

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

**İKİ FARKLI HERBİSİN *ARTHROSPIRA PLATENSIS* GOMONT VE
CHLORELLA VULGARIS BEYERINCK (BEIJERINCK) ALGLERİNİN
GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERİNİN ÜZERİNE ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

Şükrüye ER

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK

Mayıs 2019

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İKİ FARKLI HERBİSİTİN *ARTHROSPIRA PLATENSIS* GOMONT VE
CHLORELLA VULGARIS BEYERINCK (BEIJERINCK) ALGLERİNİN
GELİŞİMİ VE ANTİOKSİDAN PARAMETRELERİNİN ÜZERİNE ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

Şükrüye ER

Enstitü Anabilim Dalı

BİYOLOJİ

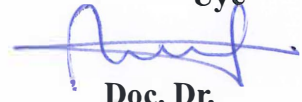
Bu tez 02/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oybirliği ile kabul edilmiştir.


Doç. Dr.
Arzu YÜCE
Jüri Başkanı


Doç. Dr.
Cüneyt Nadir SOLAK
Üye


Doç. Dr.
Hüseyin ALTUNDAĞ
Üye


Doç. Dr.
Nazan Deniz YÖN ERTUĞ
Üye


Doç. Dr.
Tuğba ONGUN SEVİNDİK
Üye

BEYAN

Tez içindeki tüm verilerin akademik kurallar çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, görsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uygun şekilde sunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezde yer alan verilerin bu üniversite veya başka bir üniversitede herhangi bir tez çalışmasında kullanılmadığını beyan ederim.

Şükrüye ER

02.05.2019

TEŞEKKÜR

Lisans ve doktora eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda bilgi ve desteğini almaktan çekinmediğim, araştırmanın planlanmasından yazılmasına kadar tüm aşamalarında yardımlarını esirgemeyen, teşvik eden, aynı titizlikte beni yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK'e teşekkürü bir borç bilirim. Laboratuvar olanakları ve tezin yazımı aşamasında desteğini esirgemeyen hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ali DOĞRU' ya teşekkürler. Çalışmalar esnasında her zaman desteğini esirgemeyen, motivasyon ve enerji kaynağımız Sayın Arş. Gör. Tarık DİNÇ'e teşekkürlerimi bildiririm.

Laboratuvar çalışmalarında, tezin yazımı konusunda ve herşeyden öte dostluğuyla, anlayış ve yardımlarıyla maddi- manevi her daim yanımda olan canım arkadaşım, dostum Sayın Dr. Arş. Gör. Hatice TUNCA' ya sonsuz teşekkürler.

Her zorluğumda yanımda olan, beni yetiştirip bugünlere getiren ve maddi-manevi her daim yanımda olan canım aileme de sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Akademik anlamda kendimi geliştirmem konusunda desteklerini esirgemeyen başta okul müdürüm Sayın Hüsni YILMAZ olmak üzere tüm ENKA ailesine teşekkürler.

Ayrıca bu çalışmanın maddi açıdan desteklenmesine olanak sağlayan Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyon Başkanlığına (Proje No: 2018-02-09-173) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLOLAR LİSTESİ.....	x
ÖZET.....	xi
SUMMARY	xii
BÖLÜM 1.	
GİRİŞ	1
BÖLÜM 2.	
KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Algler.....	3
2.2. Alglerin Kullanım Alanları	4
2.3. <i>Arthrospira platensis</i>	6
2.4. <i>Chlorella vulgaris</i>	8
2.5. Pestisitler	10
2.5.1. Pestisitlerin akuatik ekosistem üzerine etkileri	12
2.6. Alglerde Oksidatif Strese Karşı Tolerans: Antioksidan Enzimler	13
2.6.1. Serbest radikaller.....	13
2.6.2. Oksidatif stres.....	14
2.6.3. Antioksidanlar	15
2.6.3.1. Antioksidan savunmanın ilk hattı	17
2.6.3.2. Antioksidan savunmanın ikinci hattı:	20
2.6.3.3. Antioksidan savunmanın üçüncü hattı.....	20

2.6.3.4. Antioksidan savunmanın dördüncü hattı	21
2.7. Çalışmada Kullanılan Herbisitler	21
2.7.1. Cambio	21
2.7.2. Bentagram	24
2.8. Çalışmanın Amacı	26

BÖLÜM 3.

MATERYAL VE METOD	27
3.1. Çalışma Materyali	27
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.3. Yöntem	28
3.3.1. Hücre kültürünün hazırlanması	28
3.3.1.1. <i>Chlorella vulgaris</i> kültürü ve yetiştirilme koşulları	28
3.3.1.2. <i>Arthrospira platensis</i> kültürü ve yetiştirilme koşulları..	29
3.3.2. Uygulanan herbisit çözeltileri	30
3.3.3. Deney ortamı ve düzeneği	31
3.4. Ölçüm ve Analizler	31
3.4.1. Optik yoğunluğun (OD) ve büyüme oranının belirlenmesi	31
3.4.2. Fotosentetik pigment analizi (Klorofil- <i>a</i>)	31
3.4.3. Toplam protein analizi	32
3.4.4. Toplam süperoksit dismutaz (SOD) enzim analizi	32
3.4.5. Toplam glutatyon redüktaz (GR) enzim analizi	33
3.4.6. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) enzim analizi	33
3.4.7. Prolin analizi	34
3.4.8. Malondialdehit (MDA) analizi	34
3.4.9. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) analizi	35
3.4.10. İstatistiksel analizler	35

BÖLÜM 4.

ARAŞTIRMA BULGULARI	36
4.1. OD560 Absorbansı	36
4.2. Fotosentetik Pigment Analizi (Klorofil- <i>a</i> Miktarları)	39

4.3. Toplam Süperoksit Dismutaz Aktivitesi	41
4.4. Toplam Askorbat Peroksidaz Aktivitesi	44
4.5. Toplam Glutasyon Redüktaz Aktivitesi.....	47
4.6. Malondialdehit (MDA) Miktarı	50
4.7. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	53
4.8. Serbest Prolin Miktarı	56

BÖLÜM 5.

TARTIŞMA VE SONUÇ	60
-------------------------	----

KAYNAKÇA.....	72
---------------	----

ÖZGEÇMİŞ	80
----------------	----

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

%	: Yüzdelik ifadesi
°C	: Derece santigrad
µg	: Mikrogram
ADP	: Adenozin difosfat
APOD	: Askorbat peroksidaz
AsA	: Askorbat
ATP	: Adenozin trifosfat
AQ	: Sulu Formülasyon
cm, m	: Santimetre, metre
CO ₂	: Karbondioksit
CR	: Kristal
Cu	: Bakır
ÇSGB	: Çalışma ve Sosyal Güvenlik Bakanlığı
DDT	: Dikloro difenil trikloroethan
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
DNOC	: Dinitro orto krezol
DAsaA	: Dehidroaskorbat
EC, EM:	: Emülsiyon konsantre ilaçlar
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
Fe	: Demir
GPX	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GST	: Glutasyon transferaz
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit

KAT	: Katalaz
L	: Litre
LOEC	: Gözlenen en düşük etki konsantrasyonu
LOOH	: Lipid hidroperoksitleri
mg	: Miligram
mmol	: Milimol
NADPH	: Nikotiamid adenine dinükleotit fosfat
Ni	: Nikel
MDA	: Malondialdehit
ME	: Mikro Emülsiyon
MG	: Mikro Granül
MEB	: Milli Eğitim Bakanlığı
Mn	: Mangan
O ₂ ⁻	: Süperoksid radikali
OD	: Yağda Dağılabilen, Optik Yoğunluk
OH ⁻	: Hidroksil radikali
pH	: [H ⁺] iyonu konsantrasyonunun kologaritması
PO ₄ ⁻³	: Fosfat
ppm	: Toplam madde miktarının milyonda birlik kısmı
RB	: Hazır yem
ROS	: Reaktif oksijen türleri
RNS	: Nitrojen içerikli reaktif nitrojen türleri
NOEC	: Gözlenen etkinin olmadığı konsantrasyon
SC	: Solüsyon konsantre ilaçlar
SH	: Sülfidril grubu
SE	: Suspo emülsiyon
SL	: Suda çözünen konsantre
SP	: Suda çözünebilir ilaçlar
SOD	: Süperoksid dismutaz
TA	: Taze ağırlık
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
Uv	: Ultraviyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>Arthrospira platensis</i>	8
Şekil 2.2. <i>Chlorella vulgaris</i>	10
Şekil 2.3. APOD enziminin kataliz reaksiyonu	18
Şekil 2.4. Cambio' nun kimyasal yapısı	21
Şekil 2.5. Bentagram' ın kimyasal yapısı.....	24
Şekil 3.1. Kültürde çoğaltılmış <i>Chlorella vulgaris</i>	27
Şekil 3.2. Kültürde çoğaltılmış <i>Arthrospira platensis</i>	27
Şekil 4.1. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginde OD 560 değerinin 7 gün boyunca değişimi	36
Şekil 4.2. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginde OD 560 değerinin 7 gün boyunca değişimi	37
Şekil 4.3. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginde OD 560 değerinin 7 gün boyunca değişimi	38
Şekil 4.4. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginde OD 560 değerinin 7 gün boyunca değişimi.....	38
Şekil 4.5. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C.vulgaris</i> alginde klorofil- <i>a</i> miktarındaki 7 gün boyunca değişim.....	39
Şekil 4.6. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C.vulgaris</i> alginde klorofil- <i>a</i> miktarındaki 7 gün boyunca değişim.....	40
Şekil 4.7. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginde klorofil- <i>a</i> miktarındaki 7 gün boyunca değişim	40
Şekil 4.8. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginde klorofil- <i>a</i> miktarındaki 7 gün boyunca değişim.....	41
Şekil 4.9. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C.vulgaris</i> alginin SOD aktivitesinde görülen değişim.....	42

Şekil 4.10. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin SOD aktivitesinde görülen değişim	42
Şekil 4.11. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin SOD aktivitesinde görülen değişim	43
Şekil 4.12. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin SOD aktivitesinde görülen değişim	44
Şekil 4.13. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin APOD aktivitesinde görülen değişim	45
Şekil 4.14. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin APOD aktivitesinde görülen değişim.....	45
Şekil 4.15. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin APOD aktivitesinde görülen değişim	46
Şekil 4.16. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin APOD aktivitesinde görülen değişim	47
Şekil 4.17. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin GR aktivitesinde görülen değişim.....	48
Şekil 4.18. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin GR aktivitesinde görülen değişim.....	48
Şekil 4.19. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin GR aktivitesinde görülen değişim.....	49
Şekil 4.20. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin GR aktivitesinde görülen değişim.....	50
Şekil 4.21. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin MDA miktarında görülen değişim	51
Şekil 4.22. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin MDA miktarında görülen değişim	51
Şekil 4.23. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin MDA miktarında görülen değişim	52
Şekil 4.24. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin MDA miktarında görülen değişim	53
Şekil 4.25. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin H ₂ O ₂ miktarında görülen değişim	54

Şekil 4.26. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin H ₂ O ₂ miktarında görülen değişim	54
Şekil 4.27. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin H ₂ O ₂ miktarında görülen değişim	55
Şekil 4.28. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin H ₂ O ₂ miktarında görülen değişim	56
Şekil 4.29. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin serbest prolin miktarında görülen değişim	57
Şekil 4.30. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>C. vulgaris</i> alginin serbest prolin miktarında görülen değişim	57
Şekil 4.31. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin serbest prolin miktarında görülen değişim	58
Şekil 4.32. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle <i>A. platensis</i> alginin serbest prolin miktarında görülen değişim	59

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1. Hedef organizma üzerinde pestisit mekanizma etkilerinin özeti	12
Tablo 3.1. Kullanılan cihazlar	28
Tablo 3.2. BG11 ortamı içeriği (Rippka ve ark., 1979)	29
Tablo 3.3. BG11 konsantre stok solüsyonu içeriği	29
Tablo 3.4. A5 stok solüsyonu içeriği	29
Tablo 3.5. Spirulina Medium İçeriği (Aiba ve Ogawa, 1977)	29
Tablo 3.6. Mikrobelerin tuzlarının içeriği	30
Tablo 3.7. <i>C. vulgaris</i> ve <i>A. platensis</i> ' e uygulanan Cambio ve Bentagram konsantrasyonları.....	30

ÖZET

Anahtar kelimeler: Bentagram, Cambio, antioksidan enzim, herbisit, *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis*

Pestisitler zararlı olan hedef organizmayı engellemek, kontrol edebilmek ya da zararlarını azaltmak için kullanılan kimyasal karışımlardır. Bunların en yaygını da özellikle artan dünya nüfusunu beslemek amacıyla tarımda yaygın olarak kullanılan herbisitler yani bitki öldürücülerdir. Yabani ya da istenmeyen otları yok etmeye yönelik olarak kullanılan bu kimyasallar hedef organizmanın dışındaki diğer organizmalara da zarar vermesi, biyobirikim göstermesi, ekosistem içinde taşıyıcı olması gibi nedenlerle ciddi tartışma konusu olmaktadır. Özellikle besin zincirinin en önemli halkasını oluşturan birincil üreticileri etkiliyor olması tüm ekosistemi etkilemektedir. Bu bağlamda sucul ekosistem üyelerinden alglere bu tip kimyasalların etkisi son derece önemlidir. Bu çalışmada Cambio herbisitine maruz bırakılan *A. platensis* alginde klorofil-*a* ve OD560 değerlerinde 7 gün süresince azalma görülürken, SOD, APOD ve GR enzimlerinde ve H₂O₂ ve MDA miktarlarında anlamlı değişiklik görülmemiş, prolin miktarı ise artmıştır. Cambio herbisitine maruz bırakılan *C. vulgaris* alginde klorofil-*a* ve OD560 değerlerinde 7 gün süresince artma görülmüştür. Ayrıca her ne kadar SOD, APOD ve GR enzimlerinde önce artan, sonra azalan eğriler görülse de bu değişiklikler istatistiksel olarak anlam taşımamaktadırlar. Prolin, MDA ve H₂O₂ miktarında anlamlı değişiklik görülmemiştir. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* alginde klorofil-*a* ve OD560 değerlerinde 7 gün süresince anlamlı azalma görülmüştür. SOD, APOD ve GR enzimleri ile MDA ve H₂O₂ miktarında anlamlı değişiklik görülmezken, prolin miktarı azalmıştır. Aynı pestisite maruz bırakılan *C. vulgaris* alginde OD560 değerinde 7 gün süresince azalma gözlenirken, klorofil-*a* miktarında artan konsantrasyon ve ilerleyen günlerde anlamlı artış gözlenmiştir. SOD, APOD ve GR enzimleri ile MDA, H₂O₂ ve prolin miktarında anlamlı değişiklik görülmemiştir.

Sonuç olarak bu çalışmada biyokütle ve antioksidan parametrelerdeki değişikliğin artan Cambio ve Bentagram konsantrasyonlarına bağlı olduğu bulunmuştur.

THE EFFECTS OF TWO DIFFERENT HERBICIDES ON THE DEVELOPMENT AND ANTIOXIDANT PARAMETERS OF *ARTHROSPIRA PLATENSIS* GOMONT AND *CHLORELLA VULGARIS* BEYERINCK

SUMMARY

Keywords: Bentagram, Cambio, antioxidant enzyme, herbicide, *Chlorella vulgaris*, *Arthrospira platensis*

Pesticides are chemical mixtures used to prevent, control or reduce harmful organisms. The most common of those are herbicides, which are commonly used in agriculture, in order to nourish the growing world population. These chemicals, which are used for destroying wild or undesirable weeds, are subject to serious controversy due to their damage to other organisms rather than the target organism, to show their bioaccumulation and to be carried within the ecosystem. The chemicals especially affect the primary producers that constitute the most important link of the food chain affects the whole ecosystem. In this context, the impact of such chemicals on algae from aquatic ecosystem members is extremely important. In this study, chlorophyll-*a* and OD560 values decreased for 7 days in *A. platensis* algae exposed to Cambio herbicide while there was no significant change in SOD, APX and GR enzymes and H₂O₂ and MDA amounts, however proline amount was increased for 7 days. Chlorophyll-*a* and OD560 levels increased for 7 days in *C. vulgaris* algae exposed to the Cambio herbicide. In addition, although SOD, APX and GR enzymes showed initial increases and then decreases on the curve, these changes were not statistically significant. There was no significant change in the amounts of proline, MDA and H₂O₂. A significant decrease in chlorophyll-*a* and OD560 values was observed for 7 days in *A. platensis* algae exposed to different concentrations of Bentagram herbicide. SOD, APX and GR enzymes and MDA and H₂O₂ amounts showed no significant change, whereas prolin amount was decreased. In the *C. vulgaris* algae exposed to the same pesticide, the decrease in OD560 value was observed, while the increase in the amount of chlorophyll-*a* was significant for 7 days. There was no significant change in MDA, H₂O₂ and proline levels and SOD, APX and GR enzymes.

As a result, in this study, changes in biomass and antioxidant parameters were found to be related to increasing concentrations of Cambio and Bentagram.

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Algler, genel olarak akuatik sistemin en önemli bileşenleri olup, primer üreticiler olarak çok büyük öneme sahip oldukları bilinmektedir. Doğal sularda algler morfolojileri, büyüklükleri, biyokimyasal özellikleri ve ekolojik nişleri bakımından farklılık göstermektedirler. Alglerin fitoplankton gibi küçük boyutlu olanları başta olmak üzere 50 m uzunluğundaki kelpelere kadar uzanan türlerinin çoğu besin zincirinin tabanını oluşturmaktadır. Ayrıca algler su ekosisteminde oluşan kirliliği izlemede indikatör türler olarak kullanılmaktadırlar.

Pestisit; gıdadan-endüstriye kadar birçok alanda kullanılan zirai ürünlere zarar veren organizmaları engellemek-azaltmak için kullanılan kimyasal bir madde, virüs ya da bakteri gibi biyolojik bir ajan, antimikrobik, dezenfektan ya da herhangi bir araç olabilmektedir. Hedef organizmaya göre isimlendirilen farklı pestisitlerden en yaygın olarak kullanılan herbisitler olup, yabancı otlarla mücadele için hem ülkemizde hem dünyada yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Dünyada ve ülkemizde artan insan popülasyonunu besleyebilmek için artan tarımsal faaliyetlere bağlı kullanılan herbisit oranı da günden güne artmakta, bu da herbisitlerin yeraltı sularında, denizde, atmosferde, toprakta birikmesine sebep olmaktadır. Dolayısıyla da primer üreticiler olan algler bu birikimin ilk halkası yani en çok etkilenen canlı grubunu oluşturmaktadır.

Bu çalışmada prokaryotik bir alg olan *Arthospira platensis* ve ökaryot *Chlorella vulgaris* algleri, Cambio ve Bentagram herbisitlerinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılmıştır. Yaygın olarak kullanılan bu iki herbisit artan konsantrasyonlarının bu alglerin klorofil-a miktarında, OD560 absorbansında, enzimatik (SOD, APOD, GR) ve enzimatik olmayan (MDA, H₂O₂ ve prolin) antioksidan parametrelerinde oluşturduğu değişimlere bakılmıştır. Uygulanan farklı

konsantrasyonlardaki farklı herbisitlerin, iki farklı tür üzerindeki antioksidan enzim aktivitelerinin ve parametrelerinin üzerindeki etkilerinin farklı olduğunu gözlemlenmiştir.



BÖLÜM 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Algler

Tatlı su ekosistemlerinde mikroorganizmalar sucul ekosistemin birincil üreticileri, besin döngüsü elemanları ve ayrıştırıcıları olarak kritik rol oynamaktadırlar. Algler, diğer adıyla su yosunları, genellikle büyük çoğunluğunun fotosentez yapabilmesine bağlı olarak bitkilere benzetilen, lakin fotosentez ürünlerini farklı tipte nişasta olarak depolamaları, klorofil-c bulundurmaları ve bitkilerde bulunmayan başka pigment maddeleri bulundurmaları ile bitkilerden ayrılmaktadırlar. Fotosentetik algler, sucul ekosistemin birinci derecedeki üreticileri olduklarından ve birçok sucul canlının besin kaynağını oluşturmalarından dolayı önemlidirler. Algler genellikle sucul ve yarı sucul habitatlarda (okyanuslar, nehirler, tatlı su gölleri, çaylar, dereler, kutup gölleri, su birikintileri, vb.), bir kısmı ise karalarda, nemli topraklarda, likenlerde ya da kara bitkilerinin yüzeylerinde yaşayabilirler. Algler tek hücreliden, koloni formuna, iplikli ve dallanmış formlara kadar çok geniş morfolojik farklılıklar göstermekle beraber bazıları simbiyotik olarak, bazıları da parazitik olarak yaşamaktadırlar. Yapısal olarak ökaryotik (gelişmiş hücre tipi) ve prokaryotik (basit yapılı hücre tipi) olmak üzere iki büyük gruba ayrılan algler; mavi- yeşil algler (Cyanobacteria), öglenoidler (Euglenozoa), diyatomlar (Bacillariophyta), dinoflagellatlar (Miozoa), yeşil algler (Chlorophyta), kriptomonadalar (Cryptophyta), kırmızı algler (Rhodophyta), karofitler (Charophyta), Ochrophyta ve Haptophyta olmak üzere farklı filumlarda incelenmektedirler. Özellikle sucul ekosistemde besin zincirinin temelini oluşturan algler çevresel değişikliklerden en çok etkilenen canlılardır. Bu sebeple algler ekotoksikoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (USEPA, 1989).

2.2. Alglerin Kullanım Alanları

Deniz algleri üzerine çalışmalar çok uzun yıllardan beri yapılmaktadır. M. Ö. 2700 yıllarında Kral Shen Nung yosunları ilk kullanan kişi olarak bilinmektedir (Güner, 1996). Tıbbi ve besin kaynağı olmak üzere çoğu endüstriyel alanda alglerden yararlanılmaktadır (Kahvecioğlu, 2003).

- a. Besin maddesi ve mineral kaynağı olarak: Algler özellikle denize kıyısı olan ülkelerde önemli besin kaynağıdır. Özellikle bir mavi- yeşil alg olan *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) “süper besin” olarak bilinmektedir. Besin değerleri sebebiyle kültürleri yapılan diğer alg türleri; *Chlorella ssp.*, beta- karotene ve C vitaminince yüksek değere sahip *Dunaliella salina*’dır. Alglerden elde edilen agar yiyecek sanayinde sertleştirici olarak pasta, marmelat, dayanıklı ekmek yapımında kullanılmakta, ayrıca şarap, birada berraklaştırıcı olarak alkol sanayinde kullanılmaktadır. Bunun dışında kabızlık giderici olarak da kullanılan algler, A, B1, B2, B6, niasin ve C vitaminlerinin kaynağıdır. Algler iyodin, potasyum, demir, magnezyum ve kalsiyum bakımından zengindirler. Besin olmasının yanında salam, sucuk gibi gıdalarda bağırsak yerine koruyucu kılıf olarak, çeşitli sütlü tatlılarda, dondurmada vizkozite sağlayıcı olarak da kullanılmaktadırlar.
- b. Kozmetik sanayii: Zehirsiz olmaları ve bozulmaya karşı dayanıklı olmaları nedeniyle tercih edilen alglerden elde edilen alginatlar saç boyasında, deterjanlarda, tabletlerde dolgu maddesi olarak, yağlı kremlerin homojenizasyon ve stabilitesinin sağlanmasında, emülsiyon, süspansiyon, losyon, pomat, tampon ve pastil yapımında kullanılmaktadırlar. Alginat musilajının eriyikleri losyonlarda, cilt temizleme maddelerinde, saç spreyinde, saç boyalarında ve cilt kremlerinde ana madde olarak bulunmaktadır. Sabunlarda köpük artırıcı olarak kullanılmasının yanında, diş macunundaki tebeşirin giderilmesi için de kullanılmaktadırlar. Şampuanların içinde de temizleyici olarak bulunmaktadır. Son yıllarda Türkiye’de de algler, deriyi yenileme ve mineral bakımından zengin olmalarından ötürü güzellik enstitüleri tarafından

“thallassoterapi” uygulamaları amacıyla oldukça yaygın olarak kullanılmakta, alg içeren kozmetik ürünlerin çeşitliliği artmaktadır (Aktar ve Cebe, 2010).

- c. Diş sanayii: Diş kalıplarında bozulmayan, çabuk sertleşen daha iyi kolloidlerin yapımında kullanılmaktadırlar.
- d. Enerji sanayii: Algler biyodizel üretiminde kullanılmakta, hatta aynı amaçla yetiştirilen toprak ürünlerine göre çok daha fazla miktarda yağ içerdikleri bilinmektedir. Alglerin karbonhidrat içerikleri biyoetanol, biyobütanol ve hidrojen üretiminde kullanılmaktadır. Biyobütanolün enerji yoğunluğu benzine çok benzemekte ve benzinli araçlarda da rahatlıkla kullanılabilir.
 - e. Kirlilik kontrolü: Algler atık su arıtım tesislerinde tehlikeli madde içeriğini düşürmede adeta biyofiltre olarak kullanılmaktadırlar. Temizlenmesi güç olan azot ve fosfor gibi bileşikler alglerin bulunduğu tanklara alınarak, algler tarafından besin kaynağı olarak kullanılmaları suretiyle ortamdan uzaklaşabilmektedirler. Algler çiftliklerden yağmur suyu ile akan gübreleri besin ortam olarak kullanırken aynı zamanda tutulmasını sağlamakta, hasat edildiğinde de bu zenginleşmiş alglerin kendileri de gübre olarak değerlendirilmektedir (González, 2011). Alglerin metal soğurum yeteneklerinin de yüksek olduğu bilinmektedir.
 - f. Tekstil sanayii ve kauçuk: Alglerden elde edilen ürünler kullanılarak daha parlak, dokusu sıkılaşmış, ateşe dayanıklı ve güve yemesine karşı dayanıklı kumaşlar yapılmaktadır. Ayrıca kauçuğa ilave edilerek yumuşaklık ve akıcılık kazandırmaktadırlar.
 - g. Kağıt sanayii: Algler üzerinde yazıldığında mürekkebi dağılmayan kağıtların ve ince parşömen kağıtlarının yapımında kullanılmaktadırlar.
 - h. İnşaat sanayii: Algler kırılmayan camlar, ses-ısı izolasyon malzemeleri, dış cephe ve havaalanı pistlerinde kaplama maddesi ve harç maddesinin yapımında kullanım alanına sahiptirler.
 - i. Zirai kullanımı: Bitkilere zarar veren bitki, böcek ve benzeri zararlılarla savaşmakta kullanılmaktadırlar. Mulla ve ark. (1977) *Chlorella ellipsoidea*'nın sivrisineklerin gelişim ve olgunlaşma aşamalarını etkileyen bazı maddeler ürettiğini keşfetmişlerdir. Nassar ve ark. (1999) bazı siyanobakterilerin ve yeşil

alglerin larva gelişimini inhibe eden ve dişi yetişkin sivrisineklerin hayatta kalmasını ve gelişmesini geciktiren maddeler ürettiğini bulmuşlardır.

- j. İlaç sanayii: Alglerden elde edilen aljinatlar dermatolojik vakalarda kullanılan sargı bantları, flaster ve bandajların yapımı ile, bazı ilaçların ana ve yardımcı maddesi olarak kullanılmaktadırlar (Aktar ve Cebe, 2010). Bunun dışında bazı etken maddelerin (insülin, antibiyotik, hormon, vitamin gibi) enjektabl ve oral ilaç formlarında, yağ ve mumların sulu çözeltilerine akıcılık kazandırmak için, tabletlerde ayrıştırma ve dolgu maddesi olarak da kullanılmaktadırlar. Çeşitli diyetlerde ya da şeker hastalarının diyetlerinde aroma sağlama ve kalorisiz tad maddeleri eklenerek tok tutucu yiyecek/ gıda takviyelerinin üretilmesinde de alglerden yararlanılmaktadır. Bazı koruyucu jel ve film üretiminde kullanılmaktadırlar.
- k. Alkol sanayii: Berraklaştırıcı olarak kullanılmasının yanında bazı içki ve kokteyllerin çökmesini engellemede stabilizatör olarak işlev görmektedirler.
- l. Gübre: Algler, çok miktarda mineral ve bazı iz elementleri içermeleri, nem tutabilme özellikleri ve de çiftlik gübresi kadar bol azot içeriyor olması dolayısıyla bitkilerin büyümesini kolaylaştırıcılar olarak kullanılmaktadırlar.

2.3. *Arthrospira platensis*

Arthrospira platensis, Spirulina olarak da bilinen, Cyanobacteria (Mavi-yeşil algler) filumunda yer alan, gram negatif, toksik olmayan, doğal ve ticari dünyada yaygın olarak kullanılan bir algdir (Şekil 2.1.). Çoğu prokaryotta gözlenen ve azot fiksasyonu için kullanılan heterosist hücrelerini bulundurmeyen bu alglerin silindirik hücrelerinin çapları 6-12 μm ' dir. Filament uzunlukları 200-300 μm , heliks çapı ise 30-70 μm arasında değişmektedir. Mavi-yeşil renkleri, ışığın bu dalga boyunu absorblayabilmesine bağlı olarak gözlenen karakteristik özellikleridir. Mikroskopik ipliksi yapıda olan bu algin proteinler, vitamin B12, esansiyel amino asitler, β -karoten ve γ -linolenik asit gibi esansiyel yağ asitleri içermesi ve de antioksidanlar yönünden zengin olması bakımından besin değeri oldukça yüksektir (Belay ve ark., 1993).

A. platensis fotoototrofiktir ve klorofillere, karotenoidlere ve ışık enerjisini absorblayarak fotosentezin gerçekleştiği reaksiyon merkezine ileten fikobilinlere sahiptir. Fikobilinlerden biri olan fikosiyanınlar, mavi renkli olup klorofil-*a* ile birlikte alge mavi-yeşil rengini vermektedir (Manav, 2004). Silindirik ipliksi yapıdaki hücrelerine ‘trikom’ adı verilmekte olup, hücrelerin suda asılı kalmalarını kolaylaştıran gaz vakuollerine sahiptir (Richmond, 1986). Trikomlar uzunlukları farklılık göstermekle beraber, tipik olarak spiral şeklinde kıvrılarak sol-el helikal yapısını almaktadırlar. Trikomların sahip olduğu gaz vakuolleri sayesinde su altında güneş ışığına göre günlük ve mevsimsel konumunu ayarlayabilmektedir. Ayrıca ototrofik canlılara özgü olan adaptasyonlardan karboksizomları ve tilakoit membran yapısını da bulundurmaktadırlar. Zarın yapısı yaklaşık 0,5 mikrometre olup, lifli bir ağı andırmaktadır. Elektron mikroskobu ile gözlenen hücresel yapıda içten dışa doğru hücre duvarı; ince bir fibril tabaka, üzerinde trikomların etrafını saran proteinlerden oluşan peptidoglikan katman, protein ve tüm gram negatif bakterilerin hücre duvarına benzeyen bir en dış katman bulundurmaktadır. Tek düzlemde ikiye bölünmeye uğrayan vejetatif hücrelerin çeperleri kolayca görülmektedir. Ayrıca bu siyanobakterinin hücreleri, onları yüksek tuz konsantrasyonlarından koruyacak olan özel adaptasyonlara sahip olup, yüksek tuz yoğunluklu göllerde hayatta kalma yeteneklerini artırmaktadır (Ciferri, 1983). Çok hızlı büyüeyebilen bu mikroalg, hormogonyum adı verilen yapıları sayesinde yayılma ve eşeysiz üremeyi gerçekleştirebilmektedir (Slonczewski, 2009).

A. platensis yüksek pH’ nın (8-11) yanı sıra yüksek karbonat, bikarbonat ile karakterize tropikal ve subtropikal su kütlelerinde yaşayabilmektedir (Busson,1971). Afrika gölleri başta olmak üzere, Asya ve Güney Amerika’ da yayılış göstermektedir (Vonshak, 1997). Türkiye florasına bakıldığında *Arthrospira* türlerinin bulunduğu belirtilmiştir (Aysel, 2005).

Tarihte Aztekler tarafından da kullanıldığı bilinen ve özellikle 1990’ lı yılların süper besini olarak tanımlanmış olan *A. platensis*, ticari değerinin yüksek olması sebebiyle çalışmaların odağında olup, özellikle tropikal iklim bölgesindeki insanlarca tüketilen bir besin kaynağıdır (Fujisava ve ark., 2010; Richmond, 1986). Anti-kanserojen

özelliğinden dolayı 1986 Çernobil kazasından sonra etkilenen bireylerde radyasyon tedavisinde kullanılmıştır (Mosulishvili ve ark., 2002). Son yıllarda ise tüketimine bağlı kolesterol ve kan basıncını düşürme özelliğiyle modern zamanların ilgisini çekmektedir. Japon bilim adamları *A. platensis*' den elde ettikleri sülfatlanmış polisakkarit şelatının (Ca-SP: Kalsiyum spirulinan) melanoma, karsinoma ve fibrosarkoma başta olmak üzere kanser hücrelerinde tümör doku oluşumunu ve metastazı azalttığını gözlemlemişlerdir (Mishima, 1998). *A. platensis* ile insan üzerinde yapılan çalışmalarda kan basıncını ve lipid yoğunluğunu azalttığı, ayrıca LDL seviyesini (düşük- yoğunluklu lipoprotein) azaltırken, HDL (yüksek- yoğunluklu lipoprotein) seviyesini arttırdığı için kalp damar hastalıklarının tedavisi için umut verici olduğu düşünülmektedir (Uarez-Oropeza, 2009).

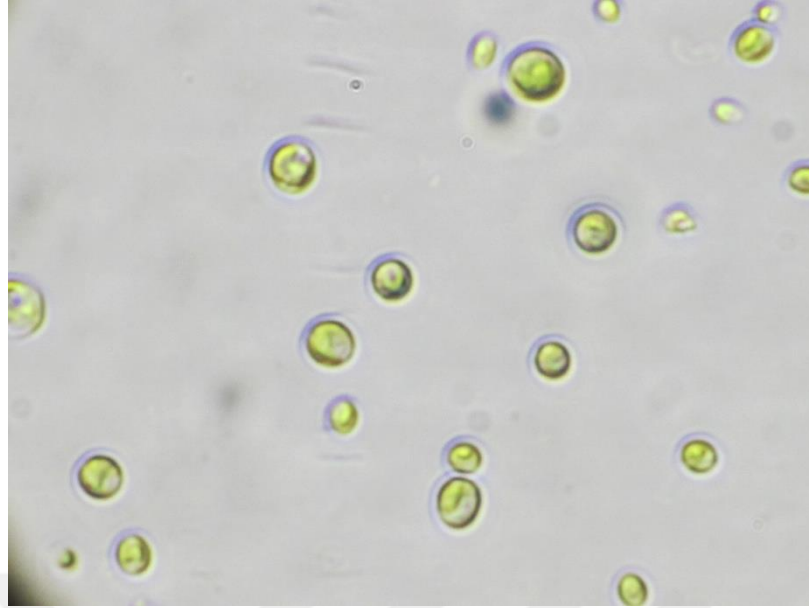


Şekil 2.1. *Arthrospira platensis*

2.4. *Chlorella vulgaris*

Mikro algler 40.000 üzerinde türü ile oldukça büyük bir biyoçeşitliliğe sahiptir (Safi ve ark., 2014). Bunların içinde en dikkat çekici olanı tatlı su birikintilerinde yaygın olarak bulunan ve ökaryot bir mikroalg olan *Chlorella vulgaris*' tir (Şekil 2.2.). *C. vulgaris* tek hücreli, tatlı sularda bulunan Chlorophyta divizyosunda sınıflandırılan bir algdir. Mikroskopik *C. vulgaris* hücreleri küresel, 5-8 µm ile 5-10 µm arası büyüklüktedir. Sahip olduğu hücre duvarının kalınlığı büyüme fazına göre değişiklik göstermekte olup, temelde algi dış ortamdan ve zararlılardan korumaktır. Özellikle olumsuz çevre koşullarında amiloz ve amilopektin yapılı nişasta molekülerini, azot stresi sırasında ise yağ globüllerini kloroplast ve sitoplazmada biriktirmektedir. Belli bir hacimde *C. vulgaris* bilinen diğer bitkilere göre daha fazla miktarda klorofil içerir. Otopspor oluşturarak eşeysiz çoğalmaktadırlar. Çoğunlukla tatlı sularda dağılım göstermekle birlikte, ağaç kabuklarında ve taşlar üzerinde yeşil örtüler oluşturmaktadırlar. Mantarlarla birleşerek likenleri meydana getirmektedirler.

Sahip oldukları zengin protein (kuru ağırlığının yaklaşık %70'i), çeşitli vitaminler (B12, B1, B2, pantotenik asit, niasin, tokoferol) ve yağların bol olması sebebiyle besin maddesi ve hayvan yemi olarak kullanılmaktadırlar. Bazı türlerinden de antibiyotik (korellin) elde edilmektedir. *C. vulgaris* hücrelerinin biyokimyasal yapısı, yüksek protein ihtiva etmesi, ürettiği pigment maddelerinin (karotenler, ksantofiller) hayvan dokularına, kümes hayvanlarının yumurtalarına sarı renk kazandırması, oksidasyon kapasitelerinin yüksek olması ve büyük oranlarda CO₂ yakalaması nedeniyle oldukça önem bir mikroalg türü olmuştur (Safi ve ark., 2014; Yalçın-Duygu, 2017). *C. vulgaris* konusunda dünya lideri olan Japonya' da bu alg türü immün sistem tedavileri ve antikanserojen özelliği nedeniyle çok çalışılmaktadır. Bilim insanları, *C. vulgaris*' i kanser tedavisinde gelecek vaad eden bir ajan olarak kabul etmektedir. Birçok çalışmada bilim insanları, neoplastik büyümenin etrafına *C. vulgaris*' in sulu çözeltisi enjekte edildiğinde farelerdeki kanserli büyümenin azaltılabildiğini, hatta durdurulabildiğini göstermiştir. Bazı vakalarda, tümör hücreleri *C. vulgaris* enjeksiyonu yapılan noktalarda tamamen yok edilmiştir. Daha sonra, oral yolla verilen *C. vulgaris*' in de antitümör etkiye sahip olduğu keşfedilmiştir. Ayrıca kalp hastalıkları, yüksek tansiyon, katarakt gibi hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Antibakteriyel özelliğe sahiptir. *C. vulgaris* alginin “alkali oluşturan besinlerin kralı” olarak bilinmesinin nedeni, vücudun ana detoksifikasyon organı olan karaciğeri güçlendirmesidir. Beta karotene ek olarak, *C. vulgaris*, ıspanaktan daha fazla demir içermektedir. *C. vulgaris*, eklem sertliğini azaltması, kan basıncını düşürmesi ve gastrit ve ülserleri hafifletmesiyle de bilinmektedir. Zengin besin içeriği nedeniyle kilo verme programlarında da etkilidir. Daha ileri bir faydası da düzenli *C. vulgaris* tüketiminde artan enerji ve sağlıktır. Alglerin 25000' den fazla türü içinde, *C. vulgaris* en çok besinsel faydayı sağlamaktadır, çünkü vücudun temizlenmesine yardımcı olan %1,7 - 7,0 doğal klorofil içermektedir. *C. vulgaris* başta azot ve fosfor bileşikleri olmak üzere ağır metallerin atılmasında, atık su arıtma için kullanılmaktadır.



Şekil 2.2. *Chlorella vulgaris*

2.5. Pestisitler

Pestisitler, milattan önce kullanılmaya başlayan, insanların çevreyi ve besin kaynakları olan bitkileri, çeşitli zararlılardan (pest-haşarat) korumak için kullandıkları maddelerdir. Pestisit, kimyasal bir madde, virüs ya da bakteri gibi biyolojik bir ajan, antimikrobik, dezenfektan ya da herhangi bir araç olabilmektedir (Kaya, 1996). Zararlılar ise, çeşitli hastalıkları taşıyan parazitler, tarım ve bitki zararlısı böcekler, yabani ot ve mantarlar, sinek, bit, pire, kene, uyuz, hamam böceği gibi uçan ve yürüyen canlılardır (Kaya, 1996; Kaya ve ark., 2002). Artan dünya nüfusunu doyurabilmek adına bitkilere zarar verebilecek her türlü hastalık ve zararlı ile mücadele için kaçınılmaz bir ürün olan kimyasal maddeler ile hem ürün kalitesi artırılmakta hem de ürün miktarında artış sağlanabilmektedir. Lakin bu pestisitlerin kontrolsüz kullanımına bağlı oluşturduğu çevre kirliliğinin etkilerinin besin zinciri yoluyla insanlara kadar ulaştığı, alerjik, karsinojenik, mutajenik ve teratojenik etkiler yaptığı gösterilmiştir (WHO, 1984; Asal, 1985; FAO/WHO, 1991).

ABD' deki bir yasada pestisitlerden "ekonomik zehirler" olarak bahsedilmektedir (Güler ve ark., 1997). Pestisitler görünüşlerine, fiziksel yapılarına, formülasyon şekillerine, etkiledikleri zararlı ve hastalık grubu ile bunların biyolojik dönemine, içerdikleri aktif madde cins ve grubuna, zehirlilik derecesine ve kullanım tekniğine

göre çok değişik şekillerde sınıflandırılabilirler. Pestisit kullanımında dikkat edilmesi gereken nokta, daha güvenli, insan ve çevre sağlığı açısından daha az zararlı ve ekonomik kullanım potansiyeline sahip formülasyonların seçimidir. Formülasyon; bir zirai ilacın aktif maddesinin bazı yardımcı maddeler ile karıştırılarak kullanılmasıdır. Bir formülasyonda bulunması gereken özellikler Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirli esaslara bağlanmıştır.

Pesititlerin bitki zararlıları için kullanılan formuna 'herbisit' denilmekte olup, bitki öldürücü anlamında kullanılmaktadır. Yabancı otlarla mücadelede bu yabancı otları öldürmede veya normal gelişimini önlemede kullanılan zirai ilaçtır. Bordo Bulamacı'nın asma mildiyösü hastalığına karşı kullanılışı sırasında, 1896 yılında bu bulamacın bağlardaki yabancı otları da öldürdüğü dikkati çekmiş ve bu tarihten itibaren kültür bitkisi içerisindeki yabancı otlara karşı kimyasal mücadele üzerinde çalışmalar başlamıştır. 1900 yılından itibaren de sülfürik asit, demirsülfat, bakır nitrat, amonyak ve bazı potasyum tuzları herbisit olarak kullanılmıştır. II. Dünya Savaşı'ndan sonra büyüme maddesi (hormon) tabiatlı herbisitler üzerindeki çalışmalar büyük gelişmeler göstermiştir.

Herbisitlerin büyük çoğunluğunun birincil hedefi fotosentezin ışık reaksiyonlarıdır. Çoğu herbisit elektron taşınımının Hill reaksiyonlarını inhibe eder, bazıları da karoten biyosentezini durdurmaktadır (Delorenzo ve ark., 2001). Dolayısıyla tarımda kullanılan herbisitler istenmeyen yabancı bitkilerde fotosentezin ışık reaksiyonlarını etkilemektedirler. Örneğin Tablo 2.1.'de görüldüğü gibi paraquat ve diquat gibi bipiridinyum herbisitler ışık varlığında, fotosistem I' den elektron akışını keserek serbest radikal oluşumuna sebep olmaktadır. Oksijen varlığında da bu serbest radikal aktif oksijene dönüşerek dokulara zarar vermektedir (Delorenzo ve ark., 2001). Bazı herbisitler fotosentezi inhibe ettikleri gibi karoteneid sentezini de inhibe etmektedirler (Sikka ve Pramer, 1968). Bazıları yağ asidi oluşumunu engelleyerek hücre bölünme ve büyümesini engellemektedirler (Couderchet ve Boger, 1993). Kolşisin gibi pesititler de tübülün oluşumuna mani olarak çekirdek bölünmesine ve kromozomal ayrılmamaya neden olmaktadır (Fedtke, 1982).

Tablo 2.1. Hedef organizma üzerinde pestisit mekanizma etkilerinin özeti

Pestisit sınıfı	İçerdikleri gruplar	Genel toksik etkisi	Özel etki bölgesi
Herbisitler	Üreaz, siklik üreaz, triazinler, asilanilidleri fenilkarbamatlar, triazinonlar	Fotosentez inhibisyonu	Elektron taşınımının Hill reaksiyonu
	Bipiridinyum	Fotosentetik inhibisyon (ışık reaksiyonu)	Fotosistem I' in indirgendiği yer
	Piridazinonlar	Biyosentez inhibisyonu	Karoten birikimi
	Kloroasetamid	Biyosentez inhibisyonu	Yağ asidi sentezi
	Dinitroanilinler, fosforik amidler, klortalimetil, propizamid, kolşisin, terbutol	Biyosentez inhibisyonu	Mikrotübül formu
Geniş-spektrumlu biyositler	Klorofenoller Tributil tinler, trialki tinler	Çoklu durdurma etkileri Solunum reaksiyonları	Fotofosforilasyon, protein sentezi, lipid biyosentezi Mitokondrial ATPaz

2.5.1. Pestisitlerin akuatik ekosistem üzerine etkileri

Mikroorganizmalar, su ekosisteminin olmazsa olmaz canlıları oldukları için doğrudan veya dolaylı olarak bu canlılara ulaşan pestisitler, bu canlılar üzerinde akut veya kronik toksisiteye sebep olmaktadır. Yapılan çoğu çalışma pestisitlerin bozunmasına yönelik olup, doğal ortamlarındaki mikroorganizmalara etkilerine dair çalışma sınırlıdır. Her ne kadar pestisitler zaman zaman mikroorganizmalar için toksik etki gösterse de, mikroorganizmalar bu pestisitleri belirli ölçüde biriktirebilmekte, metabolize edebilmekte ya da detoksifikasyona uğratabilmektedirler. Detoksifikasyon sağlayabilme yeteneğine sahip olmaları bu canlıları etkilese de asıl zararı diğer trofik düzeylerdeki canlılar görmektedirler (Delorenzo ve ark., 2001). Pestisitlerin hedef organizmada yaptığı ile mikroorganizmalar üzerinde yaptığı etki aynı olmamakla beraber, mikroorganizmalarda solunum, fotosentez, büyüme, hücre bölünmesi ve moleküler yapı gibi biyosentetik reaksiyonları etkileyebilmektedirler.

Pestisitler etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmış olup, herbisitler ana hedefi fotosentez reaksiyonları olan kimyasallardır. Herbisitler hedeflerinin dışında diğer bitkilere de etki etmekte, topraktan süzülerek yer altı sularına, çevrede bulunan göl, gölet, baraj gölleri ve akarsulara karışmaktadır. Dolayısıyla kara ekosistemlerinden tatlı su ekosistemlerine ulaşabilen bu kimyasal maddeler, besin zincirinin en önemli halkasını oluşturan algleri de olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Alglerin herbisit

duyarlılıkları hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Sucul ekosistemin dolayısıyla besin zincirinin en önemli halkasını oluşturan bu organizmaların herbisit duyarlılıkları çok önemlidir (Ma, 2001). Tek bir alg türünü etkileyen herhangi bir çevresel kirlenici farklı duyarlılıkta bir sürü farklı türü de etkileyebilmektedir (Dere ve Sıvacı, 2003).

Peterson ve ark. (1994) dört sulfonilüre grubu herbisiti dokuz farklı alg üzerinde denediklerinde karbon alımında herhangi bir değişiklik gözlemlenmezken, aynı alglere tebuthiuron gibi farklı bir herbisit ile muamele ettiklerinde oldukça toksik etkiler gözlemlenmiştir. Atrazin en çok çalışılan algisitik herbisit olup, elektron taşınımını durdurarak fotosistem II' deki Hill reaksiyonlarını bloke etmektedir (Delorenzo ve ark., 2001). Geniş spektrumlu bir biyosit olan tributil tin alglerin ve yüksek organizmaların solunum yolu fonksiyonlarını inhibe etmektedir (Bknz Tablo 2.1.).

2.6. Alglerde Oksidatif Strese Karşı Tolerans: Antioksidan Enzimler

2.6.1. Serbest radikaller

Tabiatta tüm canlılar indirgenme - yükseltgenme reaksiyonlarını kullanarak evrensel enerji molekülü olan adenosin trifosfatı elde etmeye çalışmaktadırlar. Redoks tepkimeleri olarak isimlendirilen bu reaksiyonlarda elektronların kaybedilmesine oksidasyon, alınmasına redüksiyon denmektedir (Çaylak, 2011). Redoks tepkimeleri elektron kaybederek veya alarak oluşabileceği gibi kovalent bağlarda elektron yörüngelerinin değişmesi ile de meydana gelmektedir. Hayatın vazgeçilmezi olan oksijen molekülü besinlerin parçalanarak enerjiye dönüştürülmesi sırasında reaktif moleküller yani serbest radikaller meydana getirmektedir. Son yörüngelerinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran atom ya da moleküllere “serbest radikaller” denilmektedir. Serbest radikaller, oksijen veya nitrojen kaynaklı olmalarına bağlı olarak ROS (Reaktif oksijen türleri) ve RNS (Reaktif nitrojen türleri) olarak isimlendirilmektedirler (Karabulut ve ark., 2016).

Serbest radikaller eşlenmemiş elektronlarından dolayı kararsız yapıdaki bileşikler olup, diğer maddeler ile reaksiyona girme eğilimi göstermektedirler. Diğer bir deyişle

adeta bir indirgeci ya da yükseltgeyici gibi davranmaktadırlar (Çaylak, 2011). Serbest radikaller, gerek normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak (endojen kaynaklı), gerekse zararlı kimyasalların (ekzojen kaynaklı) etkisi sonucu oluşmaktadır. Normalde hücrelerde en büyük serbest oksijen radikali kaynağı mitokondriyal elektron transport zincirinde oluşan kaçaklar, otoksidasyon reaksiyonları olup, redoks döngüleri, NADPH (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz gibi enzimler ile birçok enzimin katalitik döngüsü sırasında da serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Bitkiler fotosentez reaksiyonları sırasında kloroplastlarında, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerinde krebs olaylarında rol oynayan enzimler ile peroksidazlar gibi enzimlerin olduğu reaksiyonlarda endojen kaynaklı serbest radikaller oluşturmaktadırlar (Çaylak, 2011). Bitkilerde kuraklık, UV ışığı, endüstriyel kirleticiler, ağır metaller, yüksek tuz-ışık stresi, iyonize edici radyasyon ve ksenobiyotikler ise ekzojen kaynakları oluşturmaktadır (Çaylak, 2011; Altınışık, 2000). Bazı toksik maddeler de serbest radikal oluşturmaktadır. Bunu yaparken, toksinin kendisi bir serbest radikal olabileceği gibi, bu toksin bir serbest radikali metabolize edebilmekte, toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali meydana gelebilmekte veya toksinin kendisi antioksidan aktiviteyi azaltabilmektedir (Altınışık, 2000).

2.6.2. Oksidatif stres

Organizmalarda hücresel faaliyetler sırasında serbest radikallerin artmasıyla, bunların hücresel yapılara vereceği hasarı engellemek için gerekli olan antioksidan sistemler ya da kısaca antioksidanların yeteri kadar üretilmemesine bağlı oksidatif hasarın oluşmasına ‘oksidatif stres’ denilmektedir.

Kimyasal bileşiklerde kararlı bileşiklerin elektronları çiftlenmiş halde bulunuyorken, eğer elektron çiftlenmemiş ise molekül daha reaktif ve kararsız duruma geçerek serbest radikal oluşturmaktadır. Çeşitli nedenlerle oluşan bu serbest radikaller elektron ihtiyacını karşılayıp kararlı hale gelebilmek için adeta etrafına saldırmaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROS), normal metabolizma yan ürünleri olarak Süperoksit anyonları ($O_2^{\cdot-}$, $O\cdot$), Hidrojen peroksit (H_2O_2) ve Hidroksil radikali ($OH\cdot$) gibi mutajenleri

meydana getirmektedir. Bunlardan ilk ikisi serbest radikal iken hidrojen peroksit ise bir prooksidandır (Özcan ve ark., 2015).

Serbest radikallerin miktarı artmaya başladığında hücrelerde geri dönüşümü olmayan oksidatif stres oluşturmakta ve lipidler, karbonhidratlar, proteinler ve kalıtım materyali gibi organik bileşiklerin üzerinde yapısal bozukluklara (hücre ölümü, enzim aktivitesi, lipid peroksidasyonu ile membran permeabilitesinin bozulması gibi) neden olarak zararlı etkilere yol açabilmektedir (Özcan ve ark., 2015; Karabulut ve ark., 2016). Özellikle süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) sitoplazma, mitokondri, nükleus ve endoplazmik retikulum membranlarında lipid peroksidasyonunu (yağların yükseltgenmesine bağlı yağ yapısının bozulması), dolayısıyla membran akışkanlığını etkilemekte ve permeabilitesinin artmasını sağlamaktadır. Serbest radikallerin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna ‘nonenzimatik lipid peroksidasyonu’ denir (Altınışik, 2000). Proteinler serbest radikallere karşı yağ asitleri kadar hassas olmamakla beraber, etkilenmesini belirleyen şey amino asit kompozisyonudur. Daha çok enzim aktivitesi ve yapısal proteinlerin fonksiyonlarını etkilemektedirler (Sharma, 2014). DNA üzerinde özellikle $OH^{\cdot}$ gibi serbest radikaller mutasyona, poli-sentetaz enziminin (ADP-riboz) aktivasyonuna, bu enzim ise apoptozis ve DNA parçalanmasına varan hasarlara sebep olmaktadır (Sharma, 2014). Karbonhidratlardaki etkisi daha çok karbon atomlarından birinden hidrojen atomu çıkarıp karbon merkezli radikaller oluşturarak patolojik süreçlerde önemli rol oynamasıdır. Oksidan maddeler (serbest radikal ya da reaktif türler) ve antioksidanların fizyolojik olarak dengede olması organizmaların hastalıklardan korunması açısından önem taşımaktadır (Aliahmat ve ark., 2012, Karabulut ve ark., 2016, Ighodaro ve ark., 2017).

2.6.3. Antioksidanlar

Serbest radikallerin birikimine karşı aerobik canlılarda savunma mekanizması olarak iş gören çeşitli bileşikler (antioksidanlar) vardır (Gökpınar ve ark., 2006). Serbest oksijen oluşumuna karşı savaşılan, oluşmuş olan oksijen radikallerini tutarak oluşabilecek zararları engelleyen maddelerdir (Sivritepe, 2000). Bitkisel katyonlar fotosentezin ışık reaksiyonları sırasında serbest radikallere dönüşür. Oksijen

varlığında bu serbest radikal oksitlenmekte ve hücre dokusuna zarar vermektedir (Delorenzo ve ark., 2001). Normal şartlar altında oksijen radikallerinin konsantrasyonu, organizmalar tarafından bazı koruyucu enzimlerin aktiviteleri veya enzimatik olmayan bazı kimyasalların etkisi sonucu düşük seviyede tutulabilmektedir (Asada, 1994). Dirençli alg türlerinde, stres şartları detoksifikasyondan sorumlu antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırarak ve osmotik birikimi sağlayarak koruyucu sistemleri uyarmaktadır. Bundan dolayı antioksidan seviyesinin ayarlanması kötü şartlara karşı koyan önemli adaptif bir cevaptır. Bunun yanında hücredeki yüksek antioksidan kapasitesinin yönetimi farklı çeşitte stres faktörlerine karşı artan toleransla ilişkilidir. Böylece çevredeki kirliliklere alglerin tolerans oluşturmada oksidatif hasarı önleyen savunma mekanizmaları oldukça önemlidir (Dat ve ark., 1998).

Antioksidanlar, endojen kaynaklı (enzim ve enzim olmayan antioksidanlar) veya eksojen kaynaklı (vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları) olabilmektedirler. Polifenoller, askorbik asit, bilirubin, A vitamini, alfa-lipoik asit, thioredoxin, glutatyon, melatonin, koenzim Q, beta karotenoidler, alfa- tokoferollerin yanında süperoksit dismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPX), glutatyon-S- transferaz ve glutatyon redüktaz (GR) hücrelerde bulunan en önemli antioksidan enzimlerdendir (Hilmi, 1994; Aliahmat ve ark., 2012; Ighodaro ve ark., 2017).

Antioksidanlar serbest radikallerle mücadele ederek onların oluşturacağı DNA, protein ve lipid hasarlarına karşı farklı şekilde savunma sağlamaktadırlar. Antioksidanların serbest radikaller ile baş etme yolları şu şekildedir:

- 1) Süpürme/ toplama etkisi: Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirmektir.
- 2) Söndürme/ bastırıcı etkisi: Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürmektir. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.
- 3) Zincir kırıcı etkisi: Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engellemektir.

- 4) Onarıcı etkisi: Serbest radikallerin oluşturdıkları hasarın onarılması şeklindedir (Altınışik, 2000).

2.6.3.1. Antioksidan savunmanın ilk hattı

Toplayıcı antioksidanlar olup, hücrelerdeki serbest radikal ya da reaktif tür formunun oluşumu ya da baskılanmasını sağlarlar. Çok hızlı nötralizasyon sağlarlar. SOD, KAT ve GR antioksidan savunmanın ilk hattındaki kilit enzimlerin başında gelmektedir. SOD, KAT ve GR antioksidan savunmanın ilk hattını oluşturmaktadır (Ighodaro ve ark., 2017).

2.6.3.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

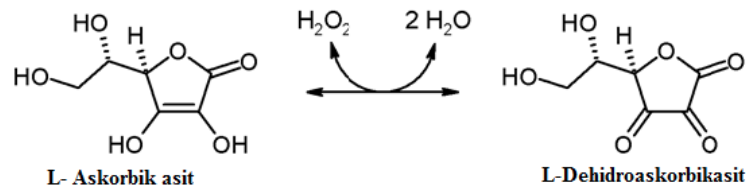
Süperoksit dismutaz (SOD: EC 1.15.1.1) ilk detoksifikasyon enzimi olup, hücrelerdeki en güçlü antioksidandır. Süperoksit radikallerinden hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijen (O_2) oluşturan reaksiyonu katalizleyerek (Valentine ve ark., 1998), süperoksit anyonunu daha az zararlı hale getirmektedir (Ighodaro ve ark., 2017). SOD bir metalloenzim olup, kofaktör olarak Fe, Zn, Cu ve Mn' e ihtiyaç duymaktadır. Ökaryotik fotosentetik organizmalarda SOD' un 3 izoformu vardır: CuZnSOD yüksek bitkilerin, belirli dinoflagellatların ve Charophyceae sınıfı yeşil alglerin tilakoid zarlarında ve sitozolde, kloroplast ve peroksizomlarında bulunmaktadır. MnSOD prokaryotlarda ve ökaryotların mitokondrisinde, FeSOD kloroplastın stromasında ve prokaryotlarda bulunmaktadır. FeSOD kloroplasttaki, MnSOD mitokondrideki en önemli süperoksit anyonu temizleyicisi olarak kabul edilmektedir (Asada, 1999). Prokaryotik organizmalar olan mavi yeşil alglerde SOD' un 4 izoformu vardır. NiSOD az gelişmiş türlerde bulunurken, FeSOD ve MnSOD daha ileri formlarda bulunmaktadır. NiSOD ya algde tek başına ya NiSOD ve FeSOD ikisi bir arada ya da FeSOD ve MnSOD ikisi bir arada olacak şekilde bulunmaktadır. Mavi yeşil alglerde CuZnSOD ise nadir olarak bulunmaktadır (Priya ve ark., 2007). SOD lipid peroksidasyonunun önlenmesinde görev yapmaktadır (Altınışik, 2000). Savunmanın ilk hattı oluşturan bu enzim sınıfı ayrıca transferrin ve seruloplasmin gibi metal bağlayan proteinler ile serbest radikal oluşumunu önlemektedir (Ighodaro ve ark.,

2017). Araştırmalar, bitkilerde çeşitli stres koşullarında SOD enziminin ekspresyonunun arttığını dolayısıyla stresle başa çıkmada önemli rol oynadığını göstermektedir (Büyük ve ark., 2012). SOD enziminin kataliz reaksiyonu şöyledir (Denklem 2.1):



2.6.3.1.2. Askorbat peroksidaz (APOD)

Askorbat peroksidaz (APOD: EC: 1.11.1.11), yüksek bitkiler, algler, kamçılılar gibi birçok organizmada ROS' a karşı gerçekleştirilen savunmada önemli role sahip olduğu düşünülen enzimatik antioksidanlardan olup, askorbatı elektron donörü olarak kullanmakta ve hidrojen peroksitin suya indirgenmesini katalizlemektedir. Görev bakımından katalaza (KAT) çok benzeyen bu enzimin, tAPOD, gmAPOD, sAPOD, cAPOD gibi en az beş farklı izoformu olup, APOD ailesi H_2O_2 ' ye karşı KAT' a kıyasla daha yüksek bir affiniteye sahiptir. *Ceratophyllum demersum* L. (tilki kuyruğu), *Brassica juncea* L. Czern. (hardal), *Triticum aestivum* L. (buğday), *Vigna mungo* L. (siyah mercimek) ve *Phaseolus vulgaris* L. (fasulye) gibi bitkiler üzerinde yapılan çalışmalar stres koşullarına bağlı APOD enzim etkinliğinin ve gen ifadesinin arttığını dolayısıyla stresle başa çıkmada önemli olduğunu göstermektedir (Büyük ve ark., 2012). Özellikle H_2O_2 ' nin sekonder mesajcı gibi çalıştığı, APOD gibi antioksidan enzimlerinin gen ekspresyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Shigeoka ve ark., 2002). APOD ile KAT' ın diğer bir farklılığı da, APOD aktivitesine paralel olarak 'Askorbat- peroksidaz reaksiyonu' denilen yolu kullanarak dokularda H_2O_2 oluşumunu engellemektedir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. APOD enziminin kataliz reaksiyonu

2.6.3.1.3. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon redüktaz GSR ve GR (EC 1.8.1.7) olarak bilinen, bakterilerde, mayalarda, alglerde, bitkilerde, hayvan ve insanlarda oldukça korunmuş olarak bulunan bir enzimdir. Prokaryotik ve ökaryotik tüm hücrelerde bulunan glutasyon, tripeptid (γ -glutamil-sisteinil-glisin) yapısında olan önemli bir tiyoldür ve yapısında bulunan –SH grupları ile okside moleküllerin zararlı etkilerine karşı hücreyi korumaktadır (Temel ve ark., 2017). Organizma çeşitli nedenlerle strese maruz kaldığında glutasyon peroksidaz (GPX) enzimi vasıtasıyla H_2O_2 ' lerin indirgeyerek GSSG (indirgenmiş glutasyon disülfidi-okside glutasyon) oluşturulmaktadır. GPX (glutasyon: H_2O_2 oksidoredüktaz) H_2O_2 ' lerin indirgenmesinden sorumlu olan bir enzimdir (Altınışik, 2001). Canlıyı oksidatif stres koşullarından korumak için GR, GSSG' yi GSH (glutasyonun sülfidril formu- indirgenmiş glutasyon)' ye indirgemektedir. GR enziminin katalizlediği reaksiyonun bilinen en önemli hedeflerinden biri hücre ortamındaki indirgenmiş glutasyon/yükseltgenmiş glutasyon (GSH/ GSSG) oranını korumaktır. Bir oksidoredüktaz olan bu enzim prostetik grup olarak FAD' ı kullanmakta ve NADPH' yi indirgeyerek hücre savunmasında çok önemli rol üstlenmektedir (Contour- Ansel, 2006; Anjum, 2010). GR enziminin kataliz reaksiyonu şöyledir (Denklem 2.2.):



Antioksidan enzimler reaktif oksijen türlerini zararsız hale getirerek bunların hücre membranındaki lipitleri etkileyerek lipid peroksidasyonuna neden olmasını engellemektedir. Bununla birlikte enzimlerce ya da diğer antioksidan moleküllerce etkisiz hale getirilemeyen oksidanlar hücre membranındaki lipitleri etkileyerek lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır. Lipid peroksidasyonu membranlarda bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri tarafından çeşitli ürünlere yıkılması reaksiyonudur ve sonuçta ortaya çıkan sekonder ürünler, biyo-aktif aldehytler, hücre hasarına neden olmaktadır (Benzer ve Ozan, 2003). Malondialdehit (MDA) toksik ve aldehit metaboliti olup, lipid peroksidasyonunda son üründür ve oksidatif hasarın düzeyini göstermede kullanılmaktadır (Urso ve Clarkson, 2003).

Aynı zamanda artan MDA konsantrasyonu mikroorganizmadaki serbest radikal üretim kapasitesinin arttığını belirtmektedir (Choudhary ve ark., 2007).

2.6.3.2. Antioksidan savunmanın ikinci hattı:

Süpürücü antioksidanlardır. Hidrofilik bileşikler olan askorbik asit, glutatyon ile lipofilik bileşikler olan alfa- tokoferol (vitamin E), karotenoidler ve ubiquinoldur. Bunlar elektron vererek serbest radikalleri nötralize eder veya toplar, bu sayede daha az zararlı ya da diğer antioksidanlarca zararsız hale getirilecek yeni serbest radikaller oluşumunu veya kırık zincir reaksiyonlarının oluşumunu engellemektedirler (Ighodaro ve ark., 2017).

Bitkilerin stres koşullarında lipid peroksidasyonuna karşı ürettiği diğer bir savunma proteini de prolindir. Abiyotik faktörlerin yarattığı strese bağlı oksidatif stres etkilerine karşı network oluşturulmasında, osmoregülasyon gibi adaptif cevapların oluşturulmasında ve ROS' ların yakalanmasında çok önemli olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (Kaul ve ark., 2008).

2.6.3.3. Antioksidan savunmanın üçüncü hattı

Bu hattaki antioksidanların temel özelliği serbest radikal hasarı oluşuktan sonra biyomolekülleri tamir ve zarar görmüş hücre membranını yeniden inşa etmektir. Dolayısıyla bu savunma hattında çalışanlar hasarlı DNA, protein ve lipitleri tamir eden enzimlerdir. Ayrıca birer temizlik işçisi gibi çalışarak okside olmuş ya da zarar görmüş proteinleri, DNA ve lipitleri tanır, parçalar ve uzaklaştırır ki dokularda toksik etki oluşturmalarının önüne geçmektedirler. Tipik örnekleri DNA tamir enzimleridir (polimerazlar, glikozilazlar, nükleazlar) (Ighodaro ve ark., 2017).

2.6.3.4. Antioksidan savunmanın dördüncü hattı

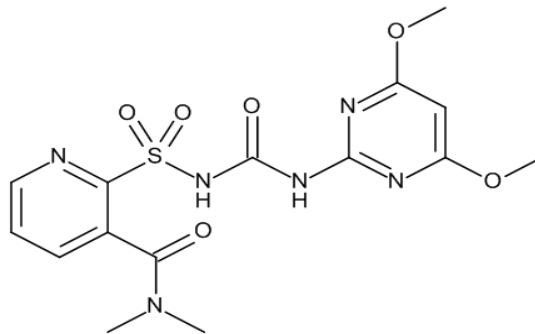
Daha çok serbest radikal oluşumunun ve serbest radikallerin oluşturacağı reaksiyonların sinyallerini almaya yönelik adaptasyondur. Bu sinyal sayesinde antioksidan üretilmekte ve uygun yere taşınmaktadır (Niki, 1993).

Özetle antioksidanların düzenlenmesi ve indüklenmesi farklı stres faktörlerine verilen cevabı gerçekleştirmektedir. Birçok durumda antioksidan enzimlerinin hemen indüklenmesi ROS seviyesini sabit değerlerde tutarak kontrol etmede kritik öneme sahiptir. Böylece oksidatif hasarın önlenmesi sağlanmaktadır.

2.7. Çalışmada Kullanılan Herbisitler

2.7.1. Cambio

Ülkemizde mısır tarlalarında yaygın olarak kullanılan Cambio'nun 'Nikosülfuron' adı verilen aktif maddesi sulfonilüre grubu kimyasal ailesine aittir. Mısır tarlalarında sorun olan yıllık ve çok yıllık çimensi otlarla, bazı geniş yapraklı yabancı otlara karşı, çıkış sonrası kullanılan selektif bir herbisittir. Cambio'nun kimyasal adı 2-[(4,6-dimetoksipirimidin-2-yl) amino-karbonil] aminosülfonil]-N,N-dimethyl-3-piridinkarboksiamid monohidrat ve deneysel formülü $C_{15}H_{18}N_6O_6S \cdot H_2O$ şeklindedir (Pubchem, 2019). Moleküler ağırlığı ise 428,4 (monohidrat)' dır (Şekil 2.4.).



Şekil 2.4. Cambio' nun kimyasal yapısı

Genellikle topraktan kökler ile ve/veya bitkinin toprak üstü aksamaları ile bitki bünyesine alınabilen ve bitki içerisinde taşınabilen sistemik etkili herbisittir. Bu herbisit, bitkinin ALS (asetolaktat) enzimini inhibe ederek, lösin, izolösin ve valin amino asitlerinin sentezini engellemektedir. Esansiyel amino asitler olan bu yapıtaşlarının bloke edilmiş olması diğer bitki bileşenlerinin de üretimini durdurmaktadır (Simpson ve ark., 1995; Leboulanger, 2001; Seguin ve ark., 2001; Ma ve ark., 2002). Bu sayede hedef alınan yabancı otlarda gelişmenin durmasına ve bitkinin ölümüne neden olmaktadır (Anonim, 2003; Serim ve ark., 2017). Böylece bitkide hücre bölünmesini durdurma ve bitki uzamasını engellemek gibi etkileri görülmektedir (PMRA-ARLA, 1996). Uygulamadan hemen sonra otlarda gelişim durmakta ve yapraklar kırmızı-mor renge dönüşmektedir. 15–20 gün içinde otlar sararıp kurumakta, rizomları etkilenmekte ve yeni sürgün vermeleri önlenmektedir. Mısır bitkisi nikosülfurona karşı fitotoksik olmayan metabolitler üreterek tolerans gösterebilmektedir. Mısır tohumlarının bu tolerans yetenekleri, mısır strese girdiğinde nikosülfuronu metabolize etme yeteneklerini azaltıp, fitotoksik etkiyi artırmalarından kaynaklanmaktadır (PMRA-ARLA, 1996). Nikosülfuronun çevresel etkisinin değerlendirilmesi zordur çünkü bu bileşiğin çevresel olarak yüksek konsantrasyonlarda toksik olduğuna dair güçlü bir kanıt yoktur (Seguin ve ark., 2001).

ALS enzimi hayvan ve insanda bulunmamaktadır. Dolayısıyla kuşlar, balıklar, sucul omurgasızlar vb. hayvanlar için toksik etki göstermez. Akut, uzun ve kısa dönem nikosülfurona maruz kalan ratlar, fare ve köpeklerde oldukça az toksik etki gözlenmiştir. Ayrıca onkojen/ karsinojen etkisine dair bir kanıt bulunmamaktadır (PMRA-ARLA, 1996). Aynı şekilde rat ve tavşanlarda hamilelik döneminde nikosülfuron kaynaklı teratojenik etkiye rastlanmamıştır. Mutajeniti testleri nikosülfuronun genotoksik potansiyeline dair bir kanıt olmadığı yönündedir. Hayvan tetslerinde nörotoksik etkiye de rastlanmamıştır (EPA, 2004).

Sucul ekosistemde diyatomları olumsuz etkilediğine yönelik çalışmalar mevcuttur. Bunun sebebinin alglerin ALS' nin allozimlerine sahip olmaları ya da diyatomların frustul matriksinin sentezi için bu amino asitlere ihtiyaç duyması olabileceği düşünülmektedir (Seguin ve ark., 2001). Su mercimeği olarak bilinen *Lemna gibba*

ile yapılan çalışmalarda yoğunluk, büyüme oranı ve biyokütleyi azalttığı gözlenmiştir (PMRA-ARLA, 1996). Ayrıca su mercimeği için oldukça toksik olan nikosülfuron, su kuşlarının besin kaynaklarını etkileyebilmektedir (PMRA-ARLA, 1996; Leboulanger, 2001; Seguin ve ark., 2001).

Sulak alanlarla beraber, yaban hayatı ve karasal habitatlarda bu herbisitten etkilenebilmektedir. Kanada’ da nikosülfuron kullanma oranları ve bitki büyüme koşullarına bakıldığında, özellikle mısır tarlalarında yapılan çalışmalarda en kötü senaryolarda bile bitki metabolitlerinde nikosülfuron ve onun metabolitlerinin düşük oranlarda olması beklenmektedir (PMRA-ARLA, 1996).

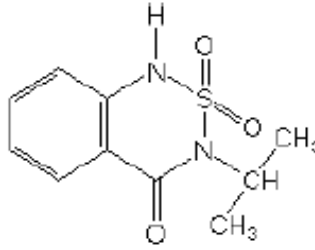
Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği’ nin değerlendirmesine göre nikosülfuron suda çözünürlüğü yüksek (7500 mg L^{-1}) ve toprakta taşınması yönünden hareketli herbisitler sınıfına girmektedir (PMRA-ARLA, 1996; Anonim, 2014). Toprağa bağlanmada yapısal olarak pek başarılı olmasa da su ile temas ettiğinde kolaylıkla bağlarını kaybeder ve de yağışların etkisiyle süzünme ve taşınma yoluyla yüzey sularına karışma potansiyeli yüksek bir herbisittir. Nemli topraktan ve su yüzeyinden buharlaşmaz.

Toprağa temas eden ve toprak yüzeyinde kalan herbisit moleküllerinin bir kısmı ışığın etkisi ile parçalanırken, toprak yüzeyinin altına inen moleküller ise kimyasal parçalanma ve mikrobiyal parçalanmaya maruz kalırlar (Serim ve ark., 2017). Ancak anaerobik toprak koşullarında taşınımı biraz artmaktadır. Nikosülfuronun oktonal/ su ayrılım katsayısı düşük olduğu için biyobirikimi beklenmemektedir. Sadece asidik ortamlarda hidrolize edilebilmektedir. Amerika ve Kanada’ da yapılan çalışmalar, yeraltı suyunun nikosülfuron kalıntıları tarafından potansiyel olarak kirlenmesine ilişkin endişeleri hafifletmiştir (PMRA-ARLA, 1996). Çevresel toksikoloji çalışmaları bilimsel olarak aksini öne sürene kadar tarımda kullanılabilecek bir herbisittir (PMRA-ARLA, 1996; EPA, 2004).

Ülkemizde nikosülfuron kullanımı her geçen gün artmaktadır. Herbisit üretimi için ithal edilen nikosülfuron miktarı 2001’ de 26,1 ton iken 2012’ de 226,6 ton yükselmiştir (Serim ve ark., 2017).

2.7.2. Bentagram

Soya fasülyesi, yonca, biber, kuşkonmaz, sorgum, çim, pirinç, mısır, fıstık, nane, kuru fasülye ve etli lima fasulyesinin içindeki birçok geniş yapraklı yabancı ot ve sazlığı kontrol etmek için kullanılan, selektif olmayan ve son zamanlarda ortaya çıkan geniş spektrumlu bir herbisittir (Galhano ve ark., 2011). Benzotiadiazol kimyasal ailesine üye olan bu herbisitin, etken maddesi ‘Bentazon’ ve kimyasal adı 3-(1-metiletil)-1H-2,1,3-benzotiadiazin-4(3H)-bir-2,2-dioksit’ dir. Deneysel formül $C_{10}H_{12}N_2O_3S$ ve moleküler ağırlığı ise 240,3’ tür (Pubchem, 2019). Ayrıca çok sayıda sinonime sahip olup, isimleri Basagran, Bentazon, Bentazone, Bentazone sodyum’ dur (Şekil 2.5.).



Şekil 2.5. Bentagram’ ın kimyasal yapısı

Bentazonda oktonal/ su ayrılım katsayısı düşük olup, orta derecede kalıcılık gösteren, oldukça hareketli, toprak yarılanma ömrünün 12-20 gün olduğu tahmin edilen ve toprak ve suda fotodegradasyonu olan bir herbisittir (WHO, 2011). Araştırmalar (Richmond, 1986; Aysel, 2005), sudaki çözünürlüğü çok yüksek olan bentazonun genellikle toprak tarafından kolayca adsorbe edilmediğini ve bu nedenle bitişik tatlı su ekosistemlerine girerek sonunda nehir suyu ve deniz sularına doğru yol aldığını göstermişlerdir. Bu nedenle Portekiz ve diğer Avrupa ülkelerinde yer altı ve yüzey sularında kirletici olarak dikkat çekmektedir (Galhano ve ark., 2011). Buna rağmen Kuzey Afrika, Yeni Zelanda, Hindistan, Filipinler, Kuzey Amerika, Avustralya ve Avrupa olmak üzere dünyanın çoğu bölgesinde kullanılmaktadır (Galhano ve ark., 2011). Yer altı sularında rastlanmasına ve su bileşenlerine karşı yüksek afinite

göstermesine rağmen, doğada birikmez, gıdadan dolayı maruz kalma riski düşüktür. Solomon (1997)' un yaptığı pestisit risk indeks değerlendirmesinde bentazonu az zararlı pestisit olarak sınıflamıştır (Macedo ve ark., 2008).

Bentazon, hedef olarak bitkilerde fotosistem II (FS II)' de elektron transferini seçerek, bloke etmektedir. Böylece fotosentez ve CO₂ fiksasyonu inhibitörü ve lipid peroksidasyon uyarıcısı gibi çalışmaktadır (Macedo ve ark., 2008; Kortekamp, 2011). Ayrıca bentazon, quinon B ile yarışarak, onun plastokinona bağlanma bölgesinde, FS II boyunca H₂O' dan NADP' ye doğru elektron akışını azaltmaktadır (Mine ve Matsunaka, 1975; Nimbal ve ark., 1996; Macedo ve ark., 2008; Munkegaard ve ark., 2008). FS II' deki bu elektron akışı sağlanamadığı zaman da süper oksit radikalleri gibi hücreleri oksidatif strese sokacak moleküller oluşmaktadır (Macedo ve ark., 2008; Kortekamp, 2011). Bentazonun ikincil bir etkisi ise ribonükleik asit, protein ve lipid sentezini durdurmasıdır (Al-Mendoufi ve Ashton, 1984; Han ve Wang, 2002; Macedo ve ark., 2008). Bunun dışında bentazon hücre zarlarına da bağlanmakta, böylece katyonların taşınmasını engellemekte ve hücre gelişiminde değişikliklere neden olmaktadır (Galhano, 2009).

Bentazonun tarımda kullanılmasına bağlı yüksek bitkilere fizyolojik etkisi ile ilgili çalışmalar bulunmakla beraber, onun fizyolojik etkisinin doğada alg türleri üzerine etkisine dair çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda daha çok laboratuvar koşullarında ekotoksikite değerlendirme çalışmaları şeklindedir (Macedo ve ark., 2008). Tavşanlarda, ratlarda, farelerde, köpeklerde ve insanda toksik ve kanserojen etkilerine dair bulgular mevcuttur (EPA, 1998; JMPR, 2012).

Bentazone atrazine ile beraber pirinç yetiştiriciliğinde kullanılmaktadır. Portekiz gibi ülkelerde pirinç yetiştiriciliğinin yanında siyanobakterileride içine alan mikrobiyal popülasyonun azaltılması gibi dolaylı hedefler için de kullanılan bir herbisittir (Galhano et al., 2009). Siyanobakteriler pirinç tarlalarında toprak verimliliği için önemli mikroorganizmalar olup, bu tip herbisitlerden çok etkilenmektedirler. Bunun sebebi ise bentazonun suda iyi çözünmesine bağlı oluşturduğu kontaminasyona yol açan bir ksenobiyotik olmasına bağlanmaktadır (Galhano ve ark., 2011). Bu nedenle,

bu tip bentazon ve siyanokterî araştırmaları sayesinde, etkili bir bütünleştirilmiş pirinç haşere yönetiminin daha başarılı bir şekilde uygulanması ve gelecekte pirinç biyofertilizasyon programlarında siyanobakterilerin umut verici bir şekilde kullanılmasına katkıda bulunabileceğine inanılmaktadır (Galhano ve ark., 2009).

2.8. Çalışmanın Amacı

Bu veriler doğrultusunda çalışmamızın amacı, Cambio ve Bentagram gibi yaygın olarak kullanılan iki herbisitî ökaryotik bir alg olan *Chlorella vulgaris* ile prokaryotik alg olan *Arthrospira platensis* üzerinde gerçekleştirebileceği değişiklikleri farklı parametreler kullanarak incelemektir. Bu amaçla adı geçen algler bu iki herbisite maruz bırakılarak biyokütle, klorofil-*a* miktarlarındaki değişimler ile, enzimatik [süperoksitdismutaz (SOD), askorbat peroksidaz (APOD), glutatyon redüktaz (GR)] ve enzimatik olmayan [malondialdehit (MDA), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve prolin miktarları] parametrelerinde görülen değişim incelenmiştir.

Sucul ekosistemlerde adeta çevre kirliliği göstergeleri olarak kullanılan küçük organizmalar kirlilik ve buna karşı verilen cevaplar hakkında bizlere önemli bilgiler sunmaktadırlar. Bu anlamda bu çalışma ile ilk defa Cambio ve Bentagram herbisitlerinin *C. vulgaris* ve *A. platensis* alglerinin gelişimi ve antioksidan parametrelerinde meydana getirdikleri değişimler incelenmiştir. Yapılan çalışmanın sucul ekosistemde pestisit stresinin olası etkilerinin belirlenmesi için yapılan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca pestisitlere karşı dirençli alg türlerinin saptanarak, bu alglerin biyoremediasyon çalışmalarında kullanılabilirliğine yönelik bilgi sağlayacaktır.

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışma Materyali

Çalışmada kullanılan *Arthrospira platensis* M2 (SLSO01) suşu Soley Mikroalg Enstitüsü'nden (California, USA) ve *Chlorella vulgaris* suşu Çukurova Üniversitesi'nden temin edilmiş, Sakarya Üniversitesi Biyoloji Bölümü Bitki Fizyolojisi ve Alg Ekolojisi laboratuvarında aksenik şartlarda yetiştirilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Kültürde çoğaltılmış *Chlorella vulgaris*



Şekil 3.2. Kültürde çoğaltılmış *Arthrospira platensis*

3.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışma sürecinde kullanılan cihazlar Tablo 3.1.' de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Kullanılan cihazlar

Cihaz	İşlev	Marka
Spektrofotometre	Absorbans ölçümü	Schimadzu UV mini 1240
İklim kabini	Alg kültürü ortamı	UV
Isıtıcı manyetik karıştırıcı	Solüsyon hazırlanması	Dev/Pet
Soğutuculu mikrosantrifüj	Süpernatant ve pelet eldesi	Dragon med M 10068
Soğutuculu santrifüj	Pelet eldesi	Centurion scientific K3
Buzdolabı	Numunelerin ve çözeltilerin saklanması	Nüve
Mikropipet takımı	Enzim analizleri	Beko
Mikropipet takımı	Enzim analizleri	Eppendorf (10-100 µL)
Mikropipet takımı	Solüsyon hazırlanması ve enzim analizleri	Eppendorf (100-1000 µL)
Hassas terazi	Tartım	Isolab (1 mL)
pH metre	pH ölçümleri	Schimadzu SLB 320
Otoklav	Sterilizasyon	Metler Toledo
Etüv	Kurutma ve sterilizasyon	Alp
		Nüve

3.3. Yöntem

3.3.1. Hücre kültürünün hazırlanması

3.3.1.1. *Chlorella vulgaris* kültürü ve yetiştirilme koşulları

Bu suş, BG11 ortamında (Rippka ve ark.,1979) aksenik şartlarda yetiştirilmiştir (Tablo 3.2., Tablo 3.3. ve Tablo 3.4.). 250 mL' lik erlenlerde steril olarak hazırlanmış 180 mL'lik kültür besiyerine 20 mL alg kültürü inokule edilmiş ve iklimlendirme kabininde 25°C sıcaklıkta, full spektrum lambaların kullanıldığı 5000 lüks ışık şiddetinde (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) olacak şekilde günde 3 defa çalkalanmak şartı ile 10 gün beklemeye bırakılmıştır. Bu süre sonunda 1 µg mL⁻¹ olacak şekilde kültürler tazelenmiştir.

Tablo 3.2. BG11 ortamı içeriği (Rippka ve ark., 1979)

Bileşik	Miktar
NaNO ₃	1,5 g L ⁻¹
NaHCO ₃	1 g L ⁻¹
K ₂ HPO ₄ (1M)	0,2 mL L ⁻¹
BG11 konsantre stok solüsyon	10 mL L ⁻¹

Tablo 3.3. BG11 konsantre stok solüsyonu içeriği

Bileşik	Miktar
MgSO ₄ .7H ₂ O	7,5 g L ⁻¹
Sitrik asit	0,6 g L ⁻¹
EDTA-Na ₂	0,1 g L ⁻¹
A5 stok solüsyonu	100 mL L ⁻¹
CaCl ₂ .2 H ₂ O	3,6 g L ⁻¹
(NH ₄) ₅ [Fe(C ₆ H ₄ O ₇) ₂]	0,6 g L ⁻¹
Na ₂ CO ₃	2 g L ⁻¹

Tablo 3.4. A5 stok solüsyonu içeriği

Bileşik	Miktar
H ₃ BO ₃	2,86 g L ⁻¹
MnCl ₂ .4 H ₂ O	1,81 g L ⁻¹
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,31 g L ⁻¹
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,22 mL L ⁻¹
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,05 g L ⁻¹
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,08 g L ⁻¹

3.3.1.2. *Arthrospira platensis* kültürü ve yetiştirilme koşulları

A. platensis M2 (SLYSP01) suşu Spirulina Medium (Aiba ve Ogawa, 1977) ortamında aksenik koşullarda yetiştirilmiştir (Tablo 3.5. ve Tablo 3.6.). 250 mL' lik erlenlerde steril olarak hazırlanmış 180 mL kültür besiyerine 20 mL alg kültürü inoküle edilmiş ve full spektrum lambaların aydınlattığı iklimlendirme kabininde 5000 lux ışık şiddeti ve 30°C sıcaklıkta (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) 10 gün beklemeye bırakılmıştır. Bu süre sonunda 1 µg mL⁻¹ olacak şekilde kültürler tazelenmiştir.

Tablo 3.5. Spirulina Medium İçeriği (Aiba ve Ogawa, 1977)

Solüsyon (SL)	Hacim (mL)	Bileşik	SL Konsantrasyon
SL-A	500 mL	NaHCO ₃	13,61 g 500 mL ⁻¹
		NaCO ₃	4,03 g 500 mL ⁻¹
		K ₂ HPO ₄	0,50 g 500 mL ⁻¹
		NaNO ₃	2,50 g 500 mL ⁻¹
SL-B	500 mL	K ₂ SO ₄	1,00 g 500 mL ⁻¹
		NaCl	1,00 g 500 mL ⁻¹
		MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20 g 500 mL ⁻¹
		FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g 500 mL ⁻¹
		EDTA	0,08 g 500 mL ⁻¹
		Mikrobesin tuzu	5,0 mL 500 mL ⁻¹

Tablo 3.6. Mikrobesin tuzlarının içeriği

Solüsyon (SL)	Bileşik	Miktar
SL-1	Distile su	881 mL
	ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 mL
	MNSO ₄ .4H ₂ O	2 mL
	H ₃ BO ₃	5 mL
	CO(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	5 mL
	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	5 mL
	CuSo ₄ .5H ₂ O	1 mL
	EDTA	0,4 g
SL-2	FE SO ₄ 7H ₂ O	0,7 g
	EDTA	0,4 g
	Distile su	100 mL

3.3.2. Uygulanan herbisit çözeltileri

Agrofarm firmasından herbisitler tedarik edilmiştir (Agrofarm, 2019). Hazırlanan kültür ortamına eklenecek herbisitler olan Cambio ve Bentagram için ayrı ayrı stok solüsyonları hazırlanmıştır. Farklı herbisit konsantrasyonları ayrı ayrı erlenlerde bulunan klorofil- *a* değeri 1 µg mL⁻¹ olan taze *C. vulgaris* kültürlerine eklenmiştir. Bu kültürler Bentagram için kullanılacak konsantrasyonlar 60, 120, 240, 480 ve 960 µg mL⁻¹, Cambio için kullanılacak konsantrasyonlar 100, 200, 300, 400 ve 500 µg mL⁻¹ olacak şekilde paylaştırılmıştır. Ölçümler kontrol dâhil üç tekrarlı yapılmıştır. Aynı şekilde farklı herbisit konsantrasyonları ayrı ayrı erlenlerde bulunan klorofil- *a* değeri 1 µg mL⁻¹ olan taze *A. platensis* kültürlerine eklenmiştir. Bu kültürler Cambio için kullanılacak konsantrasyonlar 10, 20, 30, 40 ve 50 µg mL⁻¹, Bentagram için kullanılacak konsantrasyonlar 100, 200, 400, 600 ve 800 µg mL⁻¹ olacak şekilde paylaştırılmıştır. Ölçümler kontrol dâhil üç tekrarlı yapılmıştır.

Çalışmada bire on seyreltilen ticari preperatlardan belirli derişimlerde kullanılmıştır. Bu derişimler kullanılan kimyasalın en etkili olduğu konsantrasyonun yarısı (EC50) değerinin altında belirlenmiş ve Tablo 3.7.'de verilmiştir.

Tablo 3.7. *C. vulgaris* ve *A. platensis* 'e uygulanan Cambio ve Bentagram konsantrasyonları

<i>C. vulgaris</i>		<i>A. platensis</i>	
Cambio	Bentagram	Cambio	Bentagram
100 µg mL ⁻¹	60 µg mL ⁻¹	10 µg mL ⁻¹	100 µg mL ⁻¹
200 µg mL ⁻¹	120 µg mL ⁻¹	20 µg mL ⁻¹	200 µg mL ⁻¹
300 µg mL ⁻¹	240 µg mL ⁻¹	30 µg mL ⁻¹	400 µg mL ⁻¹
400 µg mL ⁻¹	480 µg mL ⁻¹	40 µg mL ⁻¹	600 µg mL ⁻¹
500 µg mL ⁻¹	960 µg mL ⁻¹	50 µg mL ⁻¹	800 µg mL ⁻¹

3.3.3. Deney ortamı ve düzeneği

Herbisit çözeltileri ilave edilmeden önce aktifleştirme için 200 mL *A. platensis* ve *C. vulgaris* kültürü on gün süre boyunca iklimlendirme dolabında daha önce belirtilen koşullarda geliştirilmiştir. Bu sürenin sonunda 50 mL kültür hazırlamak için klorofil-*a* miktarı 1 µg mL⁻¹ olacak şekilde yenilenmiştir.

Belirtilen derişimlerde herbisit çözeltileri hazırlanmış ve aktifleşmiş kültürlerle uygulanmıştır. *A. platensis* için büyüme ortamının pH'sı 9 olarak ayarlanmıştır. Deneyler üç tekrarlı yapılmıştır. Bu süre zarfında *A. platensis* ve *C. vulgaris*' in fotosentetik pigment (klorofil-*a*) ve optik yoğunluk (OD) miktarlarındaki değişim spektrofotometrik olarak hergün ölçülerek kayıt edilmiştir. 7. gün sonunda kültürler homojenizasyon işlemine tabii tutulmuş ve elde edilen bu homojenatlar -20°C' de Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Redüktaz (GR), Askorbat Peroksidaz (APOD) enzim deneyleri ve MDA, H₂O₂, prolin analizleri için saklanmıştır.

3.4. Ölçüm ve Analizler

3.4.1. Optik yoğunluğun (OD) ve büyüme oranının belirlenmesi

Alglerin büyüme oranını hesaplamak için OD 560 değeri spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Kör olarak *C. vulgaris* için BG11 ve *A. platensis* için Spirulina Medyumu (SM) kullanılmıştır. *C. vulgaris* alginde 100 mL alg kültürü 900 mL BG11 medyumu ile, *A. platensis* alginde de 100 mL alg kültürü 900 mL SM ile seyreltilmiştir (1/10 oranında). OD560 değeriindeki değişim her gün ölçüm yapılarak 7 gün boyunca takip edilmiştir. Böylelikle herbisit etkisine maruz bırakılan bu türlerin büyüme oranları belirlenmiştir (Dominguez ve Florencio, 1997).

3.4.2. Fotosentetik pigment analizi (Klorofil-*a*)

Klorofil-*a* miktarındaki değişim her gün ölçüm yapılarak 7 gün boyunca takip edilmiştir. Kör çözeltesi olarak saf metanol kullanılmıştır. Klorofil-*a* hesaplanması

için 1/10 oranında (100 µL kültür ve 900 µL saf metanol) seyrettilen örnekler bir dakika vorteksledikten sonra 2 dakika 13,800 rpm ve +4°C’de santifirüjlenerek 665 nm spektrofotometrede okutulmuştur (Mackinney, 1941). Mililitredeki Klorofil- *a* Denklem 3.1’e göre hesaplanmıştır:

$$\text{Klorofil-}a \text{ mL}^{-1} = A_{665} \times 13.43 \times 10 \quad (3.1)$$

3.4.3. Toplam protein analizi

Toplam protein aktivitesi belirlenmesi için Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır. Kültürlerden 2 mL alınarak 15000 rpm’ de +4°C’ de 20 dakika santrifüj edilmiş, SOD ve GR analizleri için yaklaşık 0,2 g olan pellet elde edilmiştir. Bu pellet homojenizasyon için kullanılmış, gerekli olan ekstraksiyon solüsyonu 100 mM Potasyum- Fosfat (pH: 7,0), % 2’ lik polivinilpirolidon (PVP) ve 1 mM Sodyum EDTA (Na₂EDTA) ile hazırlanmıştır. APOD analizi için ise 50 mM Tris- HCl (pH: 7,2), % 2’ lik PVP, 1 mM Na₂EDTA ve 2 mM askorbat ile hazırlanmıştır. Son hacmi 5,5 mL olan reaksiyon solüsyonu için sırasıyla 100 µg protein içeren enzim karışımı 0,031 M Sitrat-Fosfat tamponu (pH: 5,5), ve % 0,01’ lik Coomassie Brilliant Blue G-250 kullanılmıştır. Örnekler 10-15 saniye süre ile vorteksleme işlemine tabii tutulduktan sonra, 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Spektrofotometrede 595 nm’de yapılan ölçümlerden elde edilen sonuçlar ile protein miktarlarındaki değişim daha önce hazırlanmış olan standart grafikten faydalanarak bulunmuştur.

3.4.4. Toplam süperoksit dismutaz (SOD) enzim analizi

Toplam SOD aktivitesinin belirlenmesi için Beyer ve Fridovich (1987)’in metodu kullanılmıştır. Kültürlerden 2 mL alınmış, 15,000 rpm ve +4°C’de 20 dakika santrifüjledikten sonra süpernatant atılmış ve ekstraksiyon için pellet kullanılmıştır. 0,2 g pellet 100 mM potasyum fosfat (pH 7,0), %2’lik PVP (polivinil pirolidon) ve 1 mM Sodyum EDTA (Na₂EDTA) eklenerek hazırlanan ekstraksiyon solüsyonu ile homojenize edilmiştir. 14,000 rpm ve +4°C’de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası, son hacim 1030 µL olacak şekilde 100 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7,8),

$9,9 \times 10^{-3}$ M metionin, $5,7 \times 10^{-5}$ M nitroblue tetrazolyum (NBT), % 1'lik triton X100 ve enzim karışımı içeren süpernatantdan oluşan bir reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. 0,9 μ M riboflavin eklenmesi ile reaksiyon başlamış, oluşan bu karışım 15 dakika boyunca $375 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ şiddetinde ışığa maruz bırakıldıktan sonra 560 nm'de spektrofotometrede absorbans değerleri belirlenmiştir. Toplam SOD aktivitesi daha önce hazırlanmış olan standart grafikten faydalanarak hesaplanmıştır (U/mg protein).

3.4.5. Toplam glutatyon redüktaz (GR) enzim analizi

Toplam GR aktivitesi Sgherri ve ark. (1994)'nın metoduna göre belirlenmiştir. 2 mL kültür alınarak 15,000 rpm ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmış ve kalan pellet homojenizasyon için kullanılmıştır. 0,2 g pellet 100 mM potasyum fosfat (pH 7,0), % 2'lik polivinil pirolidon (PVP) ve 1 mM sodyum EDTA (Na_2EDTA) eklenerek hazırlanan ekstraksiyon solüsyonu ile homojenize edilmiştir. 14,000 rpm ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası son hacim 1000 μ L olacak şekilde 100 mM potasyum- fosfat tamponu (pH 7,8), 2 mM sodyum EDTA (Na_2EDTA), 0,5 mM okside glutatyon (GSSG), 0,2 mM nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) solüsyonu ve 100 μ g protein ve enzim karışımı içeren süpernatanttan oluşan bir reaksiyon çözeltisi hazırlanmıştır. Enzim aktivitesi spektrofotometrik olarak 320 nm dalga boyundaki absorbans değerleri ile ölçülmüştür. Düzeltme, NADPH yokluğunda GSSG yükseltgenmesi (oksidasyonu) ile yapılmıştır. Enzim aktivitesi, NADPH'nin ekstinksiyon katsayısı ($6,2 \text{ mM/cm}^{-1} \text{ } 340 \text{ nm}^{-1}$) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır ($\text{nmol NADPH dakika}^{-1}\text{mg protein}^{-1}$).

3.4.6. Toplam askorbat peroksidaz (APOD) enzim analizi

Toplam APOD aktivitesi Wang ve ark. (1991)'na göre belirlenmiştir. 2 mL kültür alınarak 15,000 rpm ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de 20 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant atılmış ve kalan pellet homojenizasyon için kullanılmıştır. 0,2 g pellet, 50 mM tris-HCl (pH 7,2), % 2'lik PVP, 1 mM sodyum EDTA (Na_2EDTA) ve 2 mM askorbattan oluşan ekstraksiyon çözeltisi ile homojenize edilmiştir. Homojenatlar 14,000 rpm ve $+4^{\circ}\text{C}$ '

de 20 dakika santrifüjlenmiştir. Bu santrifüjden elde edilen süpernatantdaki 100 µg protein içeren enzim karışımı 50 mM Potasyum-Fosfat tamponu (pH= 6,6), 2,5 mM askorbat ile oluşan reaksiyon çözeltisine ilave edilmiştir. Reaksiyon, son hacim 1000 µL olacak şekilde 10 mM Hidrojen peroksit (H₂O₂)' in eklenmesiyle başlatılmıştır. Askorbat konsantrasyonundaki azalma, spektrofotometrede 290 nm dalga boyunda alınan değerlerle enzim özütü içermeyen reaksiyon çözeltisine karşılık kaydedilmiştir. Enzim aktivitesi, askorbatın ekstinksiyon katsayısı (2,8 mM cm⁻¹ 290 nm⁻¹) kullanılarak reaksiyonun başlangıç hızından hesaplanmıştır (nmol askorbat dakika⁻¹ mg protein⁻¹).

3.4.7. Prolin analizi

Prolin miktarının belirlenmesi için Weimberg (1987)'in metodu modifiye edilmiştir. 15 mL alınan kültürler 4,000 rpm ve +4°C' de 15 dakika santrifüjlendikten sonra yaklaşık 0,2 g olan pellet elde edilmiştir. Elde edilen bu pellet 10 mL distile su ile homojenize edildikten sonra tüpler sıcak su banyosunda 95°C' de 30 dakika bekletilmiştir. Daha sonra örnek soğutulduktan sonra 10 dakika 4,100 rpm'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatanttan prolin miktarı (µmol/g kuru ağırlık) asit-ninhidrin yöntemine göre 520 nm dalga boyunda yapılan okumalara göre spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Bates ve ark., 1973).

3.4.8. Malondialdehit (MDA) analizi

Malondialdehit miktarının belirlenmesi Heath ve Packer (1968)' in kullandıkları metoda göre yapılmıştır. 15 mL alınan kültürler 4,000 rpm ve +4°C' de 15 dakika santrifüjlendikten sonra 0,2 g olan pellet elde edilmiştir. Daha sonra pelletler 5 mL 0,1% Trikloroasetik asit (TCA) (4°C) ile homojenizasyondan sonra 4,100 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. 0,5 mL süpernatant, 0,5 mL 0.1 M tris-HCl (pH 7,6) ve 1 ml TCA-TBA-HCl çözeltisi (20% w/v) (Trikloroasetik asit -0,375% w/v Tiobarbiturik asit-0,25 N Hidroklorik asit) ile karıştırılmış ve 30 dakika sıcak su banyosunda (95°C) bekletilmiştir. Reaksiyon çözeltisinin 532 ve 600 nm dalga

boyalarında yapılan okumaları kaydedilmiştir. Malondialdehit miktarı $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ekstinksiyon (absorbsiyon) katsayısı kullanılarak hesaplanmıştır.

3.4.9. Hidrojen peroksit (H_2O_2) analizi

H_2O_2 miktarının belirlenmesi Heath ve Packer (1968)' in kullandıkları yöntemle göre yapılmıştır. 15 mL alınan kültürler 4,000 rpm ve $+4^\circ\text{C}$ ' de 15 dakika santrifüjlendikten sonra yaklaşık 0,2 g olan pellet elde edilmiştir. Elde edilen bu pellet 5 mL 0,1% TCA (4°C) ile homojenize edildikten sonra 4,100 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir. 0,5 mL süpernatanta, 0,5 mL 0,1 M Tris-HCl (pH 7,6) ve 1 mL, 1 M Potasyum iyodür (KI) eklenmiş ve 390 nm dalga boyunda absorbanslar okutulmuştur.

3.4.10. İstatistiksel analizler

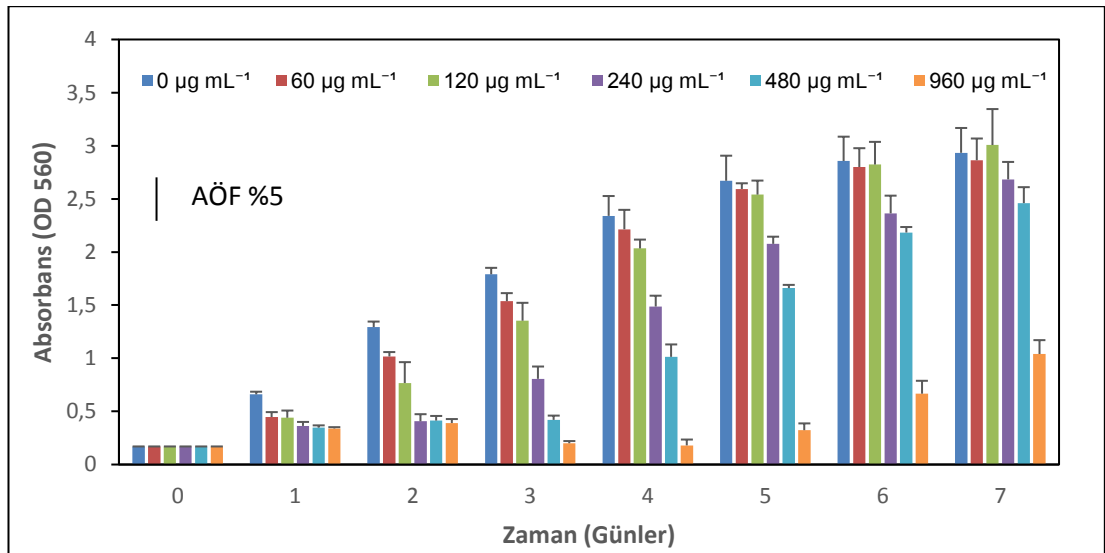
Ölçümlerden elde edilen değerlere, SPSS 20,0 paket programındaki tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve değişkenler arasındaki farklılığın belirlenmesi için LSD testi uygulanmıştır. Her bir bağımsız değişken için uygulama ve çeşitler arasındaki farkın önem kontrolü Anlamlı Önemli Fark (AÖF) % 5 için hesaplanmıştır.

BÖLÜM 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. OD560 Absorbansı

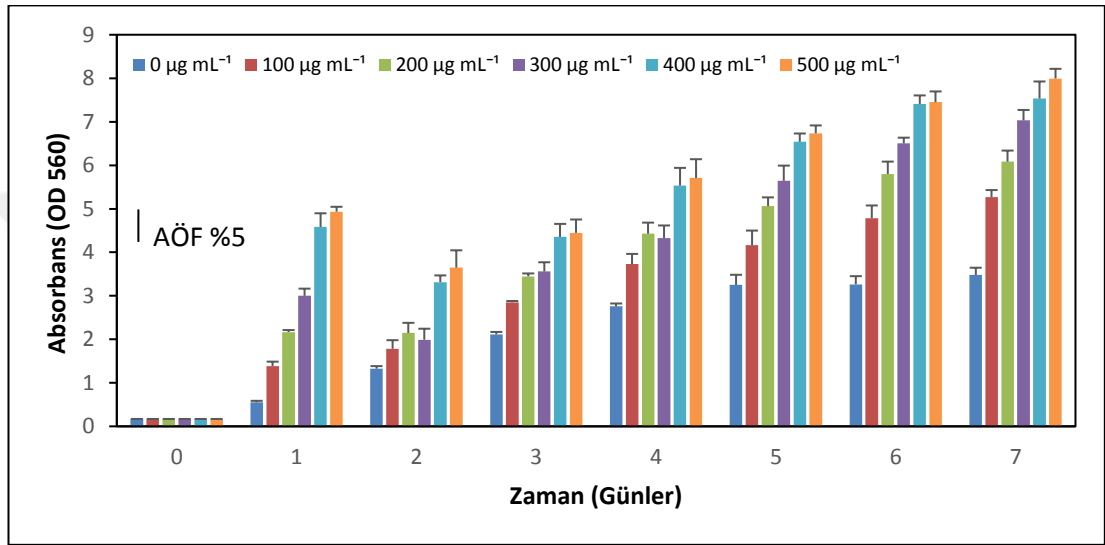
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin OD560 absorbansı üzerine etkisi Şekil 4.1., Şekil 4.2., Şekil 4.3., ve Şekil 4.4.'de verilmiştir.

C. vulgaris kültürlerine 0, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 240 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 480 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında Bentagram uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Bentagram etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinde, kontrole göre OD560 miktarında önemli bir düşüş olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Konsantrasyonlar arasında en fazla düşüşün 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ eklenen konsantrasyonda olduğu gözlemlenmiştir.



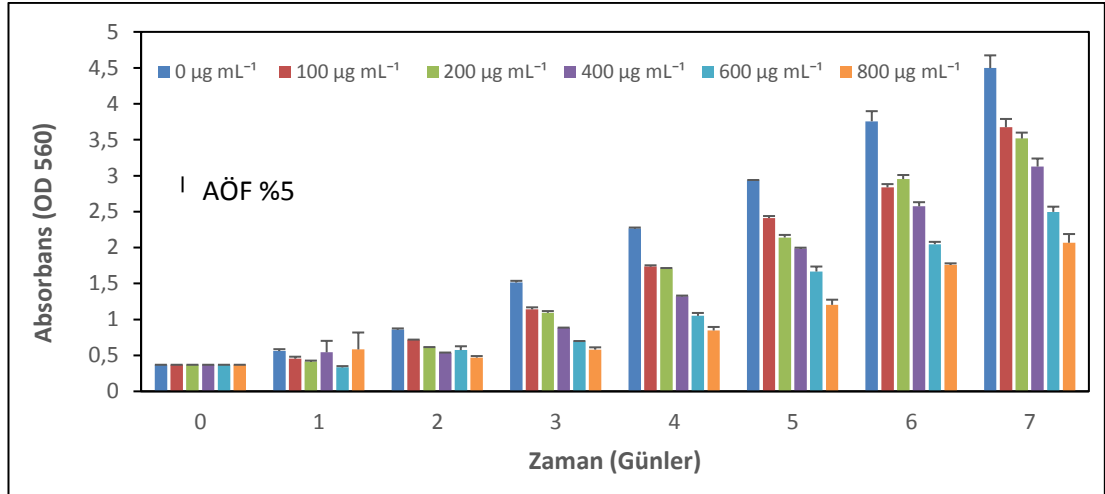
Şekil 4.1. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginde OD560 değerinin 7 gün boyunca değişimi

C. vulgaris kültürlerine 0, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında Cambio uygulanmıştır. OD560 değerleri birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında artan konsantrasyonlara bağlı olarak 1., 3., 4., 5., 6., ve 7. günlerde anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). Sadece 2. günde bu artış 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında gözlenmiştir ($p > 0,05$).



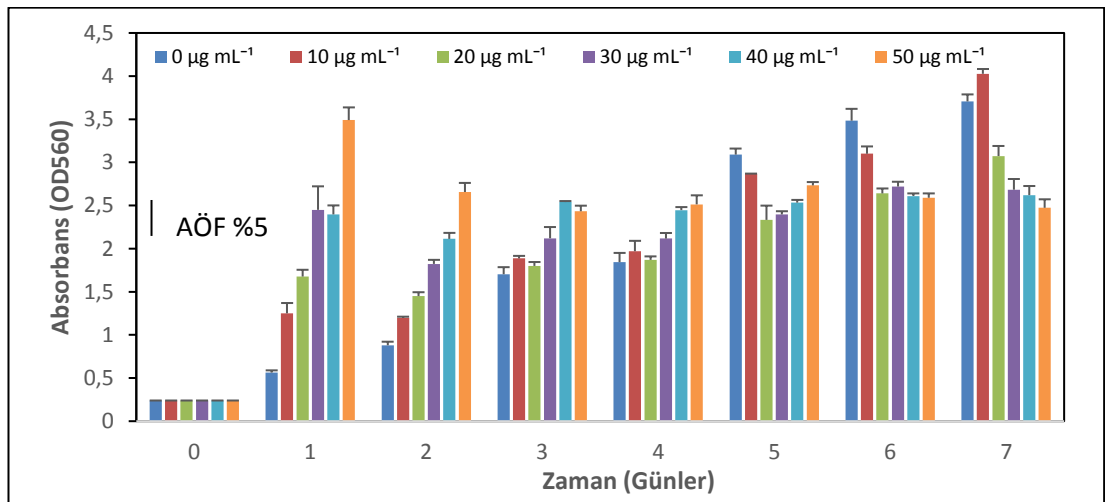
Şekil 4.2. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginde OD560 değerinin 7 gün boyunca değişimi

A. platensis kültürlerine 0, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında Bentagram uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Bentagram etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinde, 1. ve 2. günlerde kontrole göre OD560 değerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Diğer günlerde artan konsantrasyona bağlı anlamlı düşüş olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4.3. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginde OD560 değerinin 7 gün boyunca değişimi

A. platensis kültürlerine 0, 10 µg mL⁻¹, 20 µg mL⁻¹, 30 µg mL⁻¹, 40 µg mL⁻¹ ve 50 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında Cambio uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Cambio etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinde, kontrole göre OD560 değerlerinde 1. ve 2. günlerde anlamlı bir artış görülürken, 3. günden itibaren artan konsantrasyonlara (özellikle 30 µg mL⁻¹, 40 µg mL⁻¹ ve 50 µg mL⁻¹) bağlı olarak anlamlı azalmalar görülmüştür ($p < 0,05$). 3. gün 10 ve 20 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarındaki değişim anlamsızdır ($p > 0,05$).

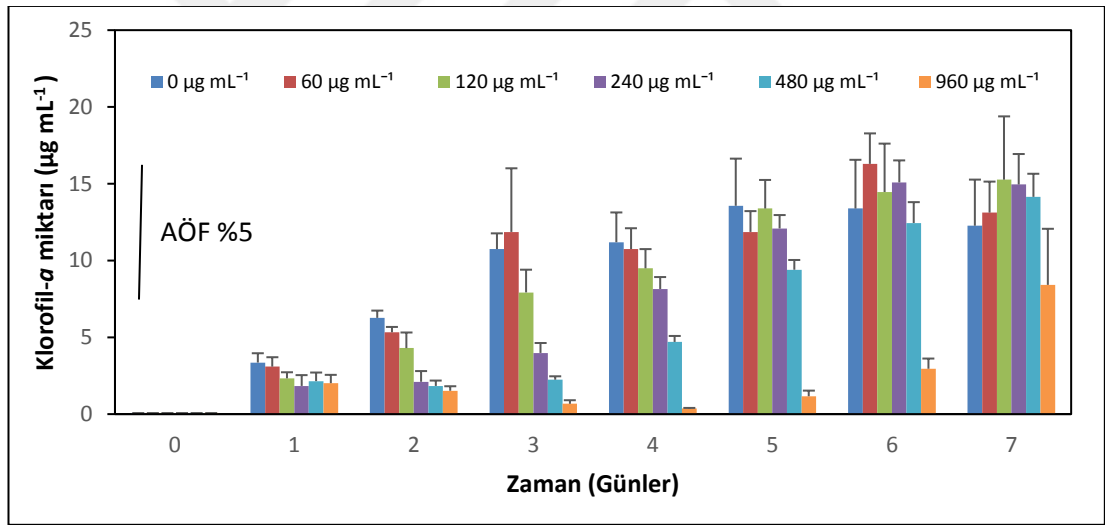


Şekil 4.4. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginde OD560 değerinin 7 gün boyunca değişimi

4.2. Fotosentetik Pigment Analizi (Klorofil-a Miktarları)

A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin klorofil-a miktarı üzerine etkisi Şekil 4.5., Şekil 4.6., Şekil 4.7. ve Şekil 4.8.'de verilmiştir.

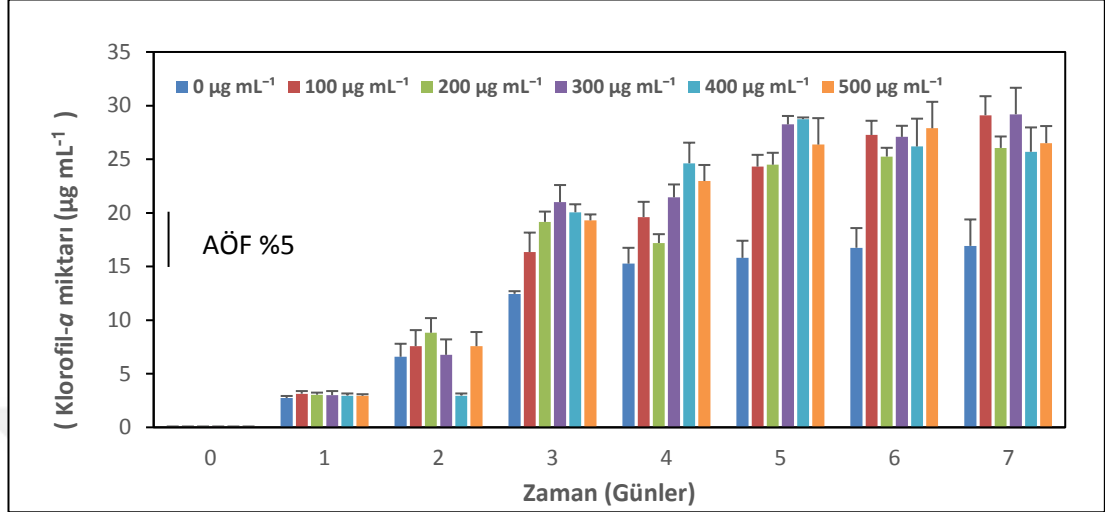
C. vulgaris kültürlerine 0, 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 240 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 480 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında Bentagram uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Bentagram etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinde, kontrole göre klorofil-a miktarında ilk gün önemli bir değişiklik gözlenmemiştir ($p>0,05$). 2., 3., ve 4. günlerde 120 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve diğer artan konsantrasyonlarda, 5. gün 240 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve diğer artan konsantrasyonlarda, 6. ve 7. günlerde 480 ve 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında azalma gözlenmiştir ($p<0,05$).



Şekil 4.5. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C.vulgaris* alginde klorofil-a miktarındaki 7 gün boyunca değişim

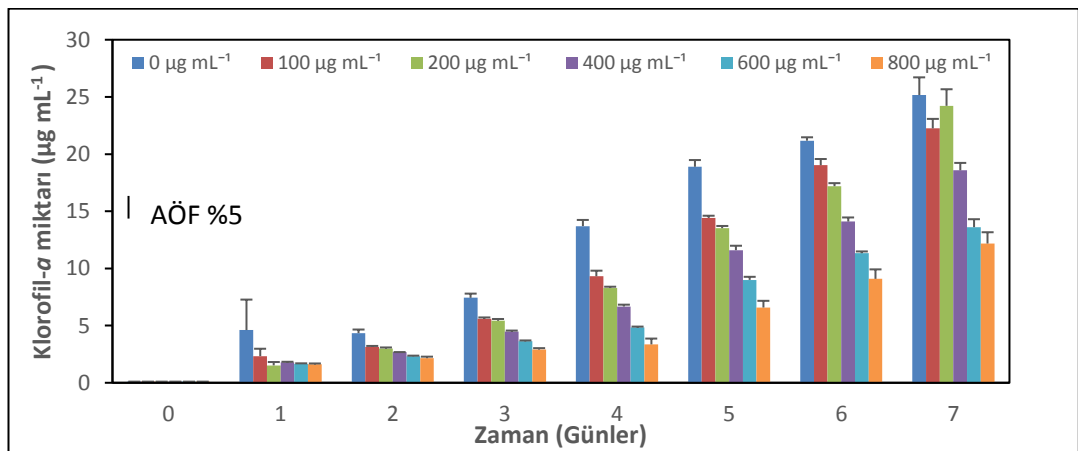
C. vulgaris kültürlerine 0, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 300 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında Cambio uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinde, kontrole göre 1. ve 2. günlerde klorofil-a miktarında önemli bir değişiklik olmamıştır ($p>0,05$). 3. gün 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 4. gün ise 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 200

$\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları için anlamlı bir değişiklik görülmezken ($p>0,05$), diğer gün ve artan konsantrasyonlarda anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$).



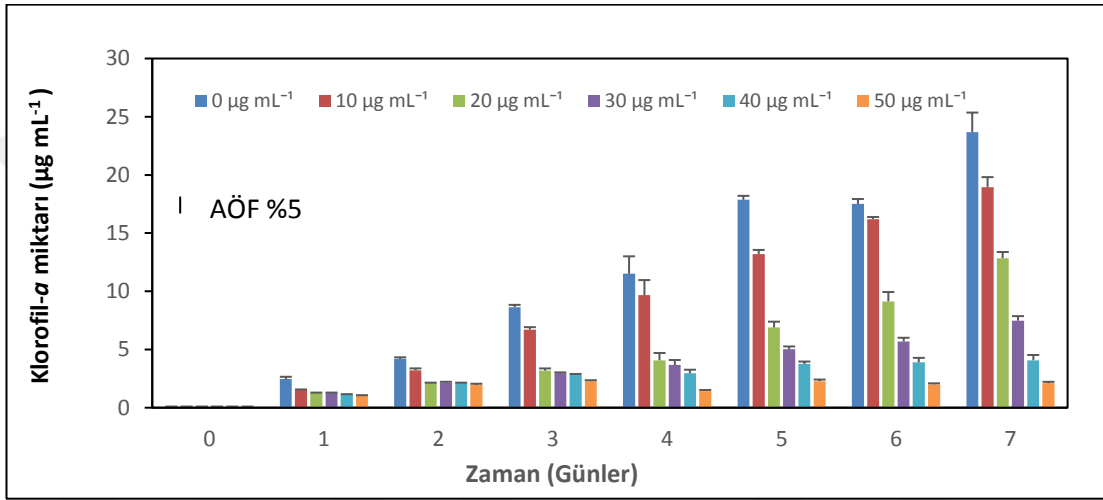
Şekil 4.6. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C.vulgaris* alginde klorofil-a miktarındaki 7 gün boyunca değişim

A. platensis kültürlerine 0, 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında Bentagram uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Bentagram etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinde, kontrole göre 2. gün hariç tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir azalma gözlenmektedir ($p<0,05$). 2. günde 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında azalma anlamlı olmamakla beraber ($p>0,05$), diğer konsantrasyonların oranı arttıkça azalma anlamlıdır ($p<0,05$).



Şekil 4.7. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginde klorofil-a miktarındaki 7 gün boyunca değişim

A. platensis kültürlerine 0, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarda Cambio uygulanmıştır. Birinci günden yedinci güne kadar günler kendi aralarında kıyaslandığında, Cambio etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinde, kontrole göre klorofil-*a* miktarında ilk gün artan konsantrasyonların tümünde ve 2. ve 6. günlerde de 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda önemli bir değişiklik olmazken ($p>0,05$), diğer gün ve artan konsantrasyonlarda anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir ($p<0,05$).

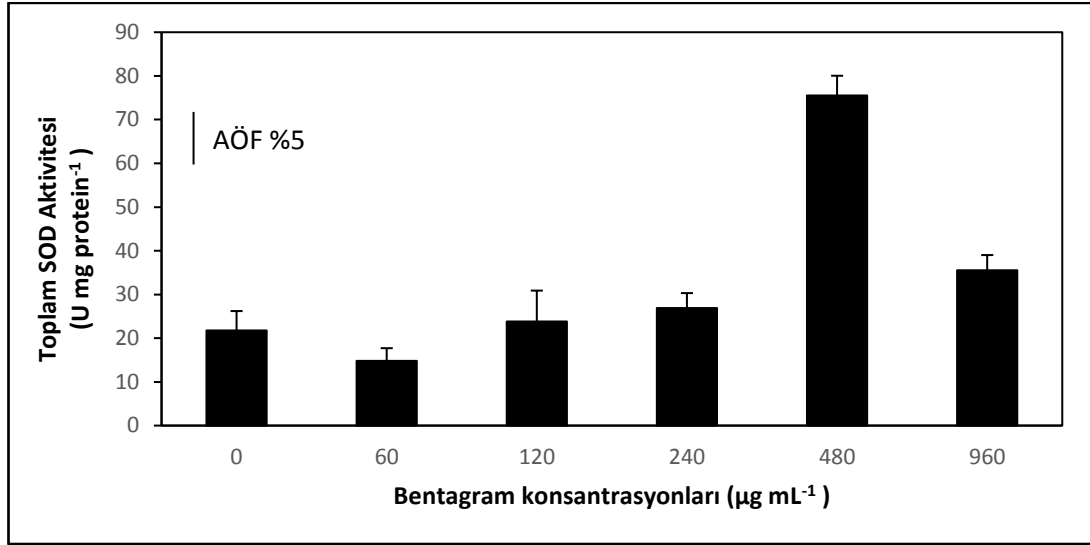


Şekil 4.8. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginde klorofil-*a* miktarındaki 7 gün boyunca değişim

4.3. Toplam Süperoksit Dismutaz Aktivitesi

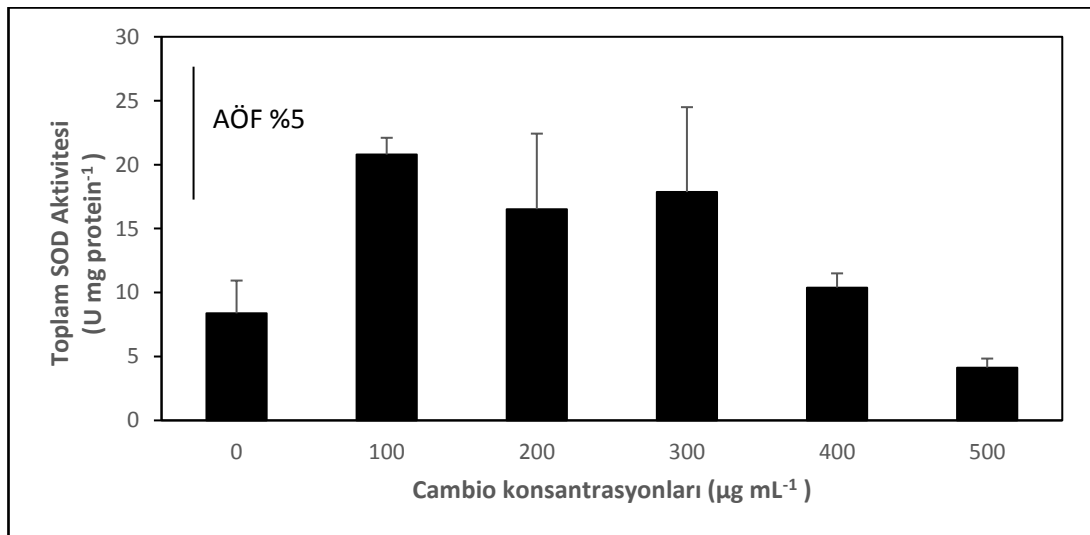
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin toplam süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktiviteleri üzerine etkisi Şekil 4.9., Şekil 4.10., Şekil 4.11. ve Şekil 4.12.'de verilmiştir.

Bentagram etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 120, 240 ve 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam SOD aktivitesi kontrole göre artış göstermiş olmakla beraber, bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Sadece 480 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonundaki artış anlamlıdır ($p<0,05$). Toplam SOD aktivitesinin en yüksek (75,5 U protein $^{-1}$) ve en düşük (14,83 U protein $^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 480 ve 60 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



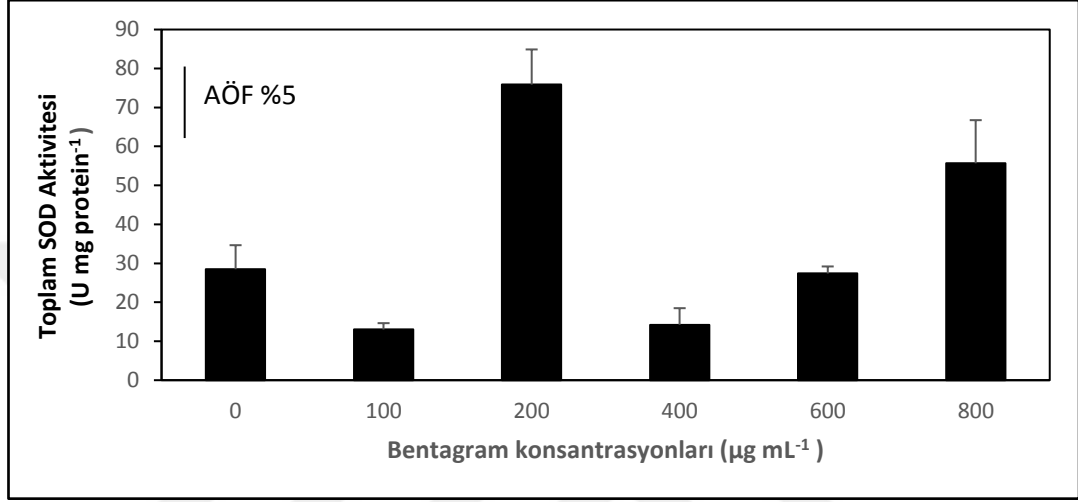
Şekil 4.9. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin SOD aktivitesinde görülen değişim

Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 100, 200, 300, 400 ve 500 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında toplam SOD aktivitesine bakıldığında kontrole göre sadece 100 µg mL⁻¹ konsantrasyonunda anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0,05$). Toplam SOD aktivitesinin en yüksek (20,79 U protein⁻¹) ve en düşük (4,13 U protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 100 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



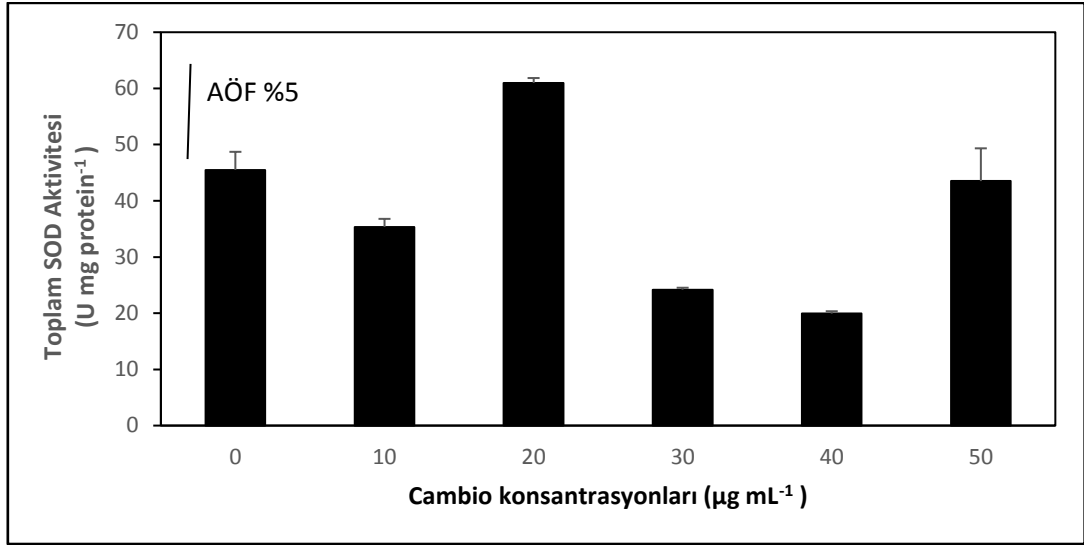
Şekil 4.10. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin SOD aktivitesinde görülen değişim

Bentagram etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin 200 ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam SOD aktivitesi kontrole göre anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$). Toplam SOD aktivitesinin en yüksek (78,9 U protein $^{-1}$) ve en düşük (13 U protein $^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 200 ve 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.11. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin SOD aktivitesinde görülen değişim

Cambio etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin 10, 30 ve 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam SOD aktivitesi kontrole göre düşüş göstermiştir ($p>0,05$). Her ne kadar 20 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında artış gözlemlense de bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p>0,05$). Toplam SOD aktivitesinin en yüksek (60,98 U protein $^{-1}$) ve en düşük (19,93 U protein $^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 20 ve 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

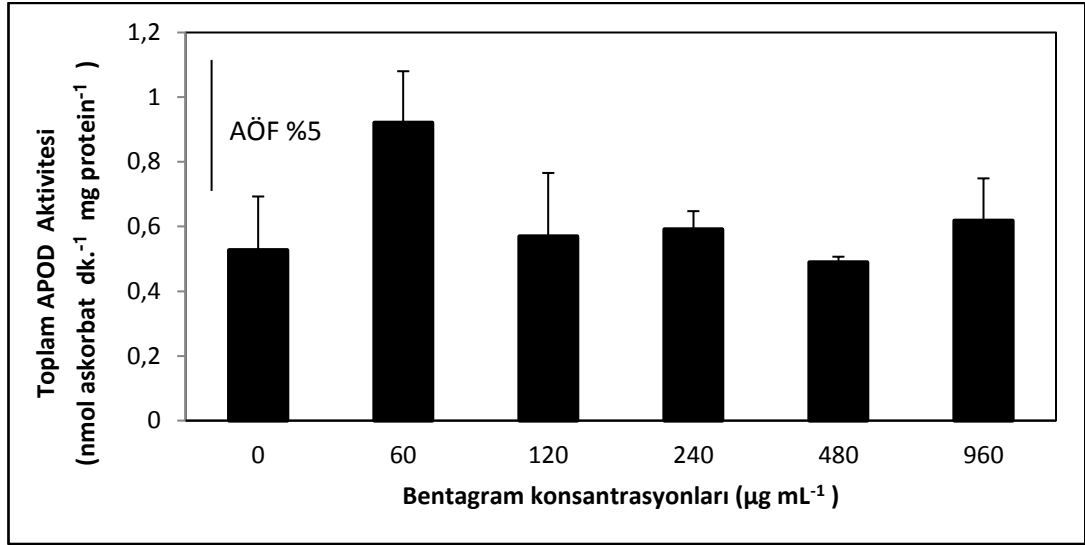


Şekil 4.12. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin SOD aktivitesinde görülen değişim

4.4. Toplam Askorbat Peroksidaz Aktivitesi

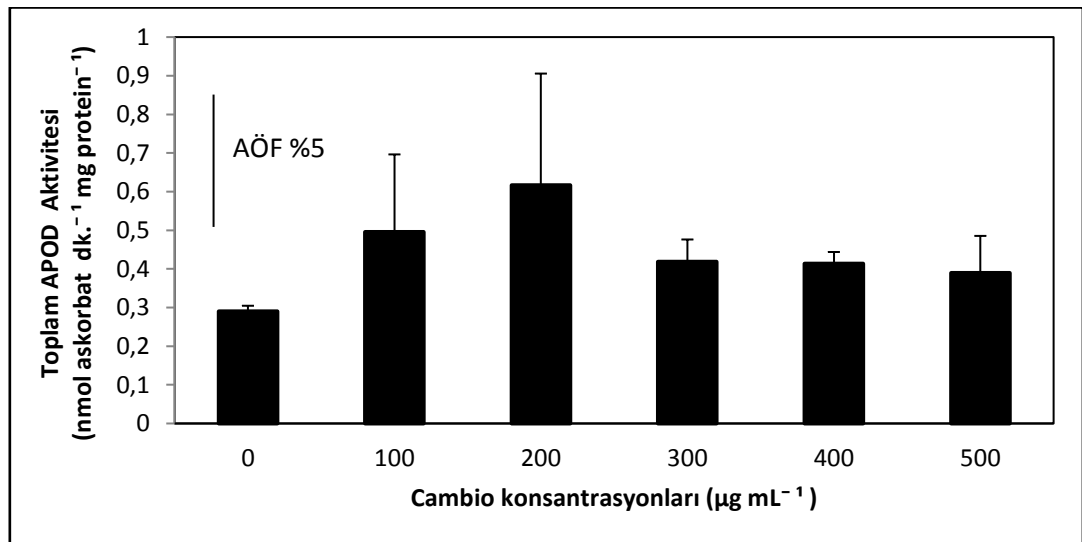
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram pestisitlerinin toplam askorbat peroksidaz (APOD) enzim aktivitesi üzerine etkisi Şekil 4.13., Şekil 4.14., Şekil 4.15. ve Şekil 4.16.' de verilmiştir.

Bentagram etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 60, 120, 240, 480 ve 960 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında toplam APOD aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir ($p>0,05$). APOD aktivitesinin en yüksek (0,92 nmol askorbat dk.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (0,49 nmol askorbat dk.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 60 ve 480 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



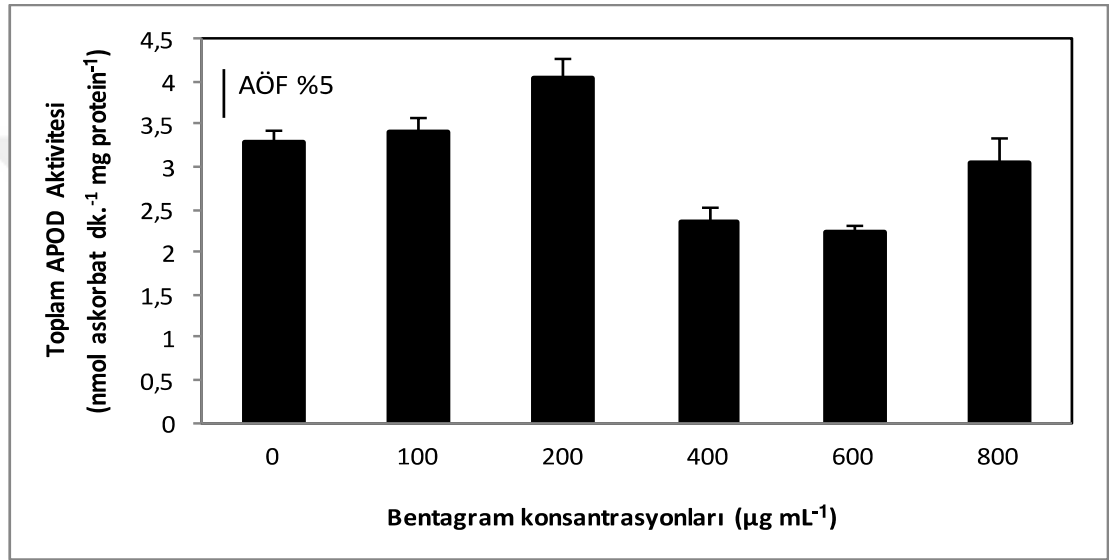
Şekil 4.13. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin APOD aktivitesinde görülen değişim

Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 100, 200, 300, 400 ve 500 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında toplam APOD aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir ($p > 0,05$). APOD aktivitesinin en yüksek (0,62 nmol askorbat dk.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (0,39 nmol askorbat dk.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 200 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



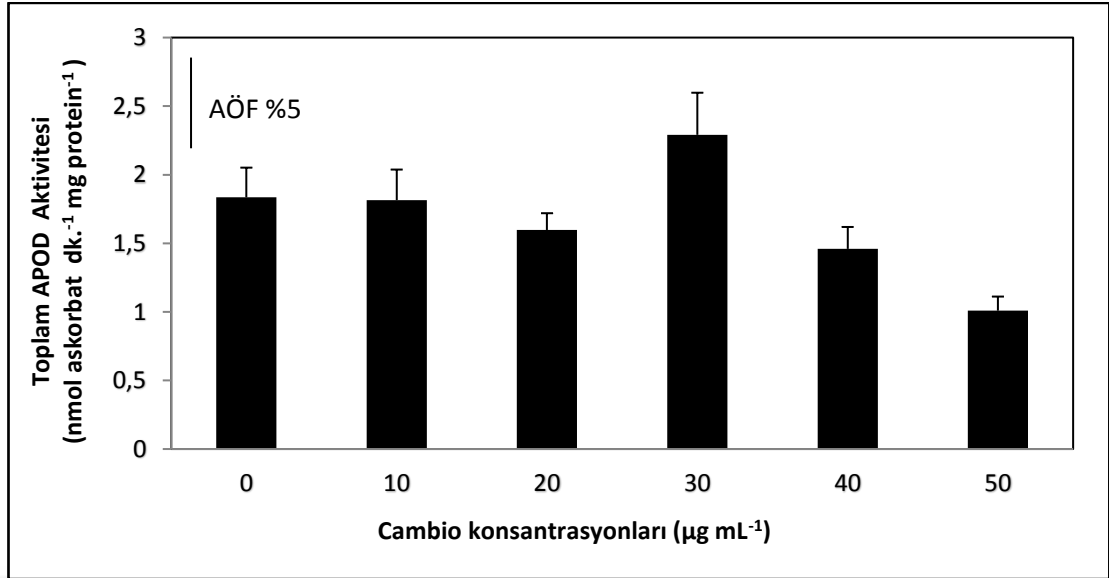
Şekil 4.14. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin APOD aktivitesinde görülen değişim

Bentagram etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam APOD aktivitesi kontrole göre 100 ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiş ($p>0,05$), 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda anlamlı olarak artmış, 400 ve 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında ise anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). APOD aktivitesinin en yüksek (4,05 nmol askorbat $\text{dk}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ve en düşük (2,23 nmol askorbat $\text{dk}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 200 ve 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.15. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin APOD aktivitesinde görülen değişim

Cambio etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin 10, 20, 30, ve 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam APOD aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermezken ($p>0,05$), 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda anlamlı olarak azalmıştır ($p<0,05$). APOD aktivitesinin en yüksek (2,29 nmol askorbat $\text{dk}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) ve en düşük (1,01 nmol askorbat $\text{dk}^{-1} \text{mg protein}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 30 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

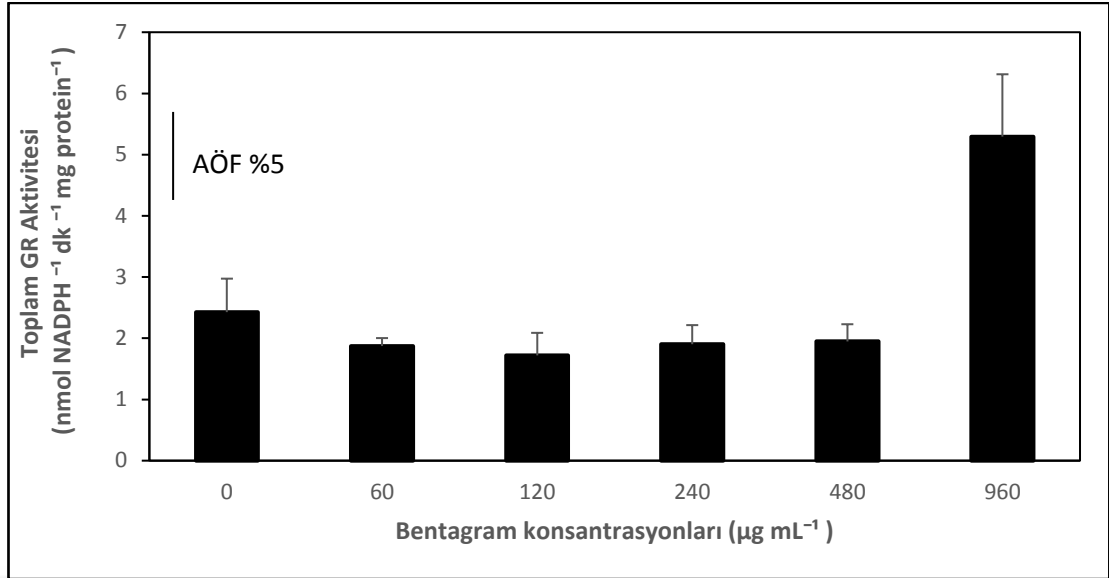


Şekil 4.16. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin APOD aktivitesinde görülen değişim

4.5. Toplam Glutasyon Redüktaz Aktivitesi

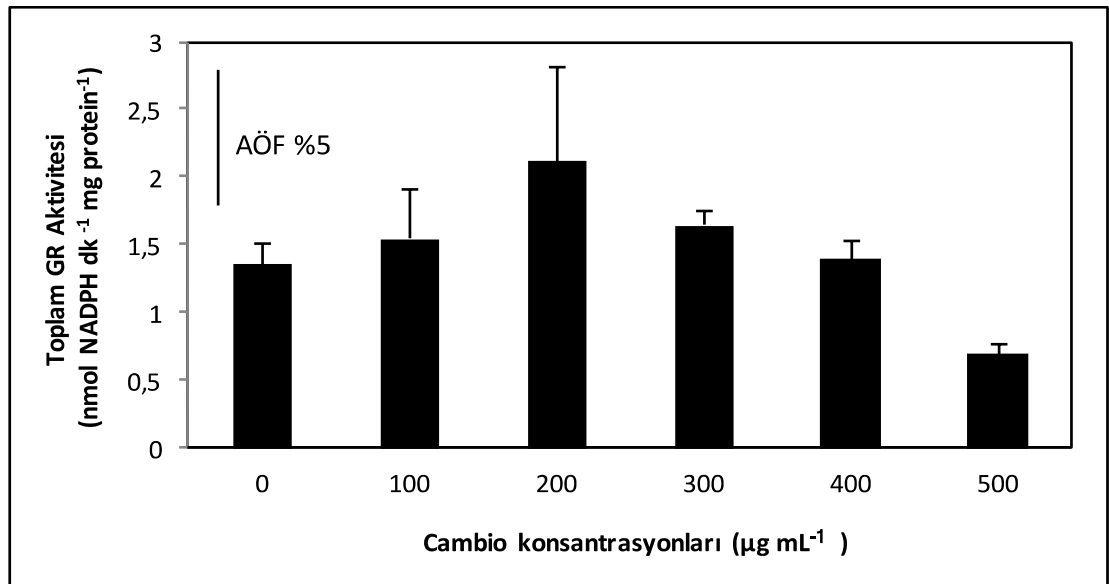
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin toplam glutasyon redüktaz enzim aktivitesi (GR) üzerine etkisi Şekil 4.17., Şekil 3.18., Şekil 4.19. ve Şekil 4.20.' de verilmiştir.

60, 120, 240 ve 480 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak farklı değildir ($p > 0,05$). 960 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *C. vulgaris* kültüründe GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır ($p < 0,05$). GR aktivitesinin en yüksek (5,29 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (1,72 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 960 ve 120 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



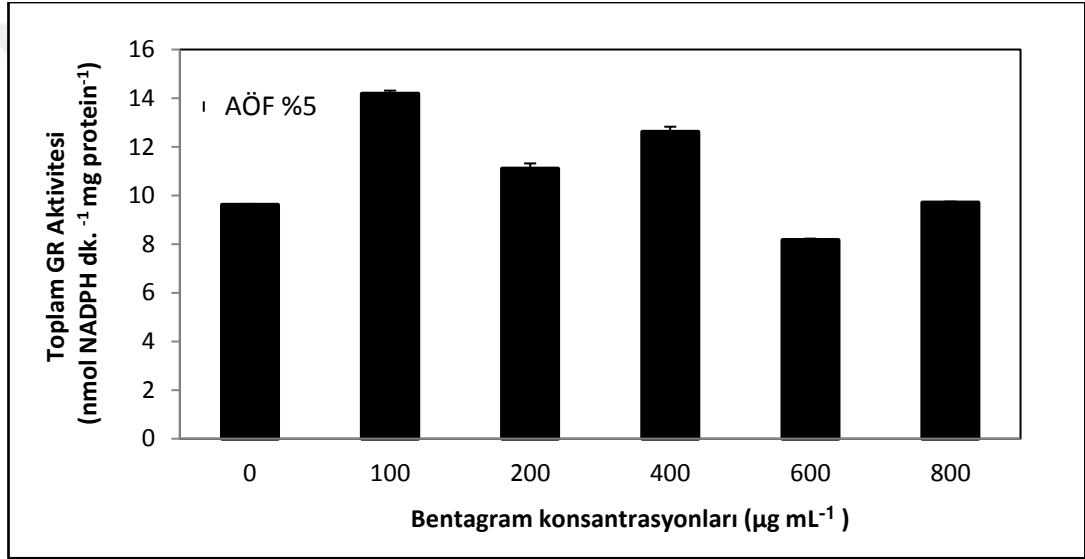
Şekil 4.17. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin GR aktivitesinde görülen değişim

100, 200, 300, 400 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak farklı değildir ($p > 0,05$). GR aktivitesinin en yüksek (2,12 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (0,69 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 200 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



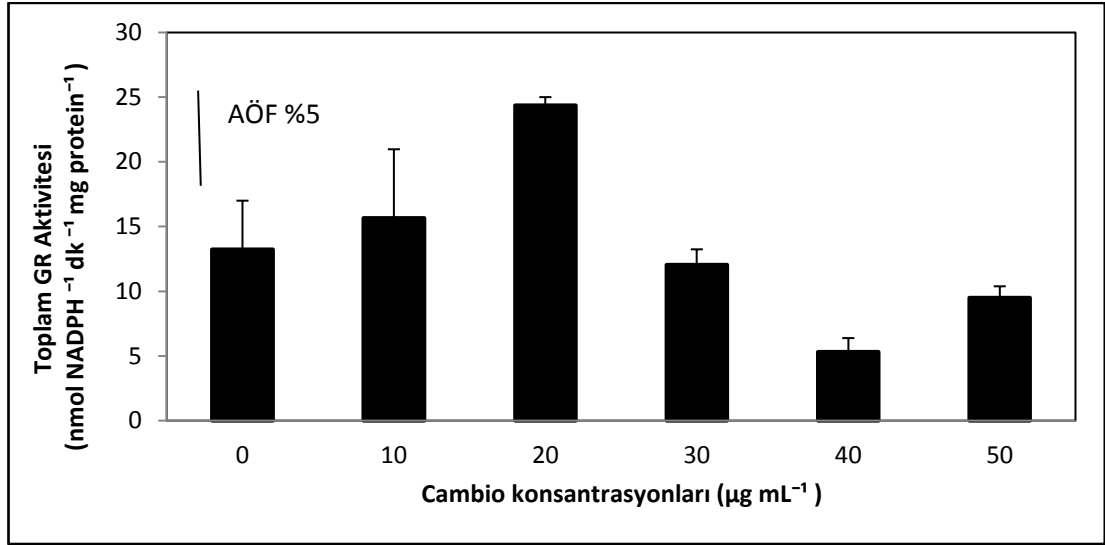
Şekil 4.18. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin GR aktivitesinde görülen değişim

100, 200 ve 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken ($p < 0,05$), 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *A. platensis* kültüründe GR enzim aktivitesi anlamlı azalmıştır ($p < 0,05$). 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *A. platensis* kültüründe GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p > 0,05$). GR aktivitesinin en yüksek (14,18 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (8,16 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 100 ve 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.19. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin GR aktivitesinde görülen değişim

10, 30, 40 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermezken ($p > 0,05$), 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonuna maruz bırakılan *A. platensis* kültüründe GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p < 0,05$). GR aktivitesinin en yüksek (24,36 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) ve en düşük (5,32 nmol NADPH dk.⁻¹ mg protein⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 20 ve 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

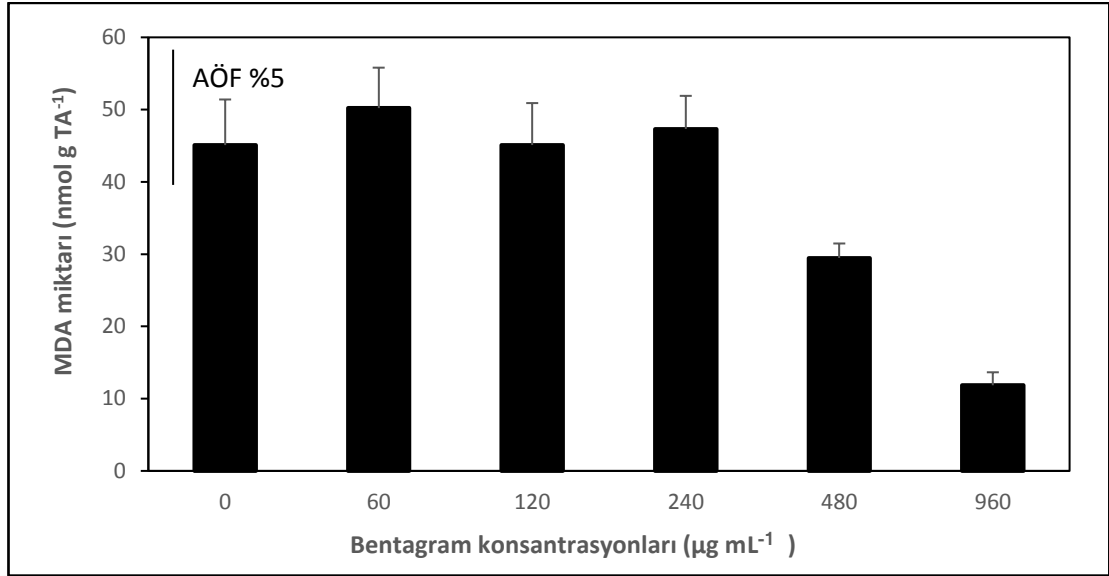


Şekil 4.20. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin GR aktivitesinde görülen değişim

4.6. Malondialdehit (MDA) Miktarı

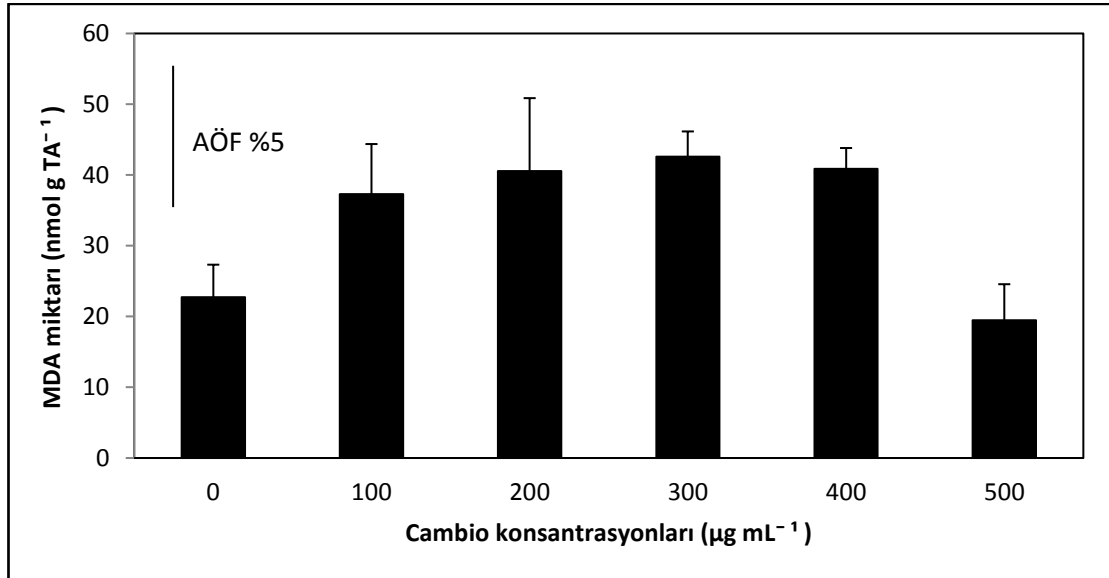
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin malondialdehit (MDA) miktarı üzerine etkisi Şekil 4.21., Şekil 4.22., Şekil 4.23. ve Şekil 4.24.'de verilmiştir.

60, 120, 240 ve 480 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam MDA miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermezken ($p > 0,05$), 960 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *C. vulgaris* kültüründe MDA miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p < 0,05$). MDA miktarının en yüksek (50,21 nmol g TA⁻¹) ve en düşük (11,85 nmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 60 ve 960 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



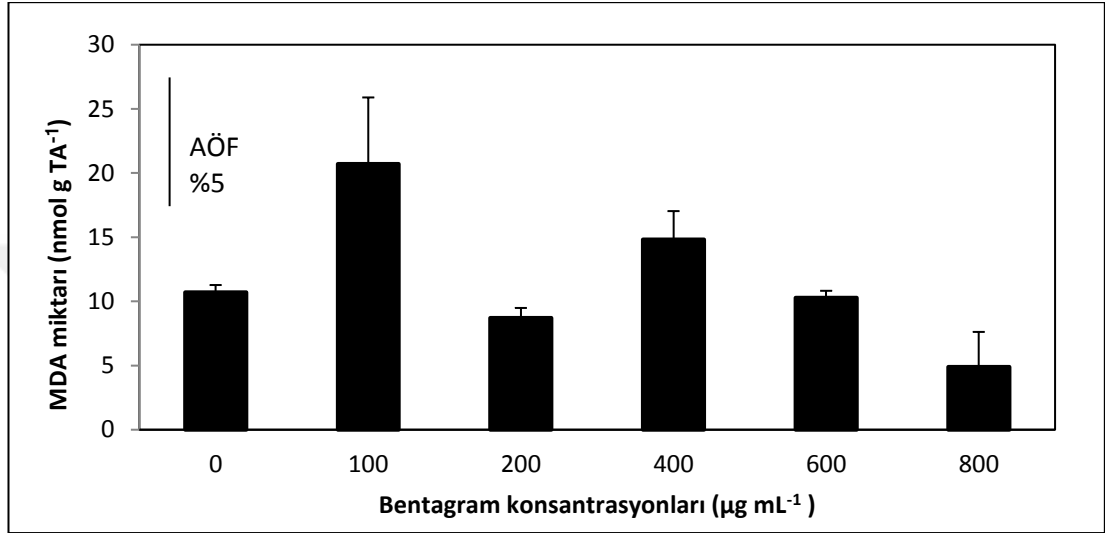
Şekil 4.21. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin MDA miktarında görülen değişim

100, 200, 300, 400 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin MDA miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemiştir ($p>0,05$). MDA miktarının en yüksek (42,59 nmol g TA⁻¹) ve en düşük (19,46 nmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 300 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



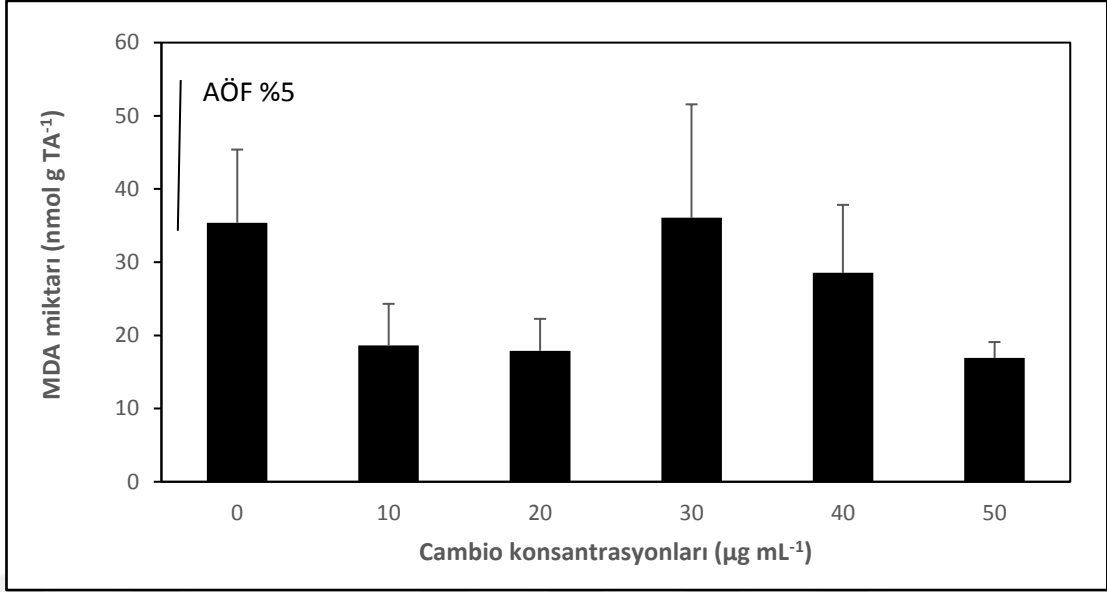
Şekil 4.22. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin MDA miktarında görülen değişim

100, 200, 400, 600 ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin MDA miktarları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir ($p>0,05$). MDA miktarının en yüksek (20,71 nmol g TA⁻¹) ve en düşük (4,88 nmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 100 ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.23. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin MDA miktarında görülen değişim

10, 20, 30, 40 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin MDA miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemiştir ($p>0,05$). MDA miktarının en yüksek (36,07 nmol g TA⁻¹) ve en düşük (16,92 nmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 30 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

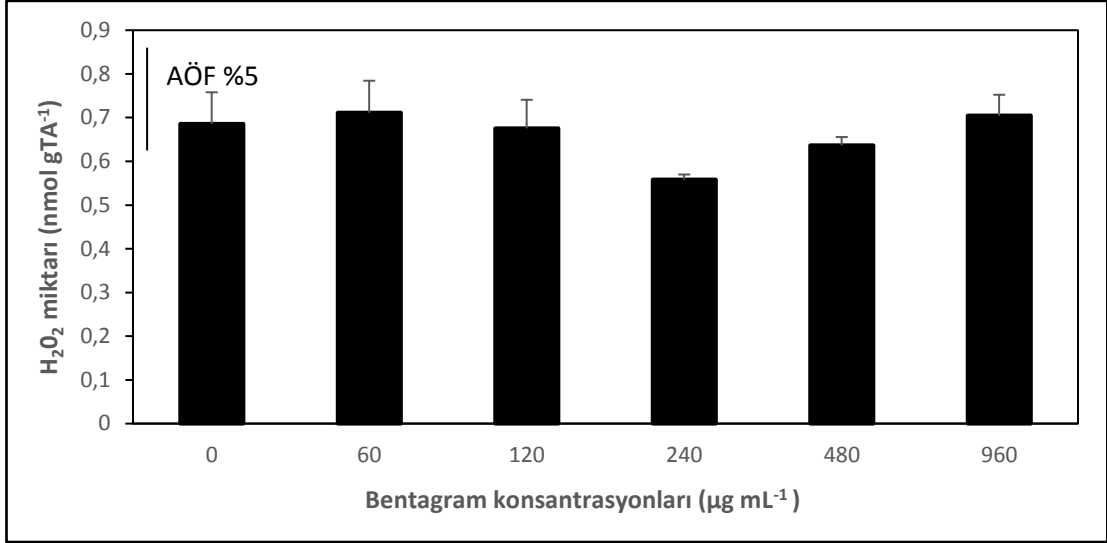


Şekil 4.24. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin MDA miktarında görülen değişim

4.7. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

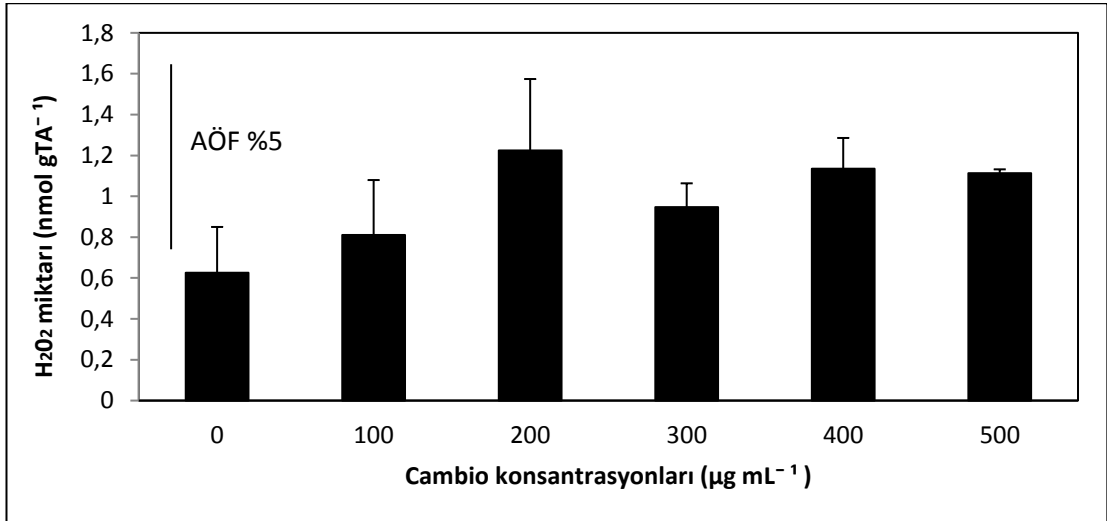
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin H₂O₂ miktarı üzerine etkisi Şekil 4.25., Şekil 4.26., Şekil 4.27. ve Şekil 4.38.'de verilmiştir.

60, 120, 240, 480 ve 960 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam H₂O₂ miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir ($p > 0,05$). H₂O₂ miktarının en yüksek (0,71 nmol g TA⁻¹) ve en düşük (0,56 nmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 60 ve 240 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.25. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin H₂O₂ miktarında görülen değişim

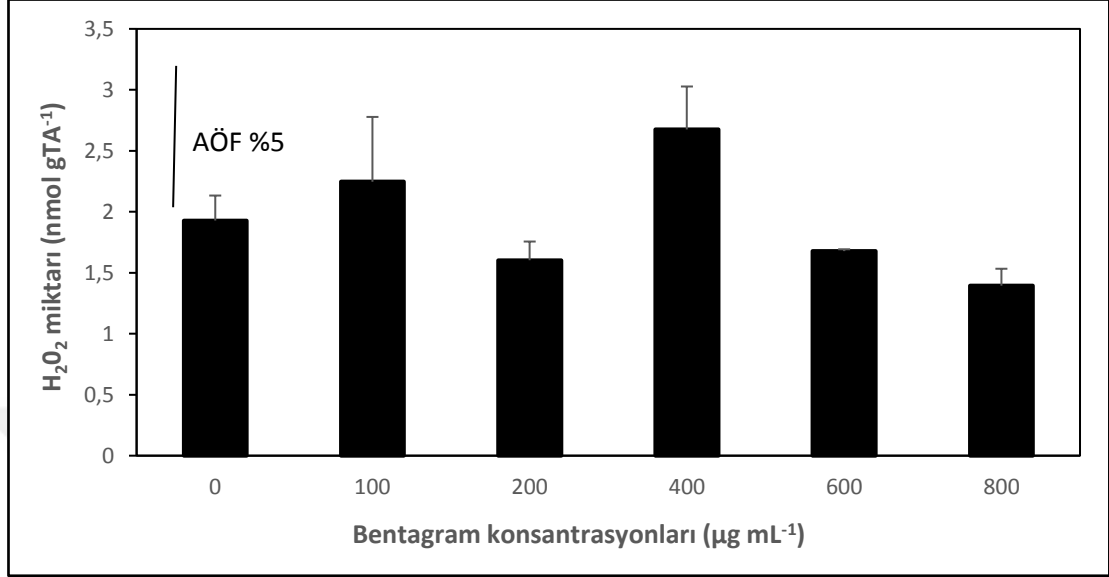
100, 200, 300, 400 ve 500 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam H₂O₂ miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir ($p>0.05$). H₂O₂ miktarının en yüksek (1,23 nmol g TA⁻¹) ve en düşük (0,81 nmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 200 ve 100 µg mL⁻¹ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.26. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin H₂O₂ miktarında görülen değişim

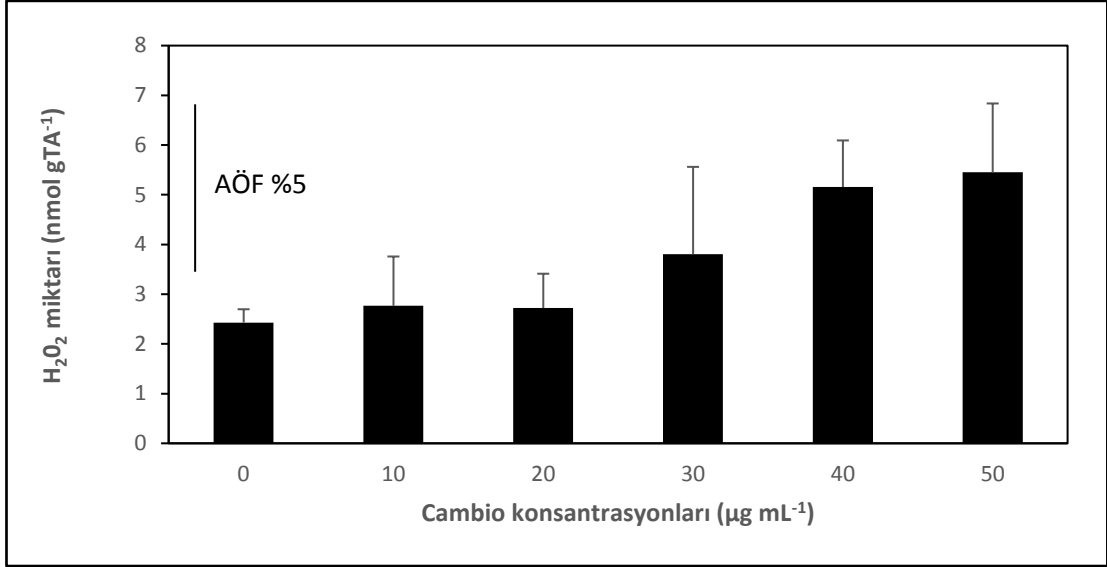
100, 200, 400, 600 ve 800 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam H₂O₂ miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir ($p>0,05$). H₂O₂ miktarının en yüksek (2,68 nmol g TA⁻¹) ve

en düşük ($1,39 \text{ nmol g TA}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 400 ve $800 \mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.27. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin H_2O_2 miktarında görülen değişim

$10, 20, 30, 40$ ve $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam H_2O_2 miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir ($p > 0,05$). H_2O_2 miktarının en yüksek ($5,45 \text{ nmol g TA}^{-1}$) ve en düşük ($2,72 \text{ nmol g TA}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 50 ve $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.

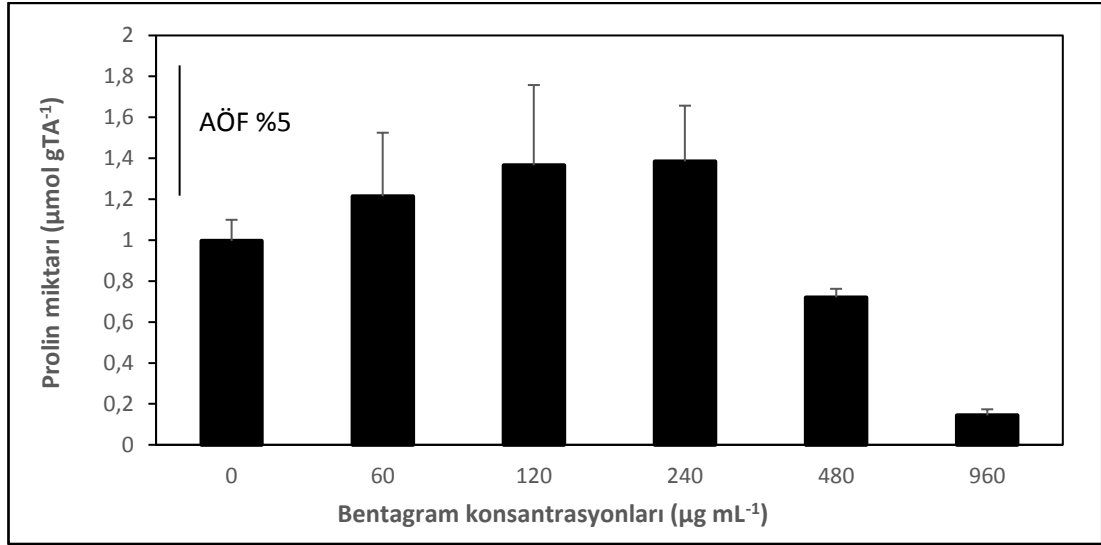


Şekil 4.28. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin H₂O₂ miktarında görülen değişim

4.8. Serbest Prolin Miktarı

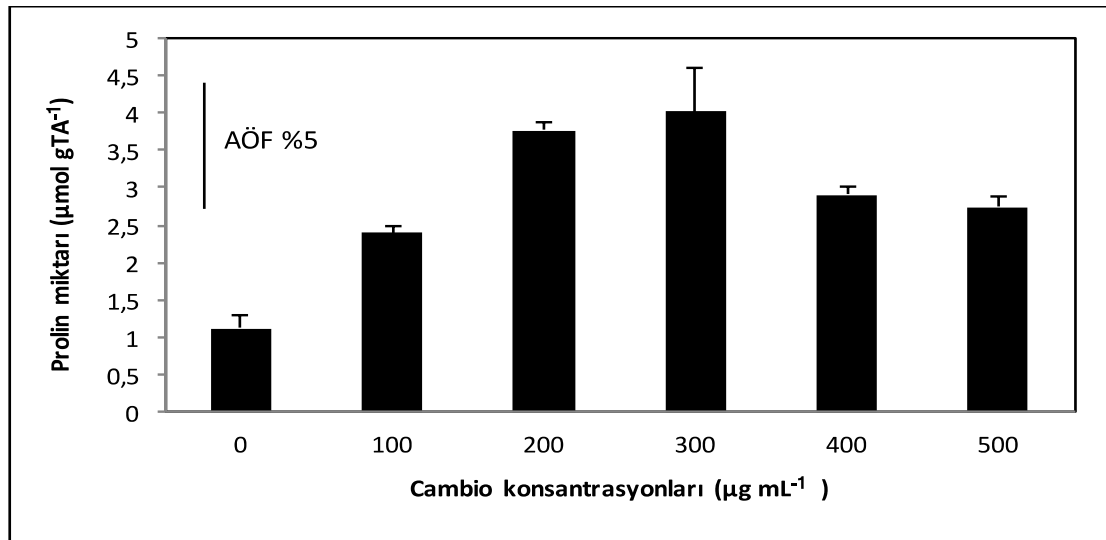
A. platensis ve *C. vulgaris* alglerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki Cambio ve Bentagram herbisitlerinin serbest prolin miktarı üzerine etkisi Şekil 4.29., Şekil 4.30., Şekil 4.31. ve Şekil 4.32.' de verilmiştir.

60, 120, 240 ve 480 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermezken ($p > 0,05$), 960 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *C. vulgaris* kültüründe serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır ($p < 0,05$). Serbest prolin miktarının en yüksek (1,39 µmol g TA⁻¹) ve en düşük (0,14 µmol g TA⁻¹) olduğu değerler sırasıyla 240 ve 960 µg mL⁻¹ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.29. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin serbest prolin miktarında görülen değişim

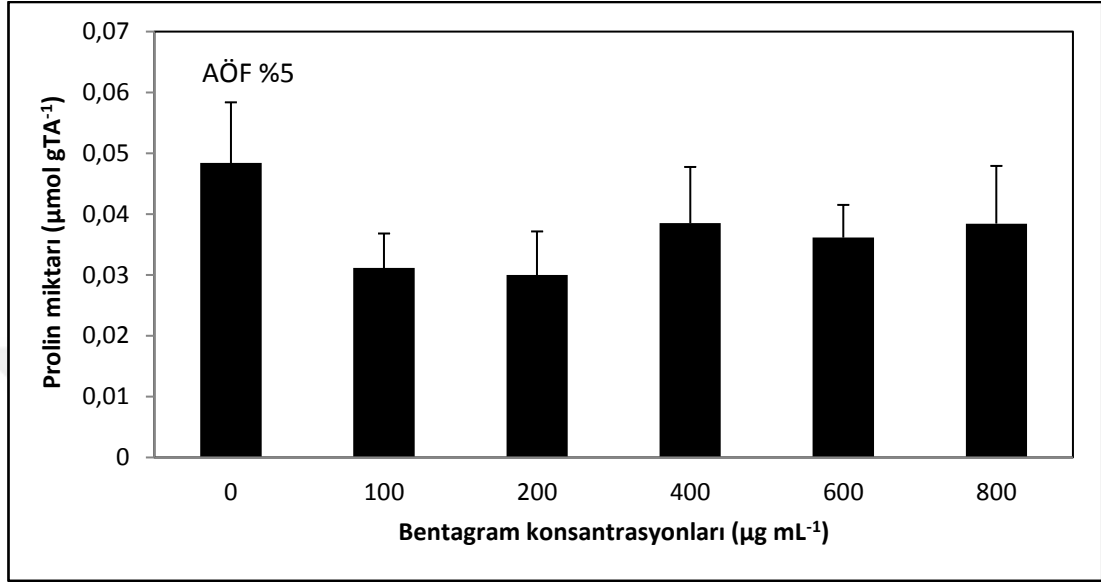
100, 200, 300, 400 ve 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir ($p>0,05$). Serbest prolin miktarının en yüksek ($4 \mu\text{mol g TA}^{-1}$) ve en düşük ($2,4 \mu\text{mol g TA}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 300 ve 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.30. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *C. vulgaris* alginin serbest prolin miktarında görülen değişim

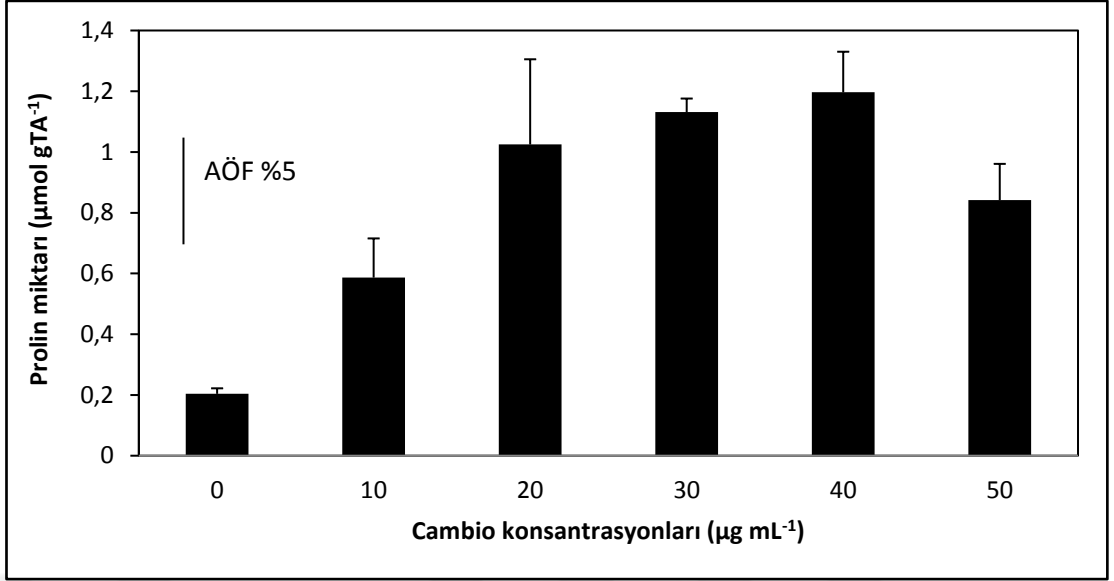
100, 200, 400, 600 ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı

azalma göstermiştir ($p<0,05$). Serbest prolin miktarının en yüksek ($0,039 \mu\text{mol g TA}^{-1}$) ve en düşük ($0,03 \mu\text{mol g TA}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 400 ve $200 \mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.31. Farklı Bentagram konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin serbest prolin miktarında görülen değişim

$10, 20, 30, 40$ ve $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir ($p<0,05$). Serbest prolin miktarının en yüksek ($1,20 \mu\text{mol g TA}^{-1}$) ve en düşük ($0,59 \mu\text{mol g TA}^{-1}$) olduğu değerler sırasıyla 40 ve $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonlarında tespit edilmiştir.



Şekil 4.32. Farklı Cambio konsantrasyonlarının eklenmesiyle *A. platensis* alginin serbest prolin miktarında görülen değişim

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan bu çalışma ile bir siyanobakteri olan *A. platensis* ve bir ökaryotik alg olan *C. vulgaris* kültürlerine farklı konsantrasyonlarda Cambio ve Bentagram herbisitleri maruz bırakıldığında, bu herbisitlerin alglerin OD560 değerinde, klorofil-*a* miktarında, enzimatik antioksidan parametrelerinde (süperoksit dismutaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon redüktaz) ve enzimatik olmayan parametrelerinde (H_2O_2 , malondialdehit ve prolin miktarları) oluşan değişimler hakkında bilgi edinilmeye çalışılmıştır.

Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün boyunca maruz bırakılan *C. vulgaris*' de klorofil-*a* ve OD 560 değerlerinde artan konsantrasyonlara bağlı anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün boyunca maruz bırakılan *A. platensis*' de klorofil-*a* değerinde ilk 2 gün anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, diğer günlerde artan konsantrasyona bağlı anlamlı bir azalma gözlemiştir. OD 560 değerlerinde ise sadece 2. günün 100 ve 200 $\mu g mL^{-1}$ konsantrasyonlarında anlamlı olmamakla beraber bir azalma gözlenirken, diğer gün ve artan konsantrasyonlara bağlı olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Marques ve ark. (2011), Portekiz pirinç tarlalarında oluşturdukları direnç kanallarında, herbisit kirliliğinin mikroalg *Pseudokirchneriella subcapitata*'da oluşturduğu etkilere bakmışlardır. Bentagram ve bazı farklı herbisitlerin etkilerine bakıldığında *P. subcapitata* klorofil-*a* miktarında azalmalar göstermiştir. González-Tomé (1996) yine bir siyanobakteri olan *Nostoc sp.* ile yaptığı Bentagram çalışmalarında klorofil-*a* değerinde yüksek konsantrasyonlarda uygulamaya bağlı olarak azalmalar gözlemlemiştir.

Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün boyunca maruz bırakılan *C. vulgaris*'de OD 560 değerlerinde artan konsantrasyonlara bağlı anlamlı bir artış

gözlenmiştir. Bu artış 2. günde 200, 400 ve 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında gözlenirken, 5., 6. ve 7. günlerde artan konsantrasyonlarda artma gözlenmiştir. 10, 20, 30, 40 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin kontrole göre OD560 değerlerinde 1. ve 2. günlerde anlamlı bir artış görülürken, 3. günden itibaren artan konsantrasyonlara (özellikle 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$) bağlı olarak anlamlı azalmalar görülmüştür. 3. gün 10 ve 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarındaki değişim anlamsızdır. Cambio herbisitinin farklı konsantrasyonlarına 7 gün boyunca maruz bırakılan *C. vulgaris*' de klorofil-*a* değerlerinde artan konsantrasyonlara bağlı genel olarak anlamlı bir artış görülmektedir. Bununla birlikte 1. ve 2. günlerde tüm konsantrasyonlarda, 3. gün 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 4. gün ise 100 ve 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonları için anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. 10, 20, 30, 40 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin kontrole göre klorofil-*a* değerlerinde artan konsantrasyonlara bağlı anlamlı azalma gözlenmiştir. Cambio herbisitinin *A. platensis* siyanobakterisi üzerinde hem büyümeyi önleyici hem de klorofil-*a*'yı inhibe edici etkileri bulunmaktadır. Bozic ve ark. (2016), ayçiçeği ıslahında Nikosülfuronu kullandıklarında herbisit stresine bağlı klorofil üretiminin arttığını gözlemişlerdir. Bunu da Nikosülfuronun ALS sentaz enziminin durdurulmasına karşı bir savunma cevabı oluşturmasına bağlamışlardır. Bizim çalışmamızda da artan OD 560 ve klorofil-*a* değerlerinin artışının herbisit stresine bir cevap oluşturmak için ya da herbisiti algin substrat olarak kullanmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Leboulanger ve ark. (2001), yaptıkları bir çalışmada temiz su kaynaklarındaki *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Chlorella vulgaris*, *Navicula accomoda* ve *Oscillatoria limnetica*'nın mikroalg popülasyonu üzerinde Atrazin ve Nikosülfuron herbisitlerinin farklı konsantrasyonlarının büyüme koşulları üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmaya göre EC50 (kullanılan kimyasalın en etkili olduğu konsantrasyonun yarısı) değerleri belirlenmiştir ve bu değerler doğrultusunda Geneva Gölü'nün doğal algleri üzerine bir mikrokozmoz deneyi düzenlenmiştir. 40 ile 100 $\mu\text{g/L}$ aralığında Nikosülfuron eklendiği 10 günlük deney sürecinde *P. subcapitata*, *C. vulgaris* ve *N. accomoda* alglerinin büyüme oranı ve klorofil-*a* miktarı bakımından incelendiğinde artış olduğu gözlenmiştir. Seguin ve ark. (2001), Atrazin ve Nikosülfuronu 2 ile 30 $\mu\text{g/L}$ kullanarak yaptıkları mikrokozmoz deneylerinde fitoplanktonun klorofil-*a* miktarlarının arttığını

gözlemlemişlerdir. Bunun sebebini de sulfonilüre grubu herbisitlerin alglerde oluşturduğu toksisiteye bağlı amino asit duyarlılıklarını etkilemesine bağlamışlardır.

Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris*'de SOD enzim aktivitesi artış göstermiştir. Fotosentetik inhibitör olarak çalışan Bentagram, redoks tepkimelerinde ROS'ların oluşumunu sağlayan bir herbisittir (Kortekamp, 2011). Hücrelerde oksidatif stres yaratıp, membran yapısı, antioksidan sistemler arasında dengesizlik oluşturduğu düşünülmektedir. Galhano ve ark. (2010) Portekiz piriñ tarlalarında bulunan *Anabaena cylindrica* siyanobakterisinin Bentagrama maruz bırakılmasına bağlı, bu türün antioksidan savunma sistemleri üzerinde etkisine bakmak üzere çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada SOD aktivitesinin artan konsantrasyonlara bağlı artış gösterdiğini gözlemlemişlerdir. Yine Galhano ve ark. (2011) *Noctoc muscorum* üzerinde Bentagram uyguladıklarında artan konsantrasyona bağlı SOD enzim aktivitesinin arttığını göstermişlerdir. Bentagram'a maruz bırakılan mutant bir siyanobakteri olan *Synechococcus elongatus* PCC7942 suşunda SOD enzim aktivitesi 2-3 kat artış göstermiştir (Bagchi ve ark., 2012). SOD enzimi hücrelerde ilk detoksifikasyon enzimi ve reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı birinci basamak savunma sisteminin bir parçası olarak görev yapan önemli bir endojen antioksidan enzimdir (Ighodaro ve ark., 2017). Kong ve Sang (1999) SOD enziminin alg hücrelerinde kirlilik oranı arttıkça, hücresel detoksifikasyon sisteminin uyarıldığını ve SOD sentezinin başladığını, böylece aktif oksijeni yok eden anahtar enzim rolünü üstlendiğini göstermişlerdir. Ayrıca bu tür değişiklikler moleküler düzeyde gerçekleşiyor olup, büyüme ve üremeden de önce oluşmaktadır (Rabinowich and Fridovich, 1985). Dolayısıyla, SOD enzimi hassas bir biyomarker ve kirliliğin erken uyarısı gibi kullanılabilir (Li ve ark., 2005).

Bentagram herbisitinin farklı konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis*' de SOD enzim aktivitesinde anlamlı bir artış gözlenmemiştir. 200 µg mL⁻¹ konsantrasyonda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiş ise de yüksek konsantrasyonlarda kontrole göre değişmemiştir. Cambio etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin artan konsantrasyonlarında toplam SOD aktivitesi her ne kadar 20 ve 50 µg mL⁻¹ konsantrasyonlarında artış gösterse de bu artış

istatistiksel olarak anlamlı değildir. Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* SOD enzim aktivitesi önce artma, daha sonra azalma şeklinde bir eğilim göstermiştir. SOD enzim aktivitesindeki bu artış sadece $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda anlamlı iken, $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonda en az seviyededir. Rai ve ark. (2013) *C. vulgaris* algı üzerinde yaptığı bir çalışmada kullandıkları ağır metalin artan konsantrasyonları için SOD aktivitesinin önce arttığını fakat yüksek konsantrasyonlarda azaldığını bulmuşlar ve bunun sebebinin de ağır metalin ya direk olarak SOD genine etki etmesi ya da dolaylı olarak O_2^- seviyesini artırması olarak yorumlamışlardır. *Scenedesmus obliquus* algı üzerinde Cypermethrin insektisiti denenmiş ve düşük konsantrasyonlarda bu insektisit SOD aktivitesi artırıcı etkisinin, yüksek konsantrasyonlarda ise inhibe edici etkisinin bulunduğu belirlenmiştir (Wang ve ark., 2012). Lee ve Shin (2003), *Nannochloropsis oculata* algı üzerine kadmiyum stresini ölçmek için yaptıkları çalışmada SOD enzim aktivitesinin azaldığını görmüşlerdir. H_2O_2 miktarının artmış olmasına bağlı SOD enzim aktivitesini inhibe edebileceği düşünülmektedir (Vitoria ve ark., 2001). Ayrıca *Gonyaulax polyedra* algı üzerinde ışığın etkisi çalışılmış ve gece fazında fotosenteze paralel olarak SOD enzim aktivitesinin 2-3 kat azaldığı gözlemlenmiştir (Hollnagel ve ark., 1996). Bizim çalışmamızda da Cambio herbisiti uygulanan konsantrasyonlarda *A. platensis*' de klorofil-*a* miktarında azalmalara neden olmuştur. Fotosentetik metabolizmanın kaybı SOD enzim aktivitesinde anlamlı azalmalara neden olabilmektedir. Bu çalışmaların sonuçları bizim Bentagram ve Cambio herbisit uygulamalarından elde ettiğimiz sonuçlara benzemektedir.

Askorbat peroksidaz (APOD) ve glutatyon redüktaz (GR), esas olarak kloroplastlarda ve diğer hücre organellerinde üretilen ve H_2O_2 'yi temizleyip hücrenin redoks durumunu koruyan enzimlerdir. APOD zararlı H_2O_2 'yi temizlemek için askorbik asidi kullanmaktadır (Verma ve Dubey, 2003).

Glutatyon redüktaz bakteriden mayaya, hayvandan bitkiye kadar tüm canlı aleminde korunmuş bir enzimdir. Bitki hücreleri oksidatif stres sonucu oluşan H_2O_2 'den kurtulmak için Asada - Halliwell yolağı adı verilen bir takım antioksidan enzimlerin görev aldığı yolu kullanmaktadırlar ve bu yolda görevli enzimlerden biri GR enzimidir (Arora ve ark., 2002). Bu enzimlerin aktivitesinin artması hücresel stresi belirler.

Bentagram etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam GR enzim aktivitesi sadece 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Bentagram konsantrasyonunda kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. APOD enzim aktivitesi ise kontrole göre artış göstermekle beraber, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bir artış değildir. Bizim çalışmamızda sadece GR enziminin 960 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda aktivitesinin artması bu dozun hücrel hasar için kritik konsantrasyon olduğunu göstermektedir.

Bentagram etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin artan konsantrasyonlarında APOD aktivitesi kontrole göre 100 ve 800 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiş, 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda anlamlı olarak artmış, 400 ve 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında ise anlamlı olarak azalmıştır. GR, askorbatın yeniden üretilmesi için gerekli bir enzim olup (Broadbent ve ark., 1995), APOD enzim aktivitesi de ortamda bulunan askorbat ve H_2O_2 miktarları ile ilişkilidir. Artan Bentagram konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin GR enzim aktivitesi 600 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonu hariç kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Bitki hücreleri, gerekli thiol gruplarının oksidasyonu ile inaktif enzim oluşumunu önlemek için glutatyon redüktaz enziminin aktivitesini artırmaktadır (Gamble ve Burke, 1994). Bizim çalışmamızda da belirtilen konsantrasyonlarda GR enzim aktivitesinde değişim olmaması, bu pestisit uygulamalarında benzer konsantrasyonlarda APOD enziminin miktarında değişim olmamasını destekler çünkü askorbat havuzu GR enzimi tarafından dengelenir. GR enzim aktivitesinin APOD enzim aktivitesi ile ilişkili olduğu daha önceki çalışmalarda rapor edilmiştir (Maliick ve Rai, 1998; Teisseire ve Vernet, 2001). Das ve Bagchi (2012), mutant *Synechococcus elongatus* PCC7942 suşu üzerinde Bentazon uyguladıklarında GPX-GR enzim aktivitesinin %60 oranında arttığını raporlamışlardır. GR enzim aktivitesini savunma stratejisi olarak artırdığı gözlenmiştir. Bu algin GR enzim aktivitesinin artan konsantrasyonlarda azalması, GR aktivitesi için substrat oluşturacak olan GSH havuzunun etkilenmesine, böylece de GSH'nin GSSG'ye dönüşümünün baskılanmasına sebep olduğu düşünülmektedir (Galhano, 2010). Benzer şekilde 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonundaki SOD enzim aktivitesindeki değişimler ile paraleldir. Çünkü SOD enzimi ortama H_2O_2 sağlar. Ayrıca gerek SOD gerekse glutatyon redüktaz enzimlerinin oksijenin oluşturacağı

hasara karşı oldukça duyarlı bileşenler oldukları söylenmektedir (Foster ve Hess, 1980).

Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 100, 200, 300, 400 ve 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam APOD, GR enzim aktiviteleri ile MDA, toplam H_2O_2 ve serbest prolin miktarları kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermemiştir. Dewez ve ark. (2005), tek hücreli bir alg üzerinde denedikleri bir fungusitin fotosentetik ve enzimatik biyomarker hassasiyeti üzerinde yaptıkları çalışmada, GR'nin bundan pek etkilenmemesini okside glutasyon havuzunun diğer antioksidan enzimlerce kullanılmış olmasına bağlamaktadırlar. Bizim çalışmamızda da grafiklerin paralellik göstermesi bu çalışma ile doğrulanmaktadır.

Cambio etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin 10, 20, 30 ve 40 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam APOD aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermezken, 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda anlamlı olarak azalmıştır. Kumar ve ark. (2008), endosülfan uyguladıkları 3 farklı siyanobakteri türünde artan konsantrasyonlara bağlı APOD, KAT ve GR enzim aktivitesi ve prolin miktarı ile MDA miktarını incelediklerinde, MDA miktarındaki değişim diğer antioksidan parametrelerdeki değişime paralellik göstermiştir. Bu sonuçlar da bizim çalışmamızı desteklemektedir.

Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinde sadece 20 $\mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda GR enzim aktivitesi kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı artış göstermiştir. Bajguz (2010)'un *C. vulgaris* ile yaptığı çalışmada kadmiyum, bakır ve kurşun gibi ağır metaller uygulandığında ağır metal stresine karşı GR enzim aktivitesinin arttığını gözlemlemiştir. Yaşar ve ark. (2008), karpuzun (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Mansf.) gelişimine tuz stresinin etkisine baktıkları çalışmalarında, tuza-toleranslı genotiplerin GR enzim aktiviteleri kontrol bitkilerine göre oldukça yüksek çıkmıştır. Tuza-duyarlı olanların GR aktiviteleri kendi kontrol bitkilerine göre azalma göstermiştir.

Hücrelerde oksidatif strese bağlı olarak görülen lipid peroksidasyonun başlıca yan ürünlerinden birini MDA oluşturmaktadır. Bentagramın artan konsantrasyonlarına bağlı olarak *C. vulgaris* kültürlerinin toplam MDA miktarları kıyaslandığında, kontrole göre sadece $960 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir. Artan GR enzim aktivitesi de bu bilgiyi desteklemektedir.

Bentagramın uygulanan tüm konsantrasyonlarına maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam MDA miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemiştir. Bentagram herbisiti için MDA miktarındaki değişimler H_2O_2 miktarındaki değişimler ile paralellik göstermektedir. Lin ve Kao (2000), *Oryza sativa* bitkisinde tuz stresi denediklerinde hem H_2O_2 miktarında hem de MDA miktarında değişim olmamasını diğer antioksidan enzimlerin aktivitesindeki değişimlere bağlamışlardır. Ayrıca prolin miktarındaki değişimler ile H_2O_2 ve MDA miktarlarındaki değişimlere bakıldığında sonuçların paralellik göstermesi, prolinin hücre zar hasarını ve MDA miktarını önlemiş olabileceğini düşündürmektedir. Prolini aşırı üreten transgenik *Chlamydomonas reinhardtii* alginde kadmiyum uygulamasının MDA miktarında değişim oluşturmaması, prolinin antioksidan olarak davranması nedeniyle serbest radikal zararını önlediği şeklinde yorumlanmıştır (Siripornadulsil ve ark., 2002). 10, 20, 30, 40 ve $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin de MDA miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişim göstermemiştir. Biyolojik olarak MDA'nın ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin indikatörü olması anlamında önemlidir (Altınışik, 2000). Hidrojen peroksitin kendisi zayıf indirgeci bir bileşik olup, Fenton ve Haber –Weis reaksiyonları ile ROS'ların en güçlüsü olan hidroksil radikali oluşumuna ve böylece hücrede hasara (lipid peroksidasyonuna) sebep olmaktadır (Özcan ve ark., 2015). Bununla beraber Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 100, 200, 300, 400 ve $500 \mu\text{g mL}^{-1}$ konsantrasyonlarında toplam MDA miktarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermediği gözlenmiştir.

Bentagram'ın artan konsantrasyonlarına maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin toplam H_2O_2 miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir. H_2O_2 miktarında büyük değişikliklerin olmaması, GR enzim

aktivitesinin de artması ile desteklenmiştir. Benzer şekilde artan Bentagram konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam H_2O_2 miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir. Das ve Bagchi (2012), mutant *S. elongatus* PCC7942 suşu üzerinde Bentagram ile yaptığı çalışmalarda yabancı tipe göre beş kat daha hızlı hücre büyümesi gözlemlemişlerdir. Bunu sahip olduğu H_2O_2 detoksifikasyon mekanizması ile başardığını, böylece daha sınırlı lipid peroksidasyonu gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Galhano ve ark. (2010), Bentazon uyguladıkları *A. cylindrica*'da GR-GSH, KAT ve APOD enzimlerince H_2O_2 'nın ortamdaki uzaklaştırıldığını rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da bu durum anlamlı değişiklikler göstermeyen SOD ve APOD enzimleri ile açıklanabilir. Çünkü SOD enzimi etkinliğini yitirirse, üretilen H_2O_2 miktarı da azalmış olurken, APOD enzimi etkinliğini yitirirse, bu durumda ortamda H_2O_2 birikimi artmış olur. Hücrelerdeki H_2O_2 birikimini belirleyen ve önemli rol oynayan antioksidan enzim APOD'tur (Asada, 1992).

Cambio etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin 100, 200, 300, 400 ve 500 $\mu g mL^{-1}$ konsantrasyonları ile 10, 20, 30, 40 ve 50 $\mu g mL^{-1}$ konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin toplam H_2O_2 miktarındaki artış kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir. Hücredeki H_2O_2 miktarında önemli değişikliklerin olmaması, muhtemel olarak APOD enzimi gibi H_2O_2 içeriğini tüketen enzimlerin etkinliğinden ileri gelmekte olabileceğini düşündürmektedir (Mallick ve Mohn, 2000).

Artan Bentagram konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermezken, en yüksek konsantrasyon olan 960 $\mu g mL^{-1}$ Bentagram konsantrasyonuna maruz bırakılan *C. vulgaris* kültüründe serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır. Artan Bentagram konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalma göstermiştir. Literatür çalışmalarında genellikle stres koşullarında prolin miktarının arttığı çalışmalar bulunsa da aksi çalışmalar da mevcuttur. *Trebouxia* algisi üzerinde sülfür dioksit adı verilen

atmosferik kirleticinin, prolinin biyosentezini durdurmasına bağı serbest prolin miktarının azaldığı gözlenmiştir (Ewald ve Shclee, 1983). Buna benzer şekilde bizim çalışmamızda da prolinin azalması ortamda toksik maddelerin biriktiğinin, prolin sentezinin engellenmiş olabileceğinin ve prolinin yapısının bozulmuş olabileceğinin bir göstergesi olabilir. Ayrıca azalan prolin miktarı serbest prolinin serbest radikaller tarafından kullanılmış olma ihtimalini düşündürmektedir. Pestisit etkili prolin üretiminin siyanobakterilerde neredeyse hiç bulunmadığı bilinmektedir (Galhano, 2010). Aynı şekilde artan Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *C. vulgaris* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı değişiklik göstermemiştir.

10, 20, 30, 40 ve 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$ Cambio konsantrasyonları etkisine maruz bırakılan *A. platensis* kültürlerinin serbest prolin miktarı kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı olarak artış göstermektedir. Fotosentez sırasında endosülfanın oluşturacağı toksisiteye bağı olarak meydana gelen ROS'ların oluşturduğu membran peroksidasyonu ve oksidasyon problemlerine bağı olarak prolin birikimine yol açtığı rapor edilmiştir (Kumar ve ark., 2008). Bunun dışında *Spirulina* ve *Anabaena* siyanobakterilerinde yapılan çalışmalarda metal iyonu stresine bağı olarak metal şelatlama özelliği bulunan prolinin arttığı, bu durumun da hücrelerin protein miktarını arttırdığı ileri sürülmektedir (Sultan ve Fatma, 1999; Kumar ve ark., 2004). Prolin stres koşullarında ROS'ların oluşumu engellemekte (Alia ve Saradhi, 1993), osmotik düzenleyici olarak rol oynamakta (Kavir ve ark., 2005) ve OH^- iyonu yakalayıcısı olarak protein, hücre zarı gibi makromoleküller ile etkileşime girerek fonksiyon ve yapı stabilizatörü gibi çalışmaktadır (Saradhi ve Saradhi, 1991; Kavir ve ark., 2005). Bu tip çalışmalar prolinin stres koşullarında arttığını desteklemektedir.

Uygulanan her iki herbisitte de SOD enzim aktivitesinde anlamlı değişiklik olmaması, ortamda serbest radikal oluşumunu teşvik ettiğini düşündürmektedir. Bunun dışında herbisite maruz bırakılan *Chlorella pyrenoidosa* alginde büyüme ve klorofil miktarı azaldıkça, SOD ve peroksit enzimlerinin aktivitelerinde artış gözlenmiştir (Zhang ve ark., 2014). Dolayısıyla *C. vulgaris*'de Cambio uygulandığında artan fotosentetik pigment miktarı, SOD enzim aktivitesinin azalmasıyla sonuçlanırken, *A. platensis* 'de

azalan klorofil miktarı, artan SOD enzim aktivitesiyle sonuçlanmıştır. Bu da siyanobakteride lipid peroksidasyonunu artıran bir faktör olduğunu düşündürmektedir. Lipid peroksidasyonu ve MDA arasındaki doğru orantı düşünüldüğünde (Kumar ve ark., 2008), Cambioya maruz bırakılan *C. vulgaris*'de MDA ve hidrojen peroksit miktarında değişim olmaması, bu herbisit in alg tarafında stres oluşturmadığını düşündürmektedir. Aynı şekilde GR, APOD enzim aktivitesi ve prolin de bu durumdan etkilenmemiştir. Cambioya maruz kaldığında *A. platensis*'de H_2O_2 'de değişiklik gözlenmemesi, bu canlıların Halliwell-Asada yolağını aktif kullanıp, GR ve APOD enzimlerini kullandığını düşündürmektedir. Çünkü MDA oranında önemli değişiklik gözlenmemiş, bu da lipid peroksidasyonunu azaltmıştır. Ayrıca artan konsantrasyonlara bağlı prolin miktarında artış gözlenmesi, serbest radikal üretimi ile prolin birikmesi arasındaki korelasyonu doğrulamaktadır (Kumar ve ark., 2008). Lin ve Kao (2008), pirinçte NaCl stresine baktıklarında enzim aktivitesinin etkin olmasına bağlı, MDA birikiminin olmadığını dolayısıyla da lipid peroksidasyonu ve yaprak dokularda sızıntı olmadığını gözlemlemişlerdir. Hücre yaşlanmasına karşı *Pisum sativum* bitkisinde yapılan bir çalışmada, MDA miktarının, artan H_2O_2 'ye rağmen değişmediği, bu durumun gerekçesinin de MDA'nın metabolize ediliyor olabileceği şeklinde rapor edilmiştir (Jimenez ve ark., 1998). Cambio ve Bentagram uygulamalarında benzer olarak yine prolin miktarının artması MDA miktarının dengelenmesine katkıda bulunmuştur.

Prolinin mantar ve mayalarda ROS oluşumunu, alglerde ise ağır metal stresine bağlı metal şelatör gibi işlev görerek lipid peroksidasyonunu engellediğine dair çalışmalar bulunmaktadır (Alia ve Saradhi, 1991; Bassi ve Sharma, 1993; Tamim, 2017). Bunu yapabilmek için ise glutamattan sentezlenen prolinin NADH ve H^+ miktarını ve ortamın asitliğini azaltmasına bağlı bir adaptasyon geliştirdiği düşünülmektedir (Venekemp ve ark., 1987). Prolin ayrıca antioksidan enzim aktivitesini artırma (Liang ve ark., 2013), antioksidan enzimlerin stabilizasyonu (Liang ve ark., 2013), serbest radikallerin yakalanması (Alia ve Saradhi, 1993) ve singlet oksijen tutucu aktivitesi (Szabados ve Savoure, 2009; Hayat ve ark., 2012; Liang ve ark., 2013), hücreler arası redoks konsantrasyonun ayarlanması ($NADP^+/NADP$ ve GSH/GSSG oranlarını) gibi görevleri yürütmektedir (Saradhi ve Saradhi, 1991; Liang ve ark., 2013). Prolin,

ozmolit ya da ozmoprotektan olarak isimlendirilmektedir (Kavir ve ark., 2005; Liang ve ark., 2013). Maya ve mantarlarda ROS seviyesini azaltarak apoptozun önlenmesine, alglerde ağır metal kaynaklı lipid peroksidasyonunun azaltılmasına ve insanda karsinojenik oksidatif strese karşı prolinin önemine dair çalışmalar mevcuttur (Szabados ve Savoure, 2009). Prolin stres koşullarında lipid peroksidasyonuna karşı üretilen bir imino asittir (Fatma ve ark., 2007). Galhano ve ark. (2011), bir siyanobakteri olan *Nostoc muscorum* üzerinde Bentazon herbisiti ile yaptıkları çalışmada hücre içinde rastladıkları prolin miktarının arttığını, bunun da pestisit, tuzluluk, kuraklık ve diğer çevresel koşullar gibi stres koşullarına karşı üretildiğinin önemli bir göstergesi olduğunu belirtmişlerdir. Yüksek bitkilerde de bu şekilde stres koşullarında prolin biriktiği gözlenmiştir (Bates ve ark., 1973; Kumar ve ark., 2008). Bu çalışmalar prolinin stres koşullarında arttığını desteklese de, prolinin stres koşullarında azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur. *Trebouxia* algi üzerinde denenen sülfetin prolin sentezini durdurduğu gözlenmiştir (Ewald ve Shclee, 1983). Benzer şekilde kullanılan Cambio herbisitinin *C. vulgaris*'de, Bentagram herbisitinin de her iki alg üzerinde prolin sentezini engellemiş veya prolinin konfigürasyonunu bozmuş olabileceği düşünülmektedir. Aynı şekilde ara konsantrasyonlarda prolin miktarının azalmış olması ise serbest radikaller tarafından kullanılmış olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak bu çalışmada biyokütle ve azalmanın artan Cambio ve Bentagram konsantrasyonlarına bağlı olduğu bulunmuştur. Uygulanan farklı konsantrasyonlardaki farklı herbisitlerin, iki farklı tür üzerindeki antioksidan enzim aktivitelerinin ve parametrelerinin etkilerinin farklı olduğu gözlenmiştir. Sebep olarak ise canlıların ROS üretme yeteneklerinin farklı olmasına bağlanabileceği fikrini düşündürmektedir. Kullanılacak herbisitlerin seçiminde bu çalışmada kullanılan konsantrasyonlar baz alınması ilerleyen çalışmalara ışık tutacaktır. Ayrıca etken maddesi Nikosülfuron olan Cambio' nun alglerin toksisitesi üzerine literatürde yapılan çalışmalar kısıtlıdır. Bu anlamda yapılan bu çalışma önemli bir boşluğu dolduracaktır. Şu da unutulmamalı ki bir akuatik sistem tek tip bir herbisit/ pestisite maruz kalmadığı gibi, sisteme giren herhangi bir pestisit de degradasyona uğrayıp farklı yan ürünler de oluşturabilmektedir. Dolayısıyla aslında pestisitlerin mikroorganizmalarca

oluşturulabilecek farklı kombinasyonları çalışılmalıdır (Delorenzo ve ark., 2001). Herbisit kaynaklı çevresel kirlenme tespitinde büyük bitkilere kıyasla tek hücreli bu küçük organizmaların kullanılması hızlı ve güvenilir göstergeler olarak daha sonraki çalışmalara ışık tutacaktır.



KAYNAKÇA

Anonim, 2003. The e-pesticide manual. 13th Edition. Version 3.0.

Anonim, 2014. Global availability of information on agrochemicals <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/>. Erişim tarihi: 26.08.2014.

Aktar, S., Cebe, G. E., 2010. Alglerin genel özellikleri kullanım alanları ve eczacılıktaki önemi. Ankara Ecz. Fak. Derg. 39 (3) 237-264.

Altınışık, M., 2000. Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar. Aydın: Tıp Fak. Biyokimya Ders Notları.

Aliahmat, N. S., Noor, M. R. M., Yusof, W. J. W., Makpol, S., Ngah, W. Z. W., Yusfot, Y.Q.M., 2012. Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels can be modulated by Piper betle, tocotrienol rich fraction and *Chlorella vulgaris* in aging C57BL/6 mice. CLINICS; 67(12):1447-1454.

Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science, VOL. 82, NO. 10.

Asada K.1992. Ascorbate peroxidase—hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. Physiol. Plant, 85: 235-241.

Asada, L., 2006. Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions, Plant Physiology, Vol. 141, pp. 391–396.

Aysel, V., 2005. Check-List of the freshwater algae of Turkey, Journal of the Black Sea/ Mediterranean Environment, 11, 1-124.

Bagchi, S.N., Das, P.K., Banerjee, S., Saggu, M., Bagchi, D., 2012. A bentazone-resistant mutant of cyanobacterium, *Synechococcus elongatus* PCC7942 adapts different strategies to counteract on bromoxynil- and salt-mediated oxidative stress. Physiol Mol Biol Plants. 18(2):115–123.

Bassi, R., Sharma, S.S. 1993. Proline accumulation in wheat seedlings exposed to zinc and copper. Phytochemistry, 33: 1339–1342.

Bates L.S., Waldren P., Tare I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 103: 875-883.

- Beyer W. F., Fridovich I. 1987. Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161: 559–566.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72. 248–254.
- Büyük, İ.- Aras, S., Soydam-Aydın, S., 2012. Bitkilerin stres koşullarına verdiği moleküler cevaplar. *Türk Hij Den Biyol Derg.*; 69(2): 97-110.
- Capelli, B., Cysewski, G.R., 2010. “Potential health benefits of spirulina microalgae: A review of the existing literature”. Cyanotech Corporation.
- Cici,D., 2007. İnsan Eritrosinlerinden Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Enziminin Saflaştırılması ve Bazı Pestisitlerin Enzim Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması. Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi.
- Ciferri, O., 1983. "Spirulina, the edible microorganism." *Microbiol Rev.* 47.4:551-578.
- Couderchet, M., Boger, P., 1993. Chloroacetamide-induced reduction of fatty acid desaturation. *Pestic Biochem Physiol* 45:91–97.
- Çaylak, E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*: 9 (1) : 73-83.
- Das, P.K., Bagchi, S. N., 2012. Role of bacterioferritin comigratory protein and glutathione peroxidase-reductase system in promoting bentazone tolerance in a mutant of *Synechococcus elongatus* PCC7942. *Protoplasma*; 249:65–74. DOI 10.1007/s00709-011-0262-9.
- Dat, J.F., 1998. Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermotolerance in mustard seedlings, *Plant Physiology*, 118: 1455–1461.
- Delorenzo, M.E., Scott, G.I. and Ross, P.E., 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A Review, *Environmental Toxicology and Chemistry*, Vol. 20, No. 1, pp. 84–98.
- Dere, Ş., Sıvacı, E.R., 2003. Bazı pestisitlerin farklı dozlarının *Monoraphidium contortum* (Thur) Komark-Legn. Türünün popülasyon yoğunluğuna etkisi. *Anadolu University Journal of Science and Technology Cilt/Vol.: 4 - Sayı/No: 1 : 93-100.*
- Dewez D., Geoffroy L. Vernet G., Popovic R. 2005. Determination of photosynthetic and enzymatic biomarkers sensitivity used to evaluate toxic effects of copper and fludioxonil in alga *Scenedesmus obliquus*. *Aquat. Toxicol.*, 74 (2):150-159.

- EPA – US Environmental Protection Agency. 2004. Report of the Food Quality Protection Act (FQPA) Tolerance Reassessment Progress and Risk Management Decision (TRED) for Nicosulfuron.
- EPA – US Environmental Protection Agency, 1998. Toxicological Review of Bentazon. In Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). (CAS No. 25057-89-0).
- Ewald D., Schlee D. 1983. Biochemical effects of sulphur dioxide on proline metabolism in the alga *Trebouxia* sp. *New Phytol.*, 94 (2): 235–240.
- Fedtko, C., 1982. *Biochemistry and Physiology of Herbicide Action* Springer-Verlag, New York, NY, USA.
- Fujisawa, T., Narikawa, R., Okamoto, S., Ehira, S., Yoshimura, H., Suzuki, I., Masuda, T., Mochimura, M., Takaichi, S., Awai, K., Sekine, M., Horikawa, H., Yashiro, I., Omata, S., Takarada, H., Katano, Y., Kosugi, H., Tanikawa, S., Ohmori, K., Sato, N., Ikeuchi, M., Fujita, N., Ohmori, M., 2010. “Genomic Structure of an Economically Important Cyanobacterium, *Arthrospira (Spirulina) platensis* NEIS-39.” *DNA Research* 17: 85-103.
- Galhano, V., Santosa, H., Olibeirab, M.N., Gomes-Laranjoa, J., Peixotoc, F., 2011. Changes in fatty acid profile and antioxidant systems in a *Nostoc muscorum* strain exposed to the herbicide bentazon. *Process Biochemistry* 46. 2152–2162.
- Galhano, V., Gomes-Laranjoa, J., Peixotoc, F., 2010. Bentazon Triggers the Promotion of oxidative damage in the Portuguese Ricefield Cyanobacterium *Anabaena cylindrica*: Response of the antioxidant system. *Wiley Online Library* (wileyonlinelibrary.com).
- Gamble, P. E., Burke J. J. 1984. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. Alterations in glutathione reductase activity. *Plant Physiol.* 76: 615–621.
- Gao, K., Ma, Z., 2007. “Photosynthesis and growth of *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Cyanophyta) in response to solar UV radiation, with special reference to its minor variant.” *Environmental and Experimental Botany* 63.1-3: 123-129.
- González, F., Romera, E., Ballester, A., Blázquez, M., L., Muñoz, J., A., and García-Balboa, C., 2011. *Microbial Biosorption of Metals*, Springer, 175 s.
- Gökpınar, S., Koray, T., Akcicek, E., Göksan, T., Durmaz, Y. 2006. Algal antioksidanlar. *Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi* 23: 85-89.
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z., 1997. Pestisitler, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 52, TC Sağlık Bakanlığı.

- Güner, H., 1991. Tohumusuz Bitkiler Sistematigi, I. Cilt, Ege Üniversitesi Fen Fak. Kitaplar Serisi No:108, 251 s., III.Baskı, İzmir.
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M.N., Wani, A.S., Pichtel, J., Ahmad, A., 2012. Role of proline under changing environments A review. *Plant Signaling & Behavior* 7:11, 1456–1466; November 2012; © 2012 Landes Bioscience.
- Heath R.L., Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.
- Hilmi, Ş., 1994. Oksidanlar ve antioksidanlar. *THT Drg*, 48,44-49.
- <http://www.agrofarm.net/?sayfa=IlacDetay&aranan=Cambio>, 2019.
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nicosulfuron#section=Top>, 2019.
- http://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Specs/bentazon.pdf, 2019.
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/bentazon>, 2019.
- <http://www.agrofarm.net/?sayfa=IlacDetay&aranan=Bentagran>, 2019
- Ighodaro, O.A., Akinloye, O.A., 2017. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria Journal of Medicine*.
- JMRP, 2012. Bentazone. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues.
- Juarez-Oropeza MA, Mascher, P.V., Torres-Duran, J.M., Paredes-Carbajal, M.C., 2009. "Effects of Spirulina on vascular reactivity." *J Med Food*. 12.1: 15-20.
- Kahvecioğlu, Ö., Kartal G., Güven A. and Timur S., 2003. Metallerin Çevresel Etkileri –I. (erişim adresi: www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf, erişim tarihi: 13.05.2007).
- Karabulut, H., Gülay, M.Ş., 2016. Serbest radikaller, *MAKÜ Sag. Bil. Deg.* 4 (1): 50-59.
- Kaya, S., 1996. Pestisitler ve yol açabileceği başlıca sorunlar. Çevre ve sağlık birimleri paneli notları. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Konferans Salonu. Ankara.
- Kaya, S., Pirinççi, İ., Bilgili, A., 2002. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, 2. baskı, Medisan Yayın, 385-402. Total Antioxidant Capacity and Malondialdehyde in Depressive Rotational Shift Workers.

- Kortekamp, A., 2001. Herbicides and Environment. Free online editions of InTech Books and Journals can be found at www.intechopen.com ISBN 978-953-307-476-4.
- Kumar S., Habib K., Fatma T. 2008. Endosulfan induced biochemical changes in nitrogen-fixing cyanobacteria. *Sci. of The Total Environ.*, 403 (1–3): 130–138.
- Leboulanger, C., Rimet, F., Lacotte, M. H., Bearard, A., 2001. Effects of atrazine and nicosulfuron on freshwater microalgae. *Environment International* 26; 131±135.).
- Li X., Ping X., Xiumei S., Zhenbin W., Liqiang X. 2005. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 60(2):188–92.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S. K., Becker, D.F., 2013. Proline Mechanisms of Stress Survival. *Antioxidants & Redox Signaling*. Volume 19, Number 9.
- Ma, J., 2001. Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two green algae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 68:275–281.
- Ma, J., Xu, L. Wang, S., Zheng, R., Jin, S., Huang, S. And Huang, Y., 2002. Toxicity of 40 herbicides to the green alga *Chlorella vulgaris*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 51, 128–132.
- Ma, J., Tong, S., Wang, P. and Chen, J., 2010. Toxicity of Seven Herbicides to the Three Cyanobacteria *Anabaena flos-aquae*, *Microcystis flos-aquae* and *Mirocystis aeruginosa*. *Int. J. Environ. Res.*, 4(2):347–352, Spring. ISSN: 1735-6865.
- Macedo, R.S., Lombardi, A.T., Omachi, C.Y., Rörig, L.R., 2008. Effects of the herbicide bentazon on growth and photosystem II maximum quantum yield of the marine diatom *Skeletonema costatum*. *Toxicology in Vitro* 22. 716–722.
- Mallick N, Mohn FH, 2000. Reactive oxygen species: response of algal cells. *J. Plant Physiol.* 157: 183–193.
- Mackinney Q. 1941. Absorption of light by chlorophyll solutions. *J. Biol. Chem.*, 140: 315–322.
- Marques, C.R., Pereira, R., Antunes, S.C., Cachada, A., Duarte, A.C., Gonçalves, F., (2011). In situ aquatic bioassessment of pesticides applied on rice fields using a microalga and daphnids. *Science of the Total Environment* 409. 3375–3385.

- Mishima T, et Al., 1998. "Inhibition of tumor invasion and metastasis by calciumspirulan (Ca-SP), a novel sulfated polysaccharide derived from a blue-green alga, *Spirulina platensis*". *Clinical and Experimental Metastasis*. 16.6: 541-550.
- Munkegaard, M., Abbaspoor, M., Cedergreen, N., 2008. Organophosphorous insecticides as herbicide synergists on the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and the aquatic plant *Lemna minor*. *Ecotoxicology*. 17:29–35.
- Mosulishvili, L. M., Kirkesali, E. I., Beikobylsky, A. I. ve Khizanishvili A. I., 2002. "Experimental Substantiation of the Possibility of Developing Selenium and Iodine Containing Pharmaceuticals Based on Blue-green Algae *Spirulina platensis*." *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30.1: 87-97. Web. 5 Oct 2011.
- Niki E., 1993. Antioxidant defenses in eukaryotic cells. In: Poli G, Albano E, Dianzani MU, eds. *Free radicals: from basic science to medicine*. Basel, Switzerland: Birkhauser Verlag:365–373.
- Nicosulfuron, 1996. Pest Management Regulatory Agency. Canada.
- Tamim., N. E., 2017. Proline. Ain Shams University, Faculty of Agriculture.
- 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. *Aquat Toxicol* 28: 275–292.
- PMRA-ARLA, 1996. Decision document: nicosulfuron. Canada: Pesticide Management and Regulation Agency. (42 pp.) <http://www.hc-sc.gc.ca/pmra-arla/e9601e.pdf>.
- Priya, B., Premanandh, J., Dhanalakshmi, R.T., Seethalakshmi, T., Uma, L., Prabakaran, D., Subramanian, G., 2007. Comparative analysis of cyanobacterial superoxide dismutases to discriminate canonical forms, *BMC Genomics*, 8, 435.
- Richmond, A., 1986. Outdoor Mass Cultures of Microalgae. In: Richmond A (ed.), *Handbook of Micoalgal Mass Culture*. CRC Press, Boca- Raton, FI, 285-330.
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J. B., Herdman, M., Stanier, R. Y., 1979. Generic assignments, strain histories ve properties of pure cultures of cyanobacteria, *Microbiology*, 111, 1-61.
- Ruggiero, M., A., Gordon, D. P., Orrell, T. M., Bailly, N., Bourgoin, T., Brusca, R.C., Cavalier-Smith, T., Guiry, M. D., Kirk, P. M., 2015. A Higher level classification of all living organisms. *PLoS ONE* 10(4): e0119248. doi:10.1371/journal.pone.0119248.

- Saker M.L., Thomas A.D., Norton J.H., 1999. Cattle mortality attributed to the toxic cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* in an outback region of North Queensland, Environmental Toxicology, Special Issue: Special Issue of Cyanobacterial Toxins, 14, 1, 179–182.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y. and Vaca- Garcia, C. 2014. Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 35: 265–278.
- Saradhi A., Saradhi P.P. 1991. Proline accumulation under heavy metal stress. J. Plant Physiol., 138: 554-558.
- Szabados, L., Savoure, A., 2009. Proline: a multifunctional amino acid. Elsevier Ltd. doi:10.1016/j.tplants.2009.11.009 Available online 23 December 2009.
- Seguin, F., Leboulanger, C., Rimet, F., Druart, J. C., Bérard, A., 2001. Effects of atrazine and nicosulfuron on phytoplankton in systems of increasing complexity. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 40, 198–208.
- Serim, A.T., Koca, E., Güzel, N.P., Asav, Ü., 2017. Vejetatif filtre şeritlerinde kullanılabilecek bazı dar yapraklı bitkilerin Rimnosulfuron ve Nicosulfuron'a toleransı. Turkish Journal of Weed Science 20(1): 1-9.
- Sgherri CLM, Loggini B, Puliga S, Navari-Izzo F. 1994. Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*: changes in response to desiccation and rehydration. Phytochemistry. 35: 561–565.
- Shehata, S.A., Lasheen M.R., Kobbia I., Ali G.H., 1999. Toxic effect of certain metals mixture on some physiological and morphological characteristics of freshwater algae, Water, Air, and Soil Pollution, 110: 119–135.
- Shelknanloymilan, L. 2013. Atık sularda azot ve fosforun *Chlorella vulgaris* Beijerinck yardımıyla deneysel olarak uzaklaştırılması, Ankara Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- Sikka, H.C., Pramer D., 1968. Physiological effects of fluometuron on some unicellular algae. Weed Sci 16:296–299.
- Simpson, D.M., Stoller, E.W., Wax, L.M., 1995. An in vivo acetolactate assay. Weed Technol; 9:17± 22.
- Sivritepe, N., 2000. Asma, üzüm ve şaraptaki antioksidantlar. Gıda. Dünya Yayınları. 12: 73-78.
- Slonczewski, J. L. ve John W. F., 2009. *Microbiology: An Evolving Science*. 2nd Ed. New York: W. W. Norton & Company, Inc.,. 141-685.

- Tanyolaç, J., 2011. Limnoloji, Tatlı Su Bilimi. Hatipoğlu Basım ve Yayımlar San. Tic. Ltd. Şti. Yenilenmiş 6. Baskı.
- USEPA (U.S. Environmental Protection Agency), 1989. Algal growth test. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluent and receiving waters to freshwater organisms. Cincinnati, OH: U.S. Environmental Protection Agency. pp. 147±74.
- Valentine, J.S., Wertz, D. L., Ltons, T.J., Liou, L.L., Goto, J. J., Gralla, E.B., 1998. The dark side of dioxygen biochemistry current opinion in chemical biology. 2, 253-262.
- Veglio, F. and Beolchini, F., 1997. Removal of metals by biosorption: a review, Hydrometallurgy, 44; 301-316.
- Venekamp JH, Lampe JE, Kout TM (1987). Organic acid as a source of drought-induced proline synthesis in field bean plant *Vicia faba*, L. J. Plant Physiol., 133: 654-659.
- Vitoria A.P., Lea P.J. and Azevedo R.A. 2001. Antioxidant enzyme responses to cadmium in radish tissues. Phytochemistry, 57: 701–710.
- Wang, S. Y., Jiao, H., Faust, M. 1991. Changes in ascorbate, glutathione and related enzyme activity during thidiazuron-induced bud break of apple. Plant Physiol., 82: 231-236.
- Weimberg, R. 1987. Solute adjustment in leaves of species of wheat at two different stages of growth in response to salinity, Physiol. Plantarum, 70: 381-388.
- WHO (World Health Organization), 2011. Guidelines for drinking-water quality, fourth edition. Geneva. ISBN: 978 92 4 154815 1.
- Yalçın-Duygu, D., 2017. *Chlorella vulgaris* Beyerinck [Beijerinck] (Chlorophyta) Suşlarının Kesikli Kültür Sisteminde Yoğun Kültürlerinin Üretimi Üzerine Bir Çalışma. LimnoFish. 3(2): 61-67. doi: 10.17216/LimnoFish.280547.
- Zhang, W., Liu, M., Zhang, P., Yu, F., Lu, S., Li, P., Zhou, J., 2014. Effects of Paraquat on Photosynthetic Pigments, Antioxidant Enzymes, and Gene Expression in *Chlorella pyrenoidosa* Under Mixotrophic Compared With Autotrophic Conditions. Arch Environ Contam Toxicol. 67:593–600.

ÖZGEÇMİŞ

Şükrüye ER, 25.01.1985 Bolu’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Bolu’da tamamladı. 2003 yılında Bolu İzzet Baysal Anadolu Lisesi’nden mezun oldu ve aynı yıl içerisinde Necatibey Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi bölümünü kazandı. 2008 yılında bu bölümü dördüncü olarak bitirdi. 2010 yılında Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji EABD’da yüksek lisans eğitimini tamamladı. Aynı yıl içinde başladığı doktora eğitimine, iş dolayısıyla 2015 yılında Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji EABD’da devam etti. Halen 2013 yılından beri Adapazarı Özel ENKA Anadolu Lisesi’nde biyoloji öğretmeni olarak çalışmaktadır.