

ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HERBİSİTLERDEN GLİFOSAT VE ETOKSİSULFURONUN *Scenedemus* sp.  
ÜZERİNE TOKSİK ETKİLERİ

U. BURCU SERİN ERMİŞ

SU ÜRÜNLERİ ANABİLİM DALI

ANKARA  
2006

Her hakkı saklıdır

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### HERBİSİTLERDEN GLİFOSAT VE ETOKSİSULFURONUN *Scenedesmus* sp. ÜZERİNE TOKSİK ETKİLERİ

U. Burcu SERİN ERMİŞ

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Su Ürünleri Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Nilsun DEMİR

Bu çalışmada, %48 glifosat içeren Knockdown ve %60 etoksissulfuron içeren Sunrice adlı herbisitlerin yeşil alglerden *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing üzerine zehirli etkileri incelenmiş ve 96 saatlik ortalama etkili derişimler (EC50) belirlenmiştir.

Deneyler statik olarak 3 tekerrür halinde yürütülmüştür. Her iki herbisit için altı farklı derişim (0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 g/l - %48'lik glifosat ve 0.008, 0.004, 0.002, 0.001, 0.0005, 0.00025 g/l - %60'lık etoksissulfuron) ve bir kontrol grubu kullanılmıştır. Deneme sıcaklık ve ışık koşullarının sabit tutulduğu iklim dolabı içerisinde gerçekleştirilmiştir.

%48'lik glifosatın *Scenedesmus obliquus* için EC50 değeri 80.002 mg/l (%95 güven aralığında= 47.634 mg/l - 118.186 mg/l), %60'lık etoksissulfuronun ise, 1.093 mg/l (%95 güven aralığında= 0.740 mg/l - 1.540 mg/l) olarak saptanmıştır.

Denemede %60 etoksissulfuron içeren herbisit için EC50 değerleri %48 glifosat içeren herbisite ait EC50 değerlerinden daha düşük bulunmuş ve *Scenedesmus obliquus* mikroalg türü için etoksissulfuronun glifosata göre daha zehirli olduğu belirlenmiştir.

**2006, 42 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** *Scenedesmus obliquus*, mikroalg, zehirlilik, EC50, herbisit

## ABSTRACT

Master Thesis

### TOXIC EFFECTS OF HERBICIDES GLYPHOSATE AND ETHOXYLSULFURON ON *Scenedesmus* sp.

U. Burcu SERİN ERMİŞ

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Fisheries and Aquaculture

Supervisor: Assoc. Prof. Dr Nilsun DEMİR

In this study, toxic effects of herbicides Knockdown and Sunrice which respectively contains %48 glyphosate and %60 ethoxysulfuron for the green algae *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing were investigated and 96 hr median effective concentrations (EC50) were determined.

The experiments were conducted with static bioassay method by 3 replicates. Six different concentrations (0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 g/l - %48 of glyphosate and 0.008, 0.004, 0.002, 0.001, 0.0005, 0.00025 g/l - %60 of ethoxysulfuron) and one control group were used for both herbicides. This study carried out in the incubator that the temperature and light conditions are fixed.

The EC50 value of herbicides which contains %48 glyphosate and %60 ethoxysulfuron for *Scenedesmus obliquus* were 80.002 mg/l (%95 confidence interval= 47.634 mg/l - 118.186 mg/l) and 1.093 mg/l (%95 confidence interval= 0.740 mg/l - 1.540 mg/l) respectively.

The value of EC50 for the herbicide which contains %60 ethoxysulfuron was found lower than the the value of EC50 for the herbicide which contains %48 glyphosate. It was determined that ethoxysulfuron is much more toxic than glyphosate for the microalgae *Scenedesmus obliquus*.

**2006, 42 pages**

**Key Words:** *Scenedesmus obliquus*, microalgae, toxicity, EC50, herbicide

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, araştırmalarımın her aşamasında bilgi, ve yardımlarını esirgemeyerek akademik ortamda olduğu kadar beşeri ilişkilerde de fikirleriyle gelişmeye katkıda bulunan danışman hocam Sayın Doç. Dr. Nilsun DEMİR'e, laboratuvar imkanlarından faydalanmamı sağlayan Sayın Prof. Dr. İbrahim DEMİR, Sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ ve Sayın Prof. Dr. Gökhan SÖYLEMEZOĞLU'na, çalışmalarımda yardımcı olan Sayın Araş. Gör. Dr. A. Çağlan KARASU BENLİ' ye ve hayatımın her aşamasında beni destekleyen ve çalışmalarım süresince birçok fedakarlıklar gösteren aileme ve sevgili eşim Araş. Gör. Sıtkı ERMİŞ'e en içten duygularıyla teşekkür ederim.

U. Burcu SERİN ERMİŞ  
Ankara, Temmuz 2006

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2.KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
2.1 Zehirlilik ve Biyodenyeler.....	5
2.1.1 Mikroalglerle yapılan biyodenyeler.....	6
2.1.2 Pestisit biyodenyeleri.....	8
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
3.1 Materyal.....	15
3.1.1 Deneme yeri.....	15
3.1.2 Deney Organizması.....	15
3.1.3 Denemede kullanılan herbisitler .....	16
3.1.4 Denemede kullanılan araç ve gereçler.....	18
3.2 Yöntem.....	20
3.2.1 Besin maddesi stok çözeltisi ve deney çözeltilerinin hazırlanması.....	20
3.2.2 Aşımın hazırlanması.....	20
3.2.3 Deney yöntemi.....	22
3.2.4 Deney koşulları.....	22
3.2.5 Denemede kullanılan herbisit derişimlerinin saptanması.....	22
3.2.5.1 Ön deney.....	23
3.2.5.2 Ana deney.....	23
3.2.5.3 EC <sub>50</sub> değerinin hesaplanması.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	24
4.1 % 48 Glifosat İçeren Herbisit ile Yapılan Deneye İlişkin Sonuçlar.....	24
4.1.1 % 48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar.....	24
4.1.2 % 48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar.....	25
4.1.3 % 48 glifosat içeren herbisit için EC <sub>50</sub> değerinin tespiti ve probit analizi.....	26
4.2 % 60 Etoksisulfuron İçeren Herbisit ile Yapılan Deneye İlişkin Sonuçlar.....	28
4.2.1 % 60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar.....	28
4.2.2 % 60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar.....	29

4.2.3 % 60 etoksisulfuron içeren herbisit için EC <sub>50</sub> değerinin tespiti ve probit analizi .....	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR.....	37
ÖZGEÇMİŞ.....	42

## SİMGELER DİZİNİ

°C	Celsius
g/l	Litrede gram
mg/l	Litrede miligram
g/da	Dekara gram
ml/da	Dekara mililitre
%	Yüzde konsantrasyon

## KISALTMALAR

LC	Öldürücü derişim
EC	Etkili derişim
LC <sub>50</sub>	Ortalama öldürücü derişim
EC <sub>50</sub>	Ortalama etkili derişim
EPSP	5-enolpiruvil şikimik asit-3-fosfat
ALS	Asetolaktat sentezi

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 <i>Scenedesmus obliquus</i> saf kültürü.....	17
Şekil 3.2 <i>Scenedesmus obliquus</i> .....	17
Şekil 3.3 Glifosatın kimyasal yapısı.....	18
Şekil 3.4 Etoksisulfuronun kimyasal yapısı.....	19
Şekil 3.5 Deney ortamı.....	22
Şekil 4.1 96 saat süreyle % 48 glifosat içeren herbisitinin ana deney derişimindeki hücre sayılarında gerçekleşen değişimler.....	26
Şekil 4.2 % 48 glifosat içeren herbisitinin ana deney derişimleri ile inhibisyon yüzdelerinin probitleri arasındaki ilişki.....	27
Şekil 4.3 96 saat süreyle % 60 etoksisulfuron içeren herbisitinin ana deney derişimindeki hücre sayılarında gerçekleşen değişimler.....	30
Şekil 4.4 %60 etoksisulfuron içeren herbisitinin ana deney derişimleri ile inhibisyon yüzdelerinin probitleri arasındaki ilişki.....	31

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Zehirlilik kategorileri.....	6
Çizelge 2.2 Biyodeneylelerde kullanılan bazı terimler.....	7
Çizelge 2.3 Pestisitlerin akvatik ortamların değişik kesimlerinde dağılım yüzdeleri.	9
Çizelge 2.4 Çeşitli herbisitlerin <i>Selenastrum</i> ve <i>Lemna</i> için etki mekanizmaları.....	10
Çizelge 3.1 Besin ortamı olarak kullanılan stok çözeltiler.....	21
Çizelge 4.1 %48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar.....	24
Çizelge 4.2 %48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar.....	25
Çizelge 4.3 %60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar.....	28
Çizelge 4.4 %60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar.....	29

## 1. GİRİŞ

Günümüzde çevresel problemler oldukça fazla ve karmaşıktır. Artan nüfus yoğunluğuna, gelişen endüstri ve teknolojiye paralel olarak kirleticilerin türleri, kaynakları ve miktarları da artmaktadır (Ünsal 1996).

İnsanların maruz kaldığı zehirli maddelerin biyolojik izleme metodu ile araştırılması bu maddelerin potansiyel sağlık risklerini ortaya koymak açısından oldukça önemlidir (Ma *et al.* 2001).

Tarımsal ekosistemler, doğal ekosistemlerin aksine insanların üretimi artırma çabaları nedeniyle çeşitli biçimlerde gübre, pestisit gibi birçok ek katkı ile bir anlamda yapaylaştırılmış ekosistemlerdir. Bu ekosistemde ürün kaybına neden olan zararlı, hastalık ve yabancı otlara karşı yapılan ilaçlamalarda atılan ilacın %0.015-6.0'sı hedef alınan canlı üzerine ulaşmakta ve yeterli etki alınmakta, geri kalan %94-99.9'luk kısım ise agroekosistemde hedef olmayan organizmalara ve toprağa ulaşmakta ya da çevredeki doğal ekosistemlere sürüklenme ve akıntı nedeniyle kimyasal kirleticiler olarak karışmaktadır (Yıldız vd. 2005).

Çeşitli fiziksel taşınma yolları ile diğer çevresel ortamlara ulaşan pestisitler, bu alanlardaki organizmalarda zararlı etkiler oluşturmaktadır. Bu sebeple pestisitlerin zehirlilik özellikleri uygulandıkları yerler ile sınırlı kalmamaktadır (Deneer, 2000). Bu maddelerin kullanımının artması ile hedef dışı organizmalar üzerinde geniş ölçüde araştırma yapılması zorunlu hale gelmiştir (Ma *et al.* 2002).

Bitki hastalıkları, böcekler, yabancı otlar gibi tarımsal zararlılara karşı kullanılan kimyasal bileşiklerin tamamına "pestisit" adı verilmektedir. Pestisitlerin tarımsal mücadelede yaygın bir şekilde kullanımı, bu maddelerin doğal sulardaki dağılımını artırmaktadır. Akvatik sistemlerde kirlenmeye neden olan pestisitler, kullanıldıkları alanlar ile üretildikleri fabrikalardan çeşitli yollarla atmosfere; göl, deniz gibi yüzeysel sular ve yeraltı sularına taşınmakta ve böylece geniş bir çevreye yayılmaktadır.

Akvatik sistemleri kirleten pestisitler, suda yaşayan bazı canlıların ölmesi ile tür kompozisyonlarının bozulmasına ve ekosistemin değişmesine yol açarak ağır ekolojik sonuçlar doğurmaktadır. Bu nedenle, pestisitlerin akvatik organizmalar üzerindeki etkilerini araştırmak gün geçtikçe artan bir önem kazanmaktadır (Peterson *et al.* 1994).

Kirleticilerin canlılar üzerine etkilerini belirleyebilmenin çeşitli yolları ve yöntemleri vardır. Bu yöntemlerden biri, ortam koşullarına benzer koşullarda laboratuarda yapılan kirlilik biyodenyeleridir. Bu deneyler sonunda elde edilen sonuçlar analiz edilerek kirleticilerin zararlı etkileri belirlenebilmekte ve bu etkilere karşı gerekli önlemler alınabilmektedir (Ünsal 1996).

Pestisitler, formülasyon yapıları, ilacın etki şekli, fiziki halleri, kullanma tekniği, yapılarındaki etkili madde grubu ve kullanıldıkları zararlı grubuna göre sınıflandırılırlar. Su canlıları açısından en önemli pestisit grubu sentetik organik maddelerden yapılmış pestisitlerdir (Atay ve Pulatsü 2000). Canyurt (1982) DDT, klordan, heptaklor, dieldrin ve lindan gibi pestisitlerin 1 mg/l derişimde bile fitoplankton büyüme hızını etkiledikleri, suda uzun süre parçalanmadan kaldıkları düşünüldüğünde ilk verimliliği düşürdükleri ve dolayısıyla zooplankton ve balıkların azalmasına neden olduklarını bildirmiştir.

Tarımsal ekosistemlerde kullanılan pestisitlerin önemli bir grubunu da herbisitler oluşturmaktadır. Herbisitler, alglerin tür kompozisyonlarını değiştirmek suretiyle akvatik toplulukların yapısını ve fonksiyonlarını bozmaktadır ((Ma *et al.* 2002).

Kirletici maddelerin ekosistemlere etkisini belirlemede kullanılan pestisit biyodenyelerinde en çok kullanılan canlı grubu mikroalglerdir. Algler, kirleticilerin çoğuna duyarlı olduklarından, kimyasal maddelerin su ortamındaki etkilerinin belirlenmesinde biyodeneý organizması olarak kullanılmaktadırlar. Herbisitlerin ve çeşitli endüstriyel kimyasalların zehirli etkilerinin belirlenmesi amacıyla mikroalglerle yapılan çeşitli araştırmalar bulunmaktadır (McFeters *et al.* 1983, Shehata *et al.* 1984, Geyer *et al.* 1985, Abdel-Hamid 1996, Wong 2000, Lu *et al.* 2001, Moreno-Garrido *et al.* 2001, Sabater and Carrasco 2001, Sáez *et al.* 2001, Sabater *et al.* 2002, Moreno-Garrido *et al.* 2003, Ma *et al.* 2003, Djomo *et al.* 2004). Rice ve Sika (1973), Neudorf

ve Khan (1975)'a göre, alglerde pestisit birikiminin pestisit yapısına, çözünürlüğüne, ortamdaki derişimine, alg hücrelerinin sayısı ve büyüklüğüne bağı olduğı bildirilmiştir (Shehata *et al.* 1984).

Primer prodüksiyonda büyük bir rol üstlenen mikroalglerin zarara uğraması ise ekosistem ve hayvan toplulukları üzerinde dolaylı etkilere neden olmaktadır (Tadros *et al.* 1994).

Boyle (1984), alg türlerinin zehirli özelliğı sahip kimyasallara olan tepkileri bakımından çok fazla çeşitlilik gösterdiğini belirtmiştir.

Alglerle yapılan biyodeneş çalışmaları incelendiğinde gerçekten aynı koşullarda yaşayan alg türleri ve hatta aynı türün çeşitleri arasında zehirli maddelere duyarlılık bakımından oldukça geniş bir varyasyon görülmektedir.

Tarım ilaçlarının hedef canlı dışında ekosistemin diğere parçalarını oluşturan canlılar üzerindeki zararlı etkilerinin ve zararlı etki yaratmayacak dozlarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen pestisit biyodeneşlerinin önemi oldukça büyüktür. Ekosistemde yaratılan bu etkiler önceden belirlenebilir ise, özellikle sağık açısından gerekli önlemler alınarak daha büyük felaketler önenebilir. Bu açıdan sulara karışan, canlılarda zehirli etkilere sebep olan maddelerin, akvatik canlılar üzerindeki etkilerini ve zehirlilik derecelerini, zehirli madde tehdidinin ne ölçüde olduğunu, pestisitlerin hangi miktarlarda kullanılırsa hedef dışı organizmalar için daha zararsız olacağını saptamak ve ekosistem dengesinin korunarak sürdürülebilmesini sağılamak amacıyla biyodeneşler mutlaka yapılmalıdır.

Glifosat, sistemik etkili, seçici olmayan ve birçok yabancı ota karşı yaygın olarak kullanılan, aminofosfonat grubuna dahil bir herbisittir. Ülkemizde 1983 yılından beri kullanılmaktadır. Etoksisulfuron ise, belirli yabancı otlara karşı kullanılan, sülfonilüre grubuna dahil seçici bir herbisittir. Ülkemizde 1997 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır (Anonim 2002).

Bu araştırmada glifosat ve etoksisulfuronun doğal sulardan izole edilen mikroalg *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing üzerine zehirli etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu herbisitlerin *Scenedesmus obliquus* türünün büyüme hızı üzerine zehirli etkilerinin ortaya konması ve zehirli etkilerinin karşılaştırılması akvatik ekosistemlerin sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Zehirlilik ve Biyodenyler

Zehirlilik, zehirli olarak tanımlanan bir maddenin su ortamında belirli bir derişimden fazla düzeyde bulunmasıyla insan sağlığını, çeşitli indikatör organizmaların sağlığını ve ekosistem dengesini tehdit etmesi; akut veya kronik hastalıklara, teratojenik, genetik bozulmalara ve ölümlere yol açması özelliğini ifade eder (Anonim 1988).

Zehirli maddeler doğrudan ekosistemin yapısını ve fonksiyonunu bozmakta, oksijen miktarının ve primer prodüktivitenin azalması ile yüzey akışlarının ve toprak erozyonunun artmasına neden olmaktadır (Kersting and Van den Brink 1997).

Organizmalar kirliliğe akut ve kronik olarak iki yolla cevap verirler. Akut etkiler, organizmanın kirleticinin yüksek derişimlerine maruz kaldıktan kısa süre sonra ciddi zarar görmesi veya ölüm şeklinde ortaya çıkar. Kronik etkiler ise, kirleticinin düşük derişimleriyle karşılaştıktan bir müddet sonra ciddi hastalıklar olarak belirgin hale gelir (Williams and Feltmate 1992).

Hamelink ve Spacie'ye göre (1977), bir kimyasalın organizma üzerindeki zehirli etkisi, tamamen organizmada bulunan derişimine bağlıdır. Pestisitlerin sadece biyolojik olarak uygun kısmı canlının bünyesinde biriktirilebilir ve canlının spesifik hedef reseptörüne ulaşır (Åkerblom 2004).

Akvatik organizmalar için zehirlilik kategorileri Çizelge 2.1'de gösterilmiştir. Buna göre bir pestisit için belirlenen 0.1 mg/l'den daha düşük EC<sub>50</sub> değeri akvatik organizmalar için çok yüksek düzeyde zehirliliği, 0.1-1 mg/l yüksek düzeyde zehirliliği, 1-10 mg/l'den yüksek değerler orta düzeyde zehirliliği, 10-100 mg/l'den yüksek değerler hafif düzeyde zehirliliği ve 100 mg/l'den yüksek değerler pratik olarak zehirli olmamayı ifade etmektedir (Anonymous 2000).

Çizelge 2.1 Zehirlilik kategorileri (Anonymous 2000)

Zehirlilik kategorisi	Akvatik organizmalar için EC <sub>50</sub> değeri (mg/l)
• çok yüksek zehirlilik	< 0.1
• yüksek zehirlilik	0.1-1
• orta zehirlilik	1-10
• hafif zehirlilik	10-100
• zehirli değil	>100

Zehirlilik deneyleri canlı organizmalarla yapıldığında “biyodeny” olarak adlandırılmaktadır.

Biyodeny; atık suların indikatör organizma olarak kullanılan türden canlılar üzerindeki zehirlilik etkisini saptamaya yarayan, atık suların değişik seyreltilerinde 48, 72 ve 96 saat gibi belirli süreler sonunda zehirliliğin, seyrelti oranları ile ilişkili olarak ifade edilmesini sağlayan standart bir deneyi ifade eder (Anonim 1988).

Biyodenylerde kullanılan bazı terimlerin açıklamaları Çizelge 2.2’de gösterilmiştir.

Biyodenyler, 20. yüzyıl boyunca su kirliliğinin saptanmasında, değerlendirilmesinde ve azaltılmasında başlıca araç haline gelmiştir (Anonymous 1976). Günümüzde de yine aynı amaç için kullanılmaya devam etmektedir.

### 2.1.1 Mikroalglerle yapılan biyodenyler

Alglerin biyodenylerde kullanılmasına 20. yüzyılın ilk yarısında başlanmıştır (Skulberg 1964).

Algler ve siyanobakterler, akvatik besin zincirinin ilk basamağında yer almaları ve besin dönüşümü ile oksijen üretimi bakımından esansiyel olmaları nedeniyle tüm ekosistemler için önem taşımaktadırlar.

Çizelge 2. 2 Biyodenedelerde kullanılan bazı terimler (Anonymous 1976)

Terim	Açıklama
LC (Öldürücü Derişim)	Deney organizmaları için öldürücü özellik taşıyan deney derişimi
EC (Etkili Derişim)	Çoğalmada önemli bir inhibisyonun olduğu ancak ölüm gözlenmeyen deney derişimi
LC <sub>50</sub> (Ortalama Öldürücü Derişim)	Deney organizması popülasyonunun %50' si için öldürücü olan deney derişimi
EC <sub>50</sub> (Ortalama Etkili Derişim)	Popülasyonun çoğalmasında %50 inhibisyonu gösteren deney derişimi

Sloof *et al.* (1983), alglerin ve siyanobakterilerin birçok kimyasal maddeye diğer akvatik canlılara kıyasla daha duyarlı olduğunu ve ekosistemin kimyasallara gösterdiği tepkinin en iyi şekilde algler ve siyanobakterler kullanılarak anlaşılabilceğini bildirmiştir (Sabater and Carrasco 2001).

Geçmişte yapılmış birçok çalışma, bitkilerin ve tek hücreli yeşil alglerin çeşitli kimyasalların varlığında benzer tepkiler gösterdiğini ortaya koymuştur (Sumida and Ueda 1974, Muromtzev *et al.* 1975).

Alglerle yapılan zehirlilik deneyleri, kimyasal atıkların çevresel olarak yönetilmesi ile ilgili biyodenedeler içerisinde oldukça fazla kullanılmakta ve yapılan çalışmalar bu deneylerin birçok kimyasal madde için nispeten daha duyarlı biyodenede araçları olduğunu ortaya koymaktadır (Ma *et al.* 2002).

Mikroalglerle yapılan büyüme inhibisyon deneylerinin ana prensibi, tek bir alg türünün su, deney maddesi stok çözeltileri, besin çözeltisi ve üssel çoğalan alg hücreleri aşısı ile hazırlanmış ve deney maddesinin bir seri derişimini kapsayan belirli bir ortamda birkaç nesil üretilmesi ve deney çözeltilerinin belli bir süre inkübe edilerek hücre yoğunluğunun en az 24 saatte bir ölçülmesine dayanır (Anonim 1996).

Mikroalglerle yapılan biyodenyelerin çoğunda ağır metaller ve pestisitler kullanılır. Hızlı sanayileşme sonucu ağır metal içeren atık suların kontrolsüz olarak akarsulara ve denizlere dökülmesi ile tarımsal ürünlerin korunması amacıyla yönelik olarak kullanılan pestisitlerin sulara karışması ve biyoakümülyasyon riski bu maddelerin akvatik canlılar üzerindeki zehirli etkilerini incelemeyi zorunlu kılmıştır.

### 2.1.2 Pestisit biyodenyeleri

Pestisitlerin ne şekilde ve ne miktarda uygulanacağına yönelik kullanma talimatları bulunmasına ve bu talimatların akvatik ortama pestisit bulaşmasını en aza indirmeyi amaçlamasına rağmen, pestisit kalıntıları tarımsal alanlardan sulak alanlara çeşitli yollarla taşınmaktadır (Källqvist and Romstad 1994).

Pestisitlerin başlıca bulaşma yolları:

- Tarımsal uygulamalar (havadan püskürtme, rüzgar, yüzey akışı ile),
- İnsektisit olarak evsel kullanımlar,
- Pestisit üretim tesislerinden sızıntılar,
- Çeşitli endüstriyel kuruluşların atık suları ve boş pestisit ambalajlarının akvatik ortama ve su kaynaklarına ulaşma riski olan alanlara atılmasıdır (Egemen 2000).

Pestisitler tarımsal alanlara uygulanmalarını takiben bu alanlardan atmosferle, yağmur ve kar sularının oluşturduğu erozyonla ve drenaj suları ile ekosisteme dağılmaktadırlar. Akvatik ortamlara taşınan pestisitlerin ortamların değişik kesimlerinde farklı dağılım yüzdeleri Çizelge 2.3'de gösterilmiştir.

Türkiye'de pestisit tüketimi etkili madde bazında 1979'dan 2002 yılına kadar %45.29'luk bir artış göstermiştir. Bu artışa karşın ülkemizde pestisit tüketimi gelişmiş ülkelere göre oldukça düşüktür. Türkiye'de genel pestisit tüketimi az olmakla birlikte, en yoğun tüketilen pestisitler çevre ve sağlık açısından önemli riskler taşımaktadır (Delen vd. 2005)

Çizelge 2.3 Pestisitlerin akvatik ortamların değişik kesimlerinde dağılım yüzdeleri (Egemen 2000)

<b>Ortam</b>	<b>Pestisit Birikimi (%)</b>
<b><u>Karasal ve kıyasal su ortamları</u></b>	
Hava	0.13
Akarsu ve göl suyu	0.94
Deniz suyu	0.64
Toprak	0.64
Sediment	34.73
Biota	1.15
<b>TOPLAM</b>	<b>32.83</b>
<b><u>Okyanuslar</u></b>	
Hava	0.21
Deniz suyu	61.45
Sediment	0.03
Biota	0.07
<b>TOPLAM</b>	<b>61.77</b>

Pestisitlerin çevresel etkileri; uygulanma şekillerine, formülasyonlarına ve uygulanma zamanlarına bağlı olarak değişiklik gösterir (Yıldız vd. 2005).

Pestisit uygulamalarında kullanılan miktarın %0.1'den az bölümü hedef organizmaya ulaşırken, diğer bölümü ekosisteme karışmaktadır (Yıldız vd. 2005).

Pestisitler alglerin fotosentez, büyüme, hücre bölünmesi ve moleküler kompozisyon gibi biyosentetik reaksiyonları yerine getirememelerine sebep olmaktadır (De Lorenzo *et al.* 2001).

Fairchild *et al.* (1999) tarafından yapılan bir araştırmada çeşitli herbisitlerin *Selenastrum* ve *Lemna* için etki mekanizmaları belirlenmiştir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.4 Çeşitli herbisitlerin *Selenastrum* ve *Lemna* için etki mekanizmaları (Fairchild *et al.* 1999)

<b>HERBİSİT</b>	<b>SINIF</b>	<b>ETKİ MEKANİZMASI</b>
atrazin	triazin	fotosentezin inhibisyonu
alaklor	asetanilid	protein sentezinin inhibisyonu
metolaklor	klorasetanilid	protein sentezinin inhibisyonu
EPTC	tiyokarbamat	bilinmiyor
2,4-D (tuz)	fenoksi	oksin uyarıcı
trifluralin	dinitroanilin	çimlenmenin inhibisyonu
siyanazin	triazin	fotosentezin inhibisyonu
dikamba	benzoik asit	oksin uyarıcı
metribuzin	triazinon	fotosentezin inhibisyonu
simazin	triazin	fotosentezin inhibisyonu
triallat	tiyokarbamat	hücre bölünmesinin inhibisyonu
parakuat (tuz)	piridin	serbest radikal oluşumu
bromoksinil	benzonitril	fotosentezin inhibisyonu
dikuat	piridin	serbest radikal oluşumu
klorsulfuron	sulfonilüre	aminoasit sentezinin inhibisyonu
metsulfuron	sulfonilüre	aminoasit sentezinin inhibisyonu

Shehata *et al.* (1984) bladeks, etazin, dikril ve baylusid ticari isimli pestisitlerin *Scenedesmus* hücrelerinde birikim yüzdelerini ve çeşitli etkilerini araştırmış ve bu pestisitlerden bladeks, etazin ve baylusidin özellikle yüksek derişimlerinde kloroplastlarda bozulmalar meydana geldiğini tespit etmiştir. *Scenedesmus* hücreleri dikril adlı maddenin 2 mg/l'lik derişiminden fazlaca etkilenmezken, diğer pestisitlerin 0.5 mg/l'lik derişiminde tamamen elimine olmuşlardır.

Pestisitlerin alg hücreleri tarafından alımı ile hücre çoğalması arasında bir ilişki bulunmaktadır. Buna göre düşük pestisit derişiminde çoğalma hızı fazla iken, hücrelerin pestisit alımı maksimum seviyeye ulaşmaktadır. Pestisit derişimi arttıkça alg hücrelerinde pestisit alım seviyesi azalmaktadır. Neudorf ve Khan (1975), Bohm ve Muller (1976), pestisitlerin alg hücreleri tarafından alımının kullanılan maddenin çözünürlüğünün azalması ile arttığı görüşündedirler (Shehata *et al.* 1984).

Alglerin pestisitlere maruz kalması ile birlikte bünyelerinde bir adaptasyon süreci gerçekleşmektedir. İlk aşamada zehirli etkiye karşı fizyolojik bir reaksiyon oluşmakta ve organizma, pestisit tarafından oluşturulan zararlı etkiden kurtulmaya çalışmaktadır. Bu tepki, pestisitinin organizmaya nüfuz etmesini bloke etmek, pestisiti kimyasal olarak daha zararsız hale getirmek, minimum zarar vereceği bölgede tutmak veya hücre dışına atmak şeklinde ortaya çıkmaktadır. Hareketli türlerde pestisitinin bulaştığı çevreden kaçış şeklinde davranışsal bir adaptasyon söz konusudur (Kausch and Lampert 1994).

Aynı ortamda yaşayan farklı alg türleri belirli bir pestisite değişik şekillerde tepki verebilmektedirler. Sabater ve Carrasco (2001) tarafından gerçekleştirilen bir biyodenyde insektisit ve akarisit özelliği taşıyan pyridapention adlı pestisitinin beş tatlı su algi (*Scenedesmus acutus*, *Scenedesmus subspicatus*, *Chlorella vulgaris*, *Chlorella saccharophila*, *Pseudanabaena galeata*) üzerindeki zehirli etkileri araştırılmış ve 96 saat süren biyodeny sonunda seçilen alg türleri için EC<sub>50</sub> değerlerinin 2.2 ile 30.9 mg/l gibi geniş bir aralıkta değiştiği sonucuna varılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre *Chlorella* türleri ve siyanobakterilerden *Pseudanabaena galeata*'nın diğer iki *Scenedesmus* türüne göre daha toleranslı olduğu gözlenmiştir.

Aynı alg türlerinin kullanıldığı bir başka çalışmada ise, sülfonilüre grubu pestisitlere dahil sinusulfuron adlı herbisitinin 96 saatlik EC<sub>50</sub> değerinin 8-104 mg/l gibi daha geniş bir aralıkta değiştiği ve kullanılan alg türleri arasında pestisit duyarlılığı bakımından farklar olduğu gözlenmiştir (Sabater *et al.* 2002).

Sáenz *et al.* (1997) yaptığı bir araştırmada parakuat adlı seçici olmayan geniş spektrumlu herbisitinin *Scenedesmus quadricauda*'nın iki farklı varyetesi [*S. quadricauda* (CCAP 276/21) ve *S. quadricauda* (Arjantin Luján nehri)], *Scenedesmus acutus* (SAG 276-3a), *Selenastrum capricornutum* (CHL 1) ve *Chlorella vulgaris* üzerindeki etkilerini incelemiştir. Buna göre, en düşük EC<sub>50</sub> değeri *Scenedesmus acutus* (SAG 276-3a) türünde 0.047 mg/l olarak bulunmuştur. *S. quadricauda* (CCAP 276/21) ise 1.30 mg/l'lik EC<sub>50</sub> değeri ile diğerleri içinde parakuata en az hassasiyet gösteren organizma olarak belirlenmiştir. Görüldüğü gibi aynı türe ait iki farklı varyete arasında bile kirleticiye verilen tepkiler bakımından farklılıklar gözlenebilmektedir.

Wong (2000) 2,4-D, glifosat ve parakuat adlı herbisitlerin *Scenedesmus quadricauda*'nın çoğalma, fotosentez ve klorofil *a* sentezi gibi biyokimyasal işlevlerini hangi derişimlerde etkilediğini saptamak için alg kültürlerine çeşitli derişimlerde herbisit eklemiştir. Buna göre, parakuatın glifosat ve 2,4-D'ye göre çok daha zehirli olduğu, glifosat ve 2,4-D'nin düşük derişimlerde (0.02-0.2-2 mg/l) alglere zehirli olmayıp aksine fotosentez ve klorofil *a* sentezi için uyarıcı etki yarattığı, parakuatın 0.02-0.2 mg/l'lik, glifosatın 2mg/l'lik ve 2,4-D'nin 20 mg/l'lik derişimlerinin algler üzerinde önemli derecede inhibe edici etkileri olduğunu, parakuatın 2 mg/l, glifosatın 20 mg/l ve 2,4-D'nin 200 mg/l ve daha yüksek derişimlerinin alglerin biyokimyasal işlevlerini tamamen durdurduğu sonucuna varmıştır.

Ma and Liang (2001), 12 farklı herbisitinin *Scenedesmus obliquus* ve *Chlorella pyrenoidosa* üzerine akut zehirliliğini araştırmış ve EC<sub>50</sub> değerlerinin *Scenedesmus obliquus* için 0.14-269 mg/l, *Chlorella pyrenoidosa* için ise 0.23-90 mg/l arasında değiştiği sonucuna ulaşmıştır. Aynı türlerin kullanıldığı benzer bir çalışmada ise, 30 farklı herbisit kullanılmış ve EC<sub>50</sub> değerleri *Scenedesmus obliquus* için 0.004-156 mg/l ve *Chlorella pyrenoidosa* için ise 0.0001-37 mg/l olarak bulunmuştur (Ma 2002).

Farklı kimyasal sınıfa dahil pestisitlerin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 5 farklı kimyasal sınıfa ait akrolein, glifosat, imazethapir, metola-klor ve tebuthiuron adlı herbisitlerin belirli bir alg türünde (*Selenastrum capricornutum* U1648) beklenen çevresel derişim değerlerinde alg çoğalmasını sırasıyla %97, %18, %7, %24 ve %100 oranında inhibe ettikleri belirlenmiştir (Peterson *et al.* 1994).

*Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb.'in kullanıldığı bir başka çalışmada ise, aynı kimyasal sınıfa (aryloksifenoks propionat) dahil diklofop-P, quizalofop-p, haloksifop-R, fenoksaprpo, fluazifop-p adlı herbisitler için EC<sub>50</sub> değerleri sırasıyla 16.9, 3.8, 62.8, 0.9, 18.3 mg/l olarak tespit edilmiştir (Ma *et al.* 2004).

Avrupa Komisyonu Sağlık ve Tüketicinin Korunması Genel Müdürlüğü tarafından etoksisulfuron aktif maddesinin *Scenedesmus subspicatus* için E<sub>b</sub>C<sub>50</sub> değerinin 0.19 mg/l, E<sub>r</sub>C<sub>50</sub> değerinin ise, 0.72 mg/l olduğu bildirilmiştir (Anonymous 2002a).

Komisyon, glifosat isopropilamin tuzunun algler için kronik toksisite EC<sub>50</sub> değerini ise, 72.9 mg/l olarak belirtmiştir (Anonymous 2002b).

Bu çalışmaların tümü değerlendirildiğinde farklı türlerin aynı pestisitlere verdiği tepkiler arasında EC<sub>50</sub> değeri bakımından farklılıklar olabildiği gibi, belirli bir türün aynı ve farklı sınıflara dahil çeşitli pestisitlere verdiği tepkilerin de oldukça geniş bir aralıkta değişebildiği sonucuna ulaşılmaktadır.

Pestisitler çeşitli yollardan gelerek akvatik ortamlarda bir arada bulunabilir ve bu ortamlarda yaşayan algler üzerinde karışım halinde etkiler yaratabilmektedirler. 16 farklı kimyasal maddenin *Scenedesmus vacuolatus* (211-15) ve *Chlorella fusca* var. *vacuolata* üzerinde tek tek ve iki farklı derişim oranında karışım halinde yarattığı zehirli etkilerin araştırıldığı bir çalışmada, kullanılan maddelerin karışım halinde iken yarattıkları inhibisyon yüzdesi değerleri bireysel inhibisyon yüzdesi değerlerinden daha yüksek bulunmuştur (Faust *et al.* 2003).

Akvatik ekosisteme karşan birçok kimyasal madde, canlılar üzerindeki olumsuz etkilerini enzim sistemlerini etkilemek suretiyle göstermektedirler (Wiegand-Rosinus and Obst 1992, Megharaj *et al.* 1998).

Ağır metal, pestisit ve fenolik maddelerin *Chlorella vulgaris* türünün alkalın fosfataz enzimi aktivitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, pestisitlerin enzim aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, fenolik maddelerin çok az bir etkisinin olduğu, ağır metallerin ise, belirgin bir şekilde inhibe edici etki gösterdikleri belirlenmiştir (Durrieu *et al.* 2003).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Deneme yeri

Deneme A. Ü. Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü Laboratuvarları, ve Bahçe Bitkileri Bölümü Tohum Laboratuvarı'nda yürütülmüştür.

##### 3.1.2 Deney Organizması

Denemede kullanılan mikroalg akvaryum suyundan izole edilmiştir. *Scenedesmus* sp. nin karışık olarak bulunduğu kültürden %1.5 agarlı besiyerine yayma tekniği kullanılarak ekim yapılmış ve inkübasyon sonunda oluşan izole koloniler incelenmiş ve öze yardımıyla steril kabinde diğer bir petriye aktarılmıştır. Bu işleme tek bir tür elde edilene kadar haftada 1 kez ekim yapılmak suretiyle devam edilmiş ve elde edilen *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing saf kültürü sıvı besiyerine ekilerek denemede kullanılmıştır (Şekil 3.1-3.2). Saf kültür eldesinde Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı'nın olanaklarından yararlanılmıştır. Teşhis edilen türün *S. obliquus* olduğu Dr. Lothar Krienitz (2006) tarafından onaylanmıştır. Aşağıda *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing türüne ait sınıflandırma verilmiştir (Komarek and Fott 1983).

Phyllum: Chlorophyta

Classis: Chlorophyceae

Ordo: Chlorococcales

Familia: Scenedesmaceae

Genus: *Scenedesmus*

Species: *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing

*Scenedesmus* hücrelerinin genel görünümü mekik biçimindedir. Bazıları tek, bazıları da 2 sıralı 4, 8, nadiren 16'lı koloniler oluşturur. Çevre şartlarındaki değişikliklerde koloni formundan tek hücrelere ayrılmaya meyillidirler (İnaç 2001).

*Scenedesmus* bütün tatlı sulara yaygın olarak bulunur. Birincil üretimde önemli bir rol oynarlar ve suların temizlenmesine katkıda bulunurlar. *Scenedesmus* türlerinin varlığı veya yokluğu su kalitesinin değerlendirilmesinde kullanılabilir (Kessler 1991).

### **3.1.3 Denemede kullanılan herbisitler**

Denemede ticari adı Knockdown 48 SL olan %48'lik glifosat –ispropilamin tuzu- ve ticari adı Sunrice olan %60'lık etoksisulfuron kullanılmıştır.

Glifosat N-(phosphonomethyl) glycine, sistemik etkili, seçici olmayan, aminofosfonat grubuna dahil geniş spektrumlu bir herbisittir (Cox 1998). Genel olarak turunçgiller, bağ, fındık, meyve bahçeleri ve ekili olmayan alanlarda; yabancı yulaf, yabancı havuç, kısır brom, kuş yemi, mürdümük, ballıbaba, kanarya otu, tilkikuyruğu, yer fesleğeni, düğün çiçeği, turna gagası, yabancı fiğ, kuş otu, yabancı hardal ebeğümeci, yabancı yonca, semizotu, sütleğen, sirken, bambul otu, domuz pıtrağı, zincir pıtrağı, kırmızı köklü tilkikuyruğu, kirpi darı, darıcan, benekli darıcan, horoz ibiği, yeşil horoz ibiği, topalak, köpek dişi ayrığı, tarla sarmaşığı, ısırgan otu, pelin otu, kanyaş türlerinde kullanılmaktadır (Anonim 2002). Bu herbisitinin etkili olduğu yabancı ot türleri için önerilen kullanım dozu 300-1000 ml/da'dır (Anonim 2006a). Sudaki çözünürlüğü ise pH 2'de  $10.5 \pm 0.2$  g/l'dir (Anonymous 2002b). Denemede suda çözünen konsantre formülasyon (SL) kullanılmıştır.

Birçok glifosat içerikli herbisitte glifosatın isopropilamin tuzu bulunmaktadır. Glifosat, bitki, mantar ve prokaryotlarda bulunan şikimik asit metabolik yolundaki 5-enolpiruvil şikimik asit-3-fosfat (EPSP) sentaz enziminin aktivitesini inhibe etmektedir. Bunun sonucu olarak da, aromatik aminoasitlerin, hidroksi fenolik bileşiklerin ve klorofilin sentezinde inhibisyon meydana gelmekte ve devamında da protein sentezi ve büyümede azalma ile hücre ölümleri görülmektedir. EPSP, triptofan, fenilalanin ve tirozin amino

asitlerinin biyosentezinde rol almaktadır. Glifosat yüksek derişimlerde (>55 mg/l) ise kloroplastlarda fotosistem I ve II'yi inhibe etmektedir (Anonymous 2002c). Bazı kaynaklara göre EPSP inhibisyonunun ana etki mekanizması,  $Ca^{+2}$  ve  $Mg^{+2}$  katyonlarının glifosat tarafından şelatlanmasıdır (Duke and Hoagland 1981).

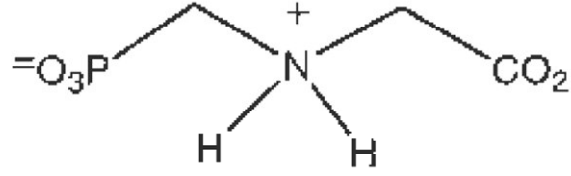
Glifosatın kimyasal yapısı Şekil 3.3'de görülmektedir (Alibhai and Stallings 2001).



Şekil 3.1 *Scenedesmus obliquus* saf kültürü



Şekil 3.2 *Scenedesmus obliquus* (40x2.5)

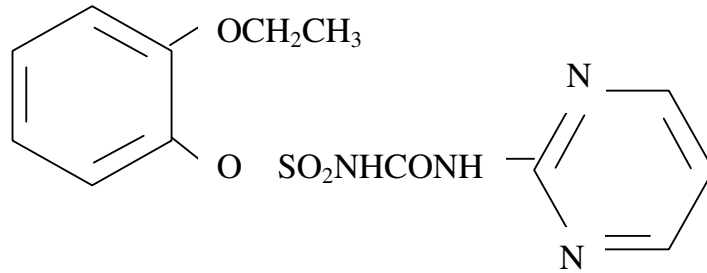


Şekil 3.3 Glifosatın kimyasal yapısı (Alibhai and Stallings 2001)

Etoksisulfuron, belirli yabancı otlara karşı kullanılan, sülfonilüre grubuna dahil seçici bir herbisittir. Ülkemizde 1997 yılından itibaren kullanılmaya başlanmıştır. Genel olarak çeltikte kız otu, topalak, sandalye sazı, dipotu, hasır otu, ve kaşık otu türlerinde kullanılmaktadır (Anonim 2002). Bu herbisit etkili olduğu yabancı ot türleri için önerilen kullanım dozu 3-5 g/da'dır (Anonim 2006b). Sudaki çözünürlüğü ise fosforik asit için pH 3'de 5.5 g/l, 0.1 M potasyum dihidrojen fosfat için pH 7'de 1353 g/l ve sodyum dihidroksit için pH 10'da 5452 g/l'dir (Anonymous 2002a). Denemede suda çözünen granül formülasyon (SG) kullanılmıştır.

Etoksisulfuron bitkilerde asetolaktat sentezini (ALS) inhibe ederek uzayan amino asit zincirindeki peptid sentezini bloke etmektedir. Böylece bitkilerde hücre bölünmesi ve büyüme işlemleri gerçekleşmemektedir (APVMA 2006).

Etoksisulfuronun kimyasal yapısı Şekil 3.4'de görülmektedir (APVMA 2006).



Şekil 3.4. Etoksisulfuronun kimyasal yapısı (AVPMA 2006).

### **3.1.4 Denemede kullanılan araç ve gereçler**

#### **a) Cam malzemeler**

Deneme süresince 10 ml'lik cam tüpler, 1-2 L'lik balon jojeler, 250 ml'lik erlenmayerler ve 10 ml'lik cam pipetler ile 200-1000 µl'lik otomatik mikropipet kullanılmıştır.

#### **b) Floresan lambalar**

Deney süresince alglerin gereksinim duyduğu ışık, Phillips marka cool-white floresan lambalar ile sağlanmıştır. Bu lambalarda ışık yoğunluğu 78 µmol/m<sup>2</sup>/s olarak ölçülmüştür. Deneme 24 saat sürekli ışık altında yürütülmüştür.

#### **c) pH metre**

Kültürlerin pH değerleri (0.01 pH'ya duyarlı) laboratuvar tipi dijital pH metre (Metrohm Herisub Digital pH meter E 532) ile ölçülmüştür.

#### **d) Otoklav**

Denemede besin çözeltileri ve cam malzemelerin sterilizasyonunu sağlamak amacıyla Hryama 110 marka otoklav kullanılmıştır. Cam malzemeler ve besin çözeltileri 15 PSI basınç altında 121°C'de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

#### **e) Mikroskop**

Alg hücrelerinin sayımında ve incelenmesinde Nikon ALPHAPHOT-2 model binoküler mikroskoplar kullanılmıştır. Alg hücrelerinin görüntülenmesinde de Nikon ECLIPSE E600 model fotoğraf ataçmanlı mikroskop kullanılmıştır.

#### **f) Sayım hücresi**

Alg hücrelerinin sayımında geliştirilmiş tip Neubauer sayım hücresi kullanılmıştır. Merkezi kısımdaki karenin toplam hacmi  $0.1 \text{ mm}^3$  (0.0001 ml) tür.

#### **g) İklim dolabı**

Deneme, ışık ve sıcaklık ayarı yapılabilen iklim dolabı içerisinde 24 saat sürekli ışık altında ve  $24 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir.

### **3.2 Yöntem**

#### **3.2.1 Besiyeri stok çözeltisi ve deney çözeltilerinin hazırlanması**

Denemede besin ortamı olarak kullanılan stok çözelti ve deney çözeltileri Çizelge 3.1'e göre hazırlanmıştır (Anonim 1996).

Herbisit içeren stok çözeltiler ise, deney maddesinin besin ortamı içerisinde çözülmesi ile hazırlanmıştır (Anonymous 2002d). 250 ml'lik erlenmayerler her derişim ve kontrol grubu için 3 tekerrür halinde 100 ml deney çözeltisi içerecek şekilde düzenlenmiştir.

#### **3.2.2 Aşının hazırlanması**

##### **a) Stok kültür**

Stok kültür erlenmayerlerde uygun hacimde besiyeri içinde  $20^\circ\text{C}$ 'de sürekli ışık altında geliştirilmiş ve steril koşullarda haftalık olarak aşı transferi yapılmıştır (Anonymous 2002d).

## b) Ön kültür

Deney başlamadan 3 gün önce üssel artış gösteren stok kültürlerden aşı alınarak ön kültür hazırlanmıştır (Anonymous 2002d).

## c) Deney kültürü

Deney kültürleri, ön kültürden  $10^5$  hücre/ml olacak şekilde hücre alınarak, bu hücrelerin daha önce hazırlanmış olan deney çözeltisi içerisine eklenmesi ile hazırlanmıştır.

Çizelge 3.1 Besin ortamı olarak kullanılan stok çözeltiler (Anonim 1996)

Besin maddeleri	Stok çözelti derişimi	Deney çözeltisi derişimi
<b>Stok çözelti 1. Makro besinler</b>		
NH <sub>4</sub> Cl	1.5 g/l	15 mg/l
MgCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1.2 g/l	12 mg/l
CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	1.8 g/l	18 mg/l
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	1.5 g/l	15 mg/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.16 g/l	1.6 mg/l
<b>Stok çözelti 2. Fe-EDTA</b>		
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	80 mg/l	80 µg/l
Na <sub>2</sub> EDTA.2H <sub>2</sub> O	100 mg/l	100µg/l
<b>Stok çözelti 3. İz elementler</b>		
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	185 mg/l	185 µg/l
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	415 mg/l	415 µg/l
ZnCl <sub>2</sub>	3 mg/l	3 µg/l
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	1.5 mg/l	1.5 µg/l
CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O	0.01 mg/l	0.01 µg/l
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	7 mg/l	7 µg/l
<b>Stok çözelti 4. NaHCO<sub>3</sub></b>		
NaHCO <sub>3</sub>	50 g/l	50 mg/l

### 3.2.3 Deney yöntemi

Deney yöntemi olarak akut deneylerden “statik deney” yöntemi kullanılmıştır (Anonymous 1976, Anonymous 2002d).

### 3.2.4 Deney koşulları

Deney, iklim dolabı içerisinde ışık yoğunluğu  $78 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  olan 24 saat sürekli ışık altında ve  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Deney ortamı Şekil 3.5'te görülmektedir. Hücrelerde çökmeyi önlemek ve gaz değişimini artırmak amacıyla deney şişeleri periyodik olarak çalkalanmıştır. Hücre sayıları her 24 saatlik periyotta mikroskop altında sayılmıştır. Deneyin başında ve sonunda deney çözeltileri ve kontrolün pH'sı ölçülmüştür.

### 3.2.5 Denemede kullanılan herbisit derişimlerinin saptanması

Araştırma; ön deney, ana deney ve her bir herbisit için  $\text{EC}_{50}$  değerinin hesaplanması olmak üzere üç aşamada yürütülmüştür.



Şekil 3.5. Deney ortamı

### **3.2.5.1. Ön deney**

96 saat süreli ön deneyde her iki herbisit için hücre büyüme hızını %10'dan fazla ve %90'dan az etkileyecek şekilde derişim aralıkları kullanılarak ana deney derişimlerini belirlemede baz alınabilecek değerler saptanmıştır (Anonim 1996).

### **3.2.5.2. Ana deney**

Ana deneyde her iki herbisit için ön deney sonuçlarına göre seçilmiş 6 farklı derişim ile bir kontrol grubu kullanılmıştır.

### **3.2.5.3. EC<sub>50</sub> değerinin hesaplanması**

Denemede glifosat ve etoksisulfuronun *Scenedesmus obliquus* üzerindeki zehirli etkilerini saptamak için deney derişimlerine karşılık gelen büyüme hızı inhibisyonu yüzdesi değerlerinden EPA Probit Analizi Programı (Version 1.5) kullanılarak Ortalama Etkili Derişim (EC<sub>50</sub>) değerleri hesaplanmıştır (Anonymous 2006).

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Denemede iki çeşit herbisit kullanıldığından bu herbisitlerle yapılan deneylere ilişkin sonuçlar ayrı ayrı ele alınmıştır.

##### 4.1 %48 Glifosat İçeren Herbisit ile Yapılan Deneye İlişkin Sonuçlar

###### 4.1.1 %48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar

96 saat süreli ön deney sonunda üremede görülen inhibisyon yüzdeleri Çizelge 4.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1 %48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar

Derişim		Başlangıç hücre sayısı (hücre/ml)	96 saat sonundaki hücre sayısı (Ortalama ±standart sapma-hücre/ml)	Kontrole göre üreme inhibisyonu (%)
(%)	(g/l)			
10	100	$10^5$	$3.1 \times 10^5 \pm 0.55 \times 10^5$	88
0.1	1	$10^5$	$6.2 \times 10^5 \pm 0.62 \times 10^5$	76
0.01	0.1	$10^5$	$1.3 \times 10^6 \pm 0.36 \times 10^6$	50
0.001	0.01	$10^5$	$1.7 \times 10^6 \pm 0.26 \times 10^6$	34
0.0001	0.001	$10^5$	$2.3 \times 10^6 \pm 0.68 \times 10^6$	11
Kontrol grubu		$10^5$	$2.6 \times 10^6 \pm 0.26 \times 10^6$	—

Ön deney sonucunda, seçilen en yüksek derişimde üremede kontrole göre %88’lik bir inhibisyon görülürken, bu oran seçilen en düşük derişimde %11 olarak gerçekleşmiştir. %0.01’lik derişimde ise inhibisyon yüzdesi %50 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.1). Bu sonuçlar ışığında, herbisit’in %50 inhibisyon görülen %0.01’lik derişimi etrafında geometrik seride artan ve azalan derişimlerde ana deney derişimleri belirlenmiştir.

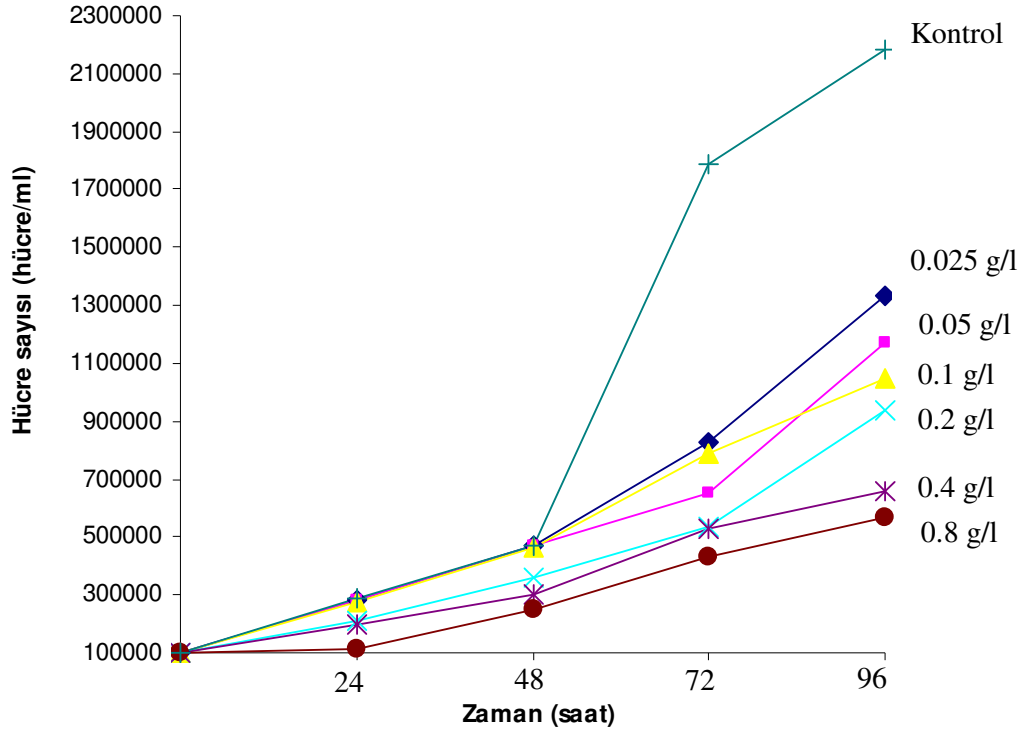
#### 4.1.2 %48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar

Ön deney sonuçlarına göre üremede %50 inhibisyon görülen değer ve etrafında seçilmiş 6 derişim (0.8, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 g/l Knockdown) ile yapılmış ana deneye ait sonuçlar Çizelge 4.2’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.2 %48 glifosat içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar

Derişim (g/l)	Başlangıç hücre sayısı (hücre/ml)	96 saat sonundaki hücre sayısı (Ortalama ±standart sapma hücre/ml)	Kontrole göre üreme inhibisyonu (%)
0.8	$10^5$	$5.67 \times 10^5 \pm 0.98 \times 10^5$	74
0.4	$10^5$	$6.55 \times 10^5 \pm 0.39 \times 10^5$	70
0.2	$10^5$	$9.39 \times 10^5 \pm 0.42 \times 10^5$	57
0.1	$10^5$	$1.05 \times 10^6 \pm 0.21 \times 10^6$	52
0.05	$10^5$	$1.17 \times 10^6 \pm 0.22 \times 10^6$	46
0.025	$10^5$	$1.33 \times 10^6 \pm 0.28 \times 10^6$	39
Kontrol grubu	$10^5$	$2.2 \times 10^6 \pm 0.36 \times 10^6$	—

Çizelge 4.2. incelendiğinde görülebileceği gibi, 96 saat sonunda seçilen ana deney derişimlerindeki ortalama hücre sayılarına ait inhibisyon yüzdesi değerleri %74 ile %39 arasında değişmiştir. 96 saat süreyle kontrol ve ana deney derişimlerindeki hücre sayılarında gerçekleşen değişimler Şekil 4.1’de gösterilmiştir.

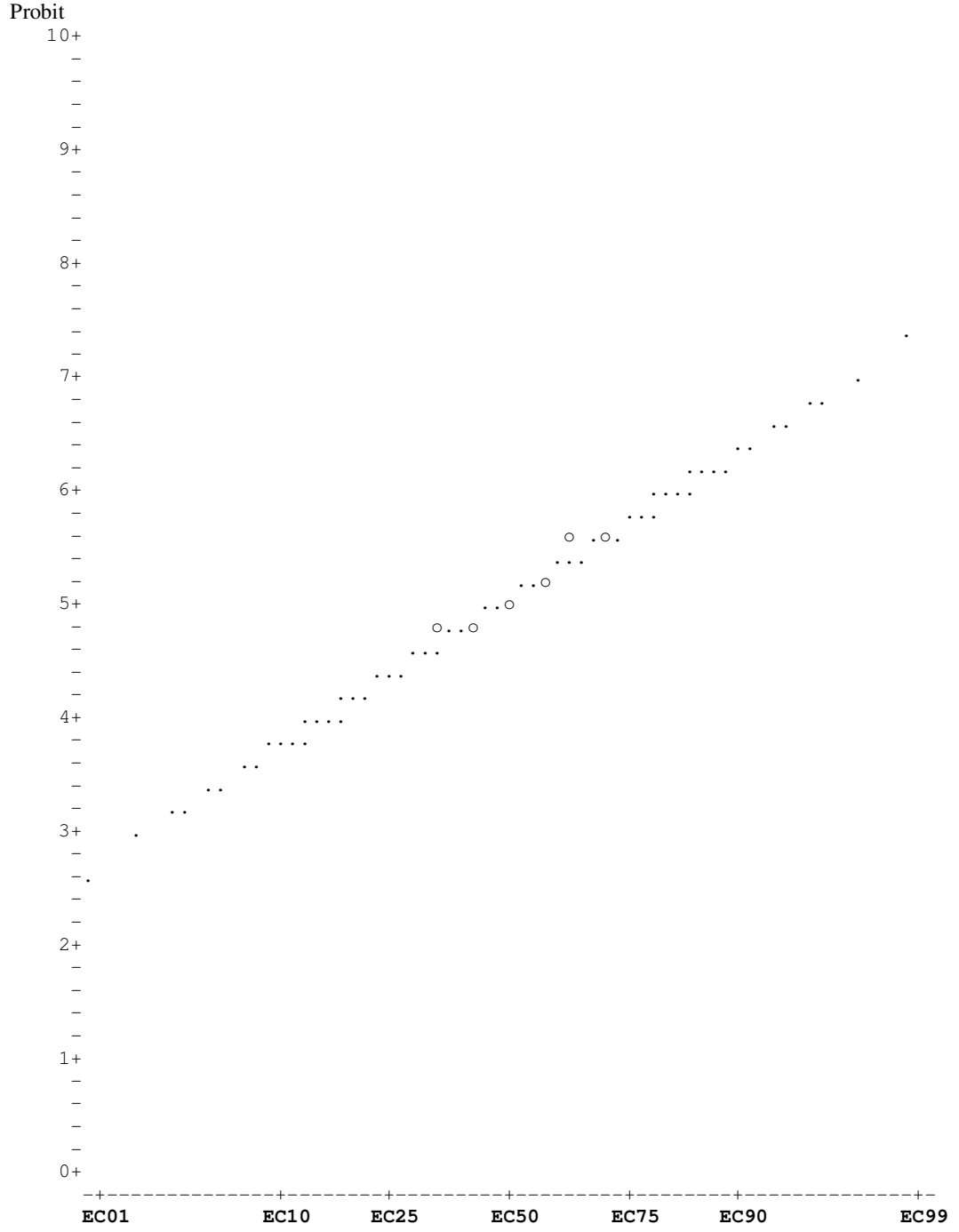


Şekil 4.1 96 saat süreyle %48 glifosat içeren herbisit ana deney derişimlerindeki hücre sayılarında gerçekleşen değişimler

#### 4.1.3 %48 glifosat içeren herbisit için EC<sub>50</sub> değerinin tespiti ve probit analizi

Ön deney sonucu elde edilen ve ana deneyde kullanılan altı farklı derişim ve bir kontrol grubunda 96 saat içerisinde üremede görülen inhibisyon değerleri için EC<sub>50</sub> değeri hesaplanmıştır.

*Scenedesmus obliquus* için 96 saat sonunda üremede %50 inhibisyona neden olan %48 glifosat içeren herbisit derişimi 80.002 mg/l olarak saptanmıştır. %95’lik güven sınırları 47.634 mg/l - 118.186 mg/l olarak hesaplanmıştır. Ana deney derişimleri ile inhibisyon yüzdelerinin probitleri arasındaki ilişki Şekil 4.2’de görülmektedir.



Şekil 4.2 %48 glifosat içeren herbisit ana deney derişimleri ile inhibisyon yüzdelerinin probitleri arasındaki ilişki

## 4.2 %60 Etoksisulfuron İçeren Herbisit ile Yapılan Deneye İlişkin Sonuçlar

### 4.2.1 %60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar

96 saat süreli n deneye ilişkin sonuçlar izelge 4.3’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.3 %60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ön deneye ilişkin sonuçlar

Derişim		Başlangıç hücre sayısı (hücre/ml)	96 saat sonundaki hücre sayısı (Ortalama ±standart sapma hücre/ml)	Kontrolle göre üreme inhibisyonu (%)
(%)	(g/l)			
0.1	1	$10^5$	$5.07 \times 10^5 \pm 0.01 \times 10^5$	86
0,01	0.1	$10^5$	$6.88 \times 10^5 \pm 0.98 \times 10^5$	81
0.0001	0.001	$10^5$	$1.70 \times 10^6 \pm 0.08 \times 10^6$	53
0.00001	0.0001	$10^5$	$2.72 \times 10^6 \pm 0.44 \times 10^6$	25
0.000001	0.00001	$10^5$	$3.15 \times 10^6 \pm 0.23 \times 10^6$	13
Kontrol grubu		$10^5$	$3.625 \times 10^6 \pm 1.01 \times 10^6$	—

Ön deney sonucunda, seçilen en yüksek derişimde kontrole göre üremede %86’lık bir inhibisyon görülürken, bu oran seçilen en düşük derişimde %13 olarak gerçekleşmiştir. %0.0001’lik derişimde ise üreme inhibisyonu %53 olarak saptanmıştır (izelge 4.3).

Bu sonuçlar ışığında, %53 inhibisyon görülen %0.0001’lik derişim etrafında geometrik seride artan ve azalan derişimlerde ana deney derişimleri belirlenmiştir.

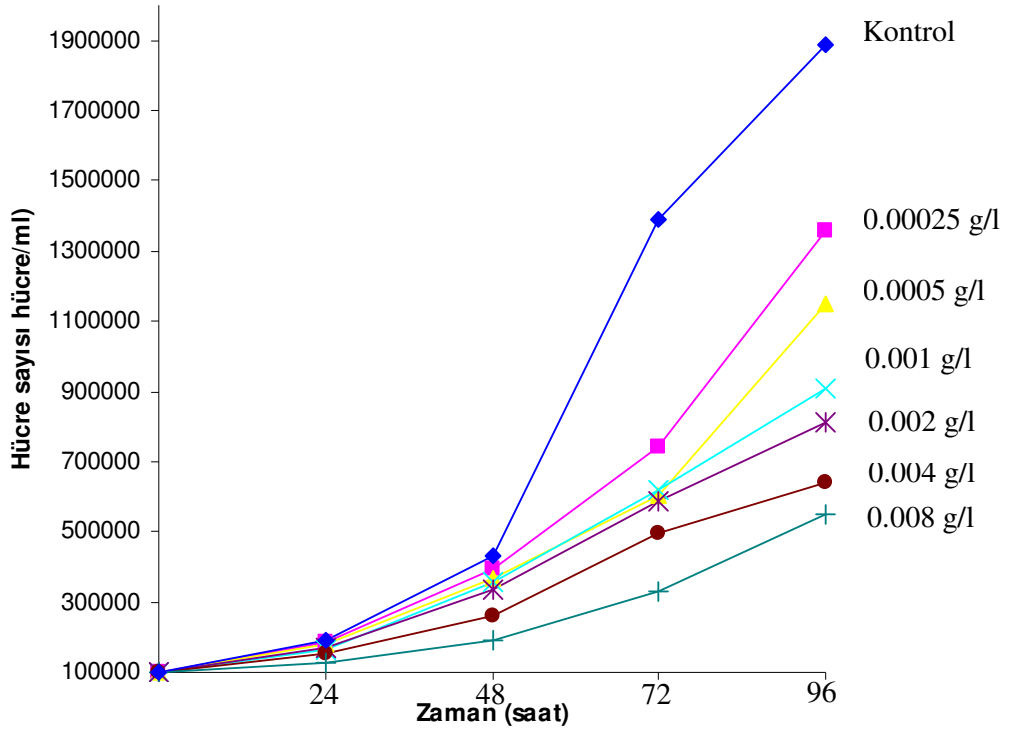
#### 4.2.2 %60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ana deney ilişkin sonuçlar

Ön deney sonuçlarına göre üremede %53 inhibisyon görülen değer ve etrafında seçilmiş 6 derişim (0.008, 0.004, 0.002, 0.001, 0.0005, 0.00025 g/l Sunrice) ile yapılmış ana deneye ait sonuçlar Çizelge 4.4’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.4 %60 etoksisulfuron içeren herbisit ile yapılan ana deneye ilişkin sonuçlar

<b>Derişim (g/l)</b>	<b>Başlangıç hücre sayısı (hücre/ml)</b>	<b>96 saat sonundaki hücre sayısı (Ortalama <math>\pm</math>standart sapma hücre/ml)</b>	<b>Kontrole göre üreme inhibisyonu (%)</b>
0.008	$10^5$	$5.48 \times 10^5 \pm 0.55 \times 10^5$	71
0.004	$10^5$	$6.43 \times 10^5 \pm 0.52 \times 10^5$	66
0.002	$10^5$	$7.94 \times 10^5 \pm 1.18 \times 10^5$	58
0.001	$10^5$	$8.51 \times 10^5 \pm 0.63 \times 10^5$	55
0.0005	$10^5$	$1.08 \times 10^6 \pm 0.17 \times 10^6$	43
0.00025	$10^5$	$1.36 \times 10^6 \pm 0.11 \times 10^6$	28
Kontrol grubu	$10^5$	$1.89 \times 10^6 \pm 0.14 \times 10^6$	—

Çizelge 4.4’te görüleceği gibi, 96 saat sonunda seçilen ana deney derişimlerindeki ortalama hücre sayılarına ait inhibisyon yüzdesi değerleri %71 ile %28 arasında değişmiştir. 96 saat süreyle ana deney derişimlerindeki hücre sayılarında gerçekleşen derişimler Şekil 4.3’de gösterilmiştir.



Şekil 4.3 96 saat süreyle %60 etoksisulfuron içeren herbisit ana deney derişimlerdeki hücre sayılarında gerçekleşen değişimler

#### 4.2.3 %60 etoksisulfuron içeren herbisit için EC<sub>50</sub> değerinin tespiti ve probit analizi

Ön deney sonucu elde edilen ve ana deneyde kullanılan altı farklı derişim ve bir kontrol grubunda 96 saat içerisinde üremede görülen inhibisyon değerleri için EC<sub>50</sub> değeri hesaplanmıştır.

*Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing için 96 saat sonunda üremede %50 inhibisyona neden olan %60 etoksisulfuron içeren herbisit derişimi 1.1 mg/l olarak saptanmıştır. %95'lik güven sınırları 0.740 mg/l – 1.540 mg/l olarak hesaplanmıştır. Ana deney derişimleri ile inhibisyon yüzdelerinin probitleri arasındaki ilişki Şekil 4.4'de görülmektedir.



Şekil 4.4 %60 etoksisulfuron içeren herbisitinin ana deney derişimleri ile inhibisyon yüzdelерinin probitleri arasındaki ilişki

Her iki herbisit in varlığında alg hücrelerinde şişme, tek hücre formundan koloni formuna geçme, renk açılması, hücre içinin boşalması şeklinde morfolojik değişiklikler gözlenmiştir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, herbisitlerden ticari adı Knockdown 48 SL olan Glifosat ve ticari adı Sunrice olan Etoksisulfuronun tatlı su yeşil alglerinden *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing üzerine zehirli etkileri incelenmiş ve 96 saatlik EC<sub>50</sub> değerleri saptanmıştır.

Çalışmada statik olarak yürütülen deneylerde *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing türünde %48 glifosat içeren Knockdown için 96 saatlik EC<sub>50</sub> değeri 80 mg/l olarak belirlenmiştir. EC<sub>50</sub> değeri 10-100 mg/l arasında değişen zehirli maddeler “hafif zehirli” kategorisine girmektedir (Anonymous 2000). Bu bağlamda glifosatın hafif zehirli madde kategorisine girdiği belirlenmiştir.

Yapılan kaynak taramasında, *Scenedesmus* türlerinin kullanıldığı pestisit biyodenyelerine ilişkin pek çok çalışmanın olduğu tespit edilmiş, ancak bunlar içerisinde glifosat ve *Scenedesmus* sp.’nin bir arada kullanıldığı az sayıda çalışmaya rastlanmıştır.

%95’lik glifosat içeren herbisit *Scenedesmus obliquus* üzerine zehirli etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada 96 saatlik EC<sub>50</sub> değeri 55.9 mg/l olarak belirlenmiştir (Ma, 2002). Bu değer, araştırmada elde edilen değerden farklı olmasının, kullanılan herbisitlerin farklı oranlarda glifosat içermesinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Ayrıca başlangıç hücre sayılarının, sıcaklık ve ışık yoğunluğunun çalışmamızla farklılık göstermesi, sonuçların farklı çıkmasının nedeni olabilir.

%95’lik glifosat içeren herbisit *Scenedesmus quadricauda* türü kullanılmış ve 96 saat süreyle alg hücrelerinin çoğalmasını %50 oranında inhibe eden deney derişimi 70.5 mg/l olarak tespit edilmiştir (Ma et al. 2003).

Glifosatın 20 mg/l derişiminde *S. quadricauda* türü üzerinde önemli düzeyde inhibe edici etkisi olduğu bildirilmiştir (Wong 2000).

Yeşil alglerden *Chlorella pyrenoidosa* türüne %95'lik glifosat içeren herbisitlerin etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise, 96 saatlik EC<sub>50</sub> değerinin 3.530 mg/l olduğu saptanmıştır (Ma *et al.* 2001). Maule and Wright (1984), aynı alg türünü kullanarak gerçekleştirdikleri çalışmalarında glifosat için 96 saatlik EC<sub>50</sub> değerini 590 mg/l olarak belirlemişlerdir.

Çalışmamızda statik olarak yürütülen deneylerde *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing türünde %60 etoksisulfuron içeren Sunrice için 96 saatlik EC<sub>50</sub> değeri 1.1 mg/l olarak belirlenmiştir. Akvatik organizmalar için EC<sub>50</sub> değerleri 1-10 arasında değişen maddeler “orta zehirli”, 0.1-1 arasında değişenler ise “yüksek zehirli” kategorisine girmektedir (Anonymous 2000). Bu bulgu ışığında etoksisulfuronun orta-yüksek zehirli madde kategorisine girdiği belirlenmiştir.

Yapılan kaynak taramasında etoksisulfuronun dahil olduğu sülfonilüre grubu herbisitlere ilişkin çalışmaların arasında zehirli madde olarak etoksisulfuronun kullanıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle etoksisulfurona ait elde edilen deney sonuçları sülfonilüre grubu herbisitlere ait deney sonuçları ile karşılaştırılmıştır.

Sülfonilüre grubuna dahil herbisitlerden nikosulfuron, metsulfuron metil, siklosulfamuron, tribenuron ve ethametsulfuronun *Scenedesmus obliquus* üzerine zehirli etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada EC<sub>50</sub> değerlerinin 2.8 mg/l ile 155.7 mg/l arasında değiştiği tespit edilmiştir (Ma 2002). Çalışmamızda etoksisulfurona ait elde edilen EC<sub>50</sub> değeri bu çalışma sonucu elde edilen değerlerden en küçüğüne yakın, fakat daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar ışığında *Scenedesmus obliquus* türünün aynı gruba dahil herbisitlere karşı tepkileri arasında oldukça büyük bir çeşitlilik olduğu söylenebilir.

Yine sülfonilüre grubuna ait farklı herbisitlerin kullanıldığı bir başka çalışmada, *Scenedesmus obliquus* için EC<sub>50</sub> değerlerinin 11.8 mg/l ile 56.8 mg/l arasında değiştiği saptanmıştır (Ma and Liang 2001). Bu çalışmada elde edilen değerlerin bu değerlerin altında olduğu belirlenmiştir.

Herbisitlerin algler üzerinde oluşturduğu inhibisyonun etki mekanizmasının enzim sistemleri ile ilgili olduğu ve çeşitli yaşamsal aktiviteler açısından zararlara yol açtığı çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Wiegand-Rosinus and Obst 1992, Megharaj *et al.* 1998).

Buna göre, glifosat bitkilerde şikimik asit adı verilen bir metabolik yola ait 5-enolpiruvil şikimik asit-3-fosfat (EPSP) sentez enziminin aktivitesini inhibe etmekte ve bunun sonucunda da, protein sentezi ve büyümede azalma ile hücre ölümleri görülmektedir (Anonymous 2002c).

Etoksisulfuron ise, bitkilerde asetolaktat sentezini (ALS) inhibe ederek uzayan amino asit zincirindeki peptid sentezini bloke etmektedir. Böylece bitkilerde hücre bölünmesi ve büyüme işlemleri gerçekleşmemektedir (AVPMA 2006).

Bütün bu çalışmalar ışığında, belirli bir alg türünün değişik herbisitlere ve hatta bir herbisit çeşitli formülasyonlarına verdiği tepkilerin farklı olduğu, aynı ortamda yaşayan organizmaların ve aynı cinse ait farklı türlerin herbisitlere olan duyarlılıkları bakımından çeşitlilik gösterdiği, herbisitlerin etki mekanizmalarının farklı olabileceği ve belirli bir herbisite ait formülasyonların alg türlerine olan zehirli etkilerinin ayrı ayrı yapılacak çalışmalar ile belirlenmesinin ekosisteme olan zararlı etkileri belirlemek açısından oldukça önemli olduğu sonucuna varılmaktadır.

Bitkilerin ve dolayısıyla alglerin önemli yaşamsal aktivitelerinde zararlara neden olan herbisitlerin çeşitli yollarla hedef dışı organizmalara ulaşması ve ekosistem yapısını değiştirmesi göz ardı edilemeyecek bir durumdur ve zamanında gerekli önlemler alınmadığı takdirde ekosistemlerde ve en sonunda da insanda onarılması imkansız çevresel problemler ve sağlık etkileri ortaya çıkabilecektir.

Sonuç olarak, *Scenedesmus obliquus* (Turpin) Kützing türünde %60 etoksisulfuron içeren herbisit EC<sub>50</sub> değerinin, %48 glifosat içeren herbisit EC<sub>50</sub> değerinden çok daha düşük olduğu ve çok düşük derişimde bile çevresel ortamda mikroalgler üzerine etkili olabileceği belirlenmiştir. Etoksisulfuron içeren herbisit glifosat içeren herbisite

göre daha zehirlidir ve tarımsal savaşımında kullanılacak derişimin dikkatle belirlenmelidir. Bu araştırmanın bulguları, akvatik ortama zehirli etkilerin azaltılması amacıyla, glifosat ve etoksisulfuron içeren herbisitlerin kullanım dozajlarının belirlenmesinde baz alınabilir.

## KAYNAKLAR

- Abdel-Hamid, M. I. 1996. Development and application of a simple procedure for the toxicity testing using immobilized algae. *Water Science and Technology*, 33(6); 129-138.
- Åkerblom, N. 2004. Agricultural pesticide toxicity to aquatic organisms- A literature review. Rapport 2004: 16. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala.
- Alibhai, M. F. and Stallings, W. C. 2001. Closing down on glyphosate inhibition-with a new structure for drug discovery. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(6); 2944-2946.
- Anonim. 1988. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği. Çevre ve Orman Bakanlığı. 4 Eylül 1988 tarih ve 19919 sayılı Resmi Gazete.
- Anonim. 1996. Su Kalitesi- Tatlı su algilerinde çoğalmanın önlenmesi deneyi- TS EN 28692, Ankara.
- Anonim. 2002. Bitki Koruma Ürünleri 2002. T.K.B. Koruma Kontrol Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Anonim. 2006a. Web sitesi: <http://www.safatarim.com.tr>. Erişim Tarihi: 10.04.2006.
- Anonim. 2006b. Web sitesi: <http://www.bayercropscience.com.tr>. Erişim Tarihi: 06.03.2006.
- Anonymous. 1976. Standart methods for the examination of water and wastewater, Fourteenth edition of APHA, USA.
- Anonymous. 2000. Glyphosate Herbicide Information Profile: United States Department of Agriculture, Forest Service Pacific Northwest Region. November 17, 2000. 25 pages.
- Anonymous. 2002a. Review report for the active substance ethoxysulfuron. Commission working document. European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General, Ethoxysulfuron 7461/VI/98-final, 22 November 2002.
- Anonymous. 2002b. Review report for the active substance glyphosate. Commission working document. European Commission, Health & Consumer Protection Directorate-General, Glyphosate 6511/VI/99-final, 22 January 2002.
- Anonymous. 2002c. Pesticides in Ontario: A critical assessment of potential toxicity of agricultural products to wildlife, with consideration for endocrine disruption. Canadian Wildlife Service, Environmental Conservation Branch Ontario Region. Technical report series No: 369, 112 p.
- Anonymous. 2002d. OECD Guidelines for the testing of chemicals. Proposal for updating Guideline 201. Freshwater Algae and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test, 2002.
- Anonymous 2006. EPA Probit Analysis Program Used For Calculating LC/EC Values Version 1.5. Web sitesi. <http://msu.edu/course/zol/868>. Erişim Tarihi: 22.04.2006.
- Atay, D. ve Pulatsü, S. 2000. Su Kirlenmesi ve Kontrolü. A. Ü. Ziraat F. Yay. No: 1513, Ders kitabı: 466, 292 s, Ankara.
- AVPMA. 2006. Web sitesi. [http://avpma.gov.au/gazette\\_0501\\_p14.pdf](http://avpma.gov.au/gazette_0501_p14.pdf), 2006. Erişim Tarihi: 15.04.2006.

- Boyle, T. P. 1984. The effect of environmental contaminants on aquatic algae. In: Algae as Ecological Indicators (L. E. Shubert, Ed), pp. 237-256. Academic Press, New York.
- Canyurt, M. A. 1982. Bazı tarım ilaçlarının Aynalı sazan (*Cyprinus carpio L.*), Tilapya (*Tilapia galileo A.*) ve Yılan balıkları (*Anguilla anguilla L.*) için toksik derişimleri üzerine araştırmalar. Doçentlik Tezi, Ege Üniv. Ziraat Fak., Bornova, İzmir.
- Cox, C. 1998. Glyphosate (Roundup) Factsheet. Journal of Pesticide Reform, 18(3); 3-17.
- De Lorenzo, M. E., Scott, G. I. and Ross, P. E. 2001. Toxicity of pesticides to aquatic microorganisms: A review. Environmental Toxicology and Chemistry, 20; 84-98.
- Delen, N., Durmuşoğlu, E., Güncan, A., Güngör, N., Turgut, C. ve Burçak, A. 2005. Türkiye'de pestisit kullanımı, kalıntı ve organizmalarda duyarlılık azalışı sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, s. 629-648, Ankara.
- Deneer, J. W. 2000. Toxicity of mixtures of pesticides in aquatic systems. Pesticides Management Science, 56; 516-520.
- Djomo, J. E., Dauta, A., Ferrier, V., Narbonne, J. F., Monkiedje, A., Njine, T. and Garrigues, P. 2004. Toxic effects of some major polyaromatic hydrocarbons found in crude oil and aquatic sediments on *Scenedesmus subspicatus*. Water Research, 38; 1817-1821.
- Duke, S. O. and Hoagland, R. E. 1981. Effects of glyphosate on the metabolism of phenolic compounds: VII. Rootfed aminoacids and glyphosate toxicity in soybean (*Glycine max*) seedlings. Weed Science, 29; 297-302.
- Durrieu, C., Badreddine, I. and Daix, C. 2003. A dialysis system with phytoplankton for monitoring chemical pollution in freshwater ecosystems by alkaline phosphatase assay. Journal of Applied Phycology, 15; 289-295.
- Egemen. Ö. 2000. Çevre ve Su Kirliliği. E.Ü. Su Ürünleri F. yay. No:42, İzmir.
- Fairchild, J. F., Sappington, L. C. and Ruessler, D. S. 1999. An ecological risk assessment of the potential for herbicides impacts on primary productivity of the Lower Missouri River. Contamination of Hydrologic Systems and Related Ecosystems, Water Resources Investigation Report, 99-4018B.
- Faust, M., Altenburger, R., Backhaus, T., Blanck, H., Boedeker, W., Gramatica, P., Hamer, V., Scholze, M., Vighi, M. and Grime, L. H. 2003. Joint algal toxicity of 16 dissimilarly acting chemicals is predictable by the concept of independent action. Aquatic Toxicology, 63; 43-63.
- Geyer, H., Scheunert, I. and Korte, F. 1985. The effects of organic environmental chemicals on the growth of the alga *Scenedesmus subspicatus*. Chemosphere, 14(9); 1355-1369.
- İnaç, A. 2001. *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kuetzing ve *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Brebisson'nın laboratuvar ortamında üretilme şartlarının araştırılması ve fizyolojileri. Doktora Tezi, Gazi Üniv. Fen Bil. Enst.,Ankara.
- Kallqvist, T. and Romstad, R. 1994. Effects of agricultural pesticides on planktonic algae and cyanobacteria- examples of interspecies sensitivity variations. Norwegian Journal of Agricultural Sciences. 13; 117-131.

- Kausch, H. and Lampert, W. 1994. Algae and Water Pollution. In: Advances in Limnology (Heft 42) E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele u.Obermiller), Stuttgart, 1994.
- Kersting, K. and Vanden Brink, P. J. 1997. Effects of the insecticide dursban ®4E (active ingredient chlorpyrifos) in outdoor experiment ditches: Responses of ecosystem metabolism. Environmental Toxicology Chemistry, 16; 251-259.
- Kessler, E. 1991. *Scenedesmus*: Problems of a highly variable genus of green algae. Botanica Acta, 104; 169-171.
- Komarek, J. and Fott, B. 1983. Chlorococcales. 7. Teil. 1. Hälfte. In: J. Elster and W. Ohle (Eds) Das Phytoplankton des Süßwassers, E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, 1049 p.
- Krienitz, L. 2006. Sözlü görüşme. Leibniz-Tatlı Su Ekolojisi ve İç Su Balıkçılığı Enstitüsü, Limnoloji ve Tabakalanmış Göller Bölümü, Berlin, Almanya.
- Lu, G., Yuan, X. and Zhao, Y. 2001. QSAR study on the toxicity of substituted benzenes to the algae (*Scenedesmus obliquus*). Chemosphere, 44; 437-440.
- Ma, J. 2002. Differential sensitivity to 30 herbicides among populations of two green algae *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 68; 275-281.
- Ma, J., Zheng, R., Xu, L. and Wang, S. 2002. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*, to 12 pesticides. Ecotoxicology and Environmental Safety, 52; 57-61.
- Ma, J. and Liang, W. 2001. Acute toxicity of 12 herbicides to the green algae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 67; 347-351.
- Ma, J., Liang, W., Xu, L., Wang, S., Wei, Y. and Lu, J. 2001. Acute toxicity of 33 herbicides to the green algae *Chlorella pyrenoidosa*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 66; 536-541.
- Ma, J., Lin, F., Wang, S. and Xu, L. 2003. Toxicity of 21 herbicides to the green algae *Scenedesmus quadricauda*. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 71; 594-601.
- Ma, J., Lin, F., Wang, S. and Xu, L. 2004. Acute toxicity assessment of 20 herbicides to the green algae *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 72; 1164-1171.
- Ma, J., Zheng, R., Xu, L. and Wang, S. 2002. Differential sensitivity of two green algae, *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa*, to 12 pesticides. Ecotoxicology and Environmental Safety, 52; 57-61.
- Maule, A. and Wright, S.J.L. 1984. Herbicide effects on the populations growth of some green algae and cyanobacteria. Journal of Applied Bacteriology, 57; 369-379.
- Mc Feters, G. A., Bond, P. J. and Olson, S. B. 1983. A comparison of microbial bioassays for the detection of aquatic toxicants. Water Research, 17(12); 1757-1762.
- Megharaj, M., Singleton, I. and Mc Clure, N. C. 1998. Effects of pentachlorophenol pollution towards microalgae and microbial activities in soil from a former timber processing facility. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 61; 108-115.

- Moreno-Garrido, I., Hampel, M., Lubián, L. M. and Blasco, J. 2001. Marine microalgae toxicity test for linear alkylbenzene sulfonate (LAS) and alkylphenol ethoxylate (APEO). *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371; 474-478.
- Moreno-Garrido, I., Hampel, M., Lubián, L. M. and Blasco, J. 2003. Marine benthic microalgae *Cylindrotheca closterium* (Ehremberg) Lewin and Reimann (Bacillariophyceae) as a tool for measuring toxicity of linear alkylbenzene sulfonate in sediments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 70; 242-247.
- Muromtzev, G. S., Borvko, A. V. and Zolnikova, N. V. 1975. *Chlorella* as an indicator for detection of microorganisms producing phytotoxicity substances. In: Coulson, F., Korte, F. (Eds), *Pesticide*. Georg Thieme Publishers, Stuttgart, pp.672-674.
- Peterson, H. G., Boutin, C., Martin, P. A., Freemark, K. E., Ruecker, N. J. and Moody, M. J. 1994. Aquatic phyto-toxicity of 23 pesticides applied at expected environmental concentrations. *Aquatic Toxicology*, 28; 275-292.
- Sabater, C. and Carrasco, J. M. 2001. Effects of pyridapenthion on growth of five freshwater species of phytoplankton: A laboratory study. *Chemosphere*, 44; 1775-1781.
- Sabater, C., Cuesta, A. and Carrasco, R. 2002. Effects of bensulfuron-methyl and cinosulfuron on growth of four freshwater species of phytoplankton. *Chemosphere*, 46; 953-960.
- Sáenz, M. E., Di Marzio, W. D., Alberdi, J. L. and del Carmen Tortorelli, M. 1997. Effects of technical grade and commercial formulation of glyphosate on algal population growth. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 59; 638-644.
- Sáez, M., Gómez-Parra, A. and González-Mazo, E. 2001. Bioconcentration of linear alkylbenzene sulfonates and their degradation intermediates in marine algae. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371; 486-490.
- Shehata, S. A., Aly, O. A. and Farag, H. 1984. Effects of bladex, etazine, dicryl and baylucide on growth of *Scenedesmus*. *Environment International*, 10; 225-234.
- Skulberg, O. M. 1964. Algal problems related to the eutrophication of European water supplies and a bioassay method to assess fertilizing influences of pollution of inland waters, In: *Algae and Man*. Plenum Press, 262-299, New York.
- Sumida, S. and Ueda, M. 1974. *Chlorella* as a model system to study herbicidal mode of action and its application to a new herbicide, *O*-ethyl-*O*-(3-methyl-6-nitrophenyl)-*N*-*sec*-butyl phosphorethioamidate (S-2846). In: Kohn, G. K. (Ed.), *Mechanisms of Pesticide Action*. American Chemical Society, Washington, DC, pp.156-168.
- Tadros, M. G., Philips, J., Patel, H. and Pandiripally, V. 1994. Differential response of green algal species to solvents. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 52; 332-337.
- Ünsal, M. 1996. Kirlilik Deneyleeri- Yöntem ve Sonuçların Değerlendirilmesi- Orta Doğu Teknik Üniv. Deniz Bil. Enst., 167 s, Mersin.

- Wiegard-Rosinus, M. and Obst, U. 1992. Enzymes *in vitro* as indicators for pesticides: An examination. *Environmental Toxicology and Water Quality*, 7; 313-321.
- Williams, D. and Feltmate, B. W. 1992. *Aquatic insects*. CAB International. ISBN: 0-85198-782-6 XIII, 358 p.
- Wong, P. K. 2000. Effects of 2,4-D, glyphosate and paraquat on growth, photosynthesis and chlorophyll *a* synthesis of *Scenedesmus quadricauda* Berb. 614. *Chemosphere*, 41; 177-182.
- Yıldız, M., Gürkan, M. O., Turgut, C., Kaya, Ü. ve Ünal, G. 2005. Tarımsal savaşımında kullanılan pestisitlerin yol açtığı çevre sorunları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi, s. 649-666, Ankara.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : U. Burcu (SERİN) ERMİŞ

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 11.04.1981

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu

Lise : Özel Arı Fen Lisesi/ 1995-1998

Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Su Ürünleri Bölümü/ 1998-2003

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Su Ürünleri Anabilim Dalı/ 2003-2006)

Çalıştığı Kurum : Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Dış İlişkiler ve Avrupa Topluluğu Koordinasyon Dairesi Başkanlığı/ 2005-