

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aynur FİDAN

**BAZI PESTİSİDLERİN TURUNÇGİLLERİN FİZYOLOJİK VE ANATOMİK
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA, 2007

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI PESTİSİDLERİN TURUNÇGİLLERİN FİZYOLOJİK VE ANATOMİK
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Aynur FİDAN
YÜKSEK LİSANS
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez/...../2007 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği
/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.**

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Yrd.Doç.Sema DÜZENLİ DANIŞMAN	Prof.Dr.N.KEMAL KOÇ ÜYE	Yrd.Doç.Dr.Halil ÇAKAN ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr. Aziz ERTUNÇ

Enstitü Müdürü

**Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Tarafından Desteklenmiştir.**

Proje No: FEF 2005 YL 24

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Aynur FİDAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

BAZI PESTİSİDLERİN TURUNÇGİLLERİN FİZYOLOJİK VE ANATOMİK ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

DANIŞMAN: Yrd.Doç.Dr. Sema DÜZENLİ

Yıl:2007 Sayfa: 40

Jüri :Yrd.Doç.Dr. Sema DÜZENLİ

Prof. Dr. N.Kemal KOÇ

Doç.Dr. Halil ÇAKAN

Bu çalışma da Adana ve çevresinde turuncgillerde hastalık ve zararlılarına karşı kullanılan etkin maddeleri mineral yağ, Dicofol 2.2.2-trichloro,1 -bis C4, Chlorophenyl ethanol, Propargite 2-(tert butylphenxy) ve Cylohexyl prop-2-ynyl Sulphide olan kimyasal ilaçların washington ve valencia turuncgil çeşitlerine olan fizyolojik ve anatomik etkileri araştırılmıştır.

Çukurova Üniversitesi kampüs alanı içindeki Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezin'den Aralık, Ocak, Şubat aylarında washington ve valencia portakal çeşitlerinin yapraklarından örnekler alınarak şu parametreler incelenmiştir; stoma dağılımı, toplam klorofil, karotenoidler, prolin, mineral maddeler (Ca, Mg, Cu, Zn, Mn, Fe), SH-bileşikleri, lipid peroksidasyonu, total askorbik asit indirgenmiş/okside ve sod analizleri yapılmıştır.

Yapılan istatistiksel analizlere göre her iki çeşit üzerindeki pestisidlerin etkileri yapraklardaki; stoma dağılımı, toplam klorofil, ve askorbik asit miktarı azalmıştır; prolin, SH-bileşikleri lipid peroksidasyonu, SOD miktarı iki çeşitte kontrolle göre arttığı saptanmıştır.

Analiz sonuçlarına göre; her iki turuncgil çeşitlerinden pestisidlere karşı toleransı en yüksek olan çeşitin washington olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Turuncgil, pestisid, lipid peroksidasyonu, klorofil, mineral elementler

ABSTRACT
MSc THESIS
Aynur FİDAN
UNIVERSITY OF CUKUROVA
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
DEPARTMENT OF BIOLOGY

**The effects of some pesticides on the physiological and anatomical
properties of Citrus varieties**

Supervisor: Asist. Prof.Dr. Sema DÜZENLİ

Year : 2007, Page: 40

Jury : Asist.Prof.Dr. Sema DÜZENLİ

Prof. Dr. N.Kemal KOÇ

Asist.Prof.Dr. Halil ÇAKAN

This study has been conducted to determine the effect of chemical substances on physiological and anatomical characteristics, which are using against illness and harmful pests at the Citrus varieties of Valencia and Washington in Adana and its surroundings, including effective substances such as Dicofol 2.2.2-trichloro,1 -bis C4, Chlorophenyl ethanol, Propargite 2-(tert butylphenxy) and Cylohexyl prop-2-ynyl Sulphide.

To determine the effects of these chemical substances, leaves samples was collected between November and February from the varieties of Valencia and Washington which are growing in Subtropics Fruits Research Center. The parameters such as stomata density, total chlorophyll, carotenoids, piroline, mineral substances (Ca, Mg, Cu, Mn and Fe), SH-components, lipid peroxidation, totale, reduced/oxygenated ascorbic acid and sod analysis were done.

According to the statistical analysis, the effect of pesticides found that stomata densities, total chlorophyll and ascorbic acid decreased in both varieties of Citrus. But total amount of piroline, SH-components lipid peroxidation, SOD were increased when compared with the control.

According to the result of analysis; the variety of washington determined as the most tolerant variety to pesticides

Key words: Citrus, pesticide, lipid peroxidation, Chlorophyll, mineral elements

TEŞEKKÜR

Tez konumun seçimi, yürütülmesi ve sonuçların değerlendirilmesi sırasında gösterdiği yardımlardan dolayı sayın hocam Yrd.Doç.Dr. Sema DÜZENLİ'ye teşekkür ederim.

Örneklerin Çukurova Üniversitesi Subtropik Meyveler Araştırma VE Uygulama Merkezin'de yetiştirilen portakal çeşidi yapraklarından örneklerin alınması konusunda yardımlarından dolayı sayın hocam Prof.Dr. N.Kemal KOÇ'a teşekkür ederim.

Bana laboratuvar çalışmalarım sırasında ekstraksiyon işlemlerinde yardımcı olan lisans öğrencileri Tuğba CANITEZER, Murat BAŞ, Murat H. ARICI, Şeyda ACAR, Berna GÜNGÖR, Sezer DÖRDÜ'e teşekkür ederim.

İstatiksel analizlerin yapılmasında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Ali ERKİLİÇ'e, tezin yazılmasında yardımcı olan Elif ÜLGER, Emine CINKILOĞLU, Hatice Gül ÖZYÜREK'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA

Öz.....	I
Abstract.....	II
Teşekkür.....	III
İçindekiler.....	IV
Şekiller Dizini.....	VI
KISALTMALAR.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
3.MATERYAL ve METOD.....	8
3.1.Materyal.....	8
3.1.1.Analizlerde Kullanılan Bitki Materyali.....	8
3.2.Metod.....	8
3.2.1.Stoma Dağılımının Belirlenmesi.....	8
3.2.2.Mineral Elementlerin Analizleri.....	9
3.2.3.Klorofil ve Karotenoid Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	9
3.2.4.Prolin Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	9
3.2.5.Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi.....	10
3.2.6.SH-Grupları Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	11
3.2.7.Askorbik Asit Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	11
3.2.8.Süperoksit Dismutaz Konsantrasyonunun Belirlenmesi.....	12
4.ARAŞTIRMA BULGULARI	
4.1.Araştırma Bulguları.....	3
4.1.1.Analizlerde Kullanılan Bitki Materyaline Ait Sonuçlar.....	13
4.1.1.1.Stoma Dağılımı Sonuçları.....	13
4.1.1.2.Mineral Madde Analiz Sonuçları.....	14
4.1.1.3.Klorofil Konsantrasyonu Sonuçları.....	18
4.1.1.4.Karotenoid Konsantrasyonu Sonuçları.....	20
4.1.1.5.Prolin Konsantrasyonu Sonuçları.....	21

4.1.1.6.Lipid Peroksidasyonu Sonuçları.....	21
4.1.1.7.SH-Grupları Konsantrasyonu Sonuçları.....	22
4.1.1.8.Askorbik Asit Konsantrasyonu Sonuçları.....	22
4.1.1.9. Süperoksit Dismutaz Konsantrasyonunun Sonuçları.....	24
4.2.Tartışma.....	26
5.SONUÇ ve ÖNERİLER.....	34
Kaynaklar.....	36
Özgeçmiş.....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

- Şekil 4.1.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal yapraklarındaki stoma dağılımı.....13
- Şekil 4.2.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki kalsiyum konsantrasyonu 14
- Şekil 4.3.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki demir konsantrasyonu 15
- Şekil 4.4.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki magnezyum konsantrasyonu..... 15
- Şekil 4.5.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki bakır konsantrasyonu16
- Şekil 4.6.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki Çinko konsantrasyonu17

SAYFA

Şekil 4.7.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki mangan konsantrasyonu	17
Şekil 4.8.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki toplam klorofil konsantrasyonu	18
Şekil 4.9.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki klorofil b konsantrasyonu	19
Şekil 4.10.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki klorofil a konsantrasyonu.....	20
Şekil 4.11.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki karotenoid konsantrasyonu	20
Şekil 4.12.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki prolin konsantrasyonu.....	21
Şekil 4.13.	Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki Lipid Peroksidasyonu konsantrasyonu.....	22

- Şekil 4.14.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından
çeşidi yapraklarındaki SH-Bileşikleri konsantrasyonu 15. ve 30. gün
sonra washington ve valencia portakal.....22
- Şekil 4.15.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından
15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal
çeşidi yapraklarındaki İndirgenmiş Askorbik Asit
konsantrasyonu.....23
- Şekil 4.16.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından
15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal
çeşidi yapraklarındaki Yükseltgenmiş Askorbik Asit
konsantrasyonu.....24
- Şekil 4.17.** Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından
15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal
çeşidi yapraklarındaki SOD (süperoksid dismutaz)
konsantrasyonu.....24

KISALTMALAR

% : yüzde

μg : mikrogram

mg: miligram

SOD: Süperoksit dismutaz

O_2 : Süperoksit radikali

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

OH : Hidroksil radikali

AA : Askorbik asit

TR : Ortam sıcaklığı

İnd : indirgenmiş

oks : Okside

chl : chlorophyll

MDHA : Monodehidroaskorbat

K.A : kuru ağırlık

1.GİRİŞ

Pestisid uygulamalarının tarımsal verimliliği arttırmada faydalı olduğu düşünülmektedir. Bunun yanında, bu kullanımın bir sonucu olarak tarımsal üretimde meyvelerin üzerinde pestisid kalıntıları hem halk sağlığını tehlikeye sokmakta hem de bitki metabolizmasını değiştirmektedir. Ayrıca toprak tuzluluğu, pestisid ve gübre uygulamaları, diğer mikroorganizmaların varlığı, ağır metal konsantrasyonu, fosfor ve nitrojen seviyeleri, toprak nemi, toprak pH'ı, sıcaklık gibi çevresel birçok faktöründe bitki yapısında değişikliklere sebep olmaktadır. (Anonymous,1998)

Özellikle sentetik kimyasalların yoğun bir şekilde bitki sağlığı alanında kullanılmaya başlanması ile bunların insan, çevre ve hayvan sağlığı açısından risklerinin de arttığı gözlenmiştir. Ülkeler düzeyinde pestisit kullanımını kontrol altına alabilmek için yasal düzenlemeler (ruhsatlandırma sistemleri, imhaları, taşınmaları vb.) getirilirken, uluslar arası düzeyde faaliyet gösteren kuruluşlar da bu alana eğilmişlerdir. Bugün Avrupa ve Akdeniz Ülkeleri Bitki Koruma Organizasyonu (EPPO), Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu (FAO), Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Çevre Koruma Teşkilatı (EPA) gibi pek çok kuruluş pestisitlerin emniyetli kullanımı konusunda azami çaba göstermektedir (Anonymous 1985 a).

Pestisitlere karşı oluşan ilk direnç olayı İsveç'te 1946 yılında DDT'ye karşı *Musca domestica* L.(Dip.Muscidae)da gözlenmiş, 1948 de ise aldrin ve dieldrin'in toprakta en fazla kalıcı özelliğe sahip insektisitler olduğu açıklanmıştır.

Pestisitlerin tarım ürünlerinde bıraktıkları kalıntı insan, hayvan ve çevre sağlığı açısından büyük bir önem taşır. Eğer uygulama anında yapılacak araştırmalar ve alınacak önlemlerle bu kalıntıların insan ve çevreye zarar vermeyecek bir düzeyde olmaları sağlanabilirse güvenli bir kullanım gerçekleştirilmiş olacaktır. Bu amaçla işlenmemiş ürünlerde ve yem ürünlerinde tüm pestisit sınırlarının belirlenmesine karar verilmiş ve 1954 yılında ilk tolerans listeleri hazırlanmıştır.

Özellikle 1970 yılında başlayan çevre koruma hareketlerinden sonra tüm dünyada pestisit kullanımının daha kontrollü yapıldığı, mevcut etkili maddelerin

yeniden emniyet testlerine alındığı ve bu değerlendirmeler sonucunda bazı pestisitlerin çeşitli ülkelerde yasaklandığı, kısıtlandığı veya kontrollü bir şekilde kullanımının yapıldığı bilinmektedir. Bu uygulamaların nedenlerinden en önemlileri çevrede kalıcılıklarının fazla oluşu; kendilerinin, dönüşüm ürünlerinin veya içerdikleri safsızlıkların canlılara önemli derecede toksik olmalarıdır.

Dünyada tarım ürünlerini arttırma çabaları yanında, insan ve çevrenin korunması amacıyla daha güvenli pestisitlerin kullanımı artık kaçınılmaz olmuştur. 1906 yılında çıkardığı “Federal Gıda Yasası” ile Amerika Birleşik Devletleri bu konuya hassasiyetle yaklaşan ülkelerin başında gelmektedir. 1970 yılında ABD’de kurulan ‘Environmental Protection Agency (EPA)’, mevcut çalışmaların ışığı altında aynı yıl alkil civalıların kullanımdan kaldırılmasını ve ruhsatlarının iptalini onaylamıştır. Daha sonra DDT’nin bütün kullanımları 1973 de, aldrin ve dieldrin 1975 de, çoğu civalılar ise 1976 da kullanımdan kaldırılmıştır.

EPA 1978 yılında kullanımı sınırlandırılmış ve yasaklanmış pestisitlerle ilgili ilk defa bir liste yayımlanmış, 1979 yılında ise 2,4,5-T’nin kullanımını geçici olarak durdurmuş ve ikinci listesini ise 1985’de yayımlamıştır (Anonymous,1985).

EPA’nın bu yayınları sonucu diğer ülkeler de kendi çıkarlarını düşünerek, ülkelerindeki ruhsatlı pestisitleri yeniden değerlendirip bir kısmını yasaklama, kısıtlama yoluna gitmişlerdir. Amerika’dan sonra Federal Almanya kendi ülkesinde kullanılan pestisitlerle ilgili ilk listeyi 1987 yılında yayımlamıştır (Anonymous,1987).

Türkiye’de de bazı pestisitlerin kullanımlarının yasaklanması ve ruhsatlarını iptali, bazılarının da kullanımlarının kısıtlanması yoluna gidilmiştir. Ülkemizde dieldrin 1971, aldrin, chlordane, chlodimeform, endrin ve parathion (ethyl) 1979, BHC, DDD ve DDT 1985, calsium arsenat 1982 ve lindane 1985 yıllarında ruhsatları iptal edilen pestisitlerdir.

Araştırmalar ışığı altında pestisitlerle ilgili bu yasaklama ve kısıtlama kararları ile ruhsatlandırma esaslarında o ülkenin fayda, risk analizindeki dengenin ve önceliklerin etkisi büyük olmaktadır. Nitekim ileri tarım tekniklerine sahip bir

ülkede nadir bir kuş türüne sahip bir pestisit ruhsatlandırılmaz iken, daha az gelişmiş bir ülkede aynı bileşik ruhsatlandırılabilir (Öztürk, 1990).

Bugün pestisit olarak kullanılan maddelerin pek çoğu organik bileşiklerdir. Bunlardan ancak sistemik insektisitler, hormon yapısındaki herbisitler çeşitli yollardan bitki içine girmekte, onun biyokimyasal olaylarını etkileyebilmektedir. Diğerlerinin genel olarak bitki içerisine girme özellikleri yoktur, ancak bitki yüzeyindeki yağ ya da mumsu tabakalarda eriyebilirler. Fakat bunlardan bazıları kokulu olmaları nedeniyle besinin tat ve doku gibi özelliklerini bozabilmektedir.

Sistemik insektisitler bitki tarafından absorbe edilirler ve bitki içine girebilirler. Ancak bunların böceklere etkili olabilmesi için bitki içine absorbe oldukları şekilde değil, böceklere zehirli olabilecek başka ürünlere parçalanmaları gerekir. Hormon yapısındaki herbisitler, yabancı otun biyokimyasal olaylarını değiştirdikleri için eğer uyguladıkları yerde kültür bitkileri de bulunuyorsa kültür bitkilerine de aynı tip etkiyi gösterebilirler. Bununla birlikte, bu tip herbisitlerin çoğu yapıları gereği selektif ya da formülasyonu, uygulama yöntemi ve zaman ile seçici kılındıklarında yalnız yabancı ota etkili olabilmektedir.

Fotosentez, çekirdek oluşumu, soluma ve yüksek enerji bağlarının oluşturulması, protein sentezi ve karbonhidrat değişimleri gibi metabolik olaylarda fosforun önemli bir yeri vardır. Birçok herbisit bitkilerin fosforu absorbe yeteneklerini, bitki içinde bu elementin dağılmasını ve ondan yararlanmayı etkilemekte ve fosfor metabolizmasını bozmaktadır.

Pestisitlerin bitkilere diğer bir etkisi de fitotoksit olmalarıdır. Formülasyondaki etkili madde ile diğer maddeler bitkinin cins, tür ve gelişme devrelerine göre değişik fitotoksit etkilerde bulunmaktadır. Ancak çoğu fungusit fungal hastalık etmenlerine karşı etkin oldukları dozlarda ve uygun dönemlerde bitkilere uygulandıklarında onların metabolizmalarında herhangi bir ters etki meydana getirmezler.

Hastalık ve zararlıların neden olduğu kayıpları önlemek için, kullanılan kimyasallara alternatif olarak uygulanabilecek mücadele yöntemleri yaygınlaştırılmadığı sürece, kimyasal mücadelenin uygulanması kaçınılmazdır. Ülkemiz ihracatında tarım ürünleri önemli bir yer tutmaktadır. Özellikle bunların

başında turunçgiller gelmektedir. Öte yandan verimi arttırmak amacıyla kullanılan pestisidlerin bitkilere zararını da göz ardı etmememiz gerekir. Ekosistemi etkilemeyecek ve insan sağlığı için daha az zararlı olan, yıkımı kolay olan ürünlerle ilaçlama yapılması tüketiciler yönünden daha olumlu olacaktır.

Bitkiler yaşamlarını sürdürebilmeleri bakımından bazı savunma mekanizmaları geliştirmektedirler. Patojenlerle ilgili antimikrobiyal aktivite potansiyelli proteinlerin birikimi, düşük molekül ağırlıklı antimikrobiyal fitoaleksinlerin oluşumu, lignin gibi polimerlerin ve yapısal proteinlerin depozizasyonu hücre duvarının güçlendirilmesini içine alan birtakım reaksiyonlar patojenlere karşı gerçekleşmektedir. Bu mekanizmaların patojen olmayan mikroorganizmalar tarafından ya da gelişmeyi engelleyen başka çevresel faktörler tarafından aktive edilebileceği bilinmektedir. Bir kere aktivasyon gerçekleştiğinde bitkinin doğal savunma mekanizması uzun periyotlar için etkili hale gelmekte ve çeşitli patojenlere karşı daha etkili olmaktadır. Aslında bitki hastalıklarını engellemek için pestisid kullanımı yerine biyolojik mücadele daha doğal, güvenilir, etkili ve uzun ömürlü bir alternatif olabilir. Tüm bu çalışmaların ışığı altında çok miktarda kullanılan pestisidlerin bu araştırmayla turunçgillerde de fotosentezi etkileyerek bitkiyi strese sokup sokmadığı ve bitkinin fizyolojisi ve anatomisi üzerindeki değişimlerinin etkileri araştırılmıştır.

2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Deltamethrin insektisit etkisindeki 45 günlük soya fasulyesinde (*Glycine max*) antioksidatif yanıt sistemi incelendiğinde lipid peroksidasyonunun ve prolin içeriğinin arttığı total askorbik asit içeriğinin ise azaldığı görülmüştür. Enzimatik antioksidantlardan SOD aktivitesinin ise kontrole oranla önemli derecede arttığı bildirilmiştir (Bashir ve ark;2007).

On iki hafta süresince ozon etkisindeki *Citrus clementina*'da yaprak biyokimyası, antioksidant mekanizması ve lipid peroksidasyonu incelenmiştir. Yapraklarda total klorofillerin karotenoidlerin, askorbat ve karbonhidrat konsantrasyonunun azaldığı lipid peroksidasyonunun ise önemli derecede arttığı bildirilmiştir.(Iglesias ve ark; 2006).

Hebisit Chlorotoluron etkisindeki buğday *Triticum aestivum* da oksidative stres parametreleri incelenmiştir. *Triticum aestivum* yapraklarındaki kullanılan Chlorotoluron konsantrasyonları on günlük bir periyotta 0-25mg/kg oranlarında artarak kullanılmıştır. *Triticum aestivum* yapraklarındaki SOD aktivitesi yapraklara nazaran daha fazla olduğu gözlenmiştir. Yapraklarda süper oksit radikali ile endojen proline düzeylerinin kontrole oranla arttığı bildirilmiştir. (Song ve ark; 2007).

Bir mantar türü olan *Glomus versiforme* etkisindeki *Citrus tangarina*'de kökünde antioksidant mekanizması incelenmiştir. Bu amaçla *Glomus versiforme*'li ve *Glomus versiforme*'siz *Citrus tangarina* fideleri plastik torbalar içine ekilerek, 97 gün sonunda *Citrus tangarina* bitkilerinde iki uygulamanın etkisi incelenmiştir. Araştırma sonuçlarına göre *Glomus versiforme* etkisindeki *Citrus tangarina*'de kökünde sod enzim aktivitesi kontrole göre artarken lipid peroksidasyonu ve askorbat düzeyinin de arttığı gözlenmiştir. Bunlardan biri kurak ortam diğeri sulak ortamda incelemeler yapıldı. *Glomus versiforme* etkisindeki *Citrus tangarine* kökünde sulak ortam ve susuz ortamda reaktif oksijen metabolizması incelenmiştir (Wu ve ark;2006).

Bir mantar türü olan *Glomus versiforme* etkisindeki turuncgil *Poncirus trifoliata* 'da tohumda kurak ve sulak ortamda reaktif oksijen metabolizması, büyüme metabolizması incelenmiştir. *Poncirus trifoliata* tohumları % 70 alkolde 5 dakika steril edildikten sonra 28 °C 'de karanlık ortamda bir hafta bekletilmiştir. Bir hafta sonunda tohumlar plastik torbalara ekilmiştir. Kontrole oranla Askorbat değeri artmış, antioksidant enzim miktarında ve Süperoksit radikalinde artış olmuştur (Wu ve ark;2006a).

Herbisit Oxyfluorfen ve Diphenyl ether etkisindeki buğday ve arpa yapraklarında lipid peroksidasyonu değerinin azaldığı kontrole göre klorofil değerinin azaldığı gözlenmiştir (Choi ve ark ; 1999).

Herbisit Paraquat etkisindeki buğday ve mısır yapraklarında oksidative stres parametreleri incelenmiştir. Yapraklarda on günlük süre sonucunda süper oksit radikali düzeylerinin kontrole oranla % 40 arttığı artığı bildirilmiştir (Matters ve Scandalios; 1986).

Imidazolinone herbisiti etkisindeki bezelye (*Pisum sativum*) yapraklarındaki oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. Bezelye yapraklarından alınan örneklerde superoxide dismutaz (SOD), askorbat peroxidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) ve glukagol peroksidaz enzim aktiviteleri incelenmişlerdir. Bezelye (*Pisum sativum*) tohumları steril edildikten sonra 26 °C de 96 saat karanlık ortamda iklim odasında çimlenmesini sağlamışlardır. Bezelye bitkilerine 12 gün sonra Imidazolinone herbisiti ilave etmişlerdir. Bezelye bitkilerinin yaprakları 0, 1, 3, 7, 10 ve 15 gün sonunda hasat etmişlerdir. Kontrole oranla lipid peroksidayon, askorbat peroksidaz, glutatyon redüktaz değerleri azalmıştır. Kontrole oranla süperoksit dizmutaz (SOD) değeri artmıştır (Zabalza ve ark; 2007).

2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)ve 2,4,5-trichlorophenoxyacetic acid (2,4,5-T) etkisindeki *Pisum sativum* yapraklarındaki lipid peroksidasyonu düzeylerinin kontrole oranla azaldığı tespit edilmiştir (Pogosyan ve ark; 2003).

Sulfonylurea herbisiti etkisindeki arpa (*Hordeum vulgare*) ve mısır (*Zea mays*) da oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. Chemiluminescence kaynağı sayesinde düşük piruvat konsantrasyonu varlığı tespit edilmiştir. Bu herbisitin reaktif oksijen varlığını arttırdığı tespit edilmiştir (Durner ve ark; 1994).

Chlorimuron-ethyl herbisiti etkisindeki *Triticum aestivum* da klorofil konsantrasyonu, MDA (malondialdehit), çözünür protein, SOD parametreleri incelenmiştir. Buğday yaprağından ve kökünden alınan örneklerde korofil konsantrasyonu azalmıştır. Buğday yapraklarında kontrole göre SOD konsantrasyonunun arttığı tespit edilmiştir (Wang ve Zhou; 2006).

Herbisit Flumioxazin etkisindeki *Vitis vinifera* da oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. Flumioxazin herbisitinin asma bitkisinde oksidatif strese neden olduğunu tespit etmiştir (Castro ve ark; 2005).

3.MATERYAL ve METOD**3.1. Materyal****3.1.1. Analizlerde Kullanılan Bitki Materyali**

Bitkisel materyaller Çukurova Üniversitesi kampüs alanı içerisindeki Subtropik Meyveler Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde iki farklı turuncgil çeşidi (Washington portakalı ve Valencia portakalı) yaprakları kullanılmıştır. Denemede örnek alınacak portakal ağaçları önceden belirlenerek etiketlenmiştir. Washington portakalı için 7 ağaç, valencia portakalı için 6 ağaç seçilmiştir. Her ağaç bir tekerrür olarak kabul edilmiştir. Her tekerrürden de otuz yaprak örneği alınmıştır.

Pestisidlerin periyodik eğilimlerini saptamak için analizlerde kullanılan yaprak örnekleri Aralık, Ocak, Şubat ayları döneminde alınmıştır. Alınan örnekler aynı bitkinin güneşe bakan bölgesinden aynı yaşta ve aynı sıradaki yapraklardan olmasına özen gösterilmiştir.

Pestisidlerin uygulamalarının bitki üzerindeki etkilerini saptamak için bitki örnekleri pestisid uygulamasından önce, 15. gün sonra ve 30. gün sonra örnekler alınarak analizler yapılmıştır.

Araştırma sonucunda yapılan tüm analizlerden elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde çoklu varyan analiz tekniği kullanılmış, sütun içerisinde farklı harfi içeren ortalamalar LSD (0.05) çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır.

3.2. Metod**3.2.1. Stoma Dağılımının Belirlenmesi**

Turuncgillerin pestisid uygulamasından önce ve sonra analiz için belirlenen yerdeki yapraklardan 3 farklı dönemde Washington portakalı ve Valencia portakalı bitkilerinden 3'er tekerrürlü alınan yaprak örneklerinde stoma sayımları yapılmıştır. Her yaprakta beş bölge ayırt edilip her bölgede 10x40 (Euremex araştırma mikroskop) büyütmede stoma sayımları yapılmıştır. Alınan yaprak örnekleri laboratuara getirilerek Silicon (RTV II) ile kalıpları çıkarılmış , aynı kalıplardan

selüloz asetatla tekrar kalıp oluşturularak stoma dağılımlarının saptanması Düzenli (1984) 'ye göre belirlenmiştir.

3.2.2.Mineral Element Analizleri

Mineral element analizleri Bremner (1965)' e göre yapılmıştır. Bu amaçla laboratuvara getirilen taze yaprak örnekleri % 0.1'lik HCl ile yıkandıktan sonra bolca saf sudan geçirilmiş ve 70 °C' ye ayarlanmış etüvde 48 saat süresince kurutulmuştur. Kurutulan bitki örnekleri daha sonra öğütülmüş ve öğütülen bu örneklerden 200 mg alınarak 5 saat süreyle 550°C' de kül fırınında yakılmıştır. Yakma işleminden sonra elde edilen kül %3.3'lük HCL' de çözündürülmüş ve mavi bant filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Elde edilen süzüntüde çözeltide atomik absorpsiyon cihazıyla (Atiunicam 929) Ca ,Fe ,Mg ,Mn, Zn ve Cu konsantrasyonları belirlenmiştir.

3.2.3.Klorofil ve Karotenoid Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Taze yaprak örnekleri (100-200 mg) 15 ml %80'lik (hacim/hacim) aseton(merk) ile homojenize edilerek beyaz bant filtre kağıdı ile süzölmüştür. Filtre edilen örneklerde 652 nm'de toplam klorofil, 663 nm'de klorofil a, 645 nm'de klorofil b ve 470 nm'de karotenoid ölçümleri yapılmıştır(Arnon1949). Hesaplamalar Lichtenthaler ve Wellburn (1983) tarafından aşağıda verilen formüllere göre yapılmıştır (A:ölçölen absorbens değeri).

$$\text{Toplam klorofil} = A_{652} \times 27.8 / \text{mg örnek ağırlığı}$$

$$\text{Klorofil A (Kl a)} = (11.75 \times A_{663} - 2.35 \times A_{645}) \times 20 / \text{mg örnek ağırlığı}$$

$$\text{Karotenoid} = ((1000 \times A_{470} - 2.27 \times \text{Kl a} - 81.4 \times \text{Kl b}) / 227) \times 20 \text{ mg örnek ağırlığı}$$

3.2.4.Prolin Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Prolin analizi Bates ve ark. (1973)'larına göre yapılmıştır. Prolin analizleri için 0.5 g kuru bitki materyali alınmış ve üzerine 10 ml %3'lük sülfosalisilik asit ilave edilerek homojenize edilmiştir. Homojenat mavi bant filtre kağıdıyla(391, 80g/m²) filtre edilmiştir.

Elde edilen süzüntüden 2 ml filtrat alınmış, üzerine 2 ml asit ninhidrin (Asit ninhidrin çözeltisinin hazırlanışı :1.25 g ılık ninhidrinle 30 ml glasiyal asetik asit ve 20 ml 6 M fosforik asidin çözülene kadar çalkalanmasıyla hazırlanmıştır. 24 saat durağan kalan reagent soğukta (+4°C) korunmuştur.) ve 2 ml glasiyal asetik asit ilave edilerek 100°C’de 1 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra buz banyosunda soğuyuncaya kadar tutulmuştur.

Bunu takiben reaksiyon karışımı 4 ml tolüenle ekstrakte edilmiştir.

Tolüen sulu fazdan aspire edilmiş ve oda sıcaklığında soğutulup absorbans değerleri UV spektrofotometresinde (CE 5502 UV spectrophotometer) 520 nm dalga boyunda okunmuştur. 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 µmol/prolin içeren standartlar hazırlanmıştır. Örnekler ((µg prolin/ml tolüen)/115.5µmol)/((g örnek) /5)= µmol prolin/g materyalin taze ağırlığı olarak hesaplanmıştır

3.2.5.Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu ölçümü Hodges ve ark. (1999)’na göre yapılmıştır. Bu amaçla yaklaşık 1 gram taze yaprak örneği %80’lik 10 ml etil alkol ile homojenize edilip ardından 3000 g’de santrifüj (Boeco marka) edilmiştir. Santrifüjden sonra elde edilen ekstrakta analiz iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Birinci aşamada ; Sıvı fazdan alınan 1 hacim ekstrakt üzerine 1 hacim %20’lik (ağırlık hacim) TCA (trichloroaceticacid) ve 1 hacim %0.01’lik BHT (Butylated Hydroxytoluene) eklenmiştir. İkinci aşamada; Sıvı fazdan alınan 1 hacim ekstrakt üzerine 1 hacim % 0.65 TBA (2-Thiobarbituric acid) içeren %20’lik TCA ve bunun da üzerine 1 hacim %0.01’lik BHT eklenmiştir. Daha sonra vortekle karıştırılan örnekler 95 °C ‘ye ayarlı su banyosunda 25 dakika inkübe edilmiş ve ardından şok soğutma yapılmıştır(Hemen buz banyosuna alınmıştır). Soğutulan örnekler tekrar 3000 g’de santrifüj (Boeco marka) edilmiş ve santrifügattan birinci aşama örneklerinde 532 ve 600 nm’de, ikinci aşama örneklerinde ise 532, 600 ve 440 nm’de spektrofotometre ile absorbans okumaları yapılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır(ABS : Absorbans, MDA . Malondialdehid).

$$1.((ABS\ 532+TBA)-(ABS\ 600+TBA)-(ABS\ 532-TBA)-(ABS\ 600-TBA))=A$$

$$2.((ABS\ 440+TBA-ABS600+TBA)\times 0.0571)=B$$

$$3.\text{nmol MDA} / \text{ml} = (A-B/157\ 000) \times 106$$

3.2.6.SH-Grupları Konsantrasyonunun Belirlenmesi

SH-grubu analizleri % 5'lik meta-fosforik asit ekstraksiyonunun 5-5'-dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB) çözeltisi kullanılarak Cakmak ve Marschner (1992)'de belirtildiği gibi yapılmıştır.

Buna göre 0.5 gram bitki örneği %5'lik metaforik asit ile homojenize edilerek 4000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüglardan 0.5 ml 15 ml'lik cam tüpe alınmış ve üzerine 5mM EDTA içeren 150 Mm'lik fosfor tamponu (Ph=7.4) ve 0.5 ml 6 Mm DTNB çözeltisi ilave edilerek 20 dakika oda sıcaklığında inkube edilmiştir. Renklendirilen örneklerde okumalar spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda okunmuştur. Standartlar 100 µg/ml aralığında hazırlanmış, standart olarak indirgenmiş glutathion kullanılmıştır.

3.2.7.Askorbik Asit Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Toplam ve indirgenmiş askorbik asit analizleri Cakmak ve Marschner(1992) tarafından bildirildiği gibi yapılmıştır. Yöntemin esası, ortama ilave edilen Fe^{+3} 'ün askorbik asit ile Fe^{+2} 'ye indirgenmesi ve Fe^{+2} 'nin bipyridin ile komplekslenerek oluşan kırmızı rengin 525 nm'de ölçümüne dayanmaktadır. Buna göre, yaklaşık 0.5 g taze yaprak örneği sıvı azot ve kuvars kumu yardımıyla 10 ml %5'lik meta-fosforik asit ile homojenize edilmiş ve ardından 4000 g'de 30 dakika santrifüj (Boeco)dilmiştir.

Toplam askorbik asiti belirlemek için, sıvı fazdan 0.2 ml alınmış, üzerine 5 mM EDTA içeren 0.5 ml 150 mM 'lık fosfor tamponu (Ph 7.4), 0.1 ml 10 mM DTT(1,4 dithiotreitol) eklenmiş ve 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. Bu sürenin bitiminden sonra DTT'yi ortamdan uzaklaştırmak için bu çözeltinin üzerine 0.1 ml %5'lik (ağırlık/hacim) NEM(N-ethylmaleimid) ilave edilmiştir. Reaksiyon ortamında askorbik asit miktarına bağlı renk oluşumu, sırasıyla 0.4 ml % 10'luk TCA (trichloroacetic acid), 0.4 ml %44'lük orto-fosforik asit, 0.4 ml % 70'lik etil alkol içinde hazırlanmış %4'lük 2,2'-bipyridin ve 0.2 ml % 3'lük FeCl_3 kimyasallarının ortama ilavesiyle gerçekleştirilmiştir.

İndirgenmiş askorbik asiti, belirlemek için ortama yukarıda belirtilen kimyasallardan sadece DTT ve NEM ilave edilmemiş ve diğer işlemler toplam askorbik asit analizinde olduğu gibi yapılmıştır. Daha sonra toplam ve indirgenmiş askorbik asit ölçümleri için hazırlanan örnekler renk gelişimi için +40 °C’de 40 dakika inkübe edilmiştir. Bu sürenin ardından örnekler spektrofotometrede 525 nm’de ölçüme alınmıştır.

Okumalar 0-100 µg/ml aralığında, standart olarak L(+) askorbik asit kullanılarak yapılmıştır. Toplam askorbik asitten indirgenmiş askorbik asit çıkarılarak okside olmuş askorbik asit düzeyi belirlenmiştir.

3.2.8. Süperoksit dismutaz enzim konsantrasyonu belirlenmesi

Yaklaşık 1gram taze yaprak örneği sıvı azot ve kuvars yardımıyla, 0.1 MmNa-EDTA içeren 50 Mm (Ph 7.6) fosfor (P) tampon çözeltisi ile (10 ml) homojenize edilmiştir. Homojenize edilen örnekler 15 dk süresince 15000 g ve +4 °C’ de 30 dakika santrifüj edildikten sonra, elde edilen sıvı faz enzim ve protein analizlerinde kullanılmıştır.

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi Cakmak ve Marschner (1992) göre yapılmıştır. Süperoksit dismutaz aktivitesi, nitro blue tetrazolyum kloridin ışık altında O_2^- tarafından indirgenmesi yöntemine göre ölçülmüştür. Bu amaçla son hacmi 5 ml olan cam şişeler içinde oluşan reaksiyon ortamına 0.1 Mm Na-EDTA içeren 50 Mm’lık (Ph 7.6) fosfor (P) tamponundan ilave edildikten sonra üzerine enzim ekstraktı (50-150 µl), 0.5 ml 50 Mm Na_2CO_3 (PH 10.2), 0.5 ml 12 Mm L-metihonin, 0.5 ml 75µM p-nitro blue tetrazolyum chlorid (NBT) VE 10µm riboflavin eklenmiştir. Nitro blue tetrazolyum’un O_2^- tarafından indirgenmesi örneklerin 24 °C VE 400 µmol m⁻² s⁻¹ ışık intensitesi altında 10 dk tutulması ile oluşturulmuştur. Bir SOD aktivitesi ünitesi, 560 nm’de ölçülen NBT’un indirgenme oranının % 50’sinin engellenebilmesi için gereken enzim miktarı olarak ifade edilmiştir.

4.ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1.Araştırma Bulguları

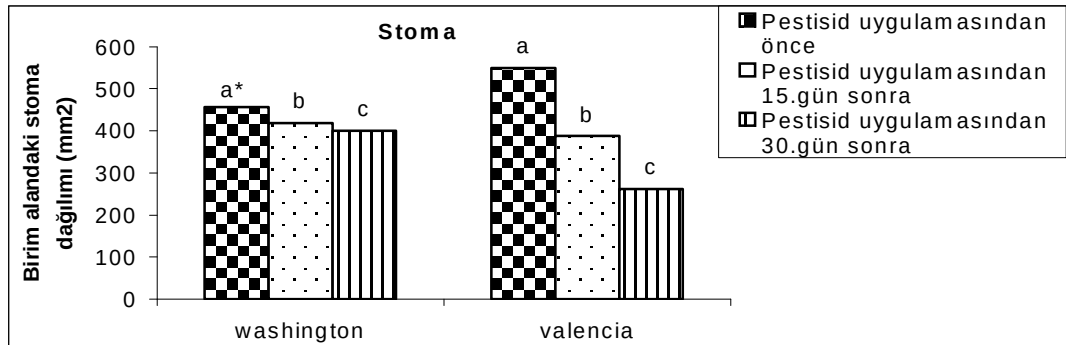
Denemelerin yürütüldüğü Subtropik Meyveler Uygulama ve Araştırma Merkezinden örnek alınacak ağaçlar daha önce işaretlenerek belirlenmiştir. Ağaçların seçiminde; ağaçların konumu, sıra durumu göz önüne alınmıştır. Yaprak örnekleri her iki bitki çeşidinden birbirine çapraz konumdaki ağaçların güneye bakan cephesinden alınmıştır.

4.2.Analizlerde Kullanılan Bitki Materyaline Ait Sonuçlar

4.1.1.1.Stoma Dağılımı Sonuçları

Örneklerin alındığı tüm dönemlerde, pestisid uygulamasından sonra, pestisid uygulanmamış döneme göre washington ve valencia yapraklarındaki stoma yoğunluğunda azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4. 1).

Valencia yapraklarında stoma dağılımı pestisid uygulamasından önceki dönemde 550 /mm² de en düşük ise stoma dağılımı yine aynı çeşidin pestisit uygulamasından 30. gün sonraki dönem de (262,50/mm²) saptanmıştır. Washington yapraklarında ise pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün pestisid uygulamasından önceki dönemle stoma dağılımı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak P< 0.05 düzeyinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Bu azalma mm² de 400,00 stoma ile pestisit uygulamasından 30. gün sonraki uygulamada saptanmıştır (Şekil 4. 1).



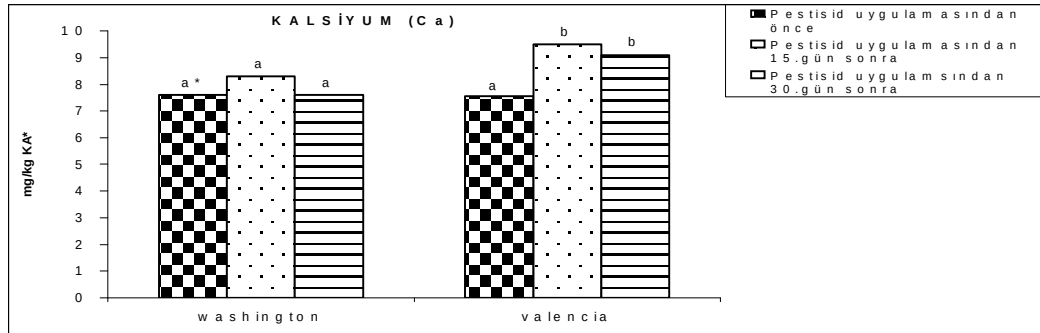
Şekil 4.1. Pestisid uygulamasından önce, 15. ve 30. gün sonra Washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki stoma dağılımı

4.1.1.2.Mineral Madde Analiz Sonuçları

Pestisid uygulanmış ve uygulanmamış çeşitlerin yaprak örneklerinde makro elementlerden Ca, Mg, Fe mikro elementlerden ise Mn, Zn, Cu, analizleri yapılmıştır.

Analiz sonuçlarına göre Ca konsantrasyonu Washington bitkisi yapraklarında pestisid uygulama öncesi ve sonrasında önemli bir değişiklik olmamıştır. Washington yapraklarında pestisid uygulamasından 15. gün sonra en yüksek 8,3 mg/kg Ca konsantrasyonu ile yüksek bir değer gösterse de istatistiksel olarak her üç uygulamada aynı grupta yer almıştır (Şekil 4. 2).

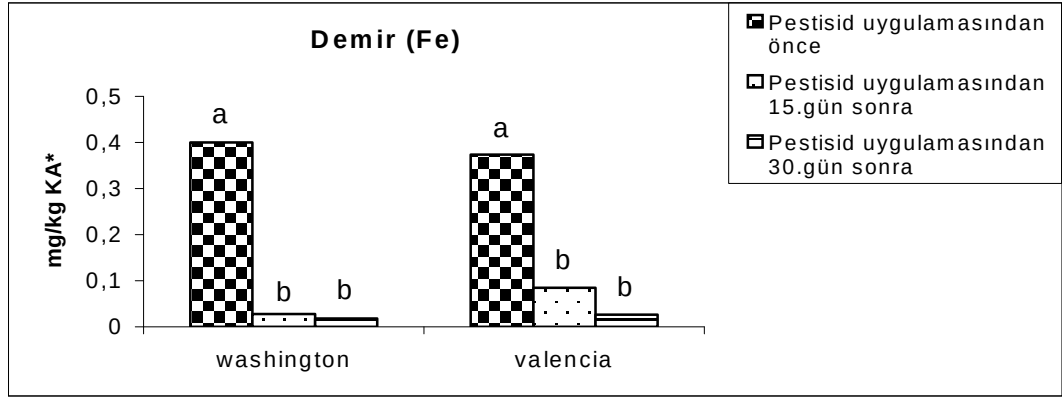
Valencia yapraklarında uygulama yapılmadan önceki dönem (kontrol) pestisid uygulamasından 15. gün (9,5 Ca mg/kg) ve 30.gün (9,09 ca mg/kg) aynı grupta yer alarak istatistiksel olarak $P < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. günsonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarında kalsiyum konsantrasyonu

* harfler $P < 0,05$ düzeyinde duncan testine göre farklı grupları göstermektedir.

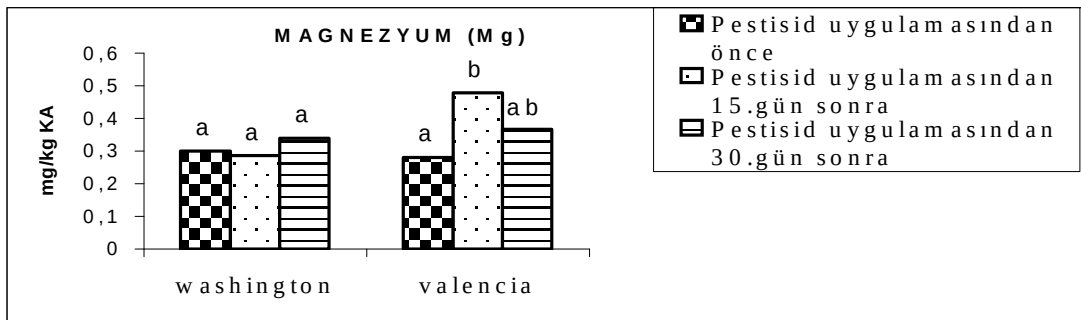
Fe konsantrasyonu örnek alınan washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarında pestisid uygulamasından 15. ve 30.gün sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre bir azalma göstermiştir. Washington yapraklarında kontrolde Fe (0,427mg/kg), valencia yapraklarında da (0,374 mg/kg Fe) en yüksek kontrolde pestisid uygulamasından önceki dönemde belirlenmiştir. Pestisid uygulamasından sonra ki dönemlerde her iki çeşitte de Fe miktarının çok düştüğü görülmektedir (Şekil 4. 3).



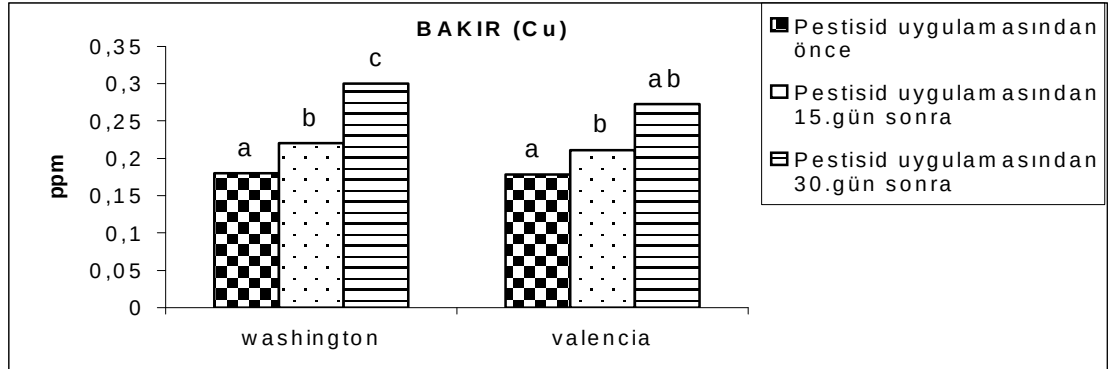
Şekil 4. 3. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki demir konsantrasyonu *K.A: Kuru Ağırlık

Washington yapraklarında Mg konsantrasyonu pestisid uygulamasından önce ve sonra karşılaştırılacak olursa magnezyum konsantrasyonunda pek bir değişiklik olmamıştır. Pestisid uygulamasından önce washington yapraklarında magnezyum konsantrasyonu 0,2993mg/kg saptanmıştır. Pestisid uygulamasından 15.gün sonra 0,2886 mg/kg, 30. gün sonra washington yapraklarında Mg konsantrasyonu 0,3390 mg/kg ile aynı grupta yer almıştır (Şekil 4. 4).

Valencia portakal çeşidi yapraklarında Mg konsantrasyonu kontrole göre en yüksek 0,4783 mg/kg pestisid uygulamasından 15.gün sonraki dönemde göstermiştir. Pestisid uygulamasından sonraki dönemlerde Mg miktarında bir yükselme olduğu görülmektedir (Şekil 4. 4).



Şekil 4.4. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki magnezyum konsantrasyonu

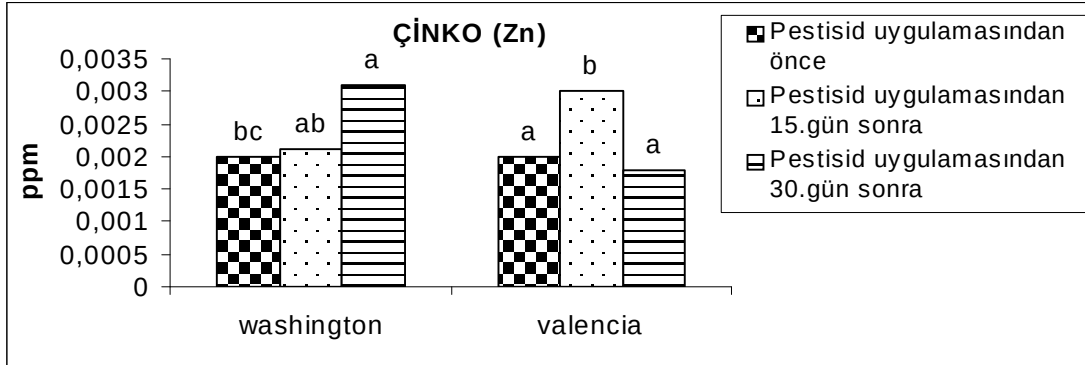


Şekil 4. 5. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki bakır konsantrasyonu

Mikro elementlerden Cu konsantrasyonu, washington ve valencia portakal çeşitlerinde pestisid uygulamasından önceki döneme göre pestisid uygulaması sonraki dönemlerde arttığı gözlenmiştir. Örneklerin alındığı tüm dönemler dikkate alındığında pestisid uygulamasından sonra Cu konsantrasyonu da valencia portakal çeşidinde en az 0,1782 ppm pestisid uygulamasından önceki dönemde bulunmuştur. Aynı durum Washington çeşidi içinde geçerlidir. Her iki çeşitte de istatistiksel olarak önemlilik $P < 0,05$ göre farklı harflerle görülmektedir (Şekil 4. 5).

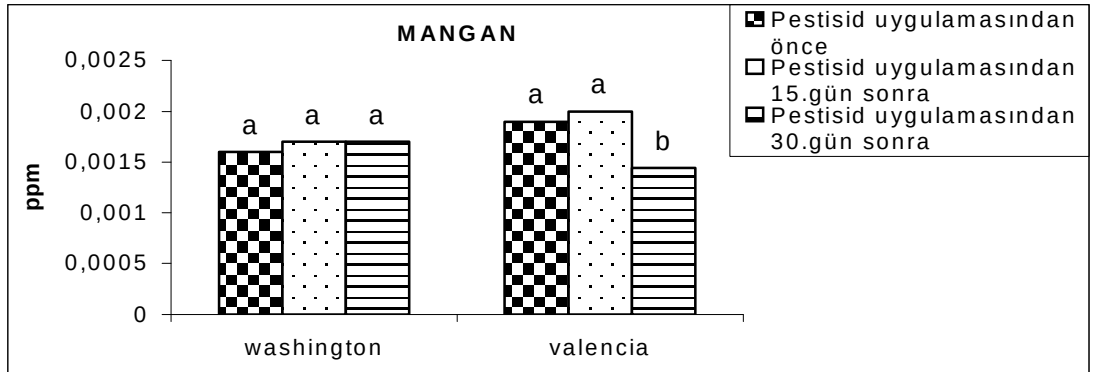
Zn miktarı Washington yapraklarında en yüksek 0,0031 ppm pestisid uygulamasından 30.gün sonra, en düşük 0,0020 ppm pestisid uygulamasından önceki dönemdir. Yine aynı çeşidin yapraklarında pestisid uygulamasında 15.gün sonra 0,0021 ppm belirlenmiştir (Şekil 4.6).

Zn konsantrasyonu Valencia yapraklarında en yüksek 0,0030 ppm pestisid uygulamasından 15.gün sonra, en düşük 0,0018 ppm pestisid uygulamasından 30.gün sonraki dönemdir. Yine aynı çeşidin yapraklarında pestisid uygulamasında önceki dönem 0,002 ppm belirlenmiştir. (Şekil 4. 6).



Şekil 4.6. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki çinko konsantrasyonu

İki portakal çeşidinde de Mn konsantrasyonu üç dönemde de önemli bir değişiklik olmamıştır. Sadece Valencia yapraklarında pestisid uygulamasından 30. gün sonra azalma saptanmıştır. Diğer uygulamalarda istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır (Şekil 4. 7).

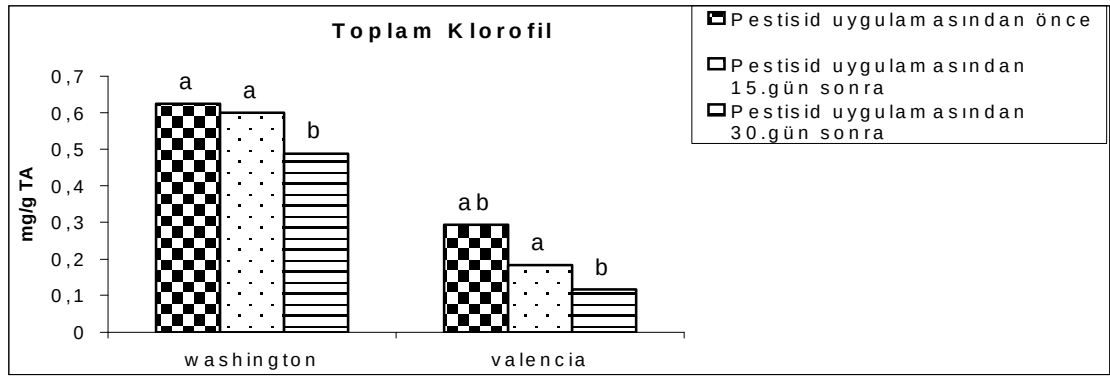


Şekil 4.7. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki mangan konsantrasyonu

4.1.1.3. Klorofil Konsantrasyonu Sonuçları

Washington yapraklarında toplam klorofil pestisid uygulamasından önceki döneme göre oranında göreceli olarak bir azalma olduğunu göstermektedir. Washington portakal çeşidinden alınan yapraklarda toplam klorofil miktarının en düşük olduğu dönem pestisid uygulamasından 30. gün sonraki dönemdir (Şekil 4. 8).

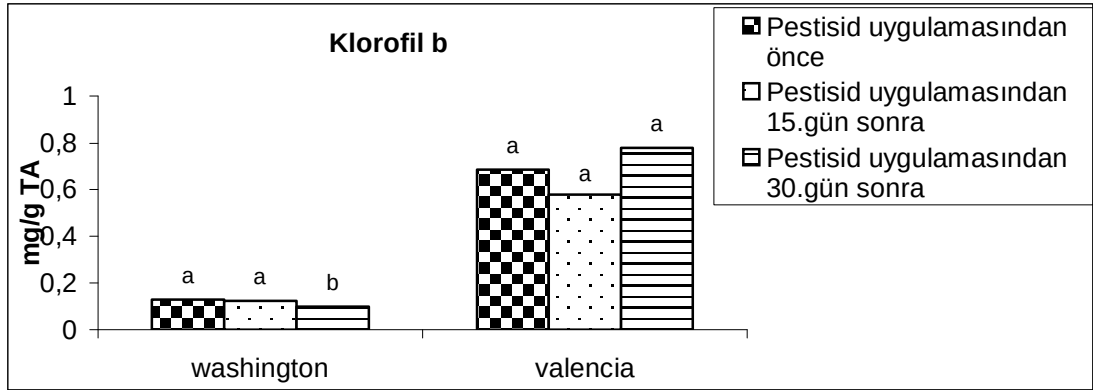
Valencia yapraklarında toplam klorofil pestisid uygulamasından sonraki dönemlerde uygulama öncesine göre oldukça fazla bir düşüş göstermiştir. Bu çeşit Washingtona göre toplam klorofil azalması yönünden daha hassastır (Şekil 4. 8).



Şekil 4.8. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki toplam klorofil konsantrasyonu

Washington yapraklarında pestisid uygulamasında önceki durumla sonraki durum arasında fazla bir farklılık olmamakla beraber, uygulamadan 30 gün sonraki dönem klorofil b deki azalma ile istatistiksel olarak ayrı bir grup oluşturmuştur (Şekil 4. 9).

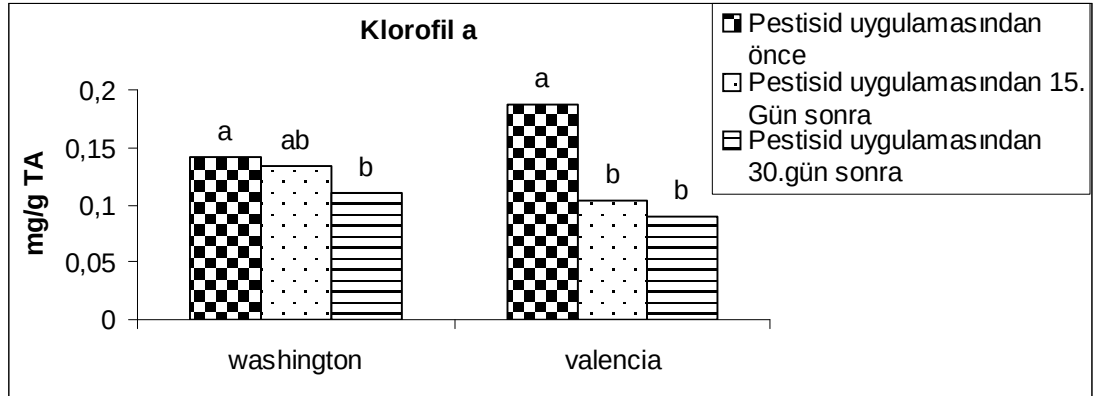
Valencia yapraklarında klorofil b miktarı yönünden Washington yapraklarına göre bir artış olmakla beraber gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmamıştır (Şekil 4. 9).



Şekil 4. 9. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki klorofil b konsantrasyonu

Washington portakal çeşidinde klorofil a miktarı pestisid uygulamasından önceki dönemde 0,14 mg/g TA ile pestisit uygulamasından 30. güne göre (0,10 mg/g TA) daha yüksek bulunmuştur. Pestisid uygulanmışlarda klorofil a oranında bir düşüş olmuştur (Şekil 4.10).

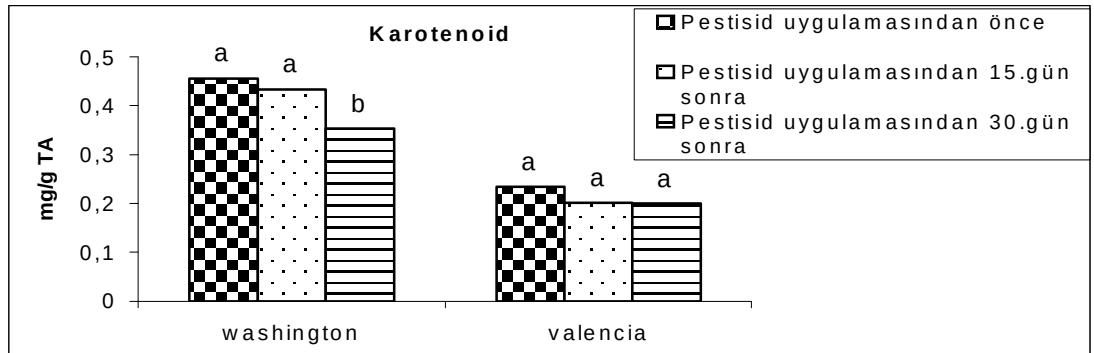
Valencia portakal çeşidinde ise klorofil a miktarı uygulama öncesi (0,188 mg/g TA) bir değer gösterirken, uygulama sonrası önemli bir düşüş göstermiştir. Uygulamadan 15. gün sonra 0,103 mg/g TA, 30 gün sonra ise 0,089 mg/g TA olarak saptanmıştır(Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki klorofil a konsantrasyonu

4.1.1.4. Karotenoid Konsantrasyonu Sonuçları

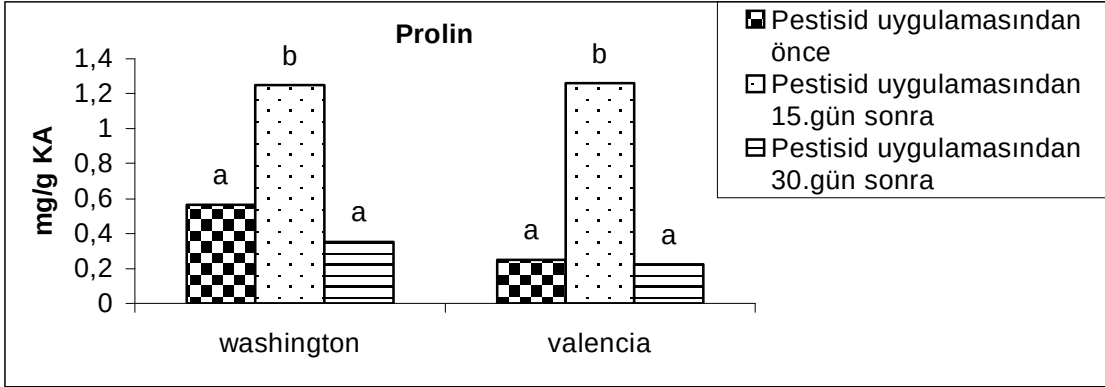
Valecia yapraklarında washington'a göre karotenoid miktarındaki azalma daha fazladır. Washington yapraklarında ise pestisid uygulamasından 30. gün sonra, pestisid uygulanmamış ve 15.gün'e göre daha fazla azalma olmuştur (Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki karotenoid konsantrasyonu

4.1.1.5. Prolin Konsantrasyonu Sonuçları

Washington yapraklarında pestisid uygulamasında (0,25 mg/g), uygulamadan 30. gün de (0,22 mg/g) olarak saptanırken, 15. günde prolin konsantrasyonu (1,26 mg/g) olarak artmıştır.

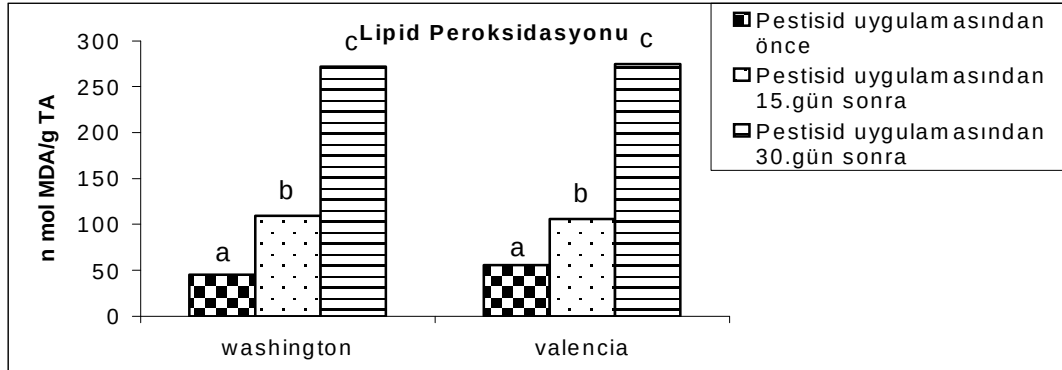


Şekil 4.12. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki prolin konsantrasyonu

Valencia yapraklarında pestisid uygulamasından 15. gün sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre prolin konsantrasyonu aynı oranında saptanmıştır.

4.1.1.6. Lipid peroksidasyonu Sonuçları

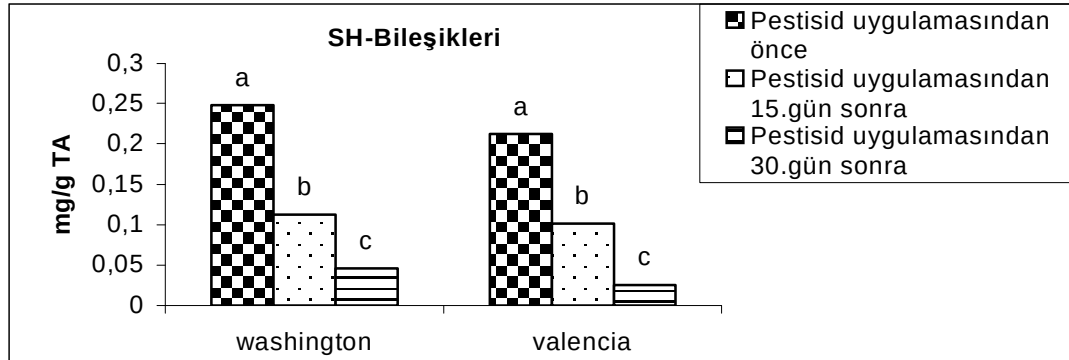
Washington ve valencia portakal çeşitlerinin yapraklarında pestisid uygulamasından önce lipid peroksidasyonu 45, 72 ve 55,42 nmol MDA/g TA olarak saptanmış, aynı çeşitlerin pestisid uygulamasından 30. günden sonra ise değerler artarak Washington'da 272,09 nmol MDA/g TA bulunurken valencia çeşidinde ise 274,38 nmolMDA/g TA olarak saptanmıştır (Şekil 4.13).



Şekil 4. 13. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki lipid peroksidasyonu konsantrasyonu

4.1.1.7. SH-Bileşikleri Konsantrasyonu Sonuçları

Washington ve valencia portakal çeşidinin yapraklarında pestisid uygulamasında önce SH-bileşikleri pestisid uygulananlara göre daha yüksek bulunmuştur. SH-bileşikleri yönünden çeşitler arasında diğer uygulamalarda önemli bir farklılık yoktur(Şekil 4.14).

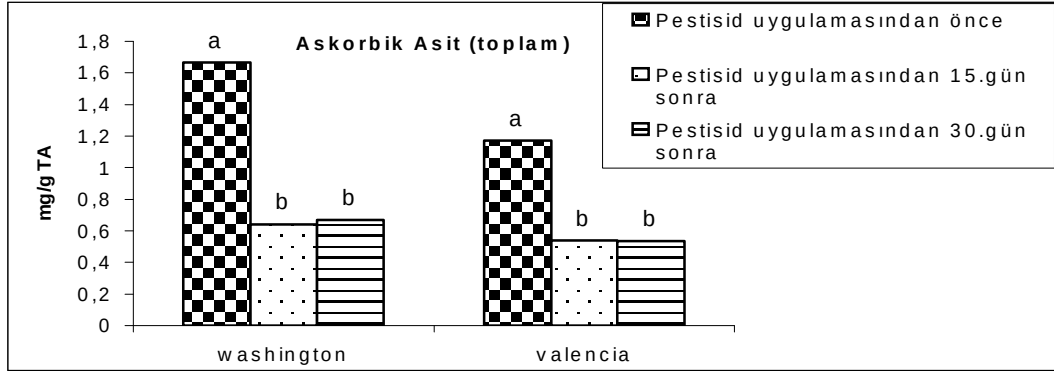


Şekil 4.14. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki SH-Bileşikleri konsantrasyonu

4.1.1.8. Askorbik Asit Konsantrasyonu Sonuçları

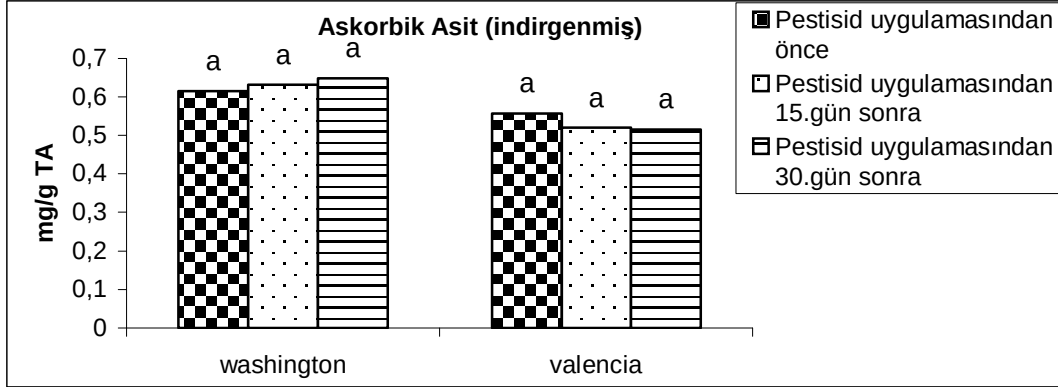
Washington yapraklarında pestisid uygulanmamış dönem toplam askorbik asit miktarı yönünden ayrı bir grup oluştururken uygulamadan sonraki 15. ve 30. gün istatistiksel olarak aynı grup içerisinde değerlendirilmiştir. Washington yapraklarında uygulama öncesi askorbik asit daha yüksek bulunmuştur (1,17 mg/g).

Valencia yapraklarında pestisid uygulamasından 15. gün ve 30. gün uygulamasındaki toplam askorbik asit değerleri washington yapraklarından elde edilen değerlerle benzerlik göstermiştir. Uygulamadan önceki dönem bu çeşitte de toplam askorbik asit miktarı yüksek olarak bulunmuştur(Şekil 4. 15).



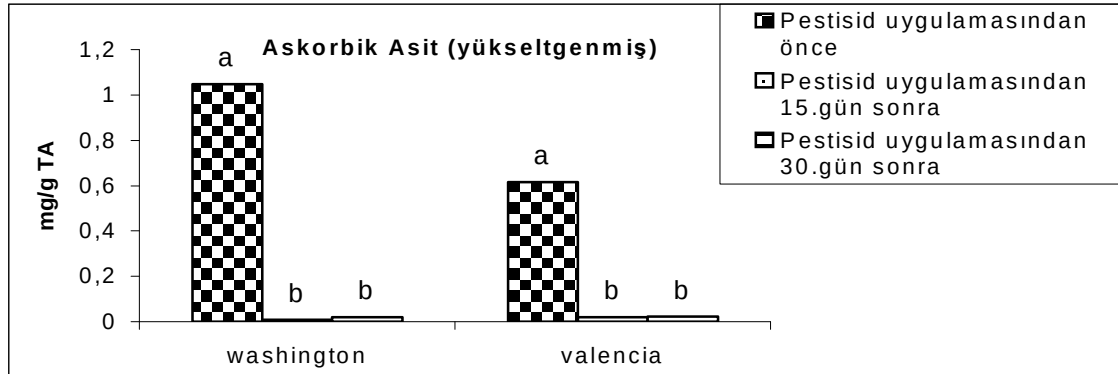
Şekil 4.15. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki Toplam Askorbik Asit konsantrasyonu

İki portakal çeşidinde de İndirgenmiş Askorbik Asit konsantrasyonu üç dönemde de önemli bir değişiklik olmamıştır. İndirgenmiş Askorbik Asit yönünden çeşitler arasında diğer uygulamalarda önemli bir farklılık yoktur (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki İndirgenmiş Askorbik Asit konsantrasyonu

Washington ve valencia portakal çeşitlerinin yapraklarında pestisid uygulamalarından önceki dönemde yükseltgenmiş askorbik asit yüksek bulunmasına karşın ($P < 0,05$), uygulama sonrası çok fazla azalma olduğu görülmektedir(Şekil 4.17).



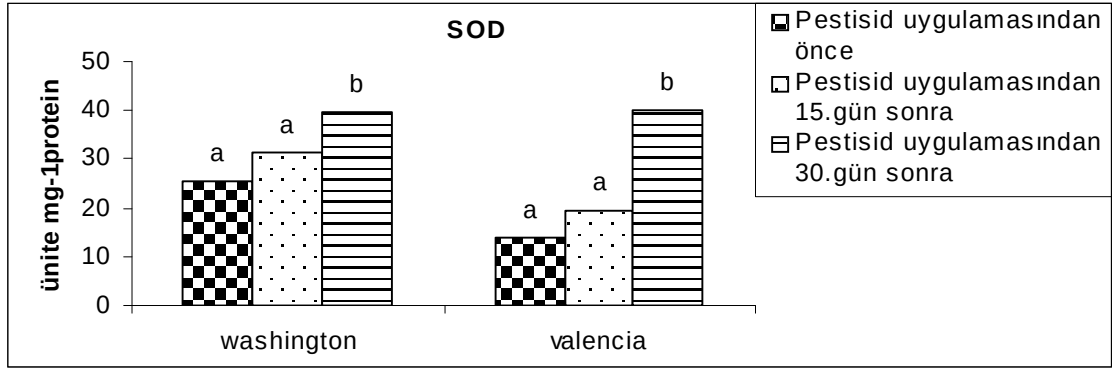
Şekil 4.17. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki Yükseltgenmiş Askorbik Asit konsantrasyonu

4.1.1.9. Süperoksit Dismutaz Konsantrasyonu Sonuçları

Analiz sonuçlarına göre SOD konsantrasyonu Washington bitkisi yapraklarında pestisid uygulama öncesi ve 15. gün sonrasında SOD konsantrasyonu yönünden önemli bir değişiklik olmamıştır. Pestisid uygulamasından 15.gün sonra

yüksek (31,2 ünite mg-1 protein) bir değer gösterse de istatistiksel olarak her iki uygulamada aynı grupta yer almıştır. Washington yapraklarında pestisid uygulamasından 30. gün sonra en yüksek (39,5 ünite mg-1 protein) SOD konsantrasyonu belirlenmiştir. (Şekil 4. 2).

Valencia yapraklarında uygulama yapılmadan önceki dönem (kontrol) (13,76 ünite mg-1 protein) ve pestisid uygulamasından 15. gün (19,62 ünite mg-1 protein) aynı grupta yer almaktadır. Pestisid uygulamasından 30.gün sonra (40,09 ünite mg-1 protein) ayrı grupta yer alarak istatistiksel olarak $P < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Şekil 4. 2).



Şekil 4.18. Pestisid uygulamasından önce, pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra washington ve valencia portakal çeşidi yapraklarındaki SOD (Süperoksit dismutaz) konsantrasyonu

4.2. Tartışma*Yaprakların Mineral Analizi*

Kalsiyum bitki yaşamı için önemli elementlerden biridir. Hücre vakuollerinde biriken kalsiyum katyon-anyon dengesinin sağlanmasında rol oynar. Bazı elementlerin alımında rolü cardır. Kalsiyum özellikle bitkininMg, Zn, B, P, Fe, K ve Mn gibi element alımını olumsuz yönde etkiler. Bunun tersine P da Ca alınmasını olumsuz etkiler (Berry ve Ulrich., 1968). Pestisid uygulamalarının washington portakal yapraklarında Ca miktarında uygulama yapılmayanlara göre önemli bir değişiklik olmamıştır (Şekil 4. 2). Fakat pestisid uygulamalarının kalsiyum alımını olumlu veya olumsuz yönde etkilemezken aynı çeşidin uygulama sonrası Fe miktarının oldukça düşük olduğu, Mn ve Mg mikarında da bir azalma veya artma olmadığı görülmüştür. Çinko miktarında ise pestisid uygulamalarından 30. gün sonra bir artış olduğu buda elementlerin birbirinin alımını etkilediğinin bir göstergesi olabilir (Mengel ve ark., 1984).

Valencia portakal yapraklarında Washington portakal çeşidi yapraklarına göre Ca alımı artmıştır. Özellikle uygulama öncesinden pestisid uygulamaları daha yüksek bulunmuştur. Aynı çeşidin demir miktarıda pestisid uygulamasında oldukça düşük bulunurken mangan ve magnezyum miktarında arttığı görülmüştür. Buda magnezyum ve Zn elementlerinin bitkide hareketli, Ca, Fe ve Cu gibi elementlerin hareketsiz olması uygulama öncesi ve uygulama sonrası değişimdeki farklılığın açıklanmasında yardımcı olabilir (Akman ve ark., 2001).

Toprakta genelde kalsiyumdan daha az magnezyum bulunur. Magnezyum kalsiyuma göre daha fazla ve hızlı yıkanır. Toprakların çoğunda bitki büyümesine yetecek kadar Mg bulunmasına rağmen topraktaki potasyum, kalsiyum, amonyum seviyesi Mg göre çok fazla ise bitkinin topraktan aldığı Mg da az olur (Mengel ve ark., 1984).

Bitkilerde demir alımı oldukça zordur. Özellikle hareketsiz olan bu elementin eksikliği yaşlı yapraklarda sararma şeklinde kendini göstermektedir. Bitkide Fe eksikliğinin görülmesi toprakta demirin bulunmamasından değil, bitki tarafından alınamaz formda olmasından kaynaklanır(Akman ve ark 2001). Valencia ve Washington portakal yapraklarında demir miktarı her iki çeşitte pestisid

uygulamasından önce yüksek olmasına karşı 15. ve 30. gün sonra her iki çeşitte de düşük olması magnezyum, kalsiyum, mangan ve çinko elementlerinin demir alımını etkilemiş olabilir veya pestisid uygulaması topraktan demir alımını engellemiş olabilir.

Pestisid uygulamasından sonra washington portakal çeşidi yapraklarında uygulama öncesi ve sonrası arasında magnezyum miktarında fazla bir değişiklik olmadığı, valencia çeşidinde ise uygulama öncesi azaldığı, uygulamadan 15.gün en yüksek olduğu (Şekil 4. 4) görülmektedir. Buda klorofil miktarında artış ve azalma ile paralellik göstermesi ilke ilişkilendirilebilir. Ayrıca Ca miktarının çeşitlerde daha yüksek bulunması magnezyumun azalmasına sebep olmuş olabilir (Mengel ve ark., 1984).

Bakır bitkilerdeki birçok enzimin yapısında bulunur. Bazı kimyasal reaksiyonların katalizörüdür. Bakır, mangan ve demir alımını olumsuz yönde etkiler. Bakırın yapraktan kullanımı yapraktaki azot, fosfor, potasyum, kalsiyum, magnezyum miktarını arttırmaktadır (Mengel ve ark., 1984).

İki bitki türünde de pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre Cu konsantrasyonu artmıştır. Cu konsantrasyonunda görülen bu artış oranlarının en düşük olduğu çeşit valencia 'dır. Washington yapraklarındaki Cu miktarının fazla olması moleküler oksijenin indirgenmesi zorunluluğundan kaynaklanıyor olabilir.

Genel olarak yeni araştırmalar Cu 'nun birçok oksidaz reaksiyonları (moleküler oksijenin indirgenmesi) için mutlaka gerekli olduğunu göstermektedir, bu askorbik asit oksidaz için de geçerlidir. (Mengel ve ark., 1984)

Çinko klorofil sentezinde, enzimlerin bitki bünyesinde dengelenmesinde rol alır. Enzimlerin molekül yapısında bulunur. Fosfor ve kalsiyum çinko alımını, Çinko da demir alımını olumsuz yönde etkiler (Mengel ve ark., 1984).

Washington yapraklarında pestisid uygulamasından sonraki dönemlerde pestisid uygulamasından önceki döneme göre çinko miktarında artış gözlenmiştir. Valencia yapraklarında pestisid uygulamasından 15. gün önceki ve sonraki döneme göre artışı gözlenmiştir. Topraktaki Zn'nin bitkiler tarafından alınması diğer katyonlardan farklı olarak öncelikle topraktaki konsantrasyonlarına bağlıdır ve iyon

rekabetiyle engellenmesi, alımını çok önemsiz oranlarda etkilemektedir (Mengel ve ark., 1984). Pestisid uygulamalarının bitkilere yapabileceği zararlı etkileri azaltmak için çinko pestisid uygulamalarında artış göstererek oksijen radikallerinin etkisini azaltarak SOD miktarını artırıp son derece toksik olan süper oksit radikalini etkisiz kılmış olabilir (Blokina ve ark 2003) .

Mangan metal proteinlerde redoks sisteminde yer almaktadır. Birçok enzimi aktive eder. Dekarboksilaz ve dehidrogenaz reaksiyonlarını tetikler. Çeşitli bitkilerde Mn 'nin askorbik asit içeriğini artırdığı kanıtlanmıştır (Mengel ve ark., 1984). Pestisid uygulamasından sonra yapraklarda daha yüksek konsantrasyonlarda Mn'nin bulunması, stres sonucu azalan askorbik asit içeriğini arttırmak için olabilir. Tüm dönemler dikkate alındığında hem pestisid uygulamasından önce hem de pestisid uygulamasından sonra Mn konsantrasyonunun en düşük olduğu valencia çeşitidir.

Stoma Dağılımı

Washington ve valencia portakal çeşitlerinde kontrole oranla birim alandaki stoma yoğunluğunun azalması pestisid uygulamasından kaynaklandığını düşündürmektedir. Pestisidlerin stoma yoğunluğunu azalttığı araştırmacılar tarafından saptanmıştır (Fayez, 2000).

Valencia çeşidinde pestisid uygulamasından 15.gün ve 30.gün sonra yapraklardaki birim alandaki stoma yoğunluğundaki azalma Washington çeşidine göre daha fazla olduğundan pestisidlere karşı valencia çeşidinin daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir. Özellikle bu çeşitte toplam klorofilin azalması bunun bir göstergesidir (Şekil 4. 8).

Stoma yoğunluğunun azalması stomalardaki gaz alışverişini azalttığını düşünülmektedir. Azalan gaz alış veriş hızını azaltacağı için bu durum bitkinin metabolizmasını yavaşlatmaktadır (Kocaalışkan, 2005).

Yaprakların Klorofil Konsantrasyonu

Örnek alınan tüm bitkilerin yapraklarındaki toplam klorofil konsantrasyonu pestisid uygulamasından sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre azalmıştır. Özellikle valencia çeşidi klorofil içeriği bakımından pestisid uygulamasından wasington portakal çeşidine göre daha fazla etkilenmiştir(Şekil 4. 8).

Toplam klorofil miktarındaki azalışın bu nedeninin pestisidden kaynaklandığı düşünülmektedir. Her iki türde de kla/klb oranının azalışı klorofil a' nın azalışından kaynaklanıyor (Abdelbasset ve ark., 1995).

Pestisid uygulamasından sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre her iki türün yapraklarında klorofil konsantrasyonunun daha düşük olmasının sebebi ise pestisid uygulamasından sonraki dönemde bitkilerin yapraklarında daha fazla miktarda Cu'nun bulunması olabilir. Bitkilerin yapraklarında Cu konsantrasyonunun artması klorofil sentezini engellemekte ve kla/klb oranında azaltmaktadır (Chettria ve ark., 1998). Ayrıca Cu, Zn gibi metallerin klorofil molekülünün merkez atomu yerine geçerek klorofillerin yapısını bozdukları belirtilmiştir (Kupper ve ark., 1996). Pestisid uygulamasından önceki dönemde pestisid uygulamasından sonraki döneme göre klorofil miktarının az olmasının dönemi Fe eksikliğinden kaynaklanıyor olabilir. Çünkü Fe ve Cu'ın klorofilde oluşturacağı zararı telafi edebilmektedir (Hauck ve ark., 2003). Ayrıca Fe'nin klorofil sentezini arttırdığı ve Fe uygulaması yapılmış yapraklarda yeşillenmenin arttığı birçok araştırmacı tarafından kanıtlanmıştır (Mengel ve ark., 1984).

Prolin Konsantrasyonu

Tüm türlerin yapraklarındaki prolin konsantrasyonu pestisid uygulamasından sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre artmıştır. Prolinin stres koşullarında arttığı, serbest O₂ radikallerinin detoksifikasyonuna katıldığı ve stres koşullarına dayanıklılıkta önemli rol oynayan koruyucu özelliğe sahip azot içerikli bir bileşik olduğu bilinmektedir (Bohnert ve Sheveleva, 1998). Buradaki artışta bitkilerin pestisid uygulamalarından strese girdiğinin bir kanıtıdır. Prolin konsantrasyonunda ki artış prolin oksidasyonunu teşvik ederken öte yandan protein

sentezini engellediği belirtilmektedir. Bitkide prolin miktarının hızla artması bitkinin adaptasyonunda oksijen radikallerinden doğan zarara karşı bir korumaya sebep olduğu belirtilmektebu görüş bizim sonuçlarımızı doğrulamaktadır (Smirnoff ve Colombe, 1988). Washington yapraklarında Cu ve Zn konsantrasyonunun fazla olduğu dönmelerde prolin konsantrasyonu da artmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda göstermiş ki Cu, Zn ve Pb gibi metallerin artışı yapraklardaki prolin konsantrasyonunu arttırdığı bildirilmektedir (Mehta ve Gaur, 1999; Bassi ve ark. , 1993). Buda bizim sonuçlarımızla bir paralellik göstermektedir.

Karotenoid Konsantrasyonu

Karotenoidler; Hem fotosentetik hem de fotosentetik olmayan bitki dokularının plastidlerinde bulunurlar. Karotenoidler, kloroplastları yüksek ışıktan korurlar. Karotenoidlerin belki bundan da önemli rolü ise triplet klorofilli ve aktif oksijen formlarını detoksifike edilebilme yeteneğidir. Karotenoidler antioksidant görevi gördüklerinde fotosistemleri aşağıdaki dört yoldan biriyle koruyabilir; lipid peroksidasyonu ürünleriyle reaksiyona girerek reaksiyon zincirini sonlandırabilir, singlet oksijeni yok eder ve ısı enerjisi açığa çıkarır, triplet klorofili yok edebilir ya da eksitasyon enerji fazlasını ksantofil döngüsüyle yok ederler (Young, 1991). Karotenoidlerin lipid peroksidasyonu ürünleriyle reaksiyona girerek reaksiyon zincirini sonlandırdıkları saptanmıştır. Portakal çeşitlerinden wasington çeşidinin yapraklarında uygulama öncesi karatinod miktarı daha yüksekken uydulama sonrası azalmıştır. Valencia çeşidinde ise kontrol ve sonrası karotenoid miktarında oldukça fazla bir düşüş olmuştur. Buda bu bitkinin peastisid stresine karşı daha hassas olduğunun bir göstergesi olabilir. Toplam klorofil miktarının azalması ile valencia çeşidinde bu durum daha net görülmektedir.

Lipid peroksidasyonu

İki portakal çeşidinde de lipid peroksidasyonu konsantrasyonu pestisid uygulamasından 30. gün sonraki dönemde uygulama öncesine göre çok fazla artışı saptanmıştır(Şekil 4.13).

Herbisit uygulamalarında lipid peroksidasyonunun Prolin miktarının artışıyla paralellik gösterdiği belirtilmektedir(Zabalza ve ark., 2007) Pestisid uygulanan washington ve valencia portakal çeşitlerinde de durum aynı olmuştur. Buda uygulanan pestisidlere karşı stresden korunmanın bir belirtisidir. 2,4-D ve 2,4,5-T herbisitleri *Pisum sativum*'da lipid peroksidasyonunu artığı bildirilmektedir(Pogosyan ve ark, 1984). Ayrıca imidazolinone herbisit etkisindeki fasulye bitkisinin yapraklarında lipid peroksidasyonu artığı saptanmıştır (Zabalza ve ark., 2007). Bu araştırma sonuçları bizim pestisid uygulanmış portakal çeşitlerimizin sonuçlarıyla paralellik göstermektedir.

SH-Bileşikleri Konsantrasyonu

Her iki çeşidin yapraklarındaki SH-bileşikleri konsantrasyonunun pestisid uygulamasından önce uygulama sonrasına göre daha yüksek saptanmıştır.

SH-bileşikleri (glutasyon), stres durumunda oluşan serbest radikallerle reaksiyona girerek enzimlerin SH (sulfidril) gruplarının okside olmasını önler. Ayrıca askorbik asit döngüsüne de katılır ve askorbik asitin dihidroaskorbattan rejenerasyonunu sağlar (Foyer, 1993).

Ayrıca yapılan araştırmalarda bitki dokularında kış aylarına nazaran bahar aylarında sülfidril gruplarının arttığı saptanmıştır (Smith ve ark., 1985). SH-bileşiklerinin hem pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün sonra azalması, Çeşitli durumlarda oluşabilecek stres durumunda antioksidanların azalabileceği araştırmacılar tarafından da saptanmıştır (Hodges ve ark., 2000)

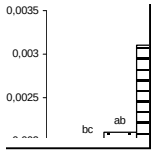
Pestisid uygulamasından önceki dönemde pestisid uygulamasından son raki döneme göre SH-bileşiklerinin konsantrasyonunun fazla olması her iki türün yapraklarındaki Cu konsantrasyonunun pestisid uygulamasından sonraki döneme göre fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bu da stres hasarını gidermek için pestisid uygulamasından sonraki dönemde her iki türün yapraklarında SH-bileşikleri konsantrasyonların da azalma olduğunu göstermektedir. Bitkide herhangi bir stresin oluşturacağı hasarı gidermede SH-bileşiklerinin önemli olduğu ve bu nedenle de azaldığı araştırmacılar tarafından da saptanmıştır (Foyer ve Mullineaux, 1999).

Askorbik Asit Konsantrasyonu

Askorbik asit, D-glikozdan sentezlenmektedir. Ayrıca glutatyon da, askorbik asit döngüsüne katılmakta ve askorbik asidin dihidroaskorbattan rejenerasyonunu sağlamaktadır (Foyer, 1993). Bir antioksidant olarak askorbik asit, süperoksit, hidrojen peroksit ya da hidroksil radikaliyle reaksiyona girerek bunların süperoksit, monodihidroaskorbik asit veya dihidroaskorbik aside dönüşmesini sağlamaktadır. Askorbik asidin indirgenmiş formlarının yeniden askorbik asit döngüsüne girmesi ya NAD(P)H bağımlı monodehidroaskorbat ya da glutatyona bağımlı dehidroaskorbat redüktaz tarafından kataliz edilmektedir. Dehidroaskorbat ise tartarat ya da oksalata ayrışabilmektedir (Foyer, 1993). Her iki portakal çeşidinin yapraklarında pestisid uygulamasından 15. ve 30. gün uygulamadan önceki döneme göre askorbik asit oranı azalmıştır.

Yapraklardaki askorbik asit konsantrasyonunun azalmasının sebebi, yapraklarda stres sonucu oluşan aktif O₂ radikallerinin detoksifikasyonunda askorbik asitin kullanılmış olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca pestisid uygulamasından sonraki her iki dönemde iki bitki türünde de askorbik asit konsantrasyonunun daha düşük olması da bu durum ile paralellik göstermektedir. Bu da bitkilerin stres durumunda askorbik asidi daha etkin bir şekilde rejenere etmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Ayrıca tüm dönmeler dikkate alındığında hem pestisid uygulamasından önce hem de pestisid uygulamasından sonra askorbik asit konsantrasyonunun en düşük olduğu çeşit Valencia'dır. Bu olay, serbest radikallerin oluşturduğu strese karşı bu bitkinin savunma mekanizmasında askorbik asidin önemli olmasından ve diğer çeşitlere nazaran savunma mekanizmasının daha aktif işlemesinden kaynaklanıyor olabilir. Ya da pestisidin valencia da yarattığı stresin şiddetinin washington'a nazaran daha düşük olduğunu söyleyebiliriz. Yani, valencia yapraklarındaki askorbik asidin düşük olması ya da bu bitkinin ortamdaki pestisitden daha az etkilenmesinden ya da aktif olarak stres sonucu oluşan serbest radikallerin detoksifikasyonuna katılmasından kaynaklanmaktadır. Her iki durumda da bu bitkinin ortamdaki stres



4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Aynur FİDAN

faktörlerinden daha az etkileneceği söylenebilir ve bu durum yapraklardaki düşük lipid peroksidasyonu da paralellik göstermektedir.

SOD Konsantrasyonu

İki türün yapraklarındaki SOD konsantrasyonun en yüksek olduğu dönem pestisid uygulamasından 30. gün sonraki dönemdir, en düşük olduğu dönem ise pestisid uygulaması yapılmadan önceki dönemdir. Pestisid uygulaması arttıkça SOD konsantrasyonunda arttığı saptanmıştır. Bir mantar türü olan *Glomus versiforme* etkisindeki *Citrus tangarina*'de kökünde antioksidant mekanizması incelenmiş SOD aktivitesi kontrole göre önemli derecede artığı saptanmıştır (Wu ve ark., 2006).

Valencia ve washington yapraklarından alınan örneklerde pestisid uygulamasından 15. gün sonra pestisid uygulamasından önceki döneme göre her iki bitki çeşidinde artış oranı hemen hemen aynıdır. Fakat pestisid uygulamasından 30. gün sonraki dönemde valencia'daki süperoksid radikali artışı washington bitkisine göre daha fazladır.

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada pestisid uygulamalarının bazı turunçgil (washington portakalı ve valencia portakalı) üzerindeki anatomik ve fizyolojik etkileri araştırılmıştır. Çalışmada Çukurova Üniversitesi Subtropik Araştırma ve Uygulama Merkezi alanı içinde yetiştirilen washington ve valencia portakal çeşitlerinden alınan yaprak örnekleri kullanılmıştır. Pestisid uygulamasından önce, 15 ve 30. gün sonra yaprak örneklerinde Stoma dağılımı, total klorofil, klorofil a, klorofil b, karotinoid, prolin, mineral maddeler (Zn, Cu, Mn, Fe, Mg, Ca), Lipid peroksidasyonu, total askorbik asit, indirgenmiş / okside, SH-bileşikler, SOD enzim analizleri yapılmıştır. Yapılan analizler sonucunda çeşitlerin pestisidlere karşı tepkileri farklı olmuştur. Washington ve valencia portakal çeşidi uygulanan pestisidlere karşı etkisi bazı parametrelerde paralellik göstermiş, bazılarında ise her iki çeşitte etkisi farklı olmuştur.

Prolinin miktarının da stres koşullarında arttığı, serbest oksijen radikallerinin detoksifikasyonuna katıldığı ve stres koşullarına dayanıklılıkta önemli rol oynayan koruyucu özelliğe sahip bir bileşik olduğu daha önceki yapılan çalışmalardan dolayı bilinmektedir.

Pestisidlerin bitkilerin yapraklarında birim alandaki stoma dağılımını azalttığı saptanmıştır. Pestisidlerin stoma yoğunluğuna olan bu etkisi washingtona nazaran valencia yapraklarında daha açıktır. Stoma dağılımındaki azalma sonucunda fotosentez için gerekli gaz alış veriş azalacak ve bunun sonucunda bitkinin fotosentez hızının düşmesine metabolik faaliyetlerin yavaşlamasına sebep olacaktır.

Çalıştığımız portakal çeşitleride bu yönden pestisid uygulamasından sonra prolin miktarını yükselterek aynı tepkiyi vermiştir. Tüm incelenen parametreleri tek tek incelendiğinde her iki çeşitte pestisidlere karşı hassas olduğunu söylemek mümkün olabilir, fakat washington çeşidi valencia portakal çeşidine karşı daha toleranslı olduğunu söyleyebiliriz. Sonuç olarak pestisid uygulamalarının bitkiler üzerinde özellikle büyüme ve gelişmeleri ile doğrudan ilişkili olan asimilasyon ürünlerinin sentezinin azalması ve bitkilerin stres sonucunda zararlanmalarına ve

gelişimlerini durdurmalarına, hatta uygulanan pestisidlerin yarılanma süreçlerine göre bunun etkisinin daha uzun süreli olduğunu söylemek mümkündür.

Bu nedenle bu tip çalışmaların daha uzun süreli ve daha farklı parametreler ilave edilerek yapılması ile pestisitlerin bitkiler üzerindeki stres durumlarına karşı net bir çözüm getireceği tavsiyesinde bulunabiliriz.

KAYNAKLAR

- ABDELBASSET, R., ISSA, A.A., ADAM, M.S., 1995. Chlorophyllase activity-effects of heavy metals and calcium. *Photosynhetica*, 31:421-425.
- AKMAN, Y., KÜÇÜKHÖDÜK, M., DÜZENLİ, S., TUĞ, G.N., 2001. Bitki Fizyolojisi. ISBN 975- 97436-0-4. Ankara, 764 s.
- ANONYMOUS, 1985. Suspended, cancelled and restricted pesticides. EPA, 28 p.
- ANONYMOUS, 1985 a. Guidelines for the registration and control of pesticides, FAO.
- ANONYMOUS, 1987. "Banned and severely restricted substances in plant protection in the Federal Rebuplic of German" The Federal Minister of Food Agriculture and Forestry, Plant Protection Section, 7 p.
- ANONYMOUS, 1998. Türkiye’de tarımda kullanılan metil bromür (MeBr) eylem planı. TKB, TÜGEM.
- ARNON, D.M., 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts poly phanoloxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
- BASHIR, F., MAHMOODUZZAFAR, SIDDIGI, T. O. and IGBAL, M., 2007. The antioxidative response system in *Glycine max* (L.) Merr. exposed to Deltamethrin, a synthetic pyrethroid insecticide. *Environmental Pollution*. V:147, Issue 1, P: 94 -100.
- BASSI, R., SHARMA, S.S., 1993. Changes in proline content accompanying the uptake of zinc and copper by Lemna minor. *Annals of Botany*, 72: 151-154.
- BATES, L.S., WALDREN,R.P. and TEARE, ID., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant an Soil*, 39, 205-207.
- BERRY, W.L., and ULRICH, A., 1968. Cation absorption from culture solution by sugar betts. *Soil Sci.* 106, 303 -308.
- BLOKHINA, O., VIROLAINEN, E. and FAGERSTEDT, K.V: 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stres: a Review. *Annals of Botany* 91; 179-194.
- BOHNERT, H.J and SHEVELEVA, E., 1998. Plant stress adaptations making metabolism move. *Current Opinion in Plaant Biology*, 1: 267-277.

- BREMNER, J.M., 1965. Total nitrogen, pp.1149-1178. In: C.A. Black (ed.) *Methods of Soil Analysis, Part, Agronomy No 9*. American Society Of Agronomy, Madison WI.
- CAKMAK, I., ve MARSCHNER, H., 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, 98:1222-1227.
- CASTRO, A. J., CARAPITO, C., ZORN, N. and MAGNE C., 2005. *Journal of Experimental Botany*. Vol, 56, Iss. 421; p. 2783.
- CHETTRIA, M.K., COOKA, VARDAKA A. E., SANWIDISSA, T., LANARASA, T., 1998. The effect of Cu, Zn and Pb on the chlorophyll content of the lichens *Cladonia convulata* and *Cladonia rangiformis*. *Environmental and Experimental Botany*, V: 39, Issue 1, P:1-10.
- CHOI, J. S., LEE, H. J., HWANG, I.T., PYON, J. Y. and CHO, K.Y., 1999. Differential susceptibilities of wheat and barley to Diphenyl eter herbicide Oxyfluorfen.. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol, 65, Issue 1, P: 62-72.
- DURNER, J., GALLIUS, V. and BÖGER, P. 1994. The oxygenase reaction of acetolactate synthase detected by Chemiluminescence, *Febss letters*, V: 354, issu 1, P: 71-73.5
- DÜZENLİ, S., 1984. Bazı asma tür ve çeşitlerinin stoma yapıları ve asetil salisilik asitinin stoma hareketlerine etkisi üzerinde araştırmalar (Doktora Tezi) Ank.Üni.Zir. Fak., 79s.
- FAYEZ, K.A., 2000. Action of photosynthetic diuron herbicide on cell organelles and biochemical constituents of the leaves of two soybean cultivars. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol, 66, Issue 22, P: 105 -115.
- FOYER, C., 1993. Ascorbic acid. In: *Antioxidants in Higher Plants*. R. G. Alscher and J.L. Hess (eds) CRC Press, Boca Raton, P: 31 -58.
- FOYER, C.H. and MULLINEAUX, P.M., 1999. In: *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants*. (J. Gressel and G. Esra) pp. 237 -272. CRC Press. Boca Raton.

- HAUCK, M., PAULA, A., GROSSA, S. and RAUBUCH, M., 2003. Manganese toxicity in epiphytic lichens: chlorophyll degradation and interaction with iron and phosphorus. *Environmental and Experimental Botany* Volume 49, Issue 10, P: 181-191.
- HODGES, D.M., DELONG, J.M., FORNEY, C.F., and PRANDE, R.K., 1999. Improving the tiobarbitturic acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containnig anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207: 604-611.
- HODGES, D.M., FORNEY, C.F., 2000. The effects on etkylene,depressedoxygene and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. *Journal of Experimental Botany*, Vol: 51, no. 334, pp. 645- 655.
- IGLESIAS, D.J., CALATAYUD, Á., BARRENO, E., EDUARDO, P.- TALON, M., M., 2006. Responses of citrus plants to ozone: leaf biochemistry, antioxidant mechanisms and lipid peroxidation. 44: 125-131
- KOCAÇALIŞKAN, İ., 2005. Bitki Fizyolojisi, Bizim Büro yayınevi, 420s, Ankara.
- KUPPER, H., KUPPER, F., SPİLLER, M., 1996. Enviromental relevance of heavy metal substituted chlorophylls using the example of water plants. *Journal of Experimental Botany*, Vol: 47, 259-266.
- LICHTENTHALER, H.K., and WELLBURN, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Transac.*, 11: 591-592.
- MATTERS, G.L., and Scandalios, J.G., 1986. Effect of the free radical-generating paraquat on the expression of the superoxide dismutase genes in maize. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects.*,Vol, 882, Issue 1, p: 29-38.
- MEHTA, S.K., and GAUR, J.P., 1999. Heavy-metal-induced proline accumulation and its role in ameliorating metal toxicity in *Chlorella vulgaris*. *New Phytol.*, 143, 253-259.
- MENGEL, K., ÖZBEK, H., KAYA, Z., ve TAMCI, M., 1984. Bitkinin Beslenmesi ve Metabolizması. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 590s.
- ÖZTÜRK, S., 1990, Tarım İlaçları, Hasat Yayıncılık, İstanbul, 552s.

- POGOSYAN, S.I, SHEVCHENKO,N.V., and MERZIYAK, M.N., 2003. Situmilation of nadph- dependent lipid peroxidation by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4,5- trichchlorophenoxyacetic acid and diquat in microcomes isolated from *Pisum sativum*. Plant Science letters, V:37, Iss. 1-2, p.69-72.
- SMIRNOFF, N., and COLOMBE, S.V. 1988. Drought Influecens the activity of the chloroplast hydrogen peroxide scavenging system. Journal of Experimental Botany, 39; 1097-1108.
- SMITH, I.K., KENDALL, A.C., KEYS, A.J., TURNER, J.C. and LEA, P.J. 1985. The regulation of the biosynthesis of glutathione in leaves of barley (*Hordeum vulgare* L.). Plant Sci. 41:11-17.
- SONG, N.H., YIN X. L., YIN, CHEN G. F. and YANG H., 2007. Biological responses of wheat (*Triticum aestivum*) plants to the herbicide chlorotoluron in soils *Chemosphere*, Vol,68, No:9, P:1779-1787.
- WANG, M., ZHOU, Q., 2006. Effects of chlorimuron-ethyl on physiological mechanisms in wheat (*Triticum aestivum*). Ecotoxicology and Environmental Safety., Vol, 64 Issue(2): p. 190 -197.
- WU, Q. S., ZOU, Y. N. ve XIA, R. X. 2006. Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (citrus tangerine) roots., Vol:42 No. 3, P: 166 -172.
- WU, Q.S, XIA R.X ve ZOU Y.N., 2006 a. Reactive oxygen metabolism in mycorrhizal and non-mycorrhizal citrus (*Poncirus trifoliata*) seedlings subjected to water stress., Vol, 163, No.11, p: 1101 -1110.
- YOUNG, A.J.,1991. The photoprotective role of carotenoids in higher plants. *Physiol. Plant.* 83:702-708.
- ZABALZA, A., GASTON, S., SANDALIO, L.M., RIO, L.A.,2007 and Royuela M. Oxidative stres is not related to the mode of action of herbicides that inhibit acetolactate synthase., *Environmental and Experimental Botany.*, Vol,59, Issue 2, P:150-159.

Özgeçmiş

1977 yılında Adana'nın Ceyhan ilçesinde doğdum. İlk ve orta öğrenimini Ceyhan da tamamladım. 1998 yılında Ege Üniversitesi Meslek Y.O. Fermantasyon Bölümünden mezun oldum. 1999 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edb. Fakültesi Biyoloji bölümünü kazandım. 2003 yılında aynı üniversitede yüksek lisans öğrenimime başladım. 2005-2007 yılları arasında özel eğitim kurumlarında Biyoloji öğretmenliği yaptım.