirlenmiştir. 48 saat sonra kontrol grubundaki protein miktarı 57.153 µg/mL olarak tespit edilmiştir. 48 saatin sonunda 1 µL azoxystrobin uygulaması yapılan kültürde protein miktarının 15.527 µg/mL, 3 µL uygulanan kültürde 14.226 µg /mL, 6 µL uygulanan kültürde 10.974 µg /mL, 10 µL uygulanan kültürde 10.324 µg /mL ve 15 µL uygulanan kültürde ise 9.023 µg /mL olduğu görülmüştür.

Kontrol grubunun 72 saat sonra protein miktarının 63.657 µg/mL'ye ulaştığı gözlenmiştir. 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL, 15 µL azoxystrobin uygulanan kültürlerde ise protein miktarında azalma gözlenmeye devam etmiştir bu kültürlerde sırası ile protein miktarları; 13.576 µg/mL, 10.974 µg /mL, 8.373 µg /mL, 6.421 µg /mL ve 5.120 µg /mL'ye kadar azalmıştır. 96 saat sonunda da kontrol grubunun içerdiği protein miktarının artarak 65,609 µg /mL'ye ulaştığı ancak 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL, 15 µL azoxystrobin uygulanan kültürlerde protein miktarında önemli miktarda azalmanın olduğu belirlenmiştir. 1 µL azoxystrobin uygulanan kültürde protein miktarının 11.625 µg /mL, 3 µL azoxystrobin uygulanan kültürde 7.722 µg /mL, 6 µL azoxystrobin uygulanan kültürde 6.421 µg /mL, 10 µL azoxystrobin uygulanan kültürde 2.519 µg /mL ve 15 µL azoxystrobin uygulanan kültürde ise 1.128 µg/mL olduğu görülmüştür (Şekil 3.2.1.1.).



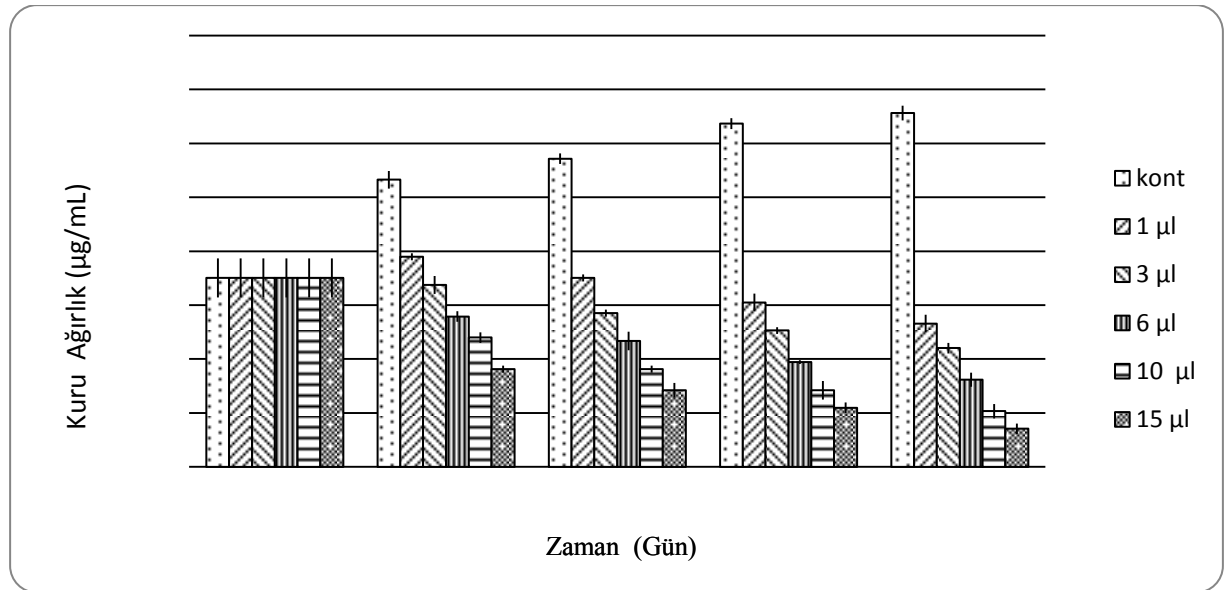
Şekil 3.2.1.1. Azoxystrobin uygulaması yapılan kültürde *Chlorella vulgaris* 'in protein miktarındaki değişim

3.2.2. Flusilazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Protein Miktarındaki Değişim

Chlorella vulgaris kültürlerine uygulanan flusilazolenin protein miktarı üzerindeki etkisini belirlemek için 96 saatlik bir uygulama yapılmış ve flusilazole uygulamasını takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat sonra; kontrol ve son konsantrasyonu 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL olacak şekilde flusilazole ilave edilen sıvı kültürlerdeki protein miktarları hesaplanmıştır.

24, 72 ve 96 saat boyunca flusilazole uygulaması yapılan kültürlerin protein miktarındaki değişim Şekil 3.2.2.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün sıvı kültürlerde protein miktarının 35.039 µg /mL olduğu tespit edilmiştir. 24 saatin sonunda kontrol grubundaki protein miktarında (53.251 µg/mL) ve 1 µL flusilazole uygulanan kültürdeki protein miktarında (38.942µg/mL) artış olduğu belirlenmiş, 3 µL flusilazole uygulanan kültürde ise protein miktarında (33.942 µg/mL) çok önemli bir azalma olduğu görülmemiştir. 6 µL flusilazole uygulanan kültürde (27.885 µg/mL), 10 µL flusilazole uygulanan kültürde (23.982 µg/mL) ve 15 µL flusilazole uygulanan kültürde (18.129 µg/mL) protein miktarlarında daha fazla azalma olduğu tespit edilmiştir. 48 saatin sonunda yapılan ölçümlerde kontrol grubunun protein miktarındaki artışın devam ederek 57.153 µg/mL'ye ulaştığı; bunun aksine 1 µL, 3 µL, 6 µL, 10 µL ve 15 µL flusilazole uygulanan kültürlerin

protein miktarlarında azalma olduğu görülmüş ve protein miktarlarındaki bu azalmanın sırası ile 35.039 $\mu\text{g/mL}$, 28.535 $\mu\text{g/mL}$, 23.535 $\mu\text{g/mL}$, 18.129 $\mu\text{g/mL}$ ve 14.226 $\mu\text{g/mL}$ olduğu belirlenmiştir. 72 saatin sonunda kontrol grubundaki protein miktarı 63.657 $\mu\text{g/mL}$ olurken 1 μL flusilazole uygulanan kültürde 30.486 $\mu\text{g/mL}$, 3 μL uygulanan kültürde 25.283 $\mu\text{g/mL}$, 6 μL uygulanan kültürde 19.430 $\mu\text{g/mL}$, 10 μL uygulanan kültürde 14.226 $\mu\text{g/mL}$, 15 μL uygulanan kültürde ise 10.974 $\mu\text{g/mL}$ olmuştur. 96 saatin sonunda kontrol kültüründeki protein miktarındaki artış devam etmiş (65.609 $\mu\text{g/mL}$) flusilazole uygulanan kültürlerde ise azalmanın devam ettiği belirlenmiştir. Bu azalmanın 1 μL flusilazole uygulanan kültürde 26.584 $\mu\text{g/mL}$, 3 μL uygulanan kültürde 22.031 $\mu\text{g/mL}$, 6 μL uygulanan kültürde 16.177 $\mu\text{g/mL}$, 10 μL uygulanan kültürde 10.324 $\mu\text{g/mL}$ ve 15 μL uygulanan kültürde ise 7.072 $\mu\text{g/mL}$ olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.2.2.1.).

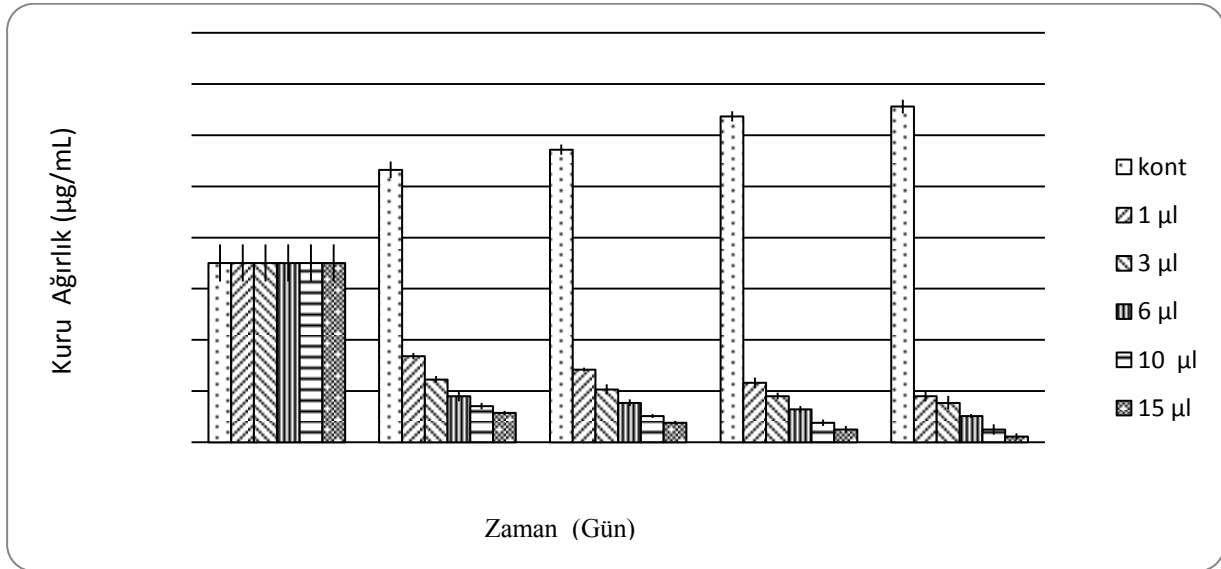


Şekil 3.2.2.1. Flusilazole uygulaması yapılan kültürde *Chlorella vulgaris* 'in protein miktarındaki değişim

3.2.3. Penconazole Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Protein Miktarındaki Değişim

24, 72 ve 96 saat boyunca penconazole uygulaması yapılan kültürlerdeki protein miktarındaki değişim Şekil 3.2.3.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün (0. gün) sıvı kültürlerde protein miktarının 35.039 $\mu\text{g/mL}$ olduğu tespit edilmiştir. 4 gün boyunca yapılan ölçümlerde kontrol grubundaki protein miktarının sürekli olarak önemli ölçüde arttığı görülmüş ve 96 saatin sonunda 65.609 $\mu\text{g/mL}$ 'ye ulaştığı tespit edilmiştir. 1 μL penconazole

uygulaması yapılan kültürde protein miktarı 24 saatin sonunda 16.828 $\mu\text{g/mL}$, 48 saatin sonunda 14.226 $\mu\text{g /mL}$, 72 saatin sonunda 11.625 $\mu\text{g /mL}$ ve 96 saatin sonunda 9.023 $\mu\text{g /mL}$ olarak belirlenmiştir. 3 μL penconazole uygulanan kültürde ise 24, 48, 72 ve 96 saatin sonundaki hesaplanan protein miktarları sırasıyla 12.275 $\mu\text{g /mL}$, 10.324 $\mu\text{g /mL}$, 9.023 $\mu\text{g /mL}$ ve 7.722 $\mu\text{g /mL}$ 'dir. 6 μL penconazole uygulanan kültürde 24 saatin sonunda yapılan ölçümde protein miktarının 9.023 $\mu\text{g /mL}$, 48 saatin sonunda 7.722 $\mu\text{g/mL}$, 72 saatin sonunda 6.421 $\mu\text{g /mL}$ ve 96 saatin sonunda 5.120 $\mu\text{g /mL}$ olduğu belirlenmiştir. 10 μL penconazole uygulanan kültürde protein miktarları 24, 48, 72 ve 96 saat sonunda yapılan ölçümlerdeki sonuçlar sırasıyla 7.072 $\mu\text{g /mL}$, 5.120 $\mu\text{g /mL}$, 3.820 $\mu\text{g /mL}$ ve 2.519 $\mu\text{g /mL}$ olduğu tespit edilmiştir. 15 μL penconazole uygulanan kültürde protein miktarlarındaki azalma oldukça fazla olduğu ve 24 saatin sonundaki protein miktarının 5.771 $\mu\text{g /mL}$ 'ye, 48 saatin sonundaki 3.820 $\mu\text{g /mL}$ 'ye, 72 saatin sonunda 2.519 $\mu\text{g /mL}$ 'ye ve 96 saatin sonundaki protein miktarının ise çok daha önemli ölçüde azalma göstererek 1,128 $\mu\text{g /mL}$ 'ye gerilediği tespit edilmiştir (Şekil 3.2.3.1.).



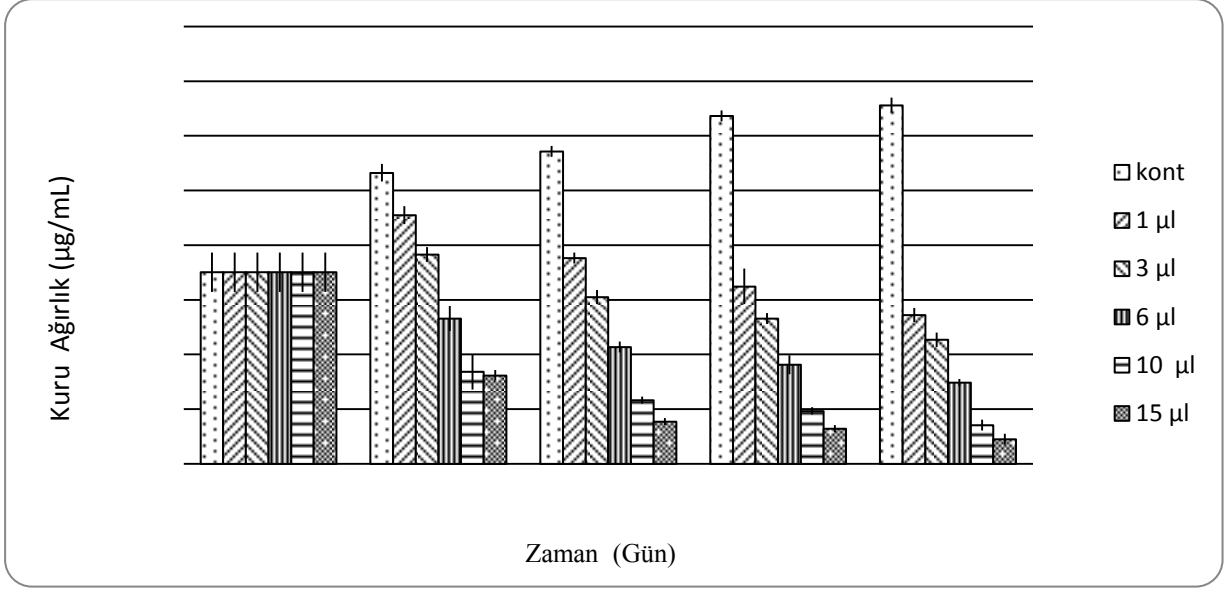
Şekil 3.2.3.1. Penconazole uygulaması yapılan kültürde *Chlorella vulgaris* 'in protein miktarındaki değişim

3.2.4. Triadimenol Uygulaması Yapılan Kültürlerde *Chlorella vulgaris*'in Protein Miktarındaki Değişim

Chlorella vulgaris ' in içerdiği protein miktarı üzerine pestisitlerin etkisini belirlemek

amacı ile triadimenol uygulamasını takip eden ilk günden başlayarak 24, 48, 72, 96 saat sonra; kontrol ve son konsantrasyonu 1 μ L, 3 μ L, 6 μ L, 10 μ L ve 15 μ L olacak şekilde triadimenol ilave edilen örneklerden 1 mL alınarak spektrofotometrede absorbansları ölçülmek suretiyle sıvı kültürlerdeki protein miktarları hesaplanmıştır. 24, 72 ve 96 saat boyunca triadimenol uygulaması yapılan kültürlerdeki protein miktarlarındaki değişim Şekil 3.2.4.1.' de gösterilmiştir. Aşılamanın yapıldığı gün kontrol grubunda ve 1 μ L, 3 μ L, 6 μ L, 10 μ L, 15 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde protein miktarının 35.039 μ g/mL olduğu tespit edilmiştir. 24 saatin sonunda kontrol grubundaki protein miktarı 53.251 μ g/mL'ye, 1 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürdeki protein miktarı 45.446 μ g/mL'ye, 3 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürdeki protein miktarı da 38.291 μ g/mL 'ye kadar artış gösterdiği; ancak 6 μ L triadimenol uygulanan kültürde protein miktarında azalma (26.291 μ g/mL) olduğu tespit edilmiştir. 10 μ L ve 15 μ L triadimenol uygulanan kültürlerdeki protein miktarı birbirine çok yakın olup sırasıyla 16.828 μ g/mL ve 16.177 μ g/mL olduğu belirlenmiştir. 48 saatin sonunda yapılan gözlemlerde kontrol grubundaki protein miktarındaki artışın devam ederek 57.153 μ g/mL 'ye ulaştığı, bunun aksine 48 saatin sonunda 1 μ L ve 3 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürlerdeki protein miktarlarının, 24 saatin sonunda yapılan ölçümlerdeki protein miktarına göre, azaldığı tespit edilmiştir (1 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde protein miktarı 37.641 μ g/mL ve 3 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürdeki protein miktarları 30.486 μ g/mL 'ye düşmüştür). 6 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde (21.381 μ g/mL), 10 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde (11.625 μ g/mL) ve 15 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde (7.722 μ g/mL) protein miktarının azaldığı 48 saatin sonunda yapılan ölçümlerde de görülmüştür. Kontrol grubunun protein miktarındaki artış 72 saatin sonunda da devam ederek 63.657 μ g/mL 'ye ulaştığı belirlenmiştir. 72 saatin sonunda 1 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde protein miktarı 32.438 μ g/mL olurken 3 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde bu miktar 26.584 μ g/mL olmuştur. 6 μ L, 10 μ L ve 15 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde ise protein miktarlarındaki azalış önemli miktarda artarak sırasıyla; 18.129 μ g/mL, 9.673 μ g/mL ve 6.421 μ g/mL 'ye kadar düşmüştür. 96 saat sonunda kontrol grubunun protein miktarının 65.609 μ g/mL 'ye ulaşarak artış gösterdiği belirlenmiştir. Bunun aksine 1 μ L, 3 μ L, 6 μ L, 10 μ L, 15 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürlerde protein miktarının azaldığı tespit edilmiştir. 1 μ L triadimenol uygulaması yapılan kültürde protein miktarı 27.234 μ g/mL, 3 μ L uygulanan kültürde 22.682 μ g/mL, 6 μ L uygulanan kültürde 14.877

$\mu\text{g/mL}$, 10 μL uygulama yapılan kültürde 7.072 $\mu\text{g/mL}$ ve 15 μL uygulama yapılan kültürde 4.470 $\mu\text{g/mL}$ olduğu tespit edilmiştir (Şekil 3.2.4.1.).



Şekil 3.2.4.1. Triadimenol uygulaması yapılan kültürde *Chlorella vulgaris* 'in protein miktarındaki değişim

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, bölgemizde özellikle bağcılıkta yoğun olarak kullanılan bazı pestisitlerin (Azoxystrobin, Flusilazole, Penconazole ve Triadimenol) *Chlorella vulgaris*'in gelişimi ve protein miktarı üzerine etkilerini araştırmak hedeflenmiştir. Yapılan laboratuvar çalışmaları sonucunda; kontrol grubuna kıyasla *Chlorella vulgaris*'in gelişimini en çok inhibe eden pestisit azoxystrobin adlı fungusit olduğu ve penconazolenin de hücre gelişimini etkilemede azoxystrobine yakın bir etki gösterdiği tespit edilmiştir. Flusilazole ve triadimenol de önemli ölçüde *Chlorella vulgaris*'in gelişimini engelleyici yönde etki etmiştir. 96 saatin sonunda *Chlorella vulgaris* protein miktarının azoxystrobin uygulanan sıvı kültürde oldukça azaldığı görülmüştür. Penconazole uygulaması yapılan kültürde de azoxystrobin uygulanan sıvı kültürdeki protein miktarıyla benzerlik görülmüştür. Flusilazole ve triadimenol uygulanan sıvı kültürlerde de kontrol grubundaki protein miktarına göre önemli bir azalma tespit edilmiş ancak azalma azoxystrobin ve penconazole uygulanan kültürlerdeki kadar olmamıştır. Genelde fungusitlerin konsantrasyonu ile ters orantılı olarak sıvı kültürlerdeki hücre sayısı ve protein miktarının azaldığı belirlenmiştir.

Sabater ve arkadaşları (2002) 'nın yaptıkları çalışmada *Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris* ve *Chlorella saccharophila* üzerinde 8-14mg/L cinosulfuron ile 0.015-6.2 mg/L bensulfuron-metil'in 96 saatte alglerin gelişimini yaklaşık olarak % 50 oranında azalttığını kaydetmişlerdir. Çalışmamızda da buna benzer olarak; 1µL 'lik penconazole uygulanan kültürde *Chlorella vulgaris* 'in hücre sayısının 96 saatin sonunda % 50 oranında azaldığı görülmüştür. Sabater ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada elde ettikleri bulgular çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

Azoxystrobin, flusilazole, penconazole ve triadimenol uygulamasının *Chlorella vulgaris*'in hücre sayısı ve protein miktarı üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar El-Sheekh ve arkadaşları (1994)'nın yaptığı çalışmalarda da elde edilmiştir. Yeşil alglerden *Chlorella kessleri* 'nin atrazine herbisitine karşı bazı fizyolojik süreçlerde olası değişikliklerinin neler olabileceğini belirlemek için yaptıkları çalışmada, 72 saat boyunca atrazinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Chlorella kessleri* 'nin büyümesinin 3 µM 'lik atrazine konsantrasyona kadar inhibe olmadığı, kontrol grubuna göre de kuru ağırlığındaki farkın da 48 saat sonra 5 µM 'lik atrazin

konsantrasyonunda görüldüğü belirlenmişlerdir. Kontrol grubuna göre değişik konsantrasyonlarda atrazine uygulanmış kültürlerde protein sentezindeki azalma 24 saat sonunda belirgin olarak gözlenirken 5, 10, 15 μ M 'lik atrazine konsantrasyonlarında protein sentezinde kademeli olarak % 6.7, 37 ve 70 oranında bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacıların bulgularına paralel olarak çalışmamızda da; 1 μ L flusilazole ve 1 μ L triadimenol konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Chlorella vulgaris* 'in hücre sayısını 24 saatin sonunda inhibe olmadığı, artış gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat 96 saatin sonunda kontrol grubuna göre önemli miktarda hücre sayısında azalma olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubuna göre değişik konsantrasyonlarda flusilazole ve triadimenol uygulanan kültürlerde protein sentezindeki azalma 3, 6, 10, 15 μ L 'lik konsantrasyonlarda 24 saatin sonunda belirgin olarak gözlenmiştir.

Bazı herbisitlerin Cyanophyta üyeleri üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada, Elliott (1998), mancozeb ve chlorothalonil etken maddeli fungusitleri kullanmıştır. Golf sahasında yetiştirilen Bermuda çiminin yüzeyinde gelişen mavi-yeşil alglerin gelişimini bastırmada mancozeb ve chlorothalonil etken maddeli fungusitlerin etkili olduğunu deneylerinde gözlemlemiştir. Bizim de araştırmamızda özellikle azoxystrobin fungusitinin, düşük konsantrasyonlarda bile *Chlorella vulgaris* 'in hücre sayısını önemli ölçüde azalttığı görülmüştür.

Sáenz ve arkadaşlarının (1997) yapmış olduğu bir çalışmada, paraquatın değişik konsantrasyonlarına maruz bırakılan *Scenedesmus quadricauda* 'nın, düşük konsantrasyonlarda birey sayısında az da olsa artış gösterdiği gözlenmiş bununla beraber yüksek konsantrasyonlarda ise birey sayısındaki azalmanın net bir şekilde olduğu belirtilmiştir. Bu da bize, su sisteminin en önemli parçası olan alglerde, kimyasalların alglerin gelişimleri üzerindeki etkileri hakkında bilgi vermektir. Yapılan çalışmaların sonucuna göre, sudaki yabancı ot kontrolü için önerilen paraquatın sucul ortamlarda yaygın olarak bulunan alg populasyonlarında kronik hasarlara neden olduğu vurgulanmaktadır. Bu araştırmanın sonucundaki bulgular ile bulgularımız benzerlik göstermektedir. 96 saat boyunca değişik konsantrasyonlarda farklı fungusitlere maruz bıraktığımız *Chlorella vulgaris* kültürlerinde, triadimenol uygulanan kültürde düşük konsantrasyonda alglerde az da olsa bir gelişimin olduğu görülmüştür. Fakat konsantrasyon miktarı arttığında 96 saatin sonunda hücre sayılarında gözle görülür bir azalmanın olduğu tespit edilmiştir.

Yeh ve Chen (2006), atrazine, parathion, dichlorvos, malathion, fenthion, 2-methyl-4-

chlorophenoxyacetic asit ve pentachlorophenol'un *Pseudokirchneriella subcapitata*'nın gelişimi üzerindeki etkilerini incelemişler ve bu pestisitlerin hedef olmayan canlıların gelişimini etkilediklerini ortaya koymuşlardır. Elde ettiğimiz sonuçlar bu deneyin sonucuyla benzer bir sonuca varmamıza neden olmuştur. Şöyle ki; bağcılıkta yaygın olarak kullanılan azoxystrobin, triadimenol, flusilazole ve triadimenol adlı fungusitlerin *Chlorella vulgaris*' in hücre sayısını ve protein miktarını çok önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir.

Hem zararlılarla mücadele hem de ürün artırmak için kullanılan kimyasalların büyük çoğunluğunun hedef organizma grubunun dışındaki diğer organizmaları da etkilediği ve sulama suları ve yeraltı veya yerüstü suları ile taşınarak alıcı ortamlara karıştıkları yapılan pek çok çalışma ile ortaya konmuştur. Sularla taşınarak alıcı ortama karışan bu kimyasallar sucul organizmalar üzerinde de istenmeyen etkiler ortaya çıkararak balıkların ve diğer canlıların kitlesel ölümlerine sebep olmakla birlikte algleri de etkileyerek suların besleme kapasitelerini düşürmektedirler. Bu sebeple, kimyasalların kullanımında çok dikkatli olmak doğru doz ve zaman aralığının iyi belirlenerek çevreye verilecek zararın en aza indirgenmesinde olumlu sonuçların ortaya çıkmasını sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Azizullah, A., Richter, P. and Hader, D.P.,** 2011, Comparative toxicity of the pesticides carbofuran and malathion to the freshwater flagellate *Euglena gracilis*, *Ecotoxicology*, 20, 1442-1454.
- Bulut, Y.,** 2009. *Chlorella*'da (Chloropyceae) Yağ Miktarını Arttırma Olanaklarının Araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi*, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, ADANA
- Couderchet, M. and Vernet, G.,** 2003. Pigments as biomarkers of exposure to the vineyard herbicide flazasulfuron in freshwater algae, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 55, 271-277.
- Dosnon-Olette, R., Trotel-Aziz, P., Couderchet, M. and Eullaffroy, P.,** 2010, Fungicides and herbicide removal in *Scenedesmus* cell suspensions, *Chemosphere*, 79, 117-123.
- Elliott, M.L.,** 1998. Use of fungicides to control blue-green algae on Bermuda grass putting-green surfaces, *Elsevier Science*, 631-637.
- El-Sheek, M.M., Kotkat, H.M. and Hammouda, H.E.O.,** 1994. Effect of Atrazine Herbicide on Growth, Photosynthesis, Protein Synthesis, and Fatty Acid Composition in the Unicellular Green Alga *Chlorella kesleri*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 29, 349-358.
- Fairchild, F. J., Ruessler, S. D. and Carlson, R. A.,** 1998. Comparative Sensitivity of Five Species of Macrophytes and Six Species of Algae to Atrazine, Metribuzin, Alachlor, and Metolachlor, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 17, No. 9, pp. 1830-1834.
- Ferraz, D.G.B., Sabater, C. and Carrasco, J.M.,** 2004. Effect of propanil tebufenozide and mefenacet on growth of four freshwater species of phytoplankton: a microplate bioassay, *Chemosphere*, 56, 315-320.
- Geoffroy, L., Dewez, D., Vernet, G. and Popovic, R.,** 2003, Oxyfluorfen Toxic Effect on *S. obliquus* Evaluated by Different Photosynthetic and Enzymatic Biomarkers, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 45, 445-452.
- Kuang, Q.J., Zhao, W.Y. and Cheng, S.P.,** 2003, Toxicity of Dibutyl Phthalate to Algae, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71, 602-608.
- Kotrikla, A., Gatidou, G. and Lekkas, T.D.,** 1999, Toxic Effects Of Atrazine, Deethyl-Atrazine, Deisopropyl-Atrazine And Metolachlor on *Chlorella fusca* var. *fusca*, 39-45
- Kosinski, R.J.,** 1984. The Effect of terrestrial herbicides on the community structure of stream periphyton, *Science Direct- Environmental Pollution Series A, Ecology and Biological*, Volume 36, issue 2, Pages 165-189.

- Li, Y., Dong, F., Liu, X., Xu, J., Han, Y. and Zhen, Y.,** 2014. Chiral fungicide triadimefon and triadimenol: Stereoselective transformation in greenhouse crops and soil, and toxicity to *Daphnia magna*, *Journal of Hazardous Materials*, 265, 115-123.
- Liu, S., Wang, C., Zhang, J., Zhu, X. and Li, W.,** 2013. Combined toxicity of pesticide mixtures on green algae and photobacteria, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 95, 98-103.
- Lowry, O., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.,** 1951. Protein Measurement with Folin Phenol Reagent. *The Journal of Biological Chemistry* Vol., 193, 265-275
- Ma, J. and Chen, J.,** 2005, How to accurately assay the algal toxicity of pesticides with low water solubility, *Environmental Pollution*, 136, 267-273.
- Ma, J., Lin, F., Zhang, R., Yu, W. and Lu, N.,** 2004, Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus quadricauda* and *Chlorella vulgaris*, to 14 pesticide adjuvants, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58, 61-67.
- Ma, J.,** 2005, Differential sensitivity of three cyanobacterial and five green algal species to organotin and pyrethroids pesticides, *Science of The Total Environment*, 341, 109-117.
- Ma, J., Zheng, R., Xu, L. and Wang, S.,** 2002. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*, to 12 pesticides, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 52, 57-61.
- Ma, J., Wang, P., Huang, C., Lu, N., Qin, W., Wang, Y.,** 2005. Toxicity of Organophosphorous Insecticides to Three Cyanobacterial and Five Green Algal Species *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 75, 490-496.
- Nyström, B., Björnsäter, B. and Blanck, H.,** 1999. Effects of sulfonylurea herbicides on non-target aquatic micro-organisms growth inhibition of microalgae and short-term inhibition of adanine and thymidine incorporation in periphyton communities, *Aquatic Toxicology*, 47.
- Prescott, G.W.,** 1982. *Algae of the Western Great Lakes Area*, Otto Koeltz Science Publishers P. O. Box 1380.
- Rojčková-Padrťová, R. and Maršálek, B.,** 1999. Selection and sensitivity comparisons of algal species for toxicity testing, *Chemosphere* Vol. 38, No.14, pp. 3329-3338.
- Jones, M. and Jones, G.,** 1995. *Biology*. 223-225. Cambridge University Press.

- Sabater, C., Cuesta, A. and Carrasco, R., 2002.** Effects of bensulfuron-methyl and cinosulfuron on growth of four freshwater species of phytoplankton, *Chemosphere*, 46,953-960.
- Sabater, C., and Carrasco, J.M., 2001,** Effects of pyridaphenthion on growth of five freshwater species of phytoplankton. A laboratory study, *Chemosphere*, 44, 1775-1781.
- Shen, Y.F., Liu, L., Gong, Y.X., Zhu, B., Liu G. and Wang, G.X., 2014.** Potential toxic effect of trifloxystrobin on cellular microstructure, mRNA expression and antioxidant enzymes in *Chlorella vulgaris*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37, 1040-1047.
- Sáenz, J.L., Alberdi, W.D., Di Marzio, J., Accorinti, M.C., Tortorelli, 1977.** Paraquat Toxicity to Different Green Algae *Bull. Environ. Contom. Toxicol*, 58:922-928.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S., 2010.** Tarım İlaçları Kullanımı ve Riskleri, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26(2), 154-169.
- Thompson, S. A., Rhodes, C. D., Pettman, I., 1998.** Culture Collection of Algae and Protozoa, Titus Wilson & Son Ltd, Kendal, 163.
- URL-1, www.tarimkutuphanesi.com/tarimilacлари/ayrinti.asp?idno=1796 Azoxystrobin. 5 Aralık 2014
- URL-2, www.agrobestgrup.com/ilac.php?dilkod=&ilacid=71&kat=suns-40-ec Flusilazole. 5 Aralık 2014
- URL-3, <http://en.wikipedia.org/wiki/Flusilazole> Flusilazole
- URL-4, http://www2.dupont.com/Agriculture/tr_TR/assets/downloads/MSDS/OLYMP%2010%20EW.pdf Flusilazole. 5 Aralık 2014
- URL-5, www3.syngenta.com/country/tr/SiteCollectionImages/TOPAS_100_EC_TURKC_E.pdf Penconazole. 5 Aralık 2014
- URL-6, www.turkiyesel.com/bitki-koruma-urunlerinde-kullanilan-maddeler/155114-triadimenol.html Triadimenol. 5 Aralık 2014
- URL-7, <http://www.tarimkutuphanesi.com/tarimilacлари/ayrinti.asp?idno=2202> Triadimenol. 5 Aralık 2014
- URL-8, www.algaebase.org/search/species/detail 16 Aralık 2014

Yeh, H.J. and Chen, C.Y., 2006, Toxicity assessment of pesticides to *Pseudokirchneriella subcapitata* under air-tight test environment, Journal of Hazardous Materials, 131, 6-12.

ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Elazığ'da doğdum. İlkokulu Ağın Öğretmen Abdullah Lütfü İlköğretim Okulu'nda, lise eğitimimi Balakgazi Lisesi'nde (Yabancı Dil Ağırlıklı Lise) tamamladım. 09/06/2011'de Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun oldum. 13.09.2012' de Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Genel Biyoloji anabilim dalında yüksek lisans eğitimime başladım.

