

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İMİDACLOPRİDİN GİDERİMİNDE MİKROORGANİZMA KULLANIM  
OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Selin İŞILDAK**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

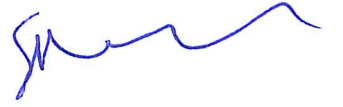
**ANKARA  
2017**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

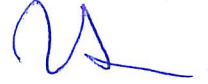
Selin İŞILDAK tarafından hazırlanan “İmidaclopridin Gideriminde Mikroorganizma Kullanım Olanaklarının Araştırılması” adlı tez çalışması 04/07/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı

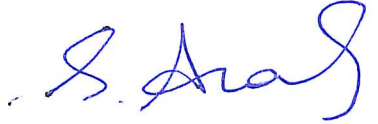


### Jüri Üyeleri :

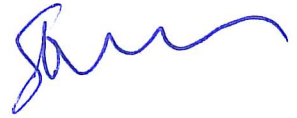
**Başkan** : Prof. Dr. Zümriye AKSU  
Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı



**Üye** : Prof. Dr. Sümer ARAS  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Üye** : Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı



**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN**  
Enstitü Müdürü

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

04/07/2017



Selin IŞILDAK

## ÖZET

Yüksek Lisans

### İMİDACLOPRİDİN GİDERİMİNDE MİKROORGANİZMA KULLANIM OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Selin İŞILDAK

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY

Tez çalışmasında; dünyada ve ülkemizde yaygın kullanım alanına sahip, neonikotinoid insektisitlerden biri olan imidaclopridin biyogiderimi araştırılmıştır. Bu amaçla; pestisit uygulanmış tarımsal alanlardan alınan toprak örneklerinden on yedi adet fungus ve sekiz adet bakteri izole edilmiştir. En yüksek biyogiderim kapasitesine sahip üç fungusun biyogiderim etkinliğini arttırmak amacıyla melaslı besiyerinde, başlangıç pH değeri, başlangıç imidacloprid konsantrasyonu ve inkübasyon süresi gibi parametreler optimize edilmiştir. En yüksek biyogiderim verimi *Acremonium sclerotigenum* türünde elde edilmiş ve inkübasyonun 2. gününde 2.6 ile 6.7 mg/L imidacloprid varlığında %100 biyogiderim gözlenmiştir. Ortamdaki 44.0 mg/L imidaclopridin ise inkübasyonun 6. gününde %8.9 oranında uzaklaştırıldığı belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen veriler *A. sclerotigenum* biyokütlesinin imidacloprid gideriminde kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

**Temmuz 2017 64 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** İmidacloprid, *Acremonium sclerotigenum*, biyogiderim

## ABSTRACT

Master Thesis

### INVESTIGATION OF USAGE POSSIBILITIES OF IMIDACLOPRID REMOVAL BY MICROORGANISMS

Selin IŞILDAK

Ankara University

Graduate Scholl of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY

In the thesis study; the bioremoval of imidacloprid, one of the neonicotinoid insecticides which is widely used in the world and in our country, has been investigated. For this purpose; seventeen fungi and eight bacteria were isolated from soil samples collected from pesticide applied agricultural areas. To increase the bioremoval capacity of the selected three fungi, parameters such as initial pH value, initial imidacloprid concentration, and incubation time were optimized in the molasses medium. The highest bioremoval yield was obtained in the *Acremonium sclerotigenum* strain at the end of second day incubation time as 100% for 2.6 to 6.7 mg/L imidacloprid concentrations. In the medium containing 44.0 mg/L imidacloprid, the fungus could remove 3.9 mg/L on the 6<sup>th</sup> day of incubation time. The results obtained in the study indicate that *A. sclerotigenum* biomass has potent usage in the removal of imidacloprid.

**July 2017 64 pages**

**Key Words:** İmidacloprid, *Acremonium sclerotigenum*, bioremoval

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda engin bilgisiyle beni aydınlatan, çalışmalarımın her aşamasında bana yol gösteren ve destek olan değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY'a, (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) saygı değer hocalarım Sayın Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ'e ve Sayın Doç. Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ'a, (Ankara Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalı) Araştırma Görevlisi, Sayın Ekin DEMİRAY'a,

Çalışmalarım boyunca desteklerini esirgemeyen değerli hocam ve ağabeyim Yrd. Doç. Dr. Cem Tolga GÜRKANLI'ya, değerli hocam, eğitimci yazar Şahin AYBEK'e, her türlü destek ve yardımlarından dolayı sevgili laboratuvar arkadaşlarım Bio. Banu Şeyma CEYHUN ve Bio. Kaan KABADAYI'ya,

Tezimin her aşamasında bana destek olan, beni sabırla dinleyen değerli dostlarım Uzm. Bio. Nazlı Ecem DAL'a ve Bio. Derya ONAT'a, her zaman yanımda olan, bana güç veren sevgili dostlarım Şilan Gizem CEYLAN'a, Mete MALLI'ya ve Bio. İpek KARAAĞAÇ'a,

Hayatım boyunca bana hep destek olan, hiçbir zaman sabır ve ilgilerini esirgemeyen sevgili anneme ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Biyolog Selin IŞILDAK

Ankara, Temmuz 2017

## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAY SAYFASI

|                                                             |      |
|-------------------------------------------------------------|------|
| ETİK.....                                                   | i    |
| ÖZET.....                                                   | ii   |
| ABSTRACT .....                                              | iii  |
| TEŞEKKÜR .....                                              | iv   |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....                        | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ .....                                       | x    |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                     | xi   |
| 1. GİRİŞ.....                                               | 1    |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ .....                                    | 3    |
| 2.1 Pestisitler .....                                       | 3    |
| 2.1.1 Pestisitlerin sınıflandırılması .....                 | 4    |
| 2.1.2 Türkiye’ de pestisit kullanımı .....                  | 7    |
| 2.2 İnsektisitler .....                                     | 8    |
| 2.2.1 İnsektisitlerin sınıflandırılması.....                | 9    |
| 2.2.2 İnsektisitlerin etkileri.....                         | 12   |
| 2.3 Neonikotinoid İnsektisitler .....                       | 13   |
| 2.3.1 Neonikotinoid insektisitlerin sınıflandırılması ..... | 13   |
| 2.3.2 Neonikotinoid insektisitlerin etkileri .....          | 15   |
| 2.4 İmidacloprid .....                                      | 16   |
| 2.4.1 İmidaclopridin parçalanma ürünleri .....              | 17   |
| 2.5 Funguslar .....                                         | 17   |
| 2.5.1 Fungusların biyoremediasyonda kullanımı .....         | 19   |
| 2.5.2 <i>Acremonium</i> cinsi .....                         | 20   |
| 2.5.3 <i>Acremonium sclerotigenum</i> .....                 | 20   |
| 2.6 Pestisitlerin Funguslarla Giderimi .....                | 20   |
| 2.7 Neonikotinoid İnsektisitlerin Giderimi .....            | 22   |
| 2.7.1 Bakteriler ile yapılan giderim çalışmaları .....      | 22   |
| 2.7.2 Algler ile yapılan giderim çalışmaları .....          | 24   |
| 2.7.3 Funguslar ile yapılan giderim çalışmaları .....       | 25   |
| 2.8 İmidacloprid Giderim Çalışmaları.....                   | 26   |
| 2.8.1 Bakteriler ile yapılan giderim çalışmaları .....      | 26   |

|                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------|----|
| 2.8.2 Algler ile yapılan çalışmalar.....                                | 28 |
| 2.8.3 Funguslar ile yapılan çalışmalar.....                             | 28 |
| 3. MATERYAL VE YÖNTEM.....                                              | 31 |
| 3.1 Materyal.....                                                       | 31 |
| 3.1.1 Mikroorganizma kaynağı.....                                       | 31 |
| 3.1.2 Kirletici.....                                                    | 31 |
| 3.2 Yöntem.....                                                         | 32 |
| 3.2.1 İmidacloprid stoğu.....                                           | 32 |
| 3.2.2 Mineral salt medium (MSM) besiyeri.....                           | 32 |
| 3.2.3 Melash besiyeri.....                                              | 32 |
| 3.2.4 Bakteri izolasyonu.....                                           | 32 |
| 3.2.5 Fungus izolasyonu ve tanılması.....                               | 33 |
| 3.2.6 En yüksek kapasitede imidacloprid giderebilen bakteri seçimi..... | 34 |
| 3.2.7 En yüksek kapasitede imidacloprid giderebilen fungus seçimi.....  | 34 |
| 3.2.8 İmidacloprid biyogiderimine başlangıç pH değerinin etkisi.....    | 34 |
| 3.2.9 Artan imidacloprid konsantrasyonunun biyogiderime etkisi.....     | 35 |
| 3.2.10 Artan inokülüm miktarının biyogiderime etkisi.....               | 35 |
| 3.3 Analiz Yöntemleri.....                                              | 35 |
| 3.3.1 HPLC analizi.....                                                 | 35 |
| 3.3.2 Kuru ağırlığın belirlenmesi.....                                  | 36 |
| 3.3.3 İmidacloprid biyogideriminin hesaplanması.....                    | 36 |
| 3.3.4 Maksimum spesifik imidacloprid alımının hesaplanması.....         | 36 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....                                             | 37 |
| 4.1 Bakteri İzolasyonu.....                                             | 37 |
| 4.2 En Yüksek Kapasitede İmidacloprid Giderebilen Bakteri Seçimi.....   | 38 |
| 4.3 Fungus İzolasyonu ve Tanılması.....                                 | 39 |
| 4.4 En Yüksek Kapasitede İmidacloprid Giderebilen Fungus Seçimi.....    | 40 |
| 4.4.1 İmidacloprid biyogiderimine başlangıç pH değerinin etkisi.....    | 41 |
| 4.4.2 Artan imidacloprid konsantrasyonunun biyogiderime etkisi.....     | 45 |
| 4.4.3 Artan inokülüm miktarının biyogiderime etkisi.....                | 48 |
| 4.5 Maksimum Spesifik İmidacloprid Alımı.....                           | 49 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....                                               | 51 |
| 5.1 Bakteri İzolasyonu ve Seçimi.....                                   | 51 |
| 5.2 Fungus İzolasyonu ve Seçimi.....                                    | 52 |

|                                                                            |           |
|----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>5.3 İmidacloprid Biyogiderimine Başlangıç pH Değerinin Etkisi .....</b> | <b>53</b> |
| <b>5.4 Artan İmidacloprid Konsantrasyonunun Biyogiderime Etkisi .....</b>  | <b>54</b> |
| <b>5.5 Maksium Spesifik İmidacloprid Alımı .....</b>                       | <b>55</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>                                                     | <b>56</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>                                                       | <b>64</b> |



## SİMGELER DİZİNİ

|                                                     |                                 |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------|
| N                                                   | Azot                            |
| O                                                   | Oksijen                         |
| H                                                   | Hidrojen                        |
| R                                                   | Radikal grup                    |
| COOH                                                | Karboksilik asit                |
| OH                                                  | Hidroksil grubu                 |
| Cd                                                  | Kadmiyum                        |
| Cu                                                  | Bakır                           |
| Cr                                                  | Krom                            |
| Pb                                                  | Kurşun                          |
| MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | Magnezyum sülfat heptahidrat    |
| CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                | Kalsiyum klorür dihidrat        |
| CuCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O                | Bakır (II) klorür dihidrat      |
| FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O                | Demir sülfat heptahidrat        |
| MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O                 | Manganez (II) sülfat monohidrat |
| Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O | Sodyum molibden dihidrat        |
| Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O  | Sodyum tungstat dihidrat        |
| ZnSO <sub>4</sub>                                   | Çinko sülfat                    |
| NH <sub>4</sub> Cl                                  | Amonyum klorür                  |
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>     | Amonyum sülfat                  |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>                     | Potasyum hidrojen fosfat        |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | Potasyum dihidrojen fosfat      |
| NaCl                                                | Sodyum klorür                   |

## **Kısaltmalar**

|      |                                         |
|------|-----------------------------------------|
| PDA  | Potato dekstrozo agar                   |
| MSM  | Mineral salt medium                     |
| IMI  | İmidacloprid                            |
| UV   | Ultraviyole                             |
| HPLC | Yüksek performanslı sıvı kromatografisi |
| OD   | Optik dansite                           |
| °C   | Celcius                                 |
| L    | Litre                                   |
| mL   | Mililitre                               |
| µL   | Mikrolitre                              |
| M    | Molar                                   |
| mM   | Milimolar                               |
| g    | Gram                                    |
| mg   | Miligram                                |
| dk   | Dakika                                  |
| rpm  | Dakikadaki devir sayısı                 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1 Toprakta izole edilen funguslar.....                                                                                               | 33 |
| Şekil 4.1 Bakteri izolatlarının basit boyama yöntemiyle belirlenen morfolojik yapıları.....                                                  | 38 |
| Şekil 4.2 1 numaralı izolatın değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitesinin belirlenmesi .....                                           | 42 |
| Şekil 4.3 <i>A. sclerotigenum</i> 'un değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitesinin belirlenmesi.....                                    | 43 |
| Şekil 4.4 17 numaralı izolatın değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitesinin belirlenmesi .....                                          | 44 |
| Şekil 4.5 1, 13 ( <i>A. sclerotigenum</i> ) ve 17 numaralı fungusların değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitelerinin belirlenmesi..... | 45 |
| Şekil 4.6 İnkübasyonun 2. gününde <i>A. sclerotigenum</i> 'un artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığındaki biyogiderim oranı.....      | 46 |
| Şekil 4.7 İnkübasyonun 4. gününde <i>A. sclerotigenum</i> 'un artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığındaki biyogiderim oranı.....      | 47 |
| Şekil 4.8 İnkübasyonun 6. gününde <i>A. sclerotigenum</i> 'un artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığındaki biyogiderim oranı.....      | 48 |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 2.1 Pestisitlerin etki ettiği organizmaya göre sınıflandırılması..                                                                      | 5  |
| Çizelge 2.2 Türkiye’de pestisit kullanımı .....                                                                                                 | 8  |
| Çizelge 3.1 Mikroorganizma kaynağı olarak kullanılan toprak örnekleri .....                                                                     | 31 |
| Çizelge 4.1 İzole edilen bakterilerin morfolojileri, Gram boyanmaözellikleri,<br>endospor oluşumu ve imidacloprid varlığındaki gelişimleri..... | 37 |
| Çizelge 4.2 Topraktan izole edilen bakterilerin OD değerleri ve biyogiderim<br>oranları .....                                                   | 39 |
| Çizelge 4.3 Fungus izolatlarının imidacloprid varlığındaki gelişimleri.....                                                                     | 40 |
| Çizelge 4.4 İzole edilen fungusların imidaclopridi biyogiderime uğratma oranları .....                                                          | 41 |
| Çizelge 4.5 Artan inokülüm miktarının imidacloprid biyogiderimine etkisi.....                                                                   | 49 |
| Çizelge 4.6 Artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığında <i>A. sclerotigenum</i> ’un<br>maksimum spesifik imidacloprid alımı.....           | 50 |

## 1. GİRİŞ

Son yıllarda hızla artan nüfusun gıda ihtiyacını karşılamak amacıyla tarımsal üretimde büyük oranda artış meydana gelmiş ve pestisit kullanımı modern tarımın önemli bir parçası olmuştur (Morillo ve Villaverde 2017). Pestisitler (insektisit, herbisit, fungusit vb.) tarımda yüksek verim elde etmek için kullanılsa da onların uzun süreli kullanımı, birikimlerine neden olmakta ve toksik etkileri tüm canlılar için ciddi tehdit oluşturmaktadır (Javaid vd. 2016). Pestisitlerin oluşturduğu tehdit onların fiziksel, kimyasal, biyolojik yöntemlerle giderimini de beraberinde getirmektedir. Fiziksel yöntemlere; akümülayon, dilüsyon, difüzyon, kimyasal yöntemlere; hidroliz, oksidasyon, fotokimyasal yöntemlere; fotoliz, fotodegradasyon ve biyolojik yöntemlere; biyodegradasyon, biyotransformasyon, biyoakümülayon, biyosorpsiyon örnek olarak verilebilmektedir (Tankiewicz vd. 2010).

Neonikotinoid insektisitler; tarımda zararlı böceklerin etkisiyle meydana gelen ürün kayıplarını azaltmak için kullanılan oldukça etkili insektisitlerdir. Genellikle tohumlara uygulanan neonikotinoid insektisitler; bitki tarafından sistemik bir biçimde alınmakta, polen ve nektar yoluyla çeşitli böceklerle taşınmaktadır (Godfray vd. 2014). Neonikotinoid insektisitlerin subletal dozları arılarda davranış bozukluklarına, normal işlevlerin zarar görmesine, koku alma işlevlerinin bozulmasına neden olmaktadır (Li vd. 2015).

İmidacloprid; tarım zararlısı böceklerin kontrolü amacıyla kullanılan sistemik etkili bir neonikotinoid insektisittir. Bayer tarafından 1991 yılında piyasaya sürülmüş olan imidacloprid; nikotinik asetilkolin reseptörüne yüksek afinitesi sebebiyle bağlanarak etki göstermektedir. İmidacloprid hedef olmayan organizmalar üzerinde de toksik etkiler meydana getirmekte ve özellikle arılarda koloni kayıplarına neden olmaktadır (Cycoń vd. 2013).

Yapılan tez çalışmasında; farklı illerdeki pestisit uygulanmış tarımsal alanlardan alınan toprak örneklerinden izole edilen bakteri ve fungusların imidacloprid varlığındaki gelişimleri ve biyogiderim kapasiteleri incelenmiştir. Buna ek olarak; imidacloprid

biyogiderimine başlangıç pH değerinin, inkübasyon süresinin ve başlangıç imidacloprid konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Pestisitler

Pestisitler; canlılar üzerinde olumsuz etkileri olan organizmaların kontrol altına alınması ya da zararlarının azaltılması amacıyla kullanılan bileşiklerdir. Yıllar boyunca zirai mücadele amacıyla kullanılsalar da özellikle II. Dünya Savaşı'ndan sonra pestisit kullanımında büyük bir artış görülmüştür (Morillo ve Villaverde 2017).

Tarımcılığın gelişmesiyle birlikte tarım alanlarındaki böcek popülasyonu artışı pestisit kullanımını beraberinde getirmiştir. Pestisitlerin ilk kullanımı; tarımsal faaliyetlerin başlamasıyla paralellik gösterse de modern pestisitlerin kullanımı 19. yüzyılda görülmüştür. İlk pestisitler 1860'lı yıllarda üretilmiştir. Yüksek toksisiteye sahip olan arsenik ile fumigant hidrojen siyanit; zararlı etkileri olan böcek, fungus ve bakterileri kontrol etmek amaçlı üretilmiştir. Bu dönemde bakır sülfat, kireç ve su karışımı ile kükürt kullanımı; toksisite ve etkisizlik nedeniyle bırakılmıştır. İkinci nesil pestisit üretimi ise; sentetik organik bileşikler içermektedir (Stoytcheva 2011).

“Yeşil Devrim” hareketi; 1941 yılında Rockefeller Vakfı'nın Meksika'daki tarımsal uygulamalarla ilgili araştırma yapılması için bir ekip göndermesiyle başlamış, bu araştırmanın ardından 1944 yılında Norman Borlaug tarafından “Meksika Tarım Programı” geliştirilmiştir (Patel 2012). Meksika'da ürün verimliliğini artırmak ve artan nüfusun gıda ihtiyacını karşılamak amacıyla başlatılan bu hareket başarıya ulaşmış ve tüm dünyaya yayılmıştır. “Yeşil Devrim” hareketinde en çok üstünde durulan konu ise pestisit kullanımının kontrolü olmuştur (Stoytcheva 2011).

Pestisitlerin; ürün kalite ve verimliliğinin artırılması, ürün kaybının önlenmesi, vektör hastalıklarının kontrol altına alınması gibi yararları bulunmaktadır. Halk sağlığı ve tarımsal bitkiler üzerinde yararlı etkileri bulunmasına rağmen; pestisitlerin çevresel kirleticiler arasında büyük bir yeri bulunmaktadır. Pestisitlerin çoğu kalıcı etkiler bırakmaktadır. Artarak devam eden pestisit kullanımı sucul ekosistemlerde toksik

etkilere yol açmaktadır. Pestisitler düşük konsantrasyonda kullanılsa bile; birden fazla pestisitten meydana gelen karışımlar sinerjik etki yaratarak çeşitli zararlı etkilere neden olmaktadır. İnsanlarda immün sistemin baskılanması, üreme anormallikleri, hormon yapısındaki bozulmalar, kanser, toprak, su ve hava kirlilikleri, hedef olmayan organizmalardaki toksisitesi gibi zararları çevre ve halk sağlığını doğrudan etkilemektedir (Aktar vd. 2009).

Pestisitlerin yüksek toksisitesi ve ekosistemlerde birikimi; onların çeşitli yöntemlerle giderimini de zorunlu kılmaktadır. Özellikle atıksulardaki pestisitlerin giderimi; sedimentasyon, fotoliz, hidroliz, adsorpsiyon, biyodegradasyon, biyoremediasyon ve fitoremediasyon yöntemleri kullanılarak yapılabilmektedir. Ayrıca; elektrokimyasal redüksiyon, oksidasyon, nanofiltrasyon, elektrokoagülasyon gibi yöntemler de kullanılabilmektedir (Behloul vd. 2013).

Biyolojik giderim; çeşitli kirleticilerin zararsız bileşiklere dönüştürülmesi ya da bulundukları ortamdan tamamen uzaklaştırılmasında kullanılmakta, çevre dostu olması, daha az zaman ve enerji gerektirmesi nedeniyle tercih edilmektedir (Ma vd. 2016).

### **2.1.1 Pestisitlerin sınıflandırılması**

Pestisitler; farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahiptir. Bu nedenle; pestisitlerin etki etme biçimi ve süresi ile etkiledikleri organizmalar farklılık göstermektedir. Bu temel özellikler göz önünde bulundurularak, pestisitler; etki ettikleri organizmaya, etki etme biçimine ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır (Estevez vd. 2008).

Pestisitlerin; etki ettikleri organizmaya göre sınıflandırılması çizelge 2.1’de verilmiştir (Estevez vd. 2008, Sarwar vd. 2015).

Çizelge 2.1 Pestisitlerin etki ettiği organizmaya göre sınıflandırılması

| Pestisit    | Etki ettiği organizma            |
|-------------|----------------------------------|
| İnsektisit  | Böcekler                         |
| Herbisit    | Bitkiler                         |
| Fungusit    | Funguslar                        |
| Bakteriosit | Bakteriler                       |
| Nematosit   | Nematodlar                       |
| Rodentisit  | Rodentler (fare vb. kemiriciler) |
| Mollusit    | Molluskalar (salyangoz gibi)     |
| Akarisit    | Akarlar (kene vb.)               |

Pestisitler etki etme biçimine göre; sistemik ve sistemik olmayan pestisitler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Sistemik olmayan pestisitler; bitki dokularına nüfuz etmeyerek bitki dokularında taşınmamakta ve etkileri zararlı organizmanın pestisite teması ile ortaya çıkmaktadır. Sistemik etkili pestisitler ise; bitki dokularına nüfuz ederek bitkinin vasküler sisteminde toksik etki yapacağı dokuya ilerlemektedir (Stoytcheva 2011).

Pestisitlerin kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılması; aktif bileşenleri temel alınarak yapılmakta ve onların etkililiği ile uygulanabilirliği açısından oldukça önemli olmaktadır. Pestisitler; kimyasal özelliklerine göre 3 temel sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar; organofosforlu bileşikler, organoklorlu bileşikler ve karbamatlar olarak adlandırılmaktadır (Mitra vd. 2011, Stoytcheva 2011).

Organofosforlu bileşikler; merkezde bulunan fosfat grubuna bağlı iki radikal grup, bir oksijen ve bir oksijen türevinden oluşmaktadır. Radikal gruplar genellikle etil ve metil grupları olmakta, bazı bileşiklerde oksijenin yerini kükürt almaktadır. Bu bileşikler;

omurgalı ve omurgasızlar canlılarda toksik etkiler meydana getirmektedir. Asetilkolinesteraz inhibitörleri; sinaps boyunca asetilkolin nörotransmitterlerini engelleyerek sinir iletiminin aksamasına sonuç olarak da paraliz ve ölüme neden olmaktadır. Organofosforlu bileşikler; çeşitli biyolojik ve kimyasal reaksiyonlarla kolayca ayrışmakta ve çevrede kalıcı olarak bulunmamaktadır. Organofosforlu bileşikler; malation, paration, metil paration, oksidemeton, azinfos metil, fosmet, triazafos, klorprifos, diklorvos, tetraklorvinfos, glifosat ve diazinon gibi bileşikler içermektedir (Dyk ve Pletschke 2010, Stoytcheva 2011).

Organoklorlu bileşikler; beş veya daha fazla klor atomu içermektedir. Kimyasal ve mikrobiyel degradasyona dayanıklı olmakla birlikte çevrede kalıcı etkilere sebep olmaktadır. Organoklorlu bileşikler; böceklerde sinir sistemi üzerinde etki göstererek paralize ve ölüme neden olmaktadır (Stoytcheva 2011). Boşaltım, üreme, bağışıklık, sinir sistemi ve endokrin sistemini olumsuz etkilemekte, fetüse plasenta yoluyla, yeni doğan bebeklere ise anne sütü yoluyla taşınabilmektedir (Silva vd. 2016). Organoklorlu bileşikler; difenil alifatikler, heksaklorosikloheksanlar, siklodienler ve polikloroterpenler olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Organoklorlu bileşiklerin en eski grubu olan difenil alifatikler; DDT, etilan, klorobenzilat, metoksiklor gibi bileşikler içermektedir. DDT; 20. yüzyılın en bilinen insektisiti olarak tanımlanmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Heksaklorosikloheksanlar; benzenheksaklorid olarak da bilinmektedir. 1940'lı yıllarda insektisidal etkisi bulunmuştur. Alfa, beta, gama, delta ve epsilon olmak üzere beş izomeri bulunmakta ve bunlardan sadece gama izomeri insektisit etkisi yapmaktadır. Heksaklorosikloheksanların etkileri DDT'ye benzemektedir. Fakat; DDT'den daha hızlı olarak kendini göstermekte ve böceklerde solunum hızının yükselmesine yol açmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Siklodienler; çoğunlukla güneş ışığına dayanıklı bileşikler olmakla birlikte bitki köklerinden beslenen böcek larvalarının ve termitlerin kontrolünde kullanılmaktadır.

Bulunduğu ortamdaki sıcaklığın artmasıyla birlikte etkisi artan siklodienler; GABA reseptörü üzerinde engelleyici etki yapmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Polikloroterpenler; 1947 yılında üretilen toksafen ile 1951 yılında üretilen stroban bileşiklerini içermektedir. Toksafen; düşük insektisidal etkisi nedeniyle; pamukta DDT ile birlikte kullanılmıştır. Böceklerin DDT'ye karşı direnç kazanması nedeniyle daha sonraları metil paration ile formüle edilmiştir. Toksafen ve stroban; nöronlar üzerinde etki göstererek sodyum ve potasyum dengesinin bozulmasına neden olmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Karbamatlar; karbamik asitten türemektedir. Karbamik asite bağlı üç radikal gruptan biri alkol grubu, biri metil grubu ve diğeri de hidrojenidir. Karbamatların neden olduğu kolinesteraz inhibisyonu, türe özgü ve tersinebilir olmasıyla, organofosforlu bileşiklerin meydana getirdiği etkiden farklılık göstermektedir. Aminocarb, karbaril ve karbofuran en çok bilinen karbamatlar arasında yer almaktadır (Stoytcheva 2011). Karbamatlar; geniş biyolojik aktivitesi, düşük memeli toksisitesi nedeniyle tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır (Wu vd. 2010).

### **2.1.2 Türkiye'de pestisit kullanımı**

T.C Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı'ndan alınan verilere göre; ülkemizde en çok kullanılan pestisitler funguslarla mücadele amacıyla kullanılan fungusitlerdir. Genel pestisit kullanımına bakıldığında; 2004-2007 yılları arasında düzenli bir artış görölmekte, 2007 yılından sonra ani bir düşüş kendini göstermektedir. İnsektisitlerin kullanımında ise; özellikle 2007 yılında büyük bir artış görölmektedir (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2 Türkiye’de pestisit kullanımı (Anonim 2016)

| YIL  | PESTİSİT (kg) |            |           |           |            |           |            |
|------|---------------|------------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|
|      | İNSEKTİSİT    | FUNGUSİT   | HERBİSİT  | AKARİSİT  | RODENTİSİT | DİĞER     | TOPLAM     |
| 2004 |               |            |           |           |            |           | 41.223.053 |
| 2005 |               |            |           |           |            |           | 43.362.627 |
| 2006 | 7.628.215     | 19.899.724 | 6.955.585 | 901.999   | 2.877      | 9.987.399 | 45.375.799 |
| 2007 | 21.045.632    | 16.706.631 | 6.668.653 | 966.488   | 50.925     | 3.277.315 | 48.715.644 |
| 2008 | 9.250.719     | 17.862.861 | 6.176.508 | 737.123   | 351.095    | 5.613.346 | 39.991.651 |
| 2009 | 9.913.897     | 17.395.950 | 5.960.852 | 1.532.728 | 77.610     | 2.302.300 | 37.183.337 |
| 2010 | 7.175.831     | 17.545.584 | 7.451.591 | 1.039.739 | 147.404    | 5.343.714 | 38.703.862 |
| 2011 | 6.119.933     | 18.123.614 | 7.406.602 | 1.061.609 | 421.426    | 6.977.775 | 40.110.958 |
| 2012 | 7.263.617     | 15.525.122 | 7.350.997 | 859.265   | 246.590    | 8.766.030 | 40.011.621 |
| 2013 | 7.740.595     | 16.247.979 | 7.335.914 | 857.597   | 128.812    | 7.127.740 | 39.438.637 |
| 2014 | 7.585.776     | 16.673.556 | 7.793.832 | 1.513.002 | 148.867    | 6.006.850 | 39.721.883 |
| 2015 | 8.117.495     | 15.983.602 | 7.824.998 | 1.576.230 | 196.850    | 5.327.263 | 39.026.438 |

## 2.2 İnsektisitler

Pestisitlerin alt gruplarından biri olan insektisitler; tarımsal, tıbbi ve hijyenik açıdan zararlı böceklerin kontrolünde kullanılan bileşiklerdir. Tarım, ekonomi ve halk sağlığı açısından büyük öneme sahip olan insektisitler dünyada geniş bir kullanım alanına sahiptir (Kikuchi 2012).

İnsektisit kullanımı; çok eski dönemlere dayanmaktadır. Sümerliler'in; kükürtü akarisit ve insektisit yerine kullandıkları, Çin'de, yaklaşık olarak M.Ö 1200 yıllarında, kapalı alanlardaki böcekleri kontrol etmek amacıyla odun külü ve tebeşir tozu kullanıldığı bilinmektedir. Antik Yunan ve Roma'da; kükürt, fumigant, yağ spreyleri, yağ ve kül karışımlarının zararlı böcekleri kontrol etmek amacıyla kullanıldığı da kayda geçmiştir. M.S 300 yılında; ilk biyolojik kontrol; turunçgil bahçelerinde predatör karıncalar kullanılarak yapılmıştır. 16-19. yüzyıllar arasında insektisit kullanımı yaygınlaşmış ve gelişmiştir. 19. yüzyılda; kükürt, arsenik, florid, nikotin ve rotenonun kullanımı gelişmiştir (Singh 2007).

DDT; yüksek insektisidal aktiviteye sahip ilk üretilen insektisittir ve 1939 yılında Paul Müller tarafından bulunmuştur. İlk olarak 1873 yılında Avusturyalı yüksek lisans öğrencisi O. Zidler tarafından keşfedilse de biyolojik aktivitesi incelenmemiştir. DDT'nin ilk kullanımı ise 1941 yılına rastlamaktadır (Jarman ve Ballschmiter 2012).

### **2.2.1 İnsektisitlerin sınıflandırılması**

İnsektisitler temel olarak; doğal insektisitler ve sentetik insektisitler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Doğal insektisitler; bitkilerden elde edilen toksik maddelerden türetilmiştir ve diğer insektisitlerden daha uzun süre kullanılmıştır. 1940'lı yılların başında; tütün, terebentin, pretrum, hellebor, kuassia, camphor gibi doğal insektisitler tarımsal üretimde çok önemli bir yer tutmuştur. Nikotin, limonen, rotenon, neem, piretrin, sabadilla bitkisel kökenli insektisitlere örnek olarak verilebilmektedir (Ware ve Whitacre 2004, Isman vd. 2011).

*Nicotiana tabacum*'dan elde edilen nikotin; özellikle yaprak biti, tırtıl gibi yumuşak vücutlu pek çok böceğe karşı etkili olmaktadır. Nikotin bir alkaloiddir ve azot içeren heterosiklik bileşikler arasında yer almaktadır. 1600'lü yıllarda Avrupa'da kullanılmaya başlanan nikotin ilk olarak 1828 yılında elde edilmiştir (Dimetry 2012). Memelilerde

nöromuskular alanda asetilkolin gibi davranarak hızlı bir şekilde kasılma, konvulsiyon ve ölüme neden olmaktadır. Aynı etkiyi böceklerde sadece merkezi sinir sisteminde meydana getirmektedir (Ware ve Whitacre 2004).

Limonen genellikle çiçekli bitkilerden özellikle de turuncgillerin kabuğundan elde edilen terpenlere ait bir bileşiktir. Bit, pire, kene gibi canlılara karşı etkili olmakla birlikte sıcak kanlı hayvanlarda toksik bir etki oluşturmamaktadır (Aissou vd. 2017).

Rotenon; Derris, Lonchocarpus ve Tephrosia familyalarına ait bitkilerin kök ve rizomlarından elde edilen bileşiklerdir. Rotenon kullanımı UV ışınlarının etkisiyle degradasyonu sınırlı olmakla birlikte suda çözünürlüğü düşüktür (Oliveira vd. 2014). Böceklerde midede etki göstermekte ve temas yoluyla etkili olmakla birlikte; solunum ile ilgili enzimleri inhibe ederek solunum yollarında sorunlara yol açmaktadır. Ayrıca balıklarda paralyze neden olduğu için balıkları yakalamak amacıyla da kullanılmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Neem yağı; *Azadirachta indica*'nın tohumlarından elde edilmekte ve limonenlere ait nortriterpenoid içermektedir. Aktif maddesi olan azadraktin; böcek, bakteri ve fungus gibi birçok zararlının sindirim ve üreme sistemi üzerinde etkisini göstermekte ve ölüme sebep olmaktadır (Ware ve Whitacre 2004, Gupta ve Dickshit 2010).

Piretrin; Adriyatik Denizi'nin doğu kıyılarında yetişen, endemik bir bitki olan *Tanacetum cinerariifolium*'un ikincil metabolitidir ve daha çok bitkinin çiçek kısmında bulunmaktadır. Böceklerin sinir hücrelerindeki sodyum kanallarına bağlanarak ölüme neden olmaktadır (Grdiša ve Gršić 2013).

Sabadilla; Güney Amerika'da bir zambak türü olan *Schoenocaulon officinale* tohumlarından elde edilmektedir ve piretrinlerle benzerlik göstermektedir. Böceklerde sinir hücre zarı üzerinde etkili olarak paraliz ve ölüme neden olmaktadır (El Wakeil 2013).

Sentetik insektisitler; organoklorlu insektisitler, organofosfatlı insektisitler, karbamatlar, formamidinler, dinitrofenoller, spinozinler, fiproller (fenilprazoller), piroller, kinazolinler, benzoilüre, pretroidler, nikotinoidler (neonikotinoidler) olarak sınıflandırılmaktadır (Ware ve Whitacre 2004).

Formamidinler; böcek ve akarları kontrol altına almak amacıyla kullanılan, farklı biyokimyasal mekanizmalarla diğer insektisitlerden ayrılan bileşiklerdir. Formamidinler; karbamatlı insektisitlere karşı dirençli olan zararlılar için kullanılmaktadır. Nöromuskular iletimi engellemekte, serotonin ile norepinefrin bozunmasından sorumlu olan monoamin oksidaz enzimini inhibe ederek böceklerde ölüme yol açmaktadır (Ware ve Whitacre 2004, Ahmed ve Matsumura 2012).

Dinitrofenoller; herbisit, insektisit ve fungusit gibi etki göstermektedir. Bitki korumada önemli bir role sahip olmanın yanı sıra, oksidatif fosforilasyon sürecini engelleyerek ADP'den ATP sentezini inhibe etmektedir (Ware ve Whitacre 2004, Zaharia vd. 2013).

Spinozinler; *Saccharopolyspora spinosa*'nın fermentasyon ürünü olan spinozadlar tarafından temsil edilmektedir. Lepidoptera larvaları, tıtlar, yaprak yiyen böcekler ve termitlerde temas yoluyla etki yaratmakta ve midede toksik etki göstermekte, postsinaptik hücrede nikotinik asetilkolin reseptörüne asetilkolin bağlanmasını engellemekte ve GABA reseptörü üzerinde de etki göstermektedir (Ware ve Whitacre 2004, Biondi vd. 2012).

Fipronil; fenil pirazol ailesine ait bir insektisittir. Temas ile mide üzerinde aktivite gösteren sistemik etkili bir insektisittir. Toprak ve yaprakta bulunan bitki ve insan sağlığını tehdit eden böceklerin kontrolü için kullanılmakla birlikte hayvan hastalıklarına neden olan zararlıların kontrolü için kullanılmaktadır. Pretroidlere, karbamatlı ve organofosforlu insektisitlere dirençli böceklerde kullanılmaktadır. Fipronil; nöronlardaki klor kanallarını düzenleyen GABA'nın antagonisti olarak etki göstermektedir (Ware ve Whitacre 2004, Terçariol ve Godinho 2011).

Aktivasyon için oksidaz enzimlerine gerek duyan piroller; hücre düzeyinde etki etmekte ve mitokondride oksidatif fosforilasyonu engelleyerek solunum yolları üzerinde etki göstermektedir. Pirollerin bir üyesi olan klorfenapir; pamuk, soya fasulyesi, mısır gibi bitkilerde; yaprak bitleri, tırtıl vb. böcekleri kontrol altına almak için kullanılmaktadır. Oksidatif fosforilasyonu inhibe ederek ATP sentezini olumsuz yönde etkilemektedir (Ware ve Whitacre 2004, Oxborough vd. 2015).

Kinazolinler, kinazolinonlar ve analogları çeşitli biyolojik aktiviteler göstermektedir. Kinazolinler içerisinde yer alan fenazakuin; temasla etkili olmakta ve mide üzerinde aktivite göstermektedir. Ovisidal etki yapmakta ve hızlı bir şekilde ölüme sebep olmaktadır. Genellikle pamuk, üzüm, turunçgil üretiminde kullanılmaktadır (Ware ve Whitacre 2004, Nasrullayev 2016).

Benzoilüre; diğer insektisit sınıflarından büyük bir farklılık göstermektedir. Böceklerde gelişme, üreme ve metamorfozu engellemekte, kitin sentezini inhibe etmekte ve endokrin sistem üzerinde etki göstermektedir. Olumsuz etkileri daha çok böcek larvaları üzerinde olmaktadır (Ware ve Whitacre 2004, Yang vd. 2014).

Pretroidler; Chrysanthemum familyasından elde edilen pretrinlerin değişikliğe uğratılmasıyla geliştirilmiş sentetik insektisitlerdir. Böceklerde sinir hücresi membranının sodyum geçirgenliğini artırarak voltaja duyarlı sodyum kanallarının kinetiğini değiştirmekte ve sinirlerin normal işlevini bozmaktadır (Koureas vd. 2012).

### **2.2.2 İnsektisitlerin etkileri**

İnsektisitler; tarım bitkilerine zararları bulunan böcekleri ya da onların zararlarını yok ederek ürün kalitesini ve verimliliğini artırmaktadır. İnsektisitlerin böceklere verdiği zararlar arasında; kitin sentezi inhibisyonu, juvenil hormon taklidi ile larvadan erişkin böceğe geçişin engellenmesi, asetilkolin esterase enziminin inhibisyonu yer almaktadır (Marrs 2012).

İnsektisitler; toprak, su ve bitkilerde birikerek ekosistemdeki diğer canlıları da tehdit etmektedir. Hem böceklerde hem de memelilerdeki analog yapılar üzerinde; nöronlarda GABA reseptörlerinin engellenmesi, sinir sisteminde aksonik zehirlenme ile paralize neden olunması, nikotinik asetilkolin reseptörüne bağlanarak sinir iletiminin yavaşlatılması, klor kanallarının aktive edilmesi, lipid biyosentezinin inhibe edilmesi gibi olumsuz etkileri bulunmaktadır (Cai vd. 2016, Brook ve Cutts 2017).

### **2.3 Neonikotinoid İnsektisitler**

Neonikotinoid insektisitler; 1980’li yıllarda geliştirilen, 120’ den fazla ülkede kayıtlı bulunan ve pek çok emici böcek ile Coleoptera, Diptera ve Lepidoptera familyalarına ait türleri kontrol altına almayı sağlayan insektisit türüdür. Neonikotinoid insektisit kullanımı 1990’lı yıllarda büyük oranda artmıştır. Verimlilik, dayanıklılık ve seçicilik açısından diğer insektisit gruplarından ayrılmaktadır (Sánchez-Hernández vd. 2014, Bass vd. 2015, Anderson vd. 2015).

Neonikotinoid insektisitlerin fizikokimyasal özellikleri; onların çeşitli tekniklerle uygulanabilirliğini sağlamaktadır. Suda çözünürlüğünün yüksek, ayrışma sabitinin düşük olması; bitki hücre zarından kolaylıkla geçebilmelerini sağlamaktadır. Granüllü formülasyonları; karınca, hamam böcekleri gibi zararlılara karşı kullanılmakta ve otlaklar ile çayırlarda iyileşmeyi sağlamaktadır. Ağaçlarda termitlere ve diğer herbivorlara karşı, asma gibi bitkilerde ise koruma amacıyla uygulanmaktadır. Aynı zamanda evcil hayvanları parazitlerden korumak amacıyla da kullanılmaktadır (Main vd. 2016).

#### **2.3.1 Neonikotinoid insektisitlerin sınıflandırılması**

Neonikotinoid insektisitler; fonksiyonel gruplarına göre; N-nitroguanidinler, N-nitrometilenler ve N-siyanoamidinler olmak üzere üç grupta toplanmaktadır. N-nitroguanidinler içerisinde; imidacloprid, clothianidin, thiametoxam ve dinotefuran, N-

nitrometilenler içerisinde; nitenpiram, N-siyanoamidinler içerisinde ise; acetamiprid ve thiacloprid yer almaktadır (Shi vd. 2011, Goulson 2013).

İmidaclorpid; sistemik etkili bir neonikotinoid insektisit olup emici ağız yapısına sahip zararlı böcekler üzerinde etkilidir (Patil vd. 2014).

Clothianidin; Hemiptera, Thysanoptera, Coleoptera, Lepidoptera ve Diptera familyalarına ait türlerin kontrolünde önemli bir yere sahiptir. Sıcaklık,pH gibi etmenlere bağlı olarak hidrolize dirençlidir ve aerobik ortamda metabolik degradasyonu yavaş olmaktadır (Kim vd. 2012).

Thiametoxam; ikinci nesil neonikotinoid insektisitlerden olup zararlı böceklerle karşı farklı mekanizmalarla etki göstermektedir. Özellikle yaprak bitleri, beyaz kanatlılar gibi zararlılara karşı etkilidir ve zararlı böceklerle mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır (Gao vd.2014).

Üçüncü kuşak neonikotinoid insektisit olan dinotefuran; bitkilere ve yapraklara zararları olan böcekleri kontrol altına almak amacıyla kullanılmaktadır (Watanabe vd. 2011).

Nitenpiram; genellikle böceklerde büyüme düzenleyicileri üzerinde etkili olmakla birlikte; sinir iletimine etki etmekte ve ölüme sebep olmaktadır. Kedi ve köpeklerde ise pirelerle mücadele amacıyla kullanılmaktadır (Yan vd. 2015).

Acetamiprid; Hemiptera familyasına ait bazı zararlı türlerin kontrolünde kullanılmaktadır. Koloni kayıplarına sebep olmakla birlikte, insanlarda düşük kanserojen etkiye sahiptir (Xu vd. 2011).

Thiacloprid; yüksek biyolojik aktiviteye sahiptir ve emici-çiğneyici böcekler üzerinde etkili olmaktadır. Suda iyi çözünen, kararlı bir bileşik olduğu için çevrede birikerek biyosfer üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Rózsa vd. 2017).

### 2.3.2 Neonikotinoid insektisitlerin etkileri

Nikotinik asetilkolin reseptörleri; böceklerde ve omurgalı canlıların sinir sisteminde bulunan kolinerjik sinaptik iletme aracılık eden nörotransmitter kapılı iyon kanallarıdır. Omurgalılarda; hem nöromuskular bağlantıda hem de merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunmaktadır. Böceklerde ise; merkezi sinir sisteminde önemli bir rol oynamakta olan neonikotinoid insektisitler; böceklerin merkezi sinir sistemindeki sinapslarda membran depolarizasyonunu indükleyen ve membran proteini olan nikotinik asetilkolin reseptörünün agonisti olarak işlev görmektedir (Xu vd. 2010, Gbylik-Sikorska vd. 2015).

Neonikotinoid insektisitlerin; omurgalılarda düşük, böceklerde ise yüksek toksisiteye sahip olması onların esnek ve yaygın bir şekilde kullanımını olanaklı kılmaktadır. Fakat bu konudaki bilgi eksikliğinin doğurduğu kullanım hataları çeşitli sorunlara yol açmaktadır. Tohumlara yapılan uygulama; yapraklara spreyleme yoluyla yapılandan çok daha etkili olmakta ve neonikotinoid insektisitler tohumlara uygulandığında insektisit aktif maddesi bitki tarafından absorbe edilmektedir. Bitki tarafından absorbe edilmeyen ve uygulama esnasında havaya karışan insektisit; arılarda ölümlere neden olmakta ve uygulama alanındaki bitki örtüsünde kalmaktadır (Goulson 2013).

Neonikotinoid insektisitlerin topraktan suya geçişi; yağış sonrası yüzey akıntıları, çözülebilen ya da çözilemeyen bileşenlerin eriyen karla taşınımı, bataklık alanlar ve diğer yüzey sularına deşarj edilen suyun yeraltı suyuna karışması şeklinde olmaktadır. Toprakta veya sulara neonikotinoid insektisit birikmesi; hedef olan ve olmayan memeliler, kuşlar, balıklar, böcekler, yumuşakçalar gibi pek çok canlının olumsuz yönde etkilenmesine neden olmaktadır (Goulson 2013, Morrissey vd. 2014).

Neonikotinoid insektisitlerin; kuşlar üzerindeki etkileri arasında kanat tutulması, hiporeaktivite, diare, hareket kısıtlanması, yumurta kabuğunda incelleme, yumurtadan çıkan yavru sayısının ve ağırlığının azalması sayılabilirken, memelilerde; üreme anomalileri, fetüste deformasyon, erken doğum gibi etkiler görülmektedir.

Neonikotinoid insektisitlerin memelilerde ve diğer omurgalı canlılardaki düşük afinitesi; nikotinik asetilkolin reseptörünün alt ünitelerindeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. Örneğin; memelilerdeki  $\alpha 4\beta 2$  asetilkolin reseptörüne bağlanma afinitesi ve agonist faaliyeti ile neonikotinoid toksisitesi arasında bir ilişkili bulunmaktadır (Rodrigues vd. 2010, Goulson 2013, Morrissey vd. 2014).

## 2.4 İmidacloprid

Kimyasal adlandırılması (1-(6-kloro-3-pridilmetil)-N-nitro-imidazolidin-2-yliden-amin) olan imidacloprid; 1990'lı yılların başında ilk üretilen neonikotinoid insektisittir. İmidacloprid; 6-kloro-3-pridil ve 2-nitroiminoimidazolidin gruplarının metilen zinciriyle birbirine bağlanmasıyla oluşmaktadır. 2-nitroimidazolidin grubu imidacloprid seçiciliğinde önemli bir rol oynamaktadır (Uhl vd. 2015, Zhuang 2016).

İmidacloprid; yaprak bitleri, termitler, beyaz sinekler gibi pek çok zararlıya karşı kullanılsa da bal arıları gibi yararlı böceklerde de toksik etki meydana getirmektedir. Böceklerde nikotinik asetilkolin reseptörüne bağlanarak nöronlar arası impuls iletiminde karışıklığa sebep olmaktadır. Genellikle ayçiçeği, patates ve pancar yetiştirilen tarlalarda kullanılan imidacloprid; özellikle ayçiçeği tarlalarında uygulandığında polinatör böceklerde hasarlara ve ölüme neden olmaktadır. İmidaclopridin böceklerin nikotinik asetilkolin reseptörüne bağlanarak etki göstermesi, arılardaki koloni kayıplarının sebepleri arasında yer almaktadır (Cycoń ve Piotrowska-Seget 2015, Uhl vd. 2015).

İmidacloprid kalıntıları; transformasyon, sorpsiyon-desorpsiyon, buharlaşma, tarımsal ürünlerden alınma, yüzey suyu akışları, yeraltı sularına taşınma gibi çeşitli yollarla besin zincirinde birikmekte ve sonunda insanların kullandığı besinlere taşınmaktadır. İmidacloprid; DNA zincirinde kopmalara, kromozom-genom mutasyonlarına neden olmakta, merkezi sinir sisteminde ve hedef olmayan organizmalarda; mutajenite, oksidatif stres, immünotoksosite gelişimi ve inflamasyona sebebiyet verebilmektedir. Aynı zamanda yumurta kabuğunun incilmesi, yumurta üretiminin ve yumurtadan çıkma

süresinin azalması, hormonların engellemesi gibi zararlı etkileri de bulunmaktadır (Bhardwaj 2010, Ding ve Peng 2015).

#### **2.4.1 İmidaclopridin parçalanma ürünleri**

İmidacloprid parçalanması için çok sayıda metabolik yol bulunmaktadır. Biyodegradasyon bu yollardan biri olarak yerini almaktadır. İmidaclopridin temel parçalanma ürünleri; imidacloprid üre, imidacloprid guanidin, imidacloprid guanidin olefin ve 6-kloronikotinik asit olarak adlandırılmaktadır (Phugare vd. 2013, Sabourmoghaddam vd. 2015).

Sharma vd.'nin 2014 yılında yaptıkları çalışmada imidaclopridin; imidacloprid üre ve imidacloprid guanidine ayrıştığı ayrıca 2- iminoimidazolidin 4, 5- diol ve 1- metil imidazolidin 2- imin gibi ara ürünler oluştuğu tespit edilmiştir.

Phugare vd.'nin 2013 yılında yaptıkları çalışmada; imidacloprid ve 6- kloronikotinik asit ile birlikte tanımlayamadıkları üç metabolit de tespit edilmiştir. İmidazolin halkasındaki N=N bağının zayıfladığı, azoksi grubundaki N-O bağının uzadığı ve piridin halkasındaki C=N bağının zayıfladığı belirlenmiştir. R-COOH grubundaki O-H bağının uzadığı, kloronikotinik asitteki OH grubunun bağlandığı ve nitrosoguanidin rezidüsündeki N=O bağının uzadığı görülmüştür. İmidacloprid; 6-kloronikotinik asite indirgendiğinde nitrosoguanidin ve imidacloprid guanidin rezidülerinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bakterilerin imidaclopridi dönüştürmesinde kullanılan enzimin farelerdeki aldehit redüktazın benzeri olduğu düşünülmektedir.

#### **2.5 Funguslar**

Funguslar; hücre duvarına sahip ökaryotik canlılardır. Hücre duvarı; N-asetilglukozaminden oluşan kitin yapısındadır. Bazı türlerde ise kitinin yerini; mannan, galaktozan, kitozan gibi polisakkaritler almaktadır. Hücre duvarının yapısında; proteinler, lipidler, polifosfatlar ve inorganik iyonlar da yer almaktadır. Fungusların

sınıflandırılmasında; hücre duvarının yapısı önemli bir rol oynamaktadır. Funguslar; düşük pH ve yüksek sıcaklıklara dayanıklı organizmalardır (Madigan vd. 2015).

Filamentli funguslar olarak bilinen küfler; genellikle meyve, ekmek gibi besin maddeleri üzerinde yaşamaktadır. Filamentler uçtaki hücrenin uzamasıyla büyümektedir. Tek bir filament ise hif olarak adlandırılmaktadır. Hifler büyüyerek miselyum adı verilen demetleri oluşturmaktadır. Misellerden uzanan hifler hava ile temas ederek konidia olarak adlandırılan eşeysiz sporları oluşturmaktadır. Kuraklığa dayanıklı olan konidialar; fungusların yayılmasında önemli rol oynamaktadır (Madigan vd. 2015).

Bazı küfler; eşeyli üreme yoluyla eşeyli sporlar da üretmektedir. Sporlar; tek hücreli gametlerin ya da özelleşmiş hiflerin füzyonu ile oluşmaktadır ve bulunduğu gruba göre farklı tipte sporlar meydana gelebilmektedir. Kapalı bir kese olan askus içinde gelişen sporlara askospor, bazidium adı verilen çomak şekilli bir yapının içinde gelişen sporlara bazidiyospor adı verilmektedir. Bunların dışında hiflerin füzyonu ve genetik değiş tokuş ile makroskopik zigosporlar oluşmaktadır. Zigosporlar da olgunlaşarak eşeysiz sporları oluşturmakta ve bu sporlar dağılarak yeni miselleri meydana getirmektedir (Madigan vd. 2015).

Mayalar; tek hücreli funguslar olarak bilinmektedir ve çoğu Ascomycetes'ler içinde yer almaktadır. Maya hücrelerinde bölünme genellikle tomurcuklanma şeklinde olmaktadır. Bazı mayalar ise; filamentler oluşturabilmektedir. Bakteri hücresinden çok daha büyük olan mayalar; bakterilerden kolaylıkla ayırt edilebilmektedir (Madigan vd. 2015).

Mayalar; hem aerobik hem de fermentatif metabolizmaya sahiptir. Habitat olarak şekerce zengin çiçek, ağaç kabukları, meyveleri tercih etmekle birlikte çoğu maya türü çeşitli hayvanlarla simbiyotik yaşamakta, bazı türler ise insan ve hayvanlarda patojen olarak bulunmaktadır (Madigan vd. 2015).

### 2.5.1 Fungusların biyoremediasyonda kullanımı

Funguslar ve bakteriler; çevredeki organik kimyasalları degrade edebilmektedir. *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Escherichia*, *Mycobacterium* polisiklik aromatik bileşikler ve ağır metallerin biyoremediasyonunda kullanılan bakterilere örnek olarak verilebilmektedir. Ağır metallerin içeriğinde bulunan atrasen, naftalin, fenantren, piren, benzopiren gibi polisiklik aromatik bileşikleri parçalayabilmekte ve Cd, Cu, Cr, Pb gibi ağır metallerle birlikte meydana getirdikleri etkiyi azaltabilmektedir. Fakat bakteri biyoremediasyonu; düşük enerji sağlaması, biyolojik yararlanmanın düşük olması gibi nedenlerden dolayı dezavantajlı olabilmektedir. Bakteriler tarafından yapılan degradasyon düşük verimli olduğunda funguslar bu amaçla kullanılabilir (Harms vd. 2011, Liu vd. 2017).

Filamentli fungusların detoksifikasyon ve dönüşümde kullanımı, besin, su, kirletici gibi önemli faktörler göz önünde bulundurulduğunda avantajlı bulunmaktadır. Misellerin morfolojik yapısı; besinin az olduğu ortamlarda bile fungusların etkili beslenmesini sağlamaktadır. Fungusların önemli bir özelliği de hiflerin uç kısımlarından ekzoenzimlerin salınmasıdır. Saprofit funguslar; selüloz ve lignini parçalayarak madde döngüsüne katkıda bulunmaktadır. Odun, saman gibi maddeler üzerinde yaşayan funguslar hücre dışı oksitleyici enzimlerle lignini parçalamaktadır. Lignolitik enzimler; radikal reaksiyonlar yoluyla çalışmakta ve lignine benzeyen polisiklik hidrokarbonlar gibi pek çok ksenobiyotik organik kimyasalı indirgeyebilmektedir (Harms vd. 2011, Winqvist vd. 2014).

Pezizomycotina alt şubesinin çok sayıda üyesi çevredeki organik kimyasalları parçalayabilmektedir. Örneğin; *Cladophialophora* ve *Exophiala* cinslerine ait türler tolüeni özümleyebilmektedir. *Aspergillus* ve *Penicillium spp.* klorofenoller, alifatik hidrokarbonları, polisiklik aromatik hidrokarbonları, pestisitleri ve sentetik boyaları degrade edebilmektedir. Mitosporik *Acremonium spp.* polisiklik aromatik hidrokarbonları degrade edebilmektedir (Harms vd. 2011).

### 2.5.2 *Acremonium* cinsi

*Acremonium* büyük bir polifiletik fungus cinsi olmakla birlikte yaklaşık 150 tür içermektedir. Türlerin çoğu saprofit olarak toprakta yaşamakta ve bitki, böcek ve funguslarda patojen etki göstermektedir. Bazı türler ise; insanlarda ve diğer memelilerde fırsatçı patojen olarak görülmektedir. Yavaş gelişen *Acremonium* kolonileri; septalı hiflere sahiptir. Genellikle hiyalin içermekte ve ince, konik, lateral, tek ya da küçük gruplar halindeki phialidlerden oluşmaktadır. Konidialar; tek hücreli yapılardan veya birbiriyle bağlantısı olmayan zincirlerden oluşmaktadır ve *Acremonium* türleri birbirine çok benzediği için zor ayırt edilmektedir (Perdomo vd. 2011, Summerbell vd. 2011).

### 2.5.3 *Acremonium sclerotigenum*

Filogenetik çalışmalar; Hipocerales takımına ait iki temel grubun birden fazla *Acremonium* türü içerdiğini göstermiştir. Bu gruplardan biri; *Emericellopsis* ve *Geosmithia* cinsleri ile *Acremonium sclerotigenum* türünü içermektedir (Summerbell vd. 2011).

Eski adlandırması *Cephalosporium sclerotigenum* olan *Acremonium sclerotigenum*; Sclerotigenum/Geosmithia sınıfına aittir. Filogenetik olarak *Acremonium strictum* ile aralarında mesafe olsa da *Acremonium sclerotigenum*' un kısmen tüysüz, silindirik konidial izolatları *Acremonium strictum*'dan ayırt edilememektedir (Summerbell vd. 2011).

## 2.6 Pestisitlerin Funguslarla Giderimi

Xiao vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada; *Phlebia* cinsine ait türlerin dieldrin ve aldrin organoklorlu pestisitlerini degrade etme kapasiteleri ve oluşan metabolitler incelenmiştir. 50 µL (5 mmol/L) dieldrin ile N,N-dimetilformamid bütün erlenlere eklenmiş ve son konsantrasyon 25 µmol/L olarak ayarlanmış, aldrin degradasyonu için de son konsantrasyon 25 µmol/L olarak belirlenmiştir. GC/MS ile yapılan analitik

çalışmada; eklenen dieldrinin, 14 günlük inkübasyonun ardından; *P. acanthocystis*, *P. brevispora* ve *P. aurea* kültürlerinde sırasıyla; % 21, % 26 ve % 31'inin, 28 günlük inkübasyon sonrası sırasıyla; % 42, % 35 ve % 40'mın, 42 günlük inkübasyonun ardından ise sırasıyla; % 56, % 52 ve % 54'ünün kaybolduğu belirlenmiştir. Bu üç türün hidroksilasyon reaksiyonu ile dieldrinin, 9-hidroksidieldrin'e dönüştürdüğü tespit edilmiştir. Aldrin degradasyonu incelendiğinde ise; 14 günlük inkübasyonun ardından *P. acanthocystis*, *P. brevispora* ve *P. aurea* kültürlerinde sırasıyla % 32, % 13 ve % 16 oranında aldrin kaldığı, 42 günlük inkübasyon sonunda ise; sırasıyla % 4, % 2.4 ve % 3.6 oranında aldrin kaldığı tespit edilmiştir.

Katoaka vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada, endosülfan degrade eden fungusları izole etmek için 4 farklı toprak örneği alınmıştır. Czapek-Dox sıvı besiyeri kullanılmış ve 8.2 µL  $\alpha$  ve  $\beta$ - endosülfan içeren 30 mL Czapek-Dox besiyerinde 14 günde fungus gelişimi belirlenmiştir. 35 tane *Trichoderma* spp. suşu ile 133 adet izolattan *Trichoderma* suşlarının degradasyon yapmadığı tespit edilirken iki *Mortierella verticillata* suşunun  $\alpha$  ve  $\beta$ -endosülfanı degrade ettiği belirlenmiştir. 14 günlük inkübasyonun ardından, birinci suşun  $\alpha$  endosülfanı % 47.2 oranında,  $\beta$  endosülfanı ise % 25.1 oranında degrade ettiği, ikinci suşun  $\alpha$  endosülfanı % 53.3 oranında,  $\beta$  endosülfanı ise %11.1 oranında degrade ettiği belirlenmiştir. 28 gün inkübasyon sonrası her iki suşun da  $\alpha$  ve  $\beta$  endosülfanı sırasıyla % 70 ve % 50 oranında degrade ettiği tespit edilmiştir.

Yang vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, *Pichia anomala* HQC-01 suşunun farklı sıcaklık, pH ve farklı konsantrasyonda karbofuran varlığında degradasyon kapasitesi araştırılmıştır. MSM besiyerine 50 mg/L karbofuran eklenerek yapılan deneyde 48 saatte % 95.2 oranında degradasyon saptanmıştır. 48 saatlik inkübasyonun ardından 50, 100, 300, 400 ve 500 mg/L konsantrasyonlarında karbofuranın sırasıyla % 94.9, % 85.8, % 63.1, % 27.6 ve % 9.6 oranlarında degrade edildiği belirlenmiştir. Farklı sıcaklıkların degradasyona etkisi için sıcaklıklar; 23 °C, 26 °C, 28 °C, 30 °C, 33 °C, 35 °C olarak belirlenmiş ve sırasıyla % 52.8, % 79.2, % 89.5, % 94.3, % 85.4, % 71.8 oranlarında degradasyon olduğu tespit edilmiştir. Degradasyona pH etkisini belirlemek için ise; pH

değeri 4, 6, 7, 7.5, 8, 9 ve 10 olarak ayarlanmış, degradasyon için optimum pH değerinin 7.5 olduğu tespit edilmiştir.

Chen vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada, fungus izolasyonu için Czapek-Dox ile MSM besiyeri kullanılmıştır. Degradasyonu belirlemek amacıyla, fenvalerat, fenpropatrin,  $\beta$ -sipermetrin, deltametrin, bifentrin ve permetrin bileşiklerinin her birinden 100 mg/L MSM besiyerine eklenmiştir. 3-fenoksibenzaldehit degradasyonu için ise; 50, 100, 200, 400, 600, 800 ve 1000 mg/L konsantrasyonlarındaki 3-fenoksibenzaldehit, MSM besiyerine eklenmiş, pH değeri 7.2 olarak ayarlanmıştır. *Clodasporum* cinsine ait suşun fenvaleratı 4 günde tamamen degrade ettiği tespit edilmiştir. Fenvaleratın 50-400 mg/L arasındaki konsantrasyonlarda, 5 günde, tamamen degradasyona uğradığı, daha yüksek konsantrasyonlarda %90 oranında degrade olduğu belirlenmiştir. Fenpropatrin ve  $\beta$ - sipermetrin 5 günde tamamen degrade olurken, deltametrin, bifentrin ve permetrin sırasıyla % 94.6, % 92.1 ve % 91.6 oranında degradasyona uğramıştır. Başlangıç konsantrasyonu 1000 mg/L olan 3-fenoksibenzaldehid ise; % 80 oranında degrade edilmiştir.

## **2.7 Neonikotinoid İnsektisitlerin Giderimi**

### **2.7.1 Bakteriler ile yapılan giderim çalışmaları**

Tang vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, *Streptomonas sp.* THZ-XP asetamiprid üretimi yapılan fabrika atığından izole edilmiştir. 0.2 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 1 g/L asetamiprid ve 0.5 mL iz element çözeltisi içeren sıvı MS besiyerine ekim yapılmış, 200 rpm ve 30 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İz element çözeltisi; 0.05 g  $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0.05 g  $CuCl_2 \cdot 2H_2O$ , 0.004 g  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.008 g  $MnSO_4 \cdot H_2O$ , 0.1 g  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , 0.05 g  $Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$  ve 0.1 g  $ZnSO_4$  içermektedir. Bakteri gelişimi ve asetamiprid degradasyonunu belirlemek amacıyla MS besiyerine 1 g/L yeast extract eklenmiştir.

pH, sıcaklık, eksojen azot ve substrat konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır. pH etkisi için; sıcaklık 30 °C’de sabitlenmiş ve pH ise 3-11 arasında denenmiştir. Sıcaklık etkisi

için; pH değeri 7’de sabitlenirken 24 °C, 30 °C, 37 °C ve 42 °C’de inkübasyon gerçekleştirilmiştir. Azot kaynağı asetamiprid degradasyonuna etkisini belirlemek için ise; 1 g/L acetamiprid; 2 g/L NH<sub>4</sub>Cl, 2 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> veya 1 g/L yeast extract içine eklenmiştir.

Sonuç olarak, *Stenotrophomonas sp.* THZ-XP suşunun en iyi 30 °C’de geliştiği, 24 ve 37 °C’de gelişimin engellendiği ve 42 °C’de tamamen zarara uğradığı görülmüştür. Bütün sıcaklık değerleri için 25 saatte; 1 g/L acetamipridin degrade edildiği, fakat hem bakteri gelişimi hem de acetamiprid degradasyonu için optimum sıcaklığın 30 °C olduğu tespit edilmiştir. Suşun farklı pH değerlerinde iyi ürediği ve 26 saatte 1 g/L acetamipridi tamamen degrade ettiği belirlenmiştir. 1 g/L yeast extract eklendiğinde gelişimin daha hızlı olduğu ve 600 nm dalga boyunda yapılan spektrofotometrik ölçümde 12 saatte 0’dan 0.9’a çıktığı belirlenmiştir. 2 g/L NH<sub>4</sub>Cl ve 2 g/L (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> varlığında ise gelişimin 0’dan 0.1’e çıktığı belirlenmiştir.

Kanjilal vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada, *Micrococcus luteus* pH değeri 7’ye ayarlanmış, 50-300 mg/L acetamiprid içeren Minimal Salt Media (1.5 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1.0 g/L NaCl, 0.2 g/L MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) besiyerinde geliştirilmiştir. Sıcaklık, pH, çalkalama hızı, inkübasyon süresi ve başlangıçtaki acetamiprid konsantrasyonunun acetamiprid giderimine etkisi araştırılmıştır.

Sonuç olarak; 40 °C sıcaklık ve 80 rpm çalkalama hızında, başlangıç acetamiprid konsantrasyonu 70 mg/L ve pH değeri 6 olan besiyerinde maksimum giderim saptanmıştır. İnkübasyonun 26-28. saatinde %72 oranında degradasyon olduğu belirlenmiştir.

Cai vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, kirletici olarak Painchongding kullanılmış, iki farklı toprak örneği (S1, pH 6.3 ve S2, pH 5.9) alınarak *Sphingobacterium sp.* P 1-3 suşunun biyodegradasyon kapasitesi araştırılmıştır.

*Sphingobacterium* sp. suşu; Luria-Bertani sıvı besiyerine ekilmiş ve 30 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. IPP’nin topraktaki mikrobiyel popülasyona etkisini araştırmak amacıyla; 1 g IPP 50 ml asetonda çözülmüş ve final konsantrasyon 20 mg/kg olacak şekilde 400 g miktarında alınmış olan bütün toprak örneklerine eklenmiştir. Toprak örneklerinden 10 g alınarak IPP ve metabolitleri belirlenmiştir. Toprağın mikroorganizma uyumunu artırmak için 25 °C’de inkübasyon yapılmıştır. İkinci deneyde ise; *Sphingobacterium* sp. inokülasyonu gerçekleştirilmiştir. IPP’ nin 4 stereoizomeri için giderim oranları incelenmiştir.

Sonuç olarak S1 toprak örneği için; RR stereoizomerinin % 30.17, SS stereoizomerinin % 28.16, SR stereoizomerinin % 51.8 ve RS stereoizomerinin % 45.76 oranında degrade edildiği görülmüştür. S2 toprak örneğinde ise; RR stereoizomerinin % 20.04, SS stereoizomerinin % 19.78, SR stereoizomerinin % 36.2 ve RS stereoizomerinin % 40.59 oranında degrade edildiği tespit edilmiştir. *Sphingobacterium* sp. degradasyonu; S1 toprak örneğinde % 50’den fazla olarak belirlenmiş, RR stereoizomerinin % 12.79, SS stereoizomerinin % 11.69, SR stereoizomerinin % 14.69, RS stereoizomerinin degradasyonunun ise % 16.28 oranında arttığı tespit edilmiş ve S2 toprak örneğinde; düşük pH değeri sebebiyle bir değişim gözlenmemiştir.

### 2.7.2 Algler ile yapılan giderim çalışmaları

Main vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, clothianidin uygulanmış kanola yetiştirilen 20 tarımsal alan (10 tanesi bitki yetişen, 10 tanesi bitki yetişmeyen alan) tespit edilmiştir. 8 hafta süren çalışmada bitki yetişen ve yetişmeyen alanlardan su örnekleri alınmıştır. Yaygın olan üç makrofit (*Alisma triviale*, *Equisetum arvense* ve *Typha latifolia*) belirlenmiş ve bitki örnekleri toplanmıştır. Sulak alanda ortalama; 0.002 µg/L acetamiprid, 0.005 µg/L clothianidin, 0.003 µg/L imidacloprid ve 0.008 µg/L thiamethoxam bulunmaktadır. İyileştirme çalışması için; %96.6±12.2 acetmaiprid, % 65.6±11.6 clothianidin, % 85.9±11.1 imidacloprid ve % 77.6±16.1 thiamethoxam eklenmiştir. Bitki örnekleri homojenize edilerek hazırlanmış ve LC-MS/MS analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak; bitki örtüsü bulunan 10 alandan ele edilen 11 bitki ve alg türünden 6 tanesinin neonikotinoid insektisit içerdiği tespit edilmiştir. Bu türlerden *Sparganium eurycarpum*'un % 20 ve *Equisetum arvense*'nin ise % 78 oranında neonikotinoid insektisit içerdiği belirlenmiştir. Neonikotinoid insektisit oranları, bitki yetişmeyen alanda için % 88 ve bitki yetişen alanda ise % 75 olarak belirlenmiştir. Bütün sulak alanlarda % 63 oranında clothianidin, %17 thiamethoxam ve %7 imidacloprid tespit edilirken asetamiprid varlığına rastlanmamıştır.

### 2.7.3 Funguslar ile yapılan giderim çalışmaları

Wang vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, çürümüş odundan izole edilen *Phanerochaete sordida* YK-624 PDA besiyerinde 4 °C'de korunmuştur. Asetamiprid giderim deneyleri için; pH değeri 4.5 olan azotça sınırlı PDA besiyeri kullanılmıştır. *P. sordida* 30 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmış, inkübasyondan sonra 10 mL'lik azotça sınırlı olan sıvı besiyerine veya PDB besiyerine ekilmiştir. 30 °C'de 7 gün inkübasyonun ardından 1 mM asetamipridten 100 µL alınıp kültürlerle eklenmiş, 5, 10, 15 ve 20 gün inkübasyona bırakılmıştır.

HPLC analizine göre; 20 günlük inkübasyonda azotça sınırlı besiyerinde asetamiprid; % 45 oranında azaltılmış, PDB besiyerinde ise % 28 azaltılmıştır.

Mori vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada; *Phanerochaete sordida* YK-624 (ATCC 90872) çürümüş odundan izole edilerek PDA besiyerine ekilmiştir. *P. sordida* azotça sınırlı (lignolitik koşullar) besiyerine ve 10 mL'lik PDB (nonlignolitik koşullar) besiyerine inoküle edilmiştir. 30 °C sıcaklıkta 5 günlük inkübasyonun ardından 100 µL (10 mM) clothianidin eklenmiştir. 30 °C sıcaklıkta 20 gün boyunca inkübasyona bırakılmış, 20 mL asetonla homojenize edilerek HPLC analizi için filtrelenmiştir.

Sonuçta; lignolitik koşulların sağlandığı besiyerinde 20 günde % 37 oranında, PDB besiyerinde ise %8 oranında clothianidin degradasyonu tespit edilmiştir.

## 2.8 İmidacloprid giderim çalışmaları

### 2.8.1 Bakteriler ile yapılan giderim çalışmaları

Gupta vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada; *Pseudomonas* sp. RPT-52 suşu; Minimal Medium ( $K_2HPO_4$  4.8 g/L,  $KH_2PO_4$  1.2 g/L,  $NH_4NO_3$  1.0 g/L,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2 g/L,  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  0.04 g/L ve  $Fe_2(SO_4)_3$  0.001 g/L) besiyerinde, 0.5 mM pestisit (128 mg/L imidacloprid, 203 mg/L endosülfan, 241.5 mg/L korajen) varlığında geliştirilmiştir.

Sonuç olarak; endosülfan  $\beta$  için % 92.7, korajen için % 80.16 ve imidacloprid için %46.65 oranında degradasyon yapıldığı belirlenmiştir.

Ferreira vd. (2016) tarafından *Bacillus thuringiensis* ile yapılan çalışmada, içeriği 10 g/L bakteriyolojik pepton, 2 g/L yeast extract, 2 g/L kazein pepton, 6 g/L NaCl, ve 10 g/L glukoz olan 50 mL'lik besiyerine sucul sedimentten alınan toprak örneğinden 2 g eklenmiş ve 37 °C sıcaklık ve 100 rpm çalkalama hızında 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyonun ardından aynı içerikteki besiyerine % 1.5 agar eklenerek petrilere ekim yapılmıştır.

50 ml MM besiyerine 17.8 mg/L phenanthrene (polisiklik aromatik hidrokarbon ve imidacloprid) ve % 1'lik Tween 80 eklenmiş, 1 hafta boyunca 100 rpm çalkalama hızı ve 37 °C sıcaklıkta inkübasyona bırakılmıştır.

Sonuç olarak; 11 gün sonunda imidacloprid giderimi % 78, biyoreaktörde polisiklik aromatik hidrokarbon gideriminin ilk testte %80, iki ve üçüncüde %90 olduğu tespit edilmiştir.

Ma vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada, sıvı MS besiyeri kullanılmıştır. MS besiyeri; 10 g glukoz, 1.36 g  $KH_2PO_4$ , 2.13 g  $Na_2HPO_4$ , 0.50 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  ve 10 ml metal iyon çözeltisi içermektedir. Besiyerinin pH değeri 7.5 olarak ayarlanmıştır. Metal

iyon çözeltisi; 0.40 g  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.30 g  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0.04 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 0.10 g KI, 0.20 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.40 g  $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.20 g  $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve 10.0 mL HCl içermektedir.

Mikroorganizma kaynağı olarak rizosfer kullanılmış, MS sıvı besiyerine 500 mg/L imidacloprid eklenerek thiamethoxam degrade edebilen bakterilerin imidacloprid degrade edebilir hale gelmesi sağlanmıştır. İçeriği 10.0 g pepton, 5.0 g yeast extract ve 10.0 g NaCl, pH değeri 7.2 olan Luria-Bertani besiyerine ekim yapılarak saf koloniler elde edilmiştir.

İmidacloprid biyotransformasyonu için; 10 mL Luria-Bertani besiyerine ekim yapılmış ve 10 saat inkübasyona bırakılmıştır. 6000xg 10 dakika santrifüjlenmiş 0.2 mol/L sodyum fosfat çözeltisi ile yıkanmış ve aynı çözeltiye 500 mg/L imidacloprid eklenerek tekrar ekim yapılmıştır. Bu süspansiyon diğer hücrelerin dönüşümü için kullanılmıştır ve ardından plasmid ekstraksiyonu yapılmıştır.

Sonuç olarak; karbonhidrat testinde; karbonhidrat içermeyen kontrolle karşılaştırıldığında; 48 saat sonunda imidacloprid degradasyonu ve 5-hidroksi imidacloprid oluşumu belirlenmiştir. Laktoz ve mannoz varlığında yüksek oranda imidacloprid degradasyonu belirlenmiştir. 48 saat sonunda laktoz varlığında 0.77 mmol/L imidacloprid; % 43.1 oranında degradasyona uğratılmıştır; karbonhidrat içermeyen kontrollerde ise 0.09 mmol/L imidacloprid; % 5.4 oranında degradasyona uğratılmıştır. Farklı karbonhidratlar varlığında farklı oranlarda 5-hidroksi imidacloprid üretimi tespit edilmiştir. Bununla birlikte; *P. indica* CGMCC 6648 aynı oranlarda imidacloprid olefin oluşumunu sağlamıştır. Karbonhidrat türüne bakılmaksızın, bütün deneylerde, % 90 ve üstünde dönüşüm olduğu belirlenmiştir.

### 2.8.2 Algler ile yapılan çalışmalar

Tişler vd. (2009) tarafından bir alg (*Desmodesmus subspicatus*) ve bir bakteri (*Vibrio fischeri*) ile yapılan çalışmada; konsantrasyonları 215, 230, 245, 260 ve 280 mg/l olarak belirlenmiş imidacloprid pH değeri 8.4 olan ırmak suyunda çözülmüştür.

*Desmodesmus subspicatus* ile yapılan çalışmada, karanlık ortamda, imidacloprid miktarında bir değişim görülmemiştir. Işık varlığında ise; 140mg/L imidacloprid, % 24 oranında azalarak 106.4 mg/L, 105 mg/L imidacloprid ise; % 16 oranında azalarak 88.2 mg/L olarak tespit edilmiştir.

*Vibrio fischeri* ile yapılan çalışmada ise; 250 ve 450 mg/L imidacloprid varlığında; % 9 ve % 12 arasında biodegradasyon olduğu saptanmıştır.

### 2.8.3 Funguslar ile yapılan çalışmalar

He vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada; *Trichoderma atroviride* T23 mutantlarını kullanarak imidacloprid degradasyonunu incelemişlerdir. Transformantlar PDA besiyeri ve 200 µg/mL higromisin B ile 28 °C sıcaklıkta 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmış ve stabil hale getirilmiştir.

İçeriği; 0.2 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.8 g/L  $KH_2PO_4$ , 0.2 g/L  $K_2HPO_4$ , 0.1 g/L  $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ , 1 g/L  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.01g/L  $MnSO_4$ , 0.005 g/L  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.0033 g/L  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ , 0.5 g/L glukoz olan besiyerine; 200 µg/mL imidacloprid eklenmiş ve 5 mg/L miselyum bu besiyerinde geliştirilmiştir.

Sonuç olarak; yabancı suşun maksimum % 65 oranında degradasyon yaptığı saptanırken, transformantlardan ikisinin % 94 ve % 95 oranında degradasyon yaptığı saptanmıştır.

Gangola vd. tarafından 2015 yılında yapılan çalışmada; mikroorganizma kaynağı olarak kullanılan toprak örneğinden 20 g alınarak 100 mL'lik PDB besiyerine ekilmiş, 28 °C sıcaklıkta bir gece bekletilmiştir. Toprak süspansiyonu filtrasyon sonrası 10 mg/L imidacloprid içeren PDA besiyerine inoküle edilmiş ve 28 °C sıcaklıkta 10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen fungus kolonileri daha yüksek konsantrasyonda imidacloprid içeren aynı içerikli besiyerinde zenginleştirilmiş ve elde edilen koloniler; pH değeri 6 olarak belirlenmiş Czapek-Dox besiyerinde saflaştırılmıştır. FII ve FIII izolatları seçilerek degradasyon çalışmasına devam edilmiştir.

20 mg/L imidacloprid içeren 50 mL'lik Czapek- Dox sıvı besiyerine 1 mL fungus ekimi yapılmış 30 °C'de inkübe edilmiştir. 0, 10 ve 15. günlerde örnek alınarak HPLC analizi yapılmıştır. İmidacloprid degraasyonunu test etmek için; % 4 sodyum alginat ile fungus kültürleri karıştırılmıştır. Bu karışım 0.4 M CaCl<sub>2</sub> içine şırınga yardımıyla aktarılmış ve 4 °C'de bir gece bekletilmiştir. Homojenize kültürler %4'lük erimiş agarla karıştırılarak petrilere dökülmüştür. 50 mL Czapek- Dox besiyeri hazırlanmış, 20 mg/L imidacloprid sodyum alginat ve agarlı petrilere eklenmiştir. 5, 10 ve 15. günlerde 1 ml örnek alınarak HPLC analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak; fungus karışımı ile yapılan deneyde inkübasyonun 10. gününde imidacloprid degradasyon oranı; % 77 olarak saptanırken, FII ve FIII izolatlarında sırasıyla % 72 ve % 70 olarak belirlenmiştir. En yüksek degradasyon ise inkübasyonun 15. gününde, fungus karışımı kullanılarak yapılan deneyde; % 92, FII izolatında % 85 ve FIII izolatında % 80 olarak saptanmıştır. Yapılan moleküler çalışmalarda; FII izolatının *Aspergillus oryzae*, FIII izolatının ise *Trichoderma longibrachiatum* olduğu belirlenmiştir.

Diaz vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada; üç farklı vermikompost hazırlanmıştır. Birincisi; zeytinyağı üretiminde açığa çıkan yan ürünlerden ve zeytin budama artıklarından, ikincisi; üzüm asması ve bağ budama atıklarından, üçüncüsü ise; sera bitkilerinin atıklarından oluşmaktadır.

İmidacloprid (% 99), metalaxyl (% 99.5), tebuconazole (% 99.6), oxyfluorfen (% 98), dimethoate (% 99.6), acetamiprid (% 99), diuron (% 97.7) kullanılarak oktanol-su karışımı hazırlanmıştır. Karışımda; sırasıyla 0.54, 0.70, 0.8, 1.75, 2.85, 3.70 ve 4.47 miktarlarında imidacloprid, dimethoate, acetamiprid, metalaxyl, diuron, tebuconazole, oxyfluorfen bulunmaktadır.

İçeiği; 3 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 7.5 g/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve 0.5 g/L NaCl olan besiyerine; 25 mg/L  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.3 mg/L  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0.8 mg/L  $\text{ZnCl}_2$ , 0.2 mg/L  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 mg/L  $\text{BO}_3\text{H}_3$ , 0.1 mg/L  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0.1 mg/L  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ve 8.3 mg/L  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  içeren iz element çözeltisi eklenmiştir. 20 g biyokarışıma 2 mL pestisit solüsyonu eklenmiş ve karanlık ortamda, 20 °C sıcaklıkta 30 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından üç karışımdan da 1 g alınarak; içerisinde karbon ve azot kaynağı olmayan 20 mg/L pestisit karışımı içeren 50 mL'lik MSM'ye eklenmiş, 7 gün 28 °C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası her birinden 5 mL örnek alınarak 45 mL' lik MSM besiyerine ekim yapılmış ve 7 gün 28 °C sıcaklıkta tekrar inkübasyona bırakılmıştır.

Biyoagümantasyon deneyi için; 20 mg/L pestisit karışımı, 4 g/L glukoz ve 1 g/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$  içeren 100 mL MSM besiyerine ekim yapılmış ve kültürler inkübasyona bırakılmıştır.

Sonuçta; pestisit miktarının 15 günde; % 26 ile % 50 arasında azalmıştır. Birinci kompostta; dimethoate % 90, oksifluoren % 50 oranında degrade edilmiştir. Yapılan moleküler çalışmalarda ise; bakterilerin; *Staphylococcus sp.* , *Bacillus sp.* , *Brevundimonas sp.* , *Ochrobactrum sp.* ve *Achromobacter sp.* suşları olduğu belirlenmiştir. Fungusların ise; *Fusarium sp.* , *Fusarium solani*, *Acremonium sp.* ve *Scopulariopsis sp.* olduğu tespit edilmiştir.

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

##### 3.1.1 Mikroorganizma kaynağı

Bu çalışmada; Çankırı ve Şanlıurfa'dan bir, Samsun'dan iki, pestisit uygulanmış tarımsal alandan alınan toprak örnekleri mikroorganizma kaynağı olarak kullanılmıştır. Çizelge 3.1'de toprak örneklerinin hangi ilden alındığı ve uygulanan pestisit ismi belirtilmiştir.

Çizelge 3.1 Mikroorganizma kaynağı olarak kullanılan toprak örnekleri

| Toprak örneği              | Uygulanmış pestisit                                                                                |
|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Çankırı (buğday tarlası)   | Granland (herbisit), Korester (herbisit)                                                           |
| Samsun (buğday tarlası)    | Granster (herbisit)                                                                                |
| Samsun (ayçiçeği tarlası)  | Rapid (herbisit)                                                                                   |
| Şanlı Urfa (pamuk tarlası) | Akenmek, Prile S, Zep SP, Cotsis, Zenle, Amirmak, Zenk, 350 SE, Aganta, Abaydo, Finis, Stomp Extra |

##### 3.1.2 Kirletici

Yapılan çalışmada; Promise WS-70 adıyla ticari olarak satılan ve % 70 oranında imidacloprid içeren insektisit, kirletici olarak kullanılmıştır.

## **3.2 Yöntem**

### **3.2.1 İmidacloprid stoğu**

İmidacloprid stoğu; 10.000 mg/L olacak şekilde distile su içerisinde hazırlanmıştır ve istenen oranlarda besiyerine eklenmiştir.

### **3.2.2 Mineral salt medium (MSM) besiyeri**

MSM besiyeri; 1.7 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0.03 g/L  $\text{CaCl}_2$ , 2.69 g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.2 g/L  $\text{MgSO}_4$  ve %2 agar kullanılarak hazırlanmıştır (Afzal vd. 2007).

### **3.2.3 Melash besiyeri**

Melash besiyeri; 1g/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 0.5 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ve %8 (v/v) melas çözeltisi kullanılarak hazırlanmıştır (Aksu ve Dönmez, 2004).

### **3.2.4 Bakteri izolasyonu**

Toprak örneklerinden 2 g alınarak steril tüplere eklenmiş ve 10 mL %0.9'luk NaCl çözeltisi ile tamamlanmış ve seri dilüsyonlar yapılarak dört farklı çözelti hazırlanmıştır.

Hazırlanan farklı oranlarda toprak örneği içeren çözeltilerden 1 mL alınarak 10 mg/L imidacloprid ve 1 g/L glukoz içeren pH değeri 7'ye ayarlanmış MSM besiyerine sürme yöntemiyle yayılmıştır. İnkübasyonun ardından elde edilen bakteri izolatları 5 mg/L imidacloprid içeren yatık Nutrient Agar besiyerine ekilmiştir.

### 3.2.5 Fungus izolasyonu ve tanılması

Toprak örneklerinden 2 g alınarak steril tüplere eklenmiş ve 10 mL % 0.9'luk NaCl çözeltisi ile tamamlanmış ve seri dilüsyonlar yapılarak dört farklı çözelti hazırlanmıştır.

Farklı oranlarda toprak örneği içeren çözeltilerden 1 mL alınarak 10 mg/L imidacloprid, 800.000 ünite penisilin ve 1 g/L glukoz içeren pH değeri 5'e ayarlanmış MSM besiyerine sürme yöntemiyle yayılmıştır. İnkübasyonun ardından fungus izolatları 5 mg/L imidacloprid içeren yatık Potato Dextrose Agar besiyerine ekilmiştir.

Yapılan çalışmalarda 13 numaralı fungusun en yüksek biyogiderim kapasitesine sahip olduğu belirlenmiş ve Refgen'de tanılması gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA izolasyonu Qiagen Blood&Tissue DNA Isolation kit ile yapılmış, PCR 50 uL hacimde 1XTaq buffer, 1,5 mM MgCl, 0,4 mM dNTP, ITS1 ve ITS4'ten 0.4 pmol ve 1.25U Taq polimeraz kullanılmıştır. PCR koşulları ise; 95 °C'de 5 dak + 30 X (95 °C'de 30s. + 50 °C'de 30s + 72 °C'de 45s) şeklindedir. Dizi analizi için Bigdye Cycle sequencing kit v3.1 ve ABI 3130XL Genetic Analyzer kullanılmıştır.



Şekil 3.1 Topraktan izole edilen funguslar

### **3.2.6 En yüksek kapasitede imidacloprid giderebilen bakteri seçimi**

En yüksek kapasitede imidacloprid giderebilen bakteri seçimi için iki kez aktifleştirilmiş kültürlerden % 5 oranında 100 mL'lik erlenlerdeki 19.8 mg/L imidacloprid içeren 50 mL'lik pH değeri 7 olarak belirlenmiş melaslı besiyerlerine ekilmiş, 30°C sıcaklık ve 100 rpm çalkalama hızında 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından kültürlerden 5 mL örnek alınarak 5.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. İmidacloprid biyogideriminin belirlenmesi için; örneklerin süpernatant kısmı alınarak 20 µL'lik viallere aktarılmıştır. Mikrobiyel gelişim ise; 600 nm dalga boyunda spektrofotometrik analizle belirlenmiştir (Kandil vd. 2015).

### **3.2.7 En yüksek kapasitede imidacloprid giderebilen fungus seçimi**

En yüksek kapasitede imidacloprid giderebilen fungus seçimi için fungus izolatları; 100 mL'lik erlenlerde 24.5 mg/L imidacloprid içeren 50 mL'lik pH değeri 5 olarak belirlenmiş melaslı besiyerlerine ekilmiş, 30 °C sıcaklık ve 100 rpm çalkalama hızında 6 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından fungus kültürlerinden 5 mL örnek alınarak 5.000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. İmidacloprid biyogideriminin belirlenmesi amacıyla örneklerin süpernatant kısmı alınarak 20 µL'lik viallere aktarılmıştır.

### **3.2.8 Fungal imidacloprid biyogiderimine başlangıç pH değerinin etkisi**

Biyogiderim oranı en yüksek olan üç fungus belirlenerek eşit hacimdeki PDA yatık besiyerine ekilmiş ve 30 °C sıcaklıkta 4 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından yaklaşık 20 mg/L imidacloprid içeren, pH değeri 4-7 arasında olan, 250 mL'lik erlenlerdeki 100 mL'lik melaslı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Fungus izolatları; 30°C sıcaklık ve 100 rpm çalkalama hızında 6 gün boyunca inkübasyona bırakılmış ve inkübasyonun son gününde kültürlerden 5 mL örnek alınmıştır. Alınan örnekler; 5.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir.

### **3.2.9 Artan imidacloprid konsantrasyonunun biyogiderime etkisi**

Optimum pH belirlendikten sonra 13 numaralı fungusla yapılan çalışmada; artan imidacloprid konsantrasyonlarının (2.6, 6.7, 18.3, 33.9 ve 44 mg/L) biyogiderime etkisi araştırılmıştır. Besiyerlerine ekimi yapılan funguslar 30 °C sıcaklık ve 100 rpm çalkalama hızında 6 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından kültürlerden 5 mL örnek alınmış ve alınan örnekler 5.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir.

### **3.2.10 Artan inokulum miktarının biyogiderime etkisi**

Artan inokulum miktarının biyogiderime etkisini belirlemek amacıyla; artan konsantrasyonlarda (2.6-44.0 mg/L) imidacloprid içeren melaslı besiyerlerine ikinci seride inokulum miktarı iki katına çıkarılarak ekim yapılmıştır ve 30 °C sıcaklık, 100 rpm çalkalama hızında 6 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından kültürlerden 5 mL örnek alınmış ve alınan örnekler 5.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir.

## **3.3 Analiz Yöntemleri**

### **3.3.1 HPLC analizi**

İnkübasyon süresince alınan örnekler 5.000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant kısmı ayrı bir santrifüj tüpüne alınarak filterelenmiş ve viallere aktarılmıştır. Hareketli faz olarak; 60:40 oranında asetronitril: distile su karışımı kullanılmış, analiz 270 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir (Sabourmoghaddam vd. 2015).

### 3.3.2 Kuru ağırlığın belirlenmesi

Kuru ağırlığın belirlenmesi için önceden darası belirlenmiş filtre kağıtlarına alınan fungus biyokütleleri; 100 °C sıcaklıkta 24 saat boyunca kurutulmuş ve kurutma işleminin ardından tartılmıştır.

### 3.3.3 İmidacloprid biyogideriminin hesaplanması

İmidacloprid biyogiderimi aşağıdaki formüle göre hesaplanarak belirlenmiştir.

$$\% \text{ *Biyogiderim* } = \frac{C_{ad}}{C_0} \times 100$$

% Biyogiderim: Biyogiderim verimi

C<sub>ad</sub>: Mikroorganizma tarafından ortamdan uzaklaştırılan imidacloprid miktarı (mg/L)

C<sub>0</sub>: Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu (mg/L)

### 3.3.4 Maksimum spesifik imidacloprid alımının hesaplanması

Maksimum spesifik imidacloprid alımı aşağıdaki formüle göre belirlenmiştir.

$$q_m = \frac{C_{ad}}{X_m}$$

q<sub>m</sub>: Mikrobiyel kütlenin gramı başına biriktirilen imidacloprid miktarı (mg/g)

X<sub>m</sub>: Mikroorganizmanın maksimum kuru ağırlığı (g/L)

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

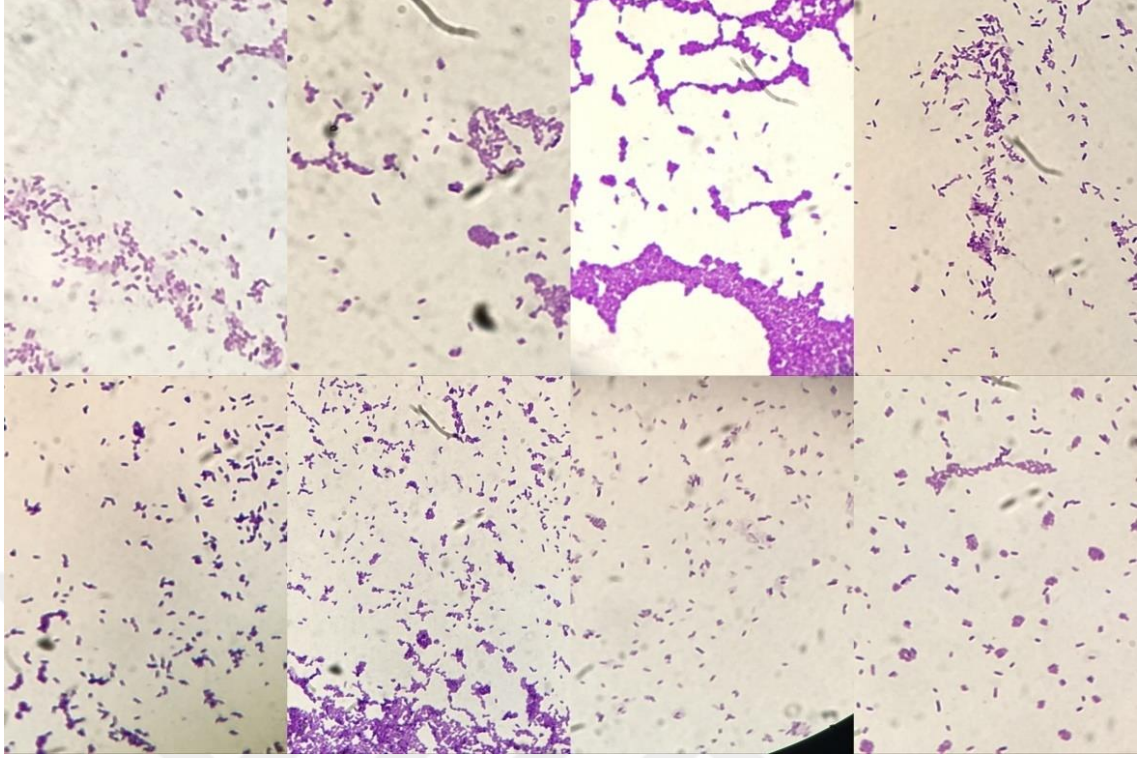
### 4.1 Bakteri İzolasyonu

Yapılan çalışmada; başlangıç pH değeri 7'ye ayarlanmış katı MSM besiyerinde sekiz adet bakteri izole edilmiştir. Kolonilerin morfolojileri, endospor oluşturma özellikleri ve Gram boyanma özellikleri belirlenmiştir. Çizelge 4.1'de sekiz bakteri izolatının tamamının Gr (-) basil olduğu ve endospor oluşturmadığı, imidacloprid varlığındaki gelişimlerine bakıldığında ise 6 ve 7 numaralı izolatların diğer bakteri izolatlarından daha iyi geliştiği görülmektedir.

Çizelge 4.1 İzole edilen bakterilerin morfolojileri, Gram boyanma özellikleri, endospor oluşumu ve imidacloprid varlığındaki gelişimleri

| Bakteri İzolatı (No) | Toprak Örneği | Bakteri Morfolojisi | Gram Özelliği | Endospor Oluşumu | İmidacloprid Toleransı |
|----------------------|---------------|---------------------|---------------|------------------|------------------------|
| 1                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | +                      |
| 2                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | +                      |
| 3                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | +                      |
| 4                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | +                      |
| 5                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | +                      |
| 6                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | ++                     |
| 7                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | ++                     |
| 8                    | Şanlıurfa     | Basil               | Gr (-)        | -                | +                      |

(T: 30 °C, C<sub>0</sub>: 10 mg/L, 1g/L glukoz, pH 7)



Şekil 4.1 Bakteri izolatlarının basit boyama yöntemiyle belirlenen morfolojik yapıları

#### 4.2 En Yüksek Kapasitede İmidacloprid Giderebilen Bakteri Seçimi

İzole edilen sekiz bakterinin mikrobiyel gelişimi ve imidacloprid biyogiderim kapasitesi pH 7 melaslı besiyerinde belirlenmiştir. Çizelge 4.2’de 6 ve 7 numaralı izolatların çok düşük oranda imidacloprid biyogiderimi yaptığı, diğer izolatların ise imidaclopridi ortamdan uzaklaştıramadığı görülmektedir. Bu nedenle imidacloprid biyogiderim çalışmalarına fungal izolatlarla devam edilmiştir.

Çizelge 4.2 Toprakтан isolate edilen bakterilerin OD değeri ve biyogiderim oranları

| Bakteri İzolatı (No) | Toprak Örneği | OD <sub>600</sub> | Biyogiderim (%) |
|----------------------|---------------|-------------------|-----------------|
| 1                    | Şanlıurfa     | 2.11±0.23         | -               |
| 2                    | Şanlıurfa     | 6.61±0.88         | -               |
| 3                    | Şanlıurfa     | 0.97±0.05         | -               |
| 4                    | Şanlıurfa     | 0.90±0.05         | -               |
| 5                    | Şanlıurfa     | 0.51±0.00         | -               |
| 6                    | Şanlıurfa     | 2.75±0.03         | 3.53            |
| 7                    | Şanlıurfa     | 2.80±0.03         | 1.51            |
| 8                    | Şanlıurfa     | 0.51±0.00         | -               |

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C<sub>0</sub>: 19.8 mg/L, pH 7, inkübasyon süresi: 5 gün)

#### 4.3 Fungus İzolasyonu ve Tanılaması

Yapılan tez çalışmasında; başlangıç pH değeri 5'e ayarlanmış katı MSM besiyerinde on yedi adet fungus isolate edilmiştir.

En yüksek imidacloprid biyogiderim kapasitesine sahip olan 13 numaralı izolat; Refgen'de yapılan tanılama sonucunda *Acremonium sclerotigenum* olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.3'e bakıldığında; bütün fungus izolatları imidaclopridi tolere edebilmiş ve imidacloprid varlığında gelişebilmiştir. Fakat 1, 13 (*A. sclerotigenum*) ve 17 numaralı funguslar diğer izolatlara göre daha iyi gelişim göstermiştir.

,

Çizelge 4.3 Fungus izolatlarının imidacloprid varlığındaki gelişimleri

| Fungus İzolatı (No) | Toprak Örneği | İmidacloprid Toleransı |
|---------------------|---------------|------------------------|
| 1                   | Şanlıurfa     | +++                    |
| 2                   | Şanlıurfa     | ++                     |
| 3                   | Şanlıurfa     | ++                     |
| 4                   | Şanlıurfa     | ++                     |
| 5                   | Çankırı       | ++                     |
| 6                   | Şanlıurfa     | +                      |
| 7                   | Şanlıurfa     | +                      |
| 8                   | Çankırı       | +                      |
| 9                   | Şanlıurfa     | ++                     |
| 10                  | Şanlıurfa     | ++                     |
| 11                  | Şanlıurfa     | ++                     |
| 12                  | Şanlıurfa     | +                      |
| 13                  | Şanlıurfa     | +++                    |
| 14                  | Şanlıurfa     | +                      |
| 15                  | Samsun        | ++                     |
| 16                  | Şanlıurfa     | +                      |
| 17                  | Şanlıurfa     | +++                    |

(T: 30 °C, C<sub>0</sub>: 10 mg/L, 800.000 ünite penisilin, 1g/L glukoz, pH 5)

#### 4.4 En Yüksek Kapasitede İmidacloprid Giderebilen Fungus Seçimi

İzole edilen funguslar; en yüksek kapasitede imidacloprid biyogiderimi yapan fungusu belirlemek amacıyla; 24.5 mg/L imidacloprid içeren başlangıç pH değeri 5'e ayarlanmış melaslı besiyerine ekilmiştir. Çizelge 4.4'te 1, 13 (*Acremonium sclerotigenum*) ve 17 numaralı fungusların diğer izolatlara göre daha yüksek oranda biyogiderim yaptığı

görülmektedir. Çizelge 4.3'te ve çizelge 4.4'te, fungusların mikrobiyel gelişimleri ile imidacloprid biyogiderim oranları arasında bir paralellik olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4 İzole edilen fungusların imidaclopridi biyogiderime uğratma oranları

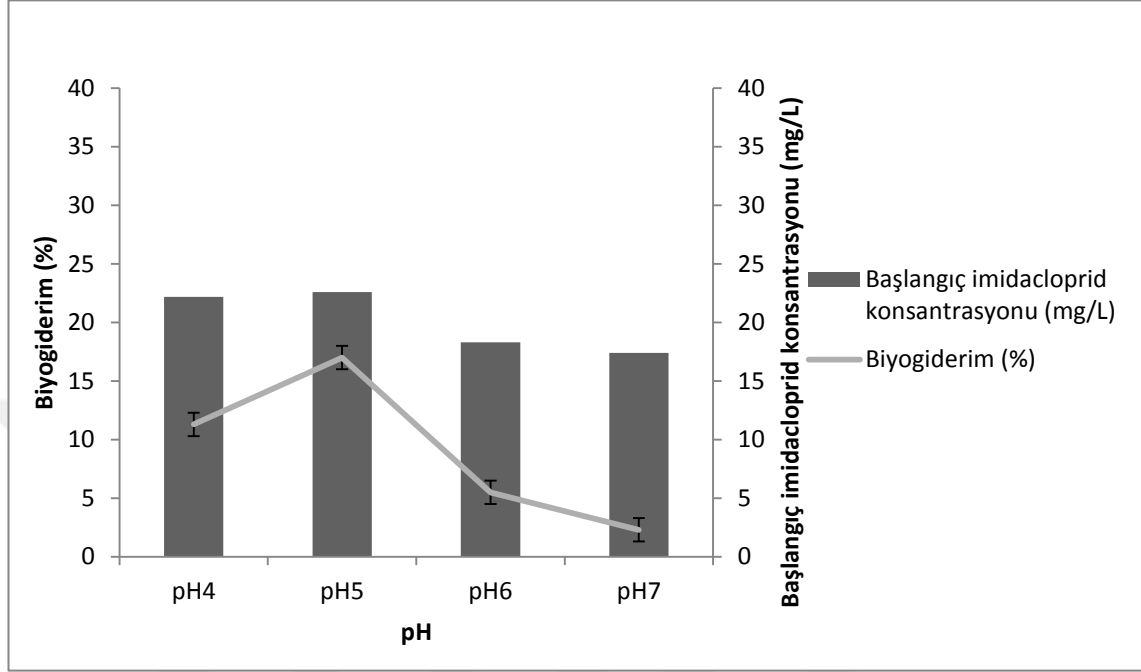
| Fungus izolatı | Toprak örneği | Biyogiderim (%) |
|----------------|---------------|-----------------|
| 1              | Şanlıurfa     | %18.3±3.2       |
| 2              | Şanlıurfa     | %15.1±4.1       |
| 3              | Şanlıurfa     | %10.2±1.3       |
| 4              | Şanlıurfa     | %12.7±1.6       |
| 5              | Çankırı       | %17.1±5.5       |
| 6              | Şanlıurfa     | -               |
| 7              | Şanlıurfa     | -               |
| 8              | Çankırı       | -               |
| 9              | Şanlıurfa     | %11.4±2.7       |
| 10             | Şanlıurfa     | %1.3±0.6        |
| 11             | Şanlıurfa     | %11.4±3.4       |
| 12             | Şanlıurfa     | -               |
| 13             | Şanlıurfa     | %20.8±3.1       |
| 14             | Şanlıurfa     | -               |
| 15             | Samsun        | %12.2±2.1       |
| 16             | Şanlıurfa     | -               |
| 17             | Şanlıurfa     | %20.4±1.9       |

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C<sub>0</sub>: 24.5 mg/L, pH 5, inkübasyon süresi: 6 gün)

#### 4.4.1 İmidacloprid biyogiderimine başlangıç pH değerinin etkisi

İmidacloprid biyogiderimine başlangıç pH değerinin etkisini belirlemek amacıyla; en yüksek kapasitede imidacloprid biyogiderimi yapan üç fungus izolatı seçilmiş ve pH

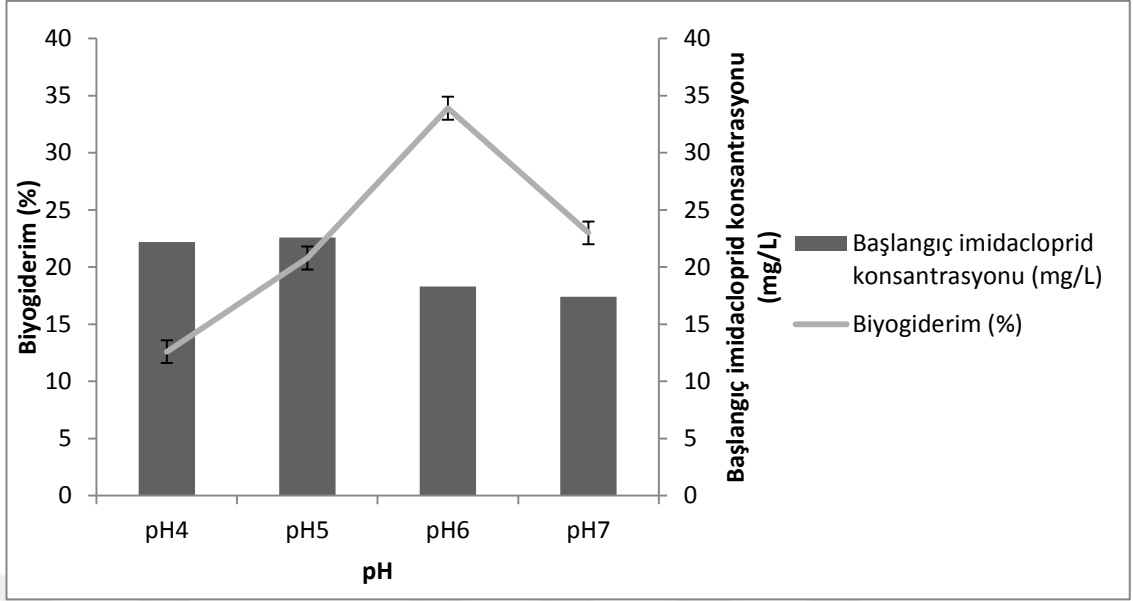
değerleri 4 ile 7 arasında değişen melaslı besiyerlerine fungus izolatlarının ekimi yapılmıştır.



Şekil 4.2 1 numaralı izolatın değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitesinin belirlenmesi

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C<sub>0</sub>: 20 mg/L, inkübasyon süresi: 6 gün)

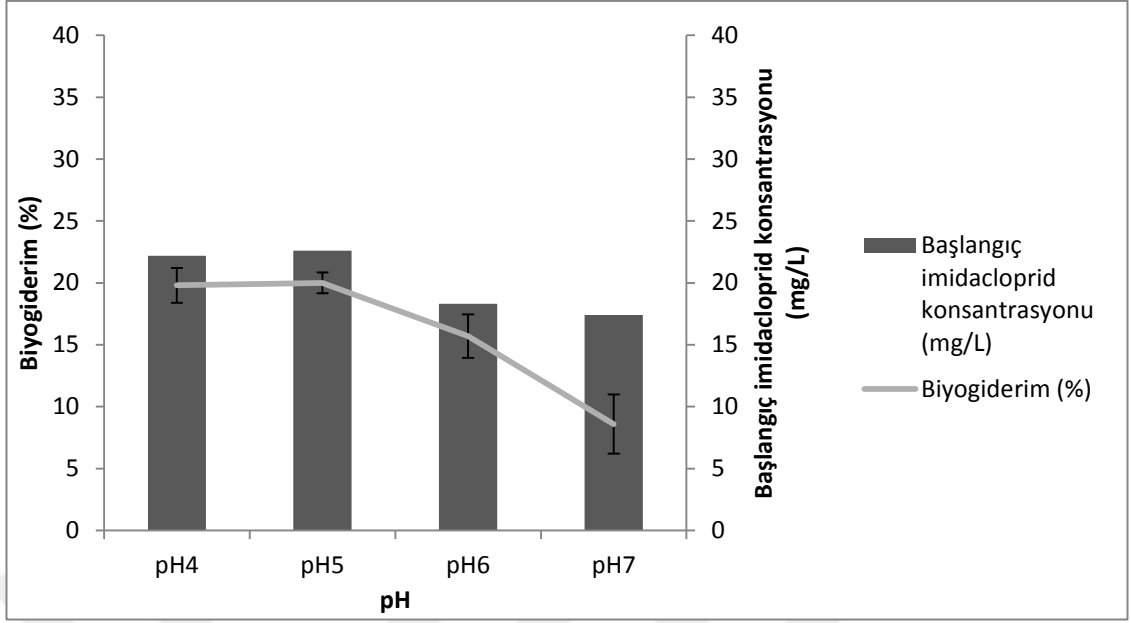
Şekil 4.2'de görüldüğü üzere 1 numaralı izolat; pH değeri 4 olarak belirlenmiş 22.2 mg/L imidacloprid içeren melaslı besiyerinde % 11.3, pH değeri 5'e ayarlanmış 22.6 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde % 17.0, pH değeri 6 olarak belirlenmiş, 18.3 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde % 5.5 ve pH değeri 7'ye ayarlanmış, 17.4 mg/L imidacloprid içeren melaslı besiyerinde % 2.3 oranında biyogiderim yapmıştır. En yüksek biyogiderim oranının; başlangıç imidacloprid konsantrasyonu en yüksek olan pH değeri 5 olarak belirlenmiş melaslı besiyerinde gerçekleştiği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda; imidacloprid biyogiderimine pH değerinin önemli bir etkisi olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3 *A. sclerotigenum*'un değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitesinin belirlenmesi

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C<sub>0</sub>: 20 mg/L, inkübasyon süresi: 6 gün)

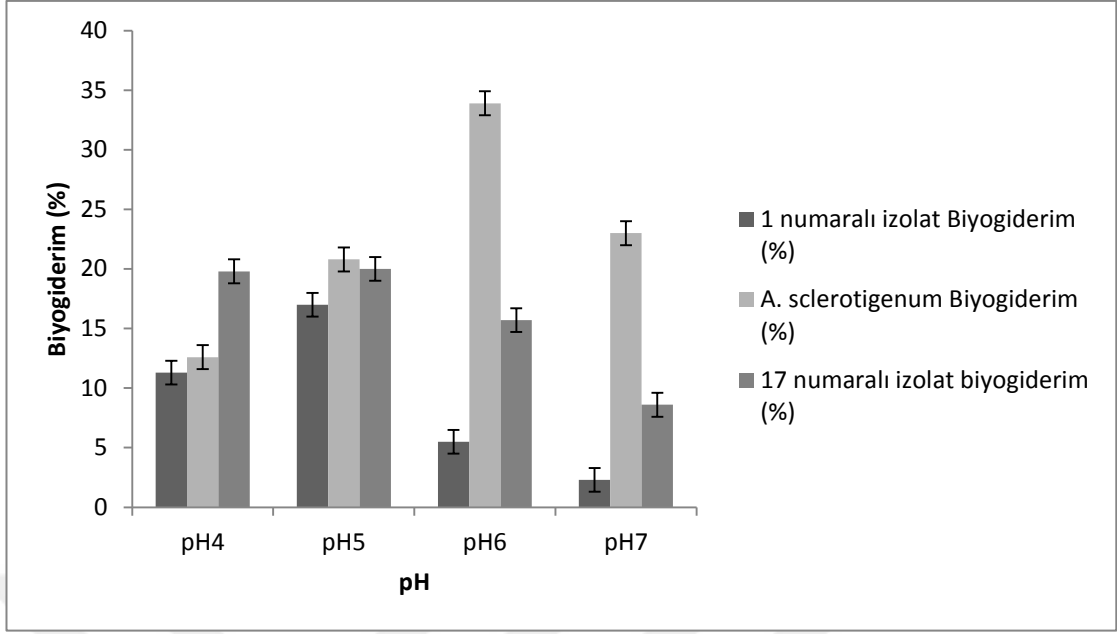
Şekil 4.3'e bakıldığında; *A. sclerotigenum*'un pH değeri 4 olarak belirlenmiş besiyerinde, 22.2 mg/L imidacloprid varlığında % 12.6, pH değeri 5'e ayarlanmış besiyerinde, 22.6 mg/L imidacloprid varlığında % 20.8, pH değeri 6 olarak belirlenmiş besiyerinde, 18.3 mg/L imidacloprid varlığında % 33.9 ve pH değeri 7'ye ayarlanmış besiyerinde, 17.4 mg/L imidacloprid varlığında % 23.0 oranında imidacloprid biyogiderimi yaptığı belirlenmiştir. *A. sclerotigenum* en yüksek oranda imidacloprid biyogiderimini pH değeri 6 olarak belirlenmiş besiyerinde gerçekleştirmiştir.



Şekil 4.4 17 numaralı izolatın değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitesinin belirlenmesi

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C<sub>0</sub>: 20 mg/L, 6.gün)

Şekil 4.4’de, 17 numaralı izolatın; 22.2 mg/L imidacloprid içeren, pH değeri 4 olarak belirlenmiş melaslı besiyerinde % 19.8, pH değeri 5’e ayarlanmış, 22.6 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde % 20.0, pH değeri 6 olarak belirlenmiş, 18.3 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde % 15.7 ve pH değeri 7’ye ayarlanmış, 17.4 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde % 8.6 oranında imidacloprid biyogiderimi yaptığı tespit edilmiştir. pH değeri 4 ve 5 olarak belirlenmiş besiyerlerinde yaklaşık olarak aynı konsantrasyonda imidacloprid varlığında yaklaşık olarak eşit oranda biyogiderim olduğu belirlense de en yüksek biyogiderim pH değeri 5 olan besiyerinde, 22.6 mg/L imidacloprid varlığında gerçekleşmiştir.



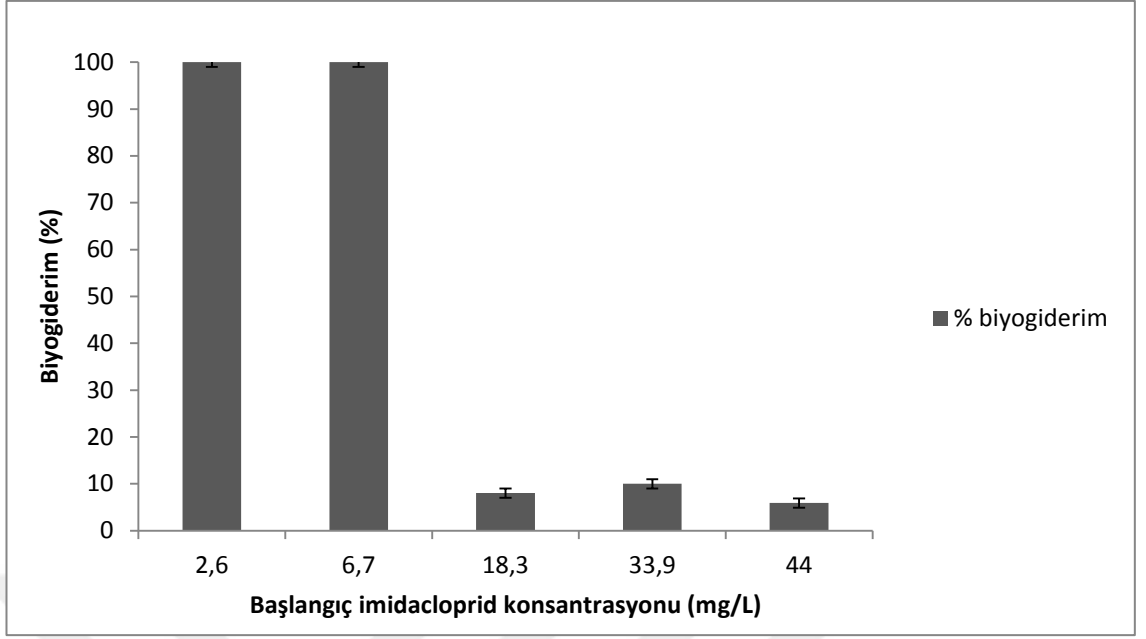
Şekil 4.5 1, 13 (*A. sclerotigenum*) ve 17 numaralı fungusların değişen pH değerlerinde biyogiderim kapasitelerinin belirlenmesi

(T: 30°C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, C<sub>0</sub>: 20 mg/L, 6.gün)

Sonuç olarak; şekil 4.5’de görüldüğü üzere; 1 ve 17 numaralı fungus izolatlarının en yüksek imidacloprid biyogiderimini pH değeri 5’e ayarlanmış besiyerinde sırasıyla % 17.0 ve % 20.0 oranlarında gerçekleştirdiği, *A. sclerotigenum*’un ise en yüksek imidacloprid biyogiderimini pH değeri 6 olarak belirlenmiş besiyerinde % 33.9 oranında gerçekleştirdiği belirlenmiştir.

#### 4.4.2 Artan imidacloprid konsantrasyonunun biyogiderime etkisi

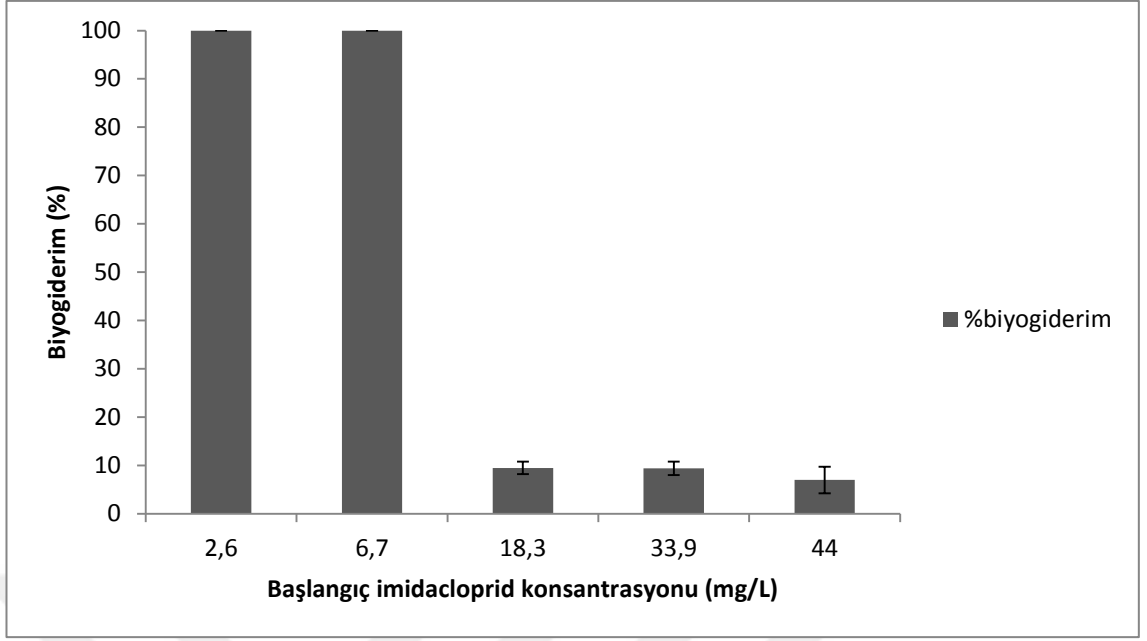
Artan imidacloprid konsantrasyonunun etkisini belirlemek amacıyla; optimum pH ve en yüksek biyogiderim kapasitesine sahip olan fungus *A. sclerotigenum* olarak belirlenmiş ve farklı konsantrasyonlarda imidacloprid içeren melaslı besiyerleri hazırlanmıştır.



Şekil 4.6 İnkübasyonun 2. gününde *A. sclerotigenum*'un artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığındaki biyogiderim oranı

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH 6)

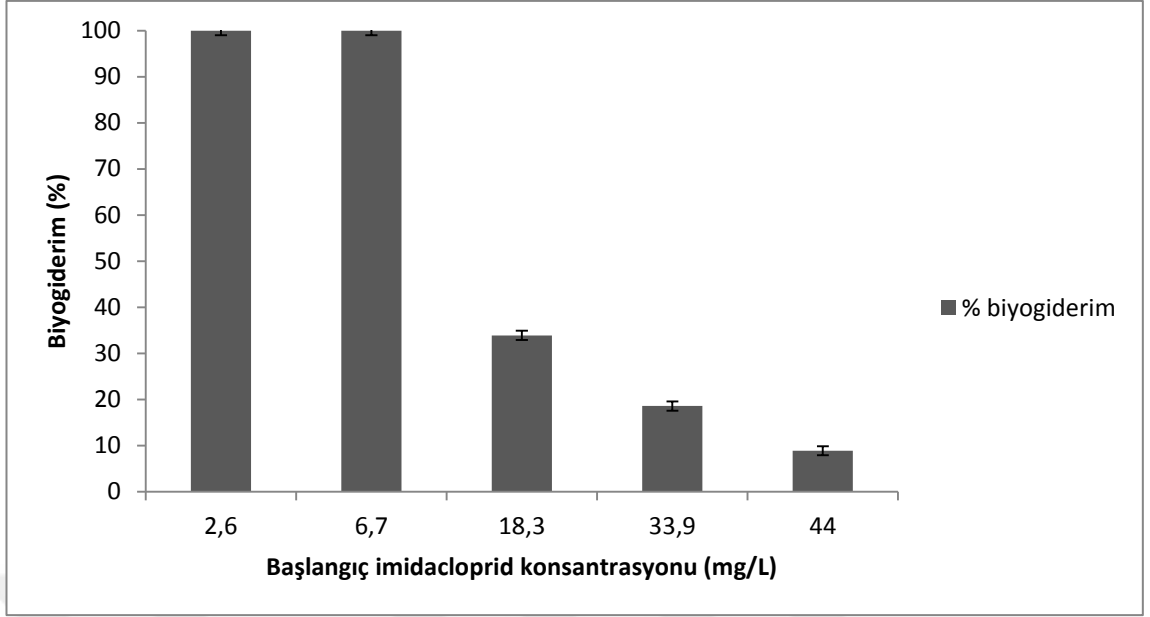
Şekil 4.6'da *A. sclerotigenum*'un inkübasyonun 2. gününde; başlangıç konsantrasyonu 2.6 ve 6.7 mg/L olan imidaclopridi tamamen ortamdaki uzaklaştırdığı görülmektedir. 18.3 mg/L ile 33.9 mg/L imidacloprid varlığında biyogiderim oranlarının sırasıyla % 8 ve % 10, 44.0 mg/L imidacloprid varlığında ise biyogiderim oranının % 5.9 olduğu görülmektedir.



Şekil 4.7 İnkübasyonun 4. gününde *A. sclerotigenum*'un artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığındaki biyogiderim oranı

(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH 6)

Şekil 4.7'de *A. sclerotigenum*'un inkübasyonun 4. gününde; başlangıç konsantrasyonu 18.3 mg/L olan imidaclopridi % 9.5, 33.9 mg/L imidaclopridi % 9.4 ve 44.0 mg/L imidaclopridi % 7.0 oranında biyogiderime uğrattığı görülmektedir.



Şekil 4.8 İnkübasyonun 6. gününde *A. sclerotigenum*'un artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığındaki biyogiderim oranı  
(T: 30 °C, çalkalama hızı: 100 devir/dakika, pH 6)

Şekil 4.8'e bakıldığında; *A. sclerotigenum*'un inkübasyonun 6. gününde 18.3 mg/L imidacloprid varlığında % 33.9, 33.9 mg/L imidacloprid varlığında % 18.6 ve 44.0 mg/L imidacloprid varlığında ise % 8.9 oranında biyogiderim yaptığı görülmektedir.

Sonuç olarak; *A. sclerotigenum* inkübasyonun 2. gününde 2.6 ve 6.7 mg/L imidaclopridi ortamdan tamamen uzaklaştırmıştır. Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu arttıkça biyogiderim oranının azaldığı belirlenmiştir. İnkübasyon süresi arttıkça imidacloprid biyogiderim oranlarında da artış olduğu belirlenmiştir.

#### 4.4.3 Artan İnokülüm Miktarının Biyogiderime Etkisi

İnkübasyonun 6. gününde fungus biyokütleleri 24 saat boyunca 100 °C'de kurutulmuş ve tartımları yapılmıştır.

Çizelge 4.5 Artan inokülüm miktarının imidacloprid biyogiderimine etkisi

| Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu (mg/L) | $X_m$ (g/L)          |                       |
|----------------------------------------------|----------------------|-----------------------|
|                                              | İnokülüm Oranı (Tek) | İnokülüm Oranı (Çift) |
| $C_0$ : 2.6                                  | 0.59±0.17            | 1.13±0.47             |
| $C_0$ : 6.7                                  | 0.49±0.02            | 0.50±0.20             |
| $C_0$ : 18.3                                 | 0.44±0.02            | 0.56±0.07             |
| $C_0$ : 33.9                                 | 0.41±0.01            | 0.47±0.05             |
| $C_0$ : 44.0                                 | 0.44±0.03            | 0.51±0.04             |

(T: 30 °C, inkübasyon süresi: 6 gün)

Gerçekleştirilen çalışma sonrasında farklı imidacloprid konsantrasyonları içeren besiyerlerine ekilen inokülüm miktarının artışının fungal gelişmeyi önemli oranda etkilemediği görülmüştür. Bu durum çalışılan fungusun imidaclopridi parçalayamadığını, karbon kaynağı olarak sadece melası kullanabildiği düşündürmüştür.

#### 4.5 Maksimum Spesifik İmidacloprid Alımı

İnkübasyonun 6. gününde fungus biyokütleleri 24 saat boyunca 100 °C’de kurutulmuş ve tartımları yapılarak maksimum spesifik imidacloprid alımı hesaplanmıştır.

Çizelge 4.6 Artan konsantrasyonlarda imidacloprid varlığında *A. sclerotigenum*'un maksimum spesifik imidacloprid alımı

| Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu (mg/L) | $C_{ad}$ (mg/L) | $X_m$ (g/L) | $q_m$ (mg/g) | Biyogiderim (%) |
|----------------------------------------------|-----------------|-------------|--------------|-----------------|
| $C_0$ : 2. 6                                 | 2. 60±0.00      | 0.59±0.17   | 4.4±1.80     | 100±0.00        |
| $C_0$ : 6. 7                                 | 6. 70±0.00      | 0.49±0.02   | 13.7±0.50    | 100±0.00        |
| $C_0$ : 18. 3                                | 6. 20±0.58      | 0.44±0.02   | 14.1±0.70    | 33. 9±3.20      |
| $C_0$ : 33. 9                                | 6. 30±0.44      | 0.41±0.01   | 15.4±1.50    | 18. 6±1.30      |
| $C_0$ : 44. 0                                | 3. 91±0.74      | 0.44±0.03   | 8.9±2.16     | 8. 9±1.7        |

(T: 30 °C, inkübasyon süresi: 6 gün)

Çizelge 4.6’da, artan konsantrasyonda imidacloprid içeren pH 6 melaslı besiyerinde 6 gün inkübasyona bırakılan fungus biyokütlelerinin hücre başına düşen maksimum imidacloprid alımı görülmektedir. Buna göre; 2.6 ve 6.7 mg/L imidacloprid varlığında ortamdaki imidaclopridin tamamı hücre tarafından alınarak ortamdan uzaklaştırılmıştır. Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu 6.7 mg/L’den 18.3 mg/L’ye yükseldiğinde hücre başına alınan imidacloprid miktarında büyük oranda bir düşüş meydana gelmiştir. Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu 18.3 mg/L’den 33.9 mg/L’ye yükseldiğinde maksimum imidacloprid alımında ciddi bir fark görülme de imidacloprid miktarı 44.0 mg/L’ye yükseldiğinde hücre başına düşen imidacloprid alımında büyük oranda bir azalma görülmektedir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Günümüzde özellikle tarımsal alanlarda pestisitlerin yaygın olarak kullanımı ve çeşitli zararlı etkilerinin bulunması onların çeşitli yöntemlerle giderimini zorunlu kılmaktadır. Bu giderim yöntemlerinden biri olan biyolojik yöntemler; daha ekonomik olmasıyla daha çok tercih edilmektedir.

Yapılan çalışmada; ülkemizdeki çeşitli tarımsal alanlardan izole edilen bakteri ve fungusların neonikotinoid insektisitlerden biri olan imidacloprid varlığındaki gelişimleri ve imidacloprid biyogiderim kapasiteleri belirlenmiştir.

### 5.1 Bakteri İzolasyonu ve Seçimi

Yapılan tez çalışmasında; tarımsal alanlardan alınan toprak örneklerinden sekiz adet bakteri izole edilmiştir. Tüm isolatların imidacloprid içeren besiyerindeki gelişimlerinin zayıf olduğu belirlenmiştir. İzole edilen altı bakterinin imidacloprid biyogiderimi yapamadığı, 6 ve 7 numaralı isolatların ise sırasıyla % 3.53 ve % 1.51 olmak üzere çok düşük oranlarda biyogiderim yaptığı tespit edilmiştir.

Literatüre bakıldığında; Kandil vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada; tarımsal alandan alınan beş toprak örneği mikroorganizma kaynağı olarak kullanılmıştır. Bakteri izolasyonu için azotça eksik ve karbonca eksik olmak üzere iki farklı R-salts minimal mideumbesiyeri hazırlanmıştır. 5 g steril toprak örneği besiyerine inoküle edilmiş, 27 °C sıcaklık, 150 rpm çalkalama hızında ve karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Kültürden 1 mL alınarak iki haftada bir taze besiyerine ekim yapılmış ve saf ültürler elde edilene kadar bu aşama 5 kez tekrarlanmıştır. Sonuç olarak; yaklaşık yirmi adet morfolojik olarak farklı koloni seçilmiş ve bu isolatlardan *Mycobacterium sp.* MK6 suşunun imidacloprid varlığında hızlı bir şekilde geliştiği belirlenmiştir.

Hu vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada; imidacloprid degradasyonu yapan bakteri izolasyonu için çay yetiştirilen alanda rizosferden toprak örnekleri alınmış ve yirmi altı

adet bakterinin izolasyonu gerçekleştirilmiştir. İmidacloprid degradasyonu için; 50 mg/L imidacloprid içeren pH değeri 8'e ayarlanmış MSM besiyerinde geliştirilen *Ochrobactrum anthropic* BCL-1 suşu 30 °C sıcaklıkta ve 96 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

Gupta vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada; tarımsal alandan alınan toprak örneği mikroorganizma kaynağı olarak kullanılmıştır. Toprak örneğinden 10 g alınarak 0.5 mM pestisit (128 mg/L imidacloprid, 203 mg/L endosülfan, 241.5 mg/L korajen) içeren 30 mL MM besiyerine inoküle edilmiş ve 37 °C sıcaklık, 200 rpm çalkalama hızında inkübasyona bırakılmıştır. Yapılan moleküler çalışmalarda pestisit degrade eden suşun *Pseudomonas* sp. RPT-52 olduğu belirlenmiştir.

Tez çalışmasında; imidacloprid varlığında iyi gelişen ve yüksek oranda biyogiderim yapan bakteri izolatu bulunamamıştır.

## 5.2 Fungus İzolasyonu ve Seçimi

Gerçekleştirilen tez çalışmasında; tarımsal alanlardan alınan toprak örneklerinden on yedi adet fungus izole edilmiş ve imidacloprid içeren besiyerinde gelişimlerinin iyi olduğu gözlemlenmiştir. Biyogiderim oranlarına bakıldığında; 1, 13 (*A. sclerotigenum*) ve 17 numaralı izolatların yaklaşık 25 mg/L konsantrasyonundaki imidaclopridi sırasıyla % 18.3, % 20.8 ve % 20.4 oranlarında ortamdan uzaklaştırdığı belirlenmiştir.

Literatüre bakıldığında; Dai vd. (2006) tarafından yapılan çalışmada; imidacloprid dönüşümünü sağlayan mikroorganizmaların izolasyonu için; 1.36 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2.13 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.2 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 10 g glukoz, 0.005 g CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O ve 1.00 g imidacloprid içeren, pH değeri 7.2 olarak belirlenmiş 200 mL'lik besiyerine 2 g toprak örneği eklenmiştir. Toprak örnekleri 200 rpm çalkalama hızında 10 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından katı Luria-Bertani besiyerine ekim yapılmış ve 30°C sıcaklıkta 3 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Filamentli fungus gelişimi için; 1 L patates ekstraktına 20.0 g glukoz, 3.0 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 1.5 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O

eklenmiş, 220 rpm çalkalama hızında inkübasyona bırakılmıştır. Yapılan tanılama çalışmasında; izole edilen fungus suşunun *Saprolegnia ferax* ATCC 36051 olduğu belirlenmiştir.

Gangola vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada; tarımsal alandan alınan toprak örneği fungus izolasyonu için kullanılmıştır. 20 g toprak örneği 100 mL potato dekstrozu besiyerine inoküle edilmiş, 28 °C sıcaklık 150 rpm çalkalama hızında 1 gece inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından filtre edilen karışım; 10 mg/L imidacloprid içeren PDA besiyerine inoküle edilmiştir. 28 °C’de 5-10 gün inkübasyonun ardından saf koloniler elde edilmiştir. Sonuç olarak; izole edilen funguslardan ikisinin *Aspergillus oryzae* ve *Trichoderma longibrachiatum* olduğu belirlenmiştir.

### 5.3 İmidacloprid Biyogiderimine Başlangıç pH Değerinin Etkisi

Gerçekleştirilen çalışmada; en yüksek biyogiderim oranına sahip üç izolat (1, 13, 17); farklı pH değeri ve farklı konsantrasyonda imidacloprid varlığında melaslı besiyerinde, 30 °C sıcaklık, 100 rpm çalkalama hızında 6 gün inkübe edilmiş ve izolatların imidaclopridi biyogiderime uğratma oranları karşılaştırılmıştır. 1 ve 17 numaralı izolatların en yüksek biyogiderim oranı 22.6 mg/L imidacloprid içeren, pH değeri 5 olan melaslı besiyerinde sırasıyla % 17 ve % 20 olarak belirlenmiştir. *A. sclerotigenum*’un en yüksek biyogiderim oranı ise; pH değeri 6 olan 18.3 mg/L imidacloprid içeren melaslı besiyerinde % 33.9 olarak saptanmıştır.

Gangola vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada; 20 mg/L imidacloprid içeren, pH değeri 6 olan Czapek-Dox besiyerine ekimi yapılan *Aspergillus oryzae* ve *Trichoderma longibrachiatum* 30 °C sıcaklık, 150 rpm çalkalama hızında 15 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 10. gününde imidacloprid degradasyon oranları; *Aspergillus oryzae* için % 72, *Trichoderma longibrachiatum* için % 77 olarak; inkübasyonun 15. gününde ise sırasıyla %85 ve %80 olarak belirlenmiştir.

Herner vd. (2017) tarafından kapalı reaktörde gerçekleştirilen çalışmada; substrat olarak kuru yaprak, sebze ve tütün atığı kullanılmıştır ve kompostun pH değeri 5.1 olarak belirlenmiştir. Substrat olarak kullanılan atıklara 1.25 mg/kg imidacloprid uygulanmıştır. Kompost işlemi 21 gün devam etmiş ve işlemin sonunda pH değerinin 8.2'ye, sıcaklığın 55 °C'ye yükseldiği belirlenmiş ve imidacloprid degradasyonu % 92 olarak tespit edilmiştir.

Sunulan tez çalışmasında; 1 ve 17 numaralı fungus izolatlarının pH değeri 5 olarak belirlenmiş, 22.6 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde en yüksek biyogiderim oranına ulaştığı belirlenmiştir. *A. sclerotigenum*'un ise pH değeri 6 olarak belirlenmiş, 18.3 mg/L imidacloprid içeren besiyerinde en yüksek biyogiderim oranına ulaştığı tespit edilmiştir.

#### **5.4 Artan İmidacloprid Konsantrasyonunun Biyogiderime Etkisi**

Yapılan tez çalışmasında; imidaclopridin artan konsantrasyonlarının biyogiderime olan etkisini belirlemek amacıyla; biyogiderimin en yüksek olduğu pH değeri 6 olarak belirlenmiş ve en yüksek oranda biyogiderim yapan *A. sclerotigenum* seçilmiştir. İmidacloprid konsantrasyonları 2.6, 6.7, 18.3, 33.9 ve 44.0 mg/L olarak belirlenmiş ve ekimi yapılmış olan fungus izolatu; 30°C sıcaklık, 100 rpm çalkalama hızında 6 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 2, 4 ve 6. günlerinde farklı konsantrasyonda imidacloprid içeren kültürlerden örnek alınarak imidacloprid biyogiderim oranları belirlenmiştir.

İnkübasyonun 2. gününde, 2.6 ve 6.7 mg/L imidaclopridin tamamının ortamdan uzaklaştırıldığı belirlenmiştir. Başlangıç imidacloprid konsantrasyonu arttıkça genel olarak imidacloprid biyogideriminde bir azalma görülmüştür. İnkübasyon süresinin uzamasına bağlı olarak ortamdan uzaklaştırılan imidacloprid miktarının ise arttığı belirlenmiştir.

Literatüre bakıldığında; He vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada; 200 µL/mg imidacloprid içeren, pH değeri 7 olan besiyerinde, 28 °C sıcaklık ve 180 rpm çalkalama hızında geliştirilen *Trichoderma atroviride* T23 transformantlarından ikisinin, 60 saatlik inkübasyonun sonunda; % 94 ve % 95 oranında imidacloprid degradasyonu yaptığı belirlenmiştir.

Diaz vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada; *Staphylococcus sp.* , *Bacillus sp.* , *Brevundimonas sp.* , *Ochrobactrum sp.*, *Achromobacter sp.* bakteri izolatları ile *Fusarium sp.* , *Fusarium solani*, *Acremonium sp.* ve *Scopulariopsis sp.* fungus izolatları kullanılmıştır. pH değeri 7 olan, 20 mg/L pestisit ve 4 g/L glukoz içeren MSM besiyerine ekim yapılmış, 28 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 15. gününde pestisit miktarının % 15- % 26 oranında azaldığı belirlenmiştir.

Gerçekleştirilen tez çalışmasında ise; *Acremonium sclerotigenum*’un 6 gün gibi kısa bir sürede başlangıç konsantrasyonu 18.3 mg/L olan imidaclopridi % 33.9 oranında, 33.9 mg/L imidaclopridi ise % 18.6 oranında biyogiderime uğrattığı belirlenmiştir.

### **5.5 Maksimum Spesifik İmidacloprid Alımı**

İnkübasyonun 6. gününde fungus biyokütleleri kurutulmuş ve hücre başına maksimum spesifik imidacloprid alımı belirlenmiştir.

Sonuç olarak; maksimum kuru ağırlık yaklaşık olarak eşit olsa da başlangıç imidacloprid konsantrasyonu arttıkça hücre başına alınan imidacloprid miktarının azaldığı ve buna paralel olarak imidacloprid biyogiderim oranının da azaldığı görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Anonim. 2016. T. C. Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, Bitki Sağlığı Daire Başkanlığı. Ankara.
- Afzal, M., Iqbal, S., Rauf, S. and Khalid, Z. M. 2007. Characteristics of phenol biodegradation in saline solutions by monocultures of *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas pseudomallei*. Journal of Hazardous Materials, 149, 60-66.
- Ahmed, M.A.I. and Matsumura, F. 2012. Synergistic actions of formamidine insecticides on the activity of pyrethroids and neonicotinoids against aedes aegypti (Diptera: Culicidae). Journal of Medical Entomology, 49(6), 1405–1410.
- Aissou, M., Chemat-Djenni, Z., Yara-Varon, E., Fabiano-Tixier, A.S. and Chemat, F. 2017. Limonene as an agro-chemical building block for the synthesis and extraction of bioactive compounds. Comptes Rendus Chimie, 20(4), 346–358.
- Aksu, Z. and Dönmez, G. 2005. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of Candida tropicalis. Process Biochemistry, 40(7), 2443–2454.
- Aktar, W., Sengupta, D. and Chowdhury, A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. Interdisciplinary Toxicology, 2(1), 1–12.
- Anderson, J.C., Dubetz, C. and Palace, V.P. 2015. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. Science of the Total Environment, 505, 409–422.
- Arias-Estévez, M., López-Periago, E., Martínez-Carballo, E., Simal-Gándara, J., Mejuto, J. C. and García-Río, L. 2008. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. Agriculture, Ecosystems and Environment, 123(4), 247–260.
- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M.S. and Nauen, R. 2015. The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. Pesticide Biochemistry and Physiology, 121, 78–87.
- Behloul, M., Grib, H., Drouiche, N., Abdi, N., Lounici, H. and Mameri, N. 2013. Removal of Malathion Pesticide from Polluted Solutions by Electrocoagulation: Modeling of Experimental Results using Response Surface Methodology. Separation Science and Technology, 48(4), 664–672.
- Bhardwaj, S., Srivastava, M.K., Kapoor, U. and Srivastava, L. P. 2010. A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. Food and Chemical Toxicology, 48(5), 1185–1190.

- Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Vinuela, E., Zappala, L. and Desneux, N. 2012. The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Management Science*, 68(12), 1523–1536.
- Brook, H. and Cutts, M. 2017. *Crop Protection. Alberta Agriculture and Forestry*, 592, Canada.
- Cai, Z., Rong, Y., Chen, J., Wang, J., Ma, J., Zhang, W. and Zhao, X. 2016. Effects of the novel cis-nitromethylene neonicotinoid insecticide Paichongding on enzyme activities and microorganisms in yellow loam and Huangshi soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(8), 7786–7793.
- Diaz, J. M. C., Delgado-Moreno, L., Nunez, R., Nogales, R. and Romero, E. 2016. Enhancing pesticide degradation using indigenous microorganisms isolated under high pesticide load in bioremediation systems with vermicomposts. *Bioresource Technology*, 214, 234–241.
- Chen, S., Hu, Q., Hu, M., Luo, J., Weng, Q. and Lai, K. 2011. Isolation and characterization of a fungus able to degrade pyrethroids and 3-phenoxybenzaldehyde. *Bioresource Technology*, 102(17), 8110–8116.
- Cycoń, M., Markowicz, A., Borymski, S., Wójcik, M. and Piotrowska-Seget, Z. 2013a. Imidacloprid induces changes in the structure, genetic diversity and catabolic activity of soil microbial communities. *Journal of Environmental Management*, 131, 55–65.
- Cycoń, M. and Piotrowska-Seget, Z. 2015b. Biochemical and microbial soil functioning after application of the insecticide imidacloprid. *Journal of Environmental Sciences*, 27, 147–158.
- Dai, Y., Yuan, S., Ge, F., Chen, T., Xu, S. and Ni, J. 2006. Microbial hydroxylation of imidacloprid for the synthesis of highly insecticidal olefin imidacloprid. *Applied Microbial and Cell Physiology*, 71, 927–934.
- Dimetry, N.Z. 2012. Prospects of botanical pesticides for the future in integrated pest management programme (IPM) with special reference to neem uses in Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 45(10), 1138–1161.
- Ding, F. and Peng, W. 2015. Biological assessment of neonicotinoids imidacloprid and its major metabolites for potentially human health using globular proteins as a model. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 147, 24–36.
- Dyk, J.S. and Pletschke, B. 2011. Review on the use of enzymes for the detection of organochlorine, organophosphate and carbamate pesticides in the environment. *Chemosphere*, 82, 291–307.
- El-Wakeil, N.E. 2013. Botanical pesticides and their mode of action. *Gesunde Pflanzen*, 65, 125–149.
- Ferreira, L., Rosales, E., Danko, A.S., Sanroman, M.A. and Pazos, M.M. 2016. *Bacillus thuringiensis* a promising bacterium for degrading emerging pollutants. *Process Safety and Environmental Protection*, 101, 19–26.
- Gangola, S., Khati, P.P and Sharma, A. 2015. Mycoremediation of imidaclopridin the presence of different soil amendments using *Trichoderma\_longibrachiatum*

- and *Aspergillusoryzae* isolated from pesticide contaminated agricultural fields of Uttarakhand. *Journal Bioremediation of and Biodegradation*, 6, 1-5.
- Gao, C.F., Ma, S.Z., Shan, C.H. and Wu, S.F. 2014. Thiamethoxam resistance selected in the western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae): Cross-resistance patterns, possible biochemical mechanisms and fitness costs analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 114(1), 90–96.
- Gbylik-Sikorska, M., Sniegocki, T. and Posyniak, A. 2015. Determination of neonicotinoid insecticides and their metabolites in honey bee and honey by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 990, 132–140.
- Godfray, H.C.J., Blacquière, T., Field, L.M., Hails, R.S., Petrokofsky, G., Potts, S.G., Raine, N.E., Vanbergen, A.J. and McClean, A.R. 2014. A restatement of the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281, 1-9.
- Goulson, D. 2013. An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50, 977–987.
- Grdiša, M. and Gršić, K. 2013. Botanical Insecticides in Plant Protection. *Agriculturae Conspectus Scientificus*, 78, 85–93.
- Gupta, M., Mathur, S., Sharma, T.K., Rana, M., Gairola, A., Navani, N.K. and Pathania, R. 2016. A study on metabolic prowess of *Pseudomonas* sp. RPT 52 to degrade imidacloprid, endosulfan and coragen. *Journal of Hazardous Materials*, 301, 250–258.
- Gupta, S. and Dikshit, A.K. 2010. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides*, 3, 186–188.
- Harms, H., Schlosser, D. and Wick, L.Y. 2011. Untapped potential: exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals. *Nature Reviews Microbiology*, 9, 177–192.
- He, X., Wubie, A.J., Diao, Q., Li, W., Xue, F., Guo, Z., Zhou, T. and Xu, S. 2014. Biodegradation of neonicotinoid insecticide, imidacloprid by restriction enzyme mediated integration (REMI) generated *Trichoderma* mutants. *Chemosphere*, 112, 526–530.
- Herner, Z., Kucic, D. and Zelic, B. 2017. Biodegradation of imidacloprid by composting process. *Chemical Papers*, 71, 13-20.
- Isman, M.B., Miresmailli, S. and MacHial, C. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10, 197–204.
- Jarman, W.M. and Ballschmiter, K. 2012. From coal to DDT: The history of the development of the pesticide DDT from synthetic dyes till Silent Spring. *Endeavour*, 36(4), 131–142.

- Javaid, M.K., Ashiq, M. and Tahir, M. 2016. Potential of Biological Agents in Decontamination of Agricultural Soil. *Scientifica*, 2016, 1–9.
- Kanjilal, T., Bhattacharjee, C. and Datta, S. 2015. Bio-degradation of acetamiprid from wetland wastewater using indigenous *Micrococcus luteus* strain SC 1204: Optimization, evaluation of kinetic parameter and toxicity. *Journal of Water Process Engineering*, 6, 21–31.
- Kandil, M.M., Trigo, C., Koskinen W.C. and Sadowsky, M.J. 2015. Isolation and characterization of a novel imidacloprid-degrading *Mycobacterium sp.* strain MK6 from an Egyptian soil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 4721–4727.
- Kataoka, R., Takagi, K. and Sakakibara, F. 2010. A new endosulfan-degrading fungus, *Mortierella* species, isolated from a soil contaminated with organochlorine pesticides. *Journal of Pesticide Science*, 35, 326–332.
- Kikuchi, Y., Hayatsu, M., Hosokawa, T., Nagayama, A., Tago, K. and Fukatsu, T. 2012. Symbiont-mediated insecticide resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 8618–8622.
- Kim, B.M., Park, J.S., Choi, J.H., Abd El-Aty, A.M., Na, T.W. And Shim, J.H. 2012. Residual determination of clothianidin and its metabolites in three minor crops via tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 131, 1546–1551.
- Koureas, M., Tsakalof, A., Tsatsakis, A. and Hadjichristodoulou, C. 2012. Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. *Toxicology Letters*, 210, 155–168.
- Li, H., Wu, F., Zhao, L., Tan, J., Jiang, H. and Hu, F. 2015. Neonicotinoid insecticide interact with honeybee odorant-binding protein: Implication for olfactory dysfunction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 81, 624–630.
- Liu, S.H., Zeng, G.M., Niu, Q.Y., Liu, Y., Zhou, L., Jiang, L.H., Tan, X.F., Xu, P., Zhang, C. and Cheng, M. 2017. Bioremediation mechanisms of combined pollution of PAHs and heavy metals by bacteria and fungi: A mini review. *Bioresource Technology*, 224, 25–33.
- Ma, X., Ding, N., Peterson, E.C and Daugulis, A.J. 2016. Heavy metals species affect fungal-bacterial synergism during the bioremediation of fluoranthene. *Environmental Biotechnology*, 100, 7741–7750.
- Ma, Y., Zhai, S., Mao, S.Y., Sun, S.L., Wang, Y., Liu, Z.H., Dai, Y.J. and Yuan, S. 2014. Co-metabolic transformation of the neonicotinoid insecticide imidacloprid by the new soil isolate *Pseudoxanthomonas indica* CGMCC 6648. *Journal of Environmental Science and Health. Part. B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 49, 661–70.
- Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D. and Stahl, D. 2015. *Brock Biology of Microorganisms*. Pearson Education, 985, İngiltere.

- Main, A.R., Fehr, J., Liber, K., Headley, J.V., Peru, K.M. and Morrissey, C.A. 2016. Reduction of neonicotinoid insecticide residues in Prairie wetlands by common wetland plants. *Science of The Total Environment*, 579, 1193–1202.
- Marrs, T.C. 2012. Toxicology of insecticides to mammals. *Pest Management Science*, 68, 1332–1336.
- Mitra, A., Chatterjee, C. and Mandal, F.B. 2011. Synthetic chemical pesticides and their effects on birds. *Research Journal of Environmental Toxicology*, 1, 1-16.
- Mori, T., Wang, J., Tanaka, Y., Nagai, K., Kawagishi, H. and Hirai, H. 2017. Bioremediation of the neonicotinoid insecticide clothianidin by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida*. *Journal of Hazardous Materials*, 321, 586–590.
- Morillo, E. and Villaverde, J. 2017. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. *Science of the Total Environment*, 586, 576–597.
- Morrissey, C.A., Mineau, P., Devries, J.H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C. and Liber, K. 2015. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International*, 74, 291–303.
- Nasrullayev, A.O., Tosheva, N.A., Elmuradov, B.Z., Eshmuratova, A.A. and Azimova, S.S. 2016. Synthesis and In Vitro Investigation of Insecticidal Activity of Some Tricyclic Quinazolines and Their Thioanalogues, 2, 470–475.
- Oliveira, J.L., Campos, E.V.R., Bakshi, M., Abhilash, P.C. and Fraceto, L.F. 2014. Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: Prospects and promises. *Biotechnology Advances*, 32(8), 1550–1561.
- Oxborough, R.M., N’Guessan, R., Jones, R., Kitau, J., Ngufor, C., Malone, D., Mosha, F.W. and Rowland, M.W. 2015. The activity of the pyrrole insecticide chlorfenapyr in mosquito bioassay: towards a more rational testing and screening of non-neurotoxic insecticides for malaria vector control. *Malaria Journal*, 14, 124.
- Pankaj, S.G. and Anita Sharma, P.K. 2015. Mycoremediation of Imidaclopridin the Presence of Different Soil Amendments using *Trichoderma longibrachiatum* and *Aspergillusoryzae* Isolated from Pesticide Contaminated Agricultural fields of Uttarakhand. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 6, 1-5.
- Patel, R. 2012. The Long Green Revolution. *Journal of Peasant Studies*, 40(1), 1–63.
- Patil, P.N., Bote, S.D. and Gogate, P.R. 2014. Degradation of imidacloprid using combined advanced oxidation processes based on hydrodynamic cavitation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21, 1770-1777.
- Perdomo, H., Sutton, D.A., García, D., Fothergill, A.W., Cano, J., Gené, J., Summerbell, R.C., Rinaldi, M.G. and Guarro, J. 2011. Spectrum of clinically relevant *Acremonium* species in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 49, 243–256.

- Phugare, S.S., Kalyani, D.C., Gaikwad, Y.B. and Jadhav, J.P. 2013. Microbial degradation of imidacloprid and toxicological analysis of its biodegradation metabolites in silkworm (*Bombyx mori*). *Chemical Engineering Journal*, 230, 27–35.
- Rodrigues, K.J.A., Santana, M.B., Do Nascimento, J.L.M., Picanço-Diniz, D.L.W., Maués, L.A.L., Santos, S.N., Ferreira V.M.M., Alfonso, M., Duran, R. and Faro, L.R.F. 2010. Behavioral and biochemical effects of neonicotinoid thiamethoxam on the cholinergic system in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 73, 101–107.
- Rózsa, G., Szabó, L., Schrantz, K., Takács, E. and Wojnárovits, L. 2017. Mechanistic study on thiacloprid transformation: Free radical reactions. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 343, 17–25.
- Sabourmoghaddam, N., Zakaria, M.P. and Omar, D. 2015. Evidence for the microbial degradation of imidacloprid in soils of Cameron Highlands. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14, 182–188.
- Sánchez-Hernández, L., Hernández-Domínguez, D., Bernal, J., Neusüß, C., Martín, M. T. and Bernal, J.L. 2014. Capillary electrophoresis-mass spectrometry as a new approach to analyze neonicotinoid insecticides. *Journal of Chromatography A*, 1359, 317–324.
- Sarwar, M. 2015. The killer chemicals as controller of agriculture insect pests: the conventional insecticides. *International Journal of Chemical and Biomolecular Science*, 1, 141–147.
- Sharma, T., Rajor, A. and Toor, A.P. 2014. Degradation of imidacloprid in liquid by *Enterobacter* sp. Strain ATA1 using co-metabolism. *Bioremediation Journal*, 18, 227–235.
- Shi, X., Jiang, L., Wang, H., Qiao, K., Wang, D. and Wang, K. 2011. Toxicities and sublethal effects of seven neonicotinoid insecticides on survival, growth and reproduction of imidacloprid-resistant cotton aphid, *Aphis gossypii*. *Pest Management Science*, 67, 1528–1533.
- Silva, A.M.F., Pavesi, T., Rosa, A.C.S., Santos, T.P., Tabalipa, M.M., Lemes, V.R.R., Alves, S.R. and Sarcinelli, P.N. 2016. Organochlorines and polychlorinated biphenyl environmental pollution in south coast of Rio De Janeiro state. *Marine Pollution Bulletin*, 108(1–2), 325–331.
- Singh, D. K. 2007. Toxicology of insecticides. *Journal of Applied Entomology*, 131, 70 p.
- Stoytcheva, M. 2011. Pesticides in the Modern World-Trends in Pesticides Analysis. In *Tech*, 514, Hirvatistan.
- Summerbell, R.C., Gueidan, C., Schroers, H.J., de Hoog, G.S., Starink, M., Rosete, Y. A., Guarro, J. and Scott, J.A. 2011. Acremonium phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. *Studies in Mycology*, 68, 139–162.

- Tang, H., Li, J., Hu, H. and Xu, P. 2012. A newly isolated strain of *Stenotrophomonas* sp. Hydrolyzes acetamiprid, a synthetic insecticide. *Process Biochemistry*, 47, 1820–1825.
- Tankiewicz, M., Fenik, J. and Biziuk, M. 2010. Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 29, 1050–1063.
- Terçariol, P.R.G. and Godinho, A.F. 2011. Behavioral effects of acute exposure to the insecticide fipronil. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 99, 221–225.
- Tišler, T., Jemec, A., Mozetič, B. and Trebše, P. 2009. Hazard identification of imidacloprid to aquatic environment. *Chemosphere*, 76, 907–914.
- Uhl, P., Bucher, R., Schäfer, R.B. and Entling, M.H. 2015. Sublethal effects of imidacloprid on interactions in a tritrophic system of non-target species. *Chemosphere*, 132, 152–158.
- Wang, J., Hirai, H. and Kawagishi, H. 2012. Biotransformation of acetamiprid by the white-rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 831–835.
- Ware G.W. and Whitacre, D.M. 2004. Pesticide Book- 6th Edition, Meister Publishing, 488 p, Ohio.
- Watanabe, E., Baba, K. and Miyake, S. 2011. Analytical evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay for neonicotinoid dinotefuran for potential application to quick and simple screening method in rice samples. *Talanta*, 84, 1107–1111.
- Winquist, E., Björklöf, K., Schultz, E., Räsänen, M., Salonen, K., Anasonye, F., Cajthaml, T., Steffen, K.R., Jorgensen, K.S. and Tuomela, M. 2014. Bioremediation of PAH-contaminated soil with fungi - From laboratory to field scale. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 86, 238–247.
- Wu, Q., Chang, Q., Wu, C., Rao, H., Zeng, X., Wang, C. and Wang, Z. 2010. Ultrasound-assisted surfactant-enhanced emulsification microextraction for the determination of carbamate pesticides in water samples by high performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217, 1773–1778.
- Xiao, P., Mori, T., Kamei, I., Kiyota, H., Takagi, K. and Kondo, R. 2011. Novel metabolic pathways of organochlorine pesticides dieldrin and aldrin by the white rot fungi of the genus *Phlebia*. *Chemosphere*, 85, 218–224.
- Xu, Q., Du, S., Jin, G., Li, H. and Hu, X.Y. 2011. Determination of acetamiprid by a colorimetric method based on the aggregation of gold nanoparticles. *Microchim Acta*, 173, 323–329.
- Xu, X., Bao, H., Shao, X., Zhang, Y., Yao, X., Liu, Z. and Li, Z. 2010. Pharmacological characterization of cis-nitromethylene neonicotinoids in relation to imidacloprid binding sites in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Molecular Biology*, 19, 1–8.

- Yan, S., Wang, J., Zhu, L., Chen, A. and Wang, J. 2015. Toxic effects of nitenpyram on antioxidant enzyme system and DNA in zebrafish (*Danio rerio*) livers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 122, 54–60.
- Yang, L., Chen, S., Hu, M., Hao, W., Geng, P. and Zhang, Y. 2011. Biodegradation of carbofuran by *Pichia anomala* strain HQ-C-01 and its application for bioremediation of contaminated soils. *Biology and Fertility of Soils*, 47, 917–923.
- Yang, M., Zhang, P., Hu, L., Lu, R., Zhou, W., Zhang, S. and Gao, H. 2014. Ionic liquid-assisted liquid-phase microextraction based on the solidification of floating organic droplets combined with high performance liquid chromatography for the determination of benzoylurea insecticide in fruit juice. *Journal of Chromatography A*, 1360, 47–56.
- Zaharia, M. ., Maftai, D.A.N. ., Dumitras-Hutanu, C.A., Aurel, P.U.I., Lagobo, Z.C., Pintilie, O. and Gradinaru, R. 2013. Biodegradation of pesticides DINOCAP and DNOC by yeast suspensions in a batch system. *Rev. Chim.*, 64, 388–392.
- Zhuang, A.X., Zhang, Y.X., Zhang, H., and Liu, Z.W. 2016. The insecticidal activity and action mode of an imidacloprid analogue, 1-(3-pyridylmethyl)-2-nitroimino-imidazolidine. *Insect Science*, 23(5), 688–694.

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Selin IŞILDAK

Doğum Yeri : Ankara

Doğum Tarihi : 11. 07. 1991

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

### Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Hürriyet Anadolu Lisesi (2009)

Lisans : Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2014)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı  
(Eylül 2014-Temmuz 2017)