

Yabani tip ve hedef olmayan model bir organizmanın, *Drosophila melanogaster* Oregon-R, dişi ve erkek popülasyonlarında bakır hidroksit ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) nanopestisitine ait etkilerin *in vivo* ömür uzunluğu testi ile araştırılması

Handan Uysal*^{ID}

Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Erzurum, Türkiye

*Corresponding author : hauysal@atauni.edu.tr
Orcid No: <https://orcid.org/0000-0002-4290-8223>

Received : 25/04/2024
Accepted : 10/08/2024

To Cite / Atıf için: Uysal H. 2024. Yabani tip ve hedef olmayan model bir organizmanın, *Drosophila melanogaster* Oregon-R, dişi ve erkek popülasyonlarında bakır hidroksit ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) nanopestisitine ait etkilerin *in vivo* ömür uzunluğu testi ile araştırılması. Eurasian J Bio Chem Sci, 7(2):96-101 <https://doi.org/10.46239/ejbcs.1473449>

Özet: Bağ, zeytin ve turuncgil ekili bakır içeren topraklarda kullanılan bakır hidroksit (bir çeşit fungusit) inovatif bir nanopestisitir. Ancak geleneksel pestisitlerin yerini alan nanopestisitler, hedef organizmalar kadar hedef olmayan organizmaları da (omurgalı ya da omurgasız) etkileyebilmektedirler. Bu durum özellikle biyoçeşitlilik bakımından önemli bir risk faktörüdür. Bu çalışmada böyle bir riskin olup olmadığını araştırabilmek için *Drosophila melanogaster* Oregon-R'nin dişi ve erkek popülasyonlarına *in vivo* ömür uzunluğu testi uygulanmıştır. Farklı dozlarda (10, 20, 40 ve 80 ppm) $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisitinin kronik olarak uygulanması ile her iki popülasyonda hem maksimum hem de ortalama ömür uzunluğunun kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür ($p < 0,05$).

Anahtar kelimeler: Nanoformülasyon, çevresel risk, sürdürülebilir tarım, inovatif ürün

*Investigation of the effects of copper hydroxide ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) nanopesticide on female and male populations of a wild-type and non-target model organism, *Drosophila melanogaster* Oregon-R, by *in vivo* longevity test*

Abstract: Copper hydroxide (a type of fungicide) is an innovative nanopesticide used in vineyard, olive and citrus cultivated copper-containing soils. However, nanopesticides, which replace traditional pesticides, can affect non-target organisms (vertebrates or invertebrates) as well as target organisms. This situation is an important risk factor, especially in terms of biodiversity. In this study, *in vivo* longevity testing was applied to male and female populations of *Drosophila melanogaster* Oregon-R to investigate whether there is such a risk. With the chronic application of $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopesticide at different doses (10, 20, 40 and 80 ppm), it was observed that both maximum and average lifespan decreased in both populations compared to the control group ($p < 0,05$).

Keywords: Nanoformulation, environmental risk, sustainable agriculture, innovative product

1. Giriş

Nanometre (nm), gözle görülemeyen mikroskobik maddeleri ölçmek için kullanılan matematiksel bir ölçü birimi olup metrenin milyarda biridir. Nanometre ile metrenin büyüklük olarak karşılaştırması yapılırken bir bilye ile dünyanın büyüklüğü karşılaştırılmalıdır. Bir başka ifade ile nm, günlük yaşantımızda kullanılan ölçü birimleri ile karşılaştırılamayacak kadar küçük bir boyuttur. Nano parçacık ise 1-100 nanometre boyutlarındaki tek bir maddeyi ifade etmek için

kullanılmaktadır. Bu büyüklükteki parçacıklar ne çıplak gözle ne de ışık mikroskobu ile görülemezler.

1 ile 100 nanometre arasında değişen ölçülerde yapılan teknolojik çalışmalarının tümü ise nanoteknoloji olarak tanımlanmaktadır (Seaton ve Donaldson 2005). Nanoteknoloji, fonksiyonel sistemlerin kurulumu için "moleküler ölçekte mühendislik bilimi" (moleküler nanoteknoloji) olarak da tanımlanabilir. Bu bilim dalı, makro ölçekte ürünlerin imalatı için atomların

ve moleküllerin kontrolünü sağlamaktadır. Günümüzde hayatın pek çok alanında daha fonksiyonel ve küçük boyutlu ürünlerin imal edilmesi için nanoteknolojiden faydalanılmaktadır (Hanks ve ark. 2015). Nanoteknoloji disiplinler arası bir bilim dalı olup fizik, kimya, biyoloji, bilgisayar, tekstil, kozmetik, eczacılık ve tıp alanlarında nanoteknolojik gelişmeler kullanılmaktadır. Tıpta teşhis ve tedavi süreçlerinde, akıllı ilaçların geliştirilmesinde, sensör, sinyal iletimi, gösterge sistemleri ile savunma sanayinde, nanoteknolojik kumaş üretimi gibi oldukça farklı alanlarda nanoteknolojiden faydalanılmaktadır. Ayrıca altın, gümüş, çinko ve bakır gibi inorganik nanopartiküller ile de zirai alanlarda kullanılan nanopestisitler üretilmektedir (Xu ve ark. 2006). Nanopartiküller orman yangınları, buharlaşma, volkanik patlamalar, çöl tozları ve erozyon sonucu doğal yollarla çevrede bulunabilirler. Egzoz gazları, fosil yakıt kullanımı veya endüstriyel işlemler sonucunda, ayrıca ilaçlama yapılması, biyomedikal görüntüleme teknikleri ve kozmetik ürünler ile de doğaya partikül salınımı gerçekleşebilmektedir.

Dünya nüfusunun hızla artması ile birlikte çarpık kentleşme ve betonlaşmadan kaynaklanan ekilebilir tarım arazilerinin azalması açlık tehlikesine sebep olabilecek nedenlerden birisidir. Bu nedenle birim alandan alınan ürün miktarının artırılabilmesi için günümüzde hala geleneksel pestisitler kullanılmaktadır. Bu tip pestisitlerin yanlış ve fazla kullanımı ürünler üzerinde kalıntı oluşturmakta ve besin zincirine bağlı olarak diğer canlılarda da pestisit maruziyeti meydana gelebilmektedir. Sadece bu sebep bile insan ve hayvanların pestisit toksisitesine maruz kalmasına neden olmaktadır. Pestisitlere kronik olarak maruz kalınması ise kanser gibi ciddi sağlık problemlerini tetiklemektedir. Ayrıca doğal koşullarda hedef organizmalar kadar hedef olmayan organizmaların da yok olmaları ekolojik dengenin temel parametrelerinden birisi olan biyoçeşitlilik bakımından risk oluşturmaktadır (Özyurt ve ark. 2018). Nanoteknolojiden faydalanılarak hazırlanan yenilikçi nanopestisitler ise daha az aktif madde içerdikleri için günümüzde zararlılara karşı daha etkin şekilde kullanılmakta ve tercih edilmektedir (Vijayalakshmi ve ark. 2015; Ram ve ark. 2017; Raghvendra ve ark. 2021).

Nanopestisit için evrensel bir tanım bulunmamaktadır. Ancak "etken madde ve yardımcı materyalleri nano boyutta içeren pestisit" tanımı bu alanda çalışan otoriteler tarafından oldukça uygun görülmektedir (Chowdappa ve Shivakumar 2013). Nanopestisitlerin boyutları onların verimliliklerini ve hedef hücreye girebilme etkinliklerini artırmaktadır. 150nm'den küçük olan partikül büyüklüğüne sahip pestisitler hücre zarından geçerek etki alanına ulaşabilmektedir. Yüksek çözünürlük, üstün penetrasyon, kontrollü salınım, hedef odaklı pestisit olmaları ve biyolojik performanstaki artış nanopestisitlerin tercih sebeplerindedir (Kumar ve ark. 2019). Ayrıca çevre güvenliği bakımından biyolojik olarak parçalanabilen malzemelerden yapılmış olmaları da nanopestisitlerin kullanımını her geçen gün artırmaktadır. Ancak düşünebildiğimizden daha küçük boyutlu olan

nanopartiküllerin nanopestisitlerin kullanımı sırasında çevreye salınması hava yoluyla taşınmasına da sebep olabilmektedir. Bu durumda nanopestisitler yalnızca kullanıldıkları çevrede değil aynı zamanda daha uzak bölgelerde de omurgalı ve omurgasız hayvanlar, bitkiler ve insanlarda olumsuz biyoetkileşime sebebiyet verebilirler. Nanopestisitlere dayalı bir başka risk de "sürdürülebilir ekolojik denge bakımından yaşanan çevredeki toprak, su ve hava kirliliğidir (Khan ve Rizvi 2014).

Günümüzde modern insanın ihtiyaçlarına uygun ve hayatını kolaylaştıracak inovatif ürünlerin geliştirilmesi son derece önemlidir. Nanoteknoloji bunları sağlayabilecek teknolojik yaklaşımlara sahip bir bilim dalıdır. Ancak nanoteknolojik ürünlerin insan ve ekosistem bakımından pek çok sorun yaratabileceği de göz ardı edilmemelidir (Buseck ve Pósfai 1999; Kah ve ark. 2013). Çünkü Buzea ve ark. (2007)'a göre, bu teknolojiye bağlı gelişmeler ile ortamdaki nanopartiküllerin miktarı ve çeşidi artış göstermiştir. Yeni bir teknoloji olmasından dolayı da nanopartiküllerin farklı organizmalarda ne gibi zararlı etkilerinin olabileceği pek bilinmemektedir. Bu nedenle nanopartiküllerin daha az zararsız olabilmesi için nanoteknolojik ürünlerin "güvenilirlik test süreleri" son derece önemlidir. Ancak bu tip ürünlerin piyasaya sunulma sürelerinin yeterli olup olmadığı bile hala tartışmalıdır.

İnsanların nano ürünleri kullanımı ile nanopartiküller vücudumuza solunum, beslenme ve deri yoluyla girerek kana geçmekte ve pek çok organa ulaşabilmektedir. (Medina ve ark. 2007). Hatta tüm canlılar üretim aşamasında bile doğaya saçılan nanopartiküllere solunum ya da besin zinciri yoluyla maruz kalabilirler. Bu nedenle, nanopartikül içeren ürünler, günlük hayat için kullanıma sunulmadan önce dokulara karşı alerjik reaksiyon özellikleri, biyolojik uyumluluğu ve genetik açıdan toksisitesi bakımından mutlaka araştırılmalıdır. Özellikle sağlık alanında kullanılan metal nanopartiküllerin insanlarda hücre zehirlenmesine yol açtığı yapılan genetik toksisite testlerinden anlaşılmaktadır. Yine metal nanopartiküllerin insanlarda genotoksik potansiyele sahip oldukları ve nanopartiküllerin konsantrasyon artışına paralel olarak DNA hasarında artış olduğu Revell (2006) tarafından saptanmıştır. Genellikle bu tip partiküller, Patra ve Goswami (2012)'ye göre, membran proteinlerine bağlanarak onların çalışmasını engellerler ve membran geçirgenliğini bozarlar. Buna ilaveten metal nanopartiküller reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumuna sebep olabilirler (Zeng ve ark. 2007). Nanomalzemelere bağlı olarak ROT oluşumu ise vücutta alerjik reaksiyonlara, otoimmün sistemde zayıflama, inflamatuvar, mutajenik ve karsinojenik etkilere yol açabilmektedir (Pfuhrer ve ark. 2013).

Sayısı ve çeşidi her geçen gün artan küresel tehditlere karşı biyoyararlılıkları bakımından nanopestisitlerin yenilenmiş etkinlikleriyle tarım alanlarında kullanılması insan ve çevre sağlığı bakımından son derece önemsenmektedir. Nanoteknoloji tabanlı bu gelişme ile şimdiye kadar bilinen pestisitlere göre daha az oranda aktif madde içeren ve kontrollü salım ile uzun süreli koruma sağlayabilen nanopestisitler günümüzde üretici için oldukça cazip hale

gelmiştir. Ancak nanopestisitler, bu yenilikçi özelliklerinden dolayı tarım alanlarında kullanılırken bazı risklere de sebep olabilirler. Bu amaçla da nanopestisitlerin öncelikle kullanıcıya, flora ve fauna üzerine risklerinin model organizmalar kullanılarak kısa süreli *in vivo* testler ile toksisite bakımından değerlendirilmesi oldukça önemlidir (Amorim ve ark. 2020). Özellikle sunulan bu çalışmada üzerinde durulan en önemli nokta, nanopestisitlerin hedef olmayan organizmalar için risk oluşturup oluşturmadığının belirlenebilmesidir ve tarım alanlarında kullanılan inorganik bakır hidroksit ($\text{Cu}(\text{OH})_2$) nanopestisitinin hedef olmayan model organizmalardan birisi olan *Drosophila melanogaster* Oregon-R'nin ömür uzunluğu üzerine etkileri erkek ve dişi popülasyonlarında ayrı ayrı *in vivo* olarak araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisiti (Cas No. 20427-59-2) molekül ağırlığı 7,56gr/mol, yoğunluğu 3,36 gr/cm³, erime noktası 80°C olan bir çeşit fungusittir ve Hefei TNJ Chemical Industry Co., Ltd. şirketinden satın alınmıştır. Stok kültürlerin ve uygulama gruplarının beslenmesi için kullanılan Standart *Drosophila* besiyerinin (SDB) içeriğini oluşturan agar agar (Cas No. 9002-18-0) ve küf inhibitörü propionik asit (Cas No. 79-09-4) ile ergin bireylerin eterizasyonu için kullanılan dietil eter (Cas No. 60-29-7) gibi kimyasal maddeler de Sigma-Aldrich Firması'ndan (St. Louis, MO, USA) temin edilmiştir.

2.2. Kullanılan Model Organizma ve Deney Koşulları

Uygulamalarda kullanılan *Drosophila melanogaster* Oregon-R (Diptera: Drosophilidae) kahverengi vücutlu, uzun kanatlı, yuvarlak-kırmızı gözlü herhangi bir mutant karakter taşımayan yabani tip soydur. Bu soy, Atatürk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda 1988 yılından bu yana kendileştirilmiş ve genetik olarak ileri derecede homojen bir laboratuvar stoğudur. *Drosophila* stok kültürleri, %40-60 bağıl nem, 25±1°C sıcaklık ile sürekli karanlık koşulları taşıyan ısıtmalı-soğutmalı sıcaklık kabinlerinde, içinde SDB bulunan 250ml'lik şişelerde yaşatılmaktadır (Uysal ve ark. 2006). Stok kültürler her 15 günde bir taze SDB'ye aktararak yeni yavru bireyler elde edilmektedir.

2.3. Ömür uzunluğu deneylerinin yapılışı

Kısa süreli *in vivo* deneysel yöntemlerden birisi olan bu çalışma ile $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisitinin ömür uzunluğu üzerine etkisi *D. melanogaster*'in dişi ve erkek popülasyonlarında ayrı ayrı araştırılmıştır. Deneysel prosedür için öncelikle 10♀♀ X 10♂♂ çaprazlamaları yapılmış ve çaprazlamanın yapıldığı tarihten itibaren kültür şişeleri içinde pupanın görüldüğü yaklaşık 7.gün itibariyle ebeveynler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Pupadan çıkan♀♀ ve♂♂ bireyler, 4-5 saatte bir henüz çiftleşmeden 3 gün süreyle toplanmışlardır. Böylece 1-3 günlük aynı yaşlı (72±4saatlik) 100'er birey ile kontrol ve uygulama grupları olmak üzere iki ayrı deney seti hazırlanmıştır. Kontrol grubu yalnızca SDB ile uygulama

grupları ise SDB+ suda çözülen farklı dozlarda $\text{Cu}(\text{OH})_2$ (10, 20, 40 ve 80 ppm) ile hazırlanmıştır. Nanopestisit uygulamaları kronik olarak ve üç tekrarlı yapılmıştır.

Deneysel, her iki deney seti için eş zamanlı başlatılmıştır. Bu amaçla, önce kontrol ve uygulama gruplarına ait tüm ergin sinekler kültür şişeleri içinde 2 saat aç bırakılmıştır. Her gruba ait♀♀ ve♂♂ bireyler, haftada iki kez gerçekleştirilecek sayımların kolay yapılabilmesi için, dört ayrı gruba ayrılmış ve kültür şişelerine 25'er birey olacak şekilde konulmuştur. Uygulama ve kontrol grubuna ait tüm kültür şişeleri aynı şartlarda uygun sıcaklık kabinlerinde tutulmuş ve uygulamalar süresince besinler haftada iki kez tazelenmiştir. Birey sayıları her uygulama günü kontrol edilip ölen bireyler ortamdan uzaklaştırılmış ve yaşayan bireyler ile kronik pestisit uygulamasına devam edilmiştir. Her bir uygulama grubunda en son birey ölünceye kadar kayıtlar dikkatle tutulmuştur.

2.4. İstatistiksel yöntemler

Ömür uzunluğu deneylerinden elde edilen verilerle ilgili istatistiksel analizler SPSS 13.0 programı ile yapılmıştır. Kontrol ve uygulama gruplarının ömür uzunluğu ortalamaları istatistiksel olarak %5 düzeyinde Duncan testiyle karşılaştırılmıştır. Dişi ve erkek bireylerin karşılaştırılması için de bağımsız gruplara istatistiksel olarak %5 düzeyinde X² testi uygulanmıştır.

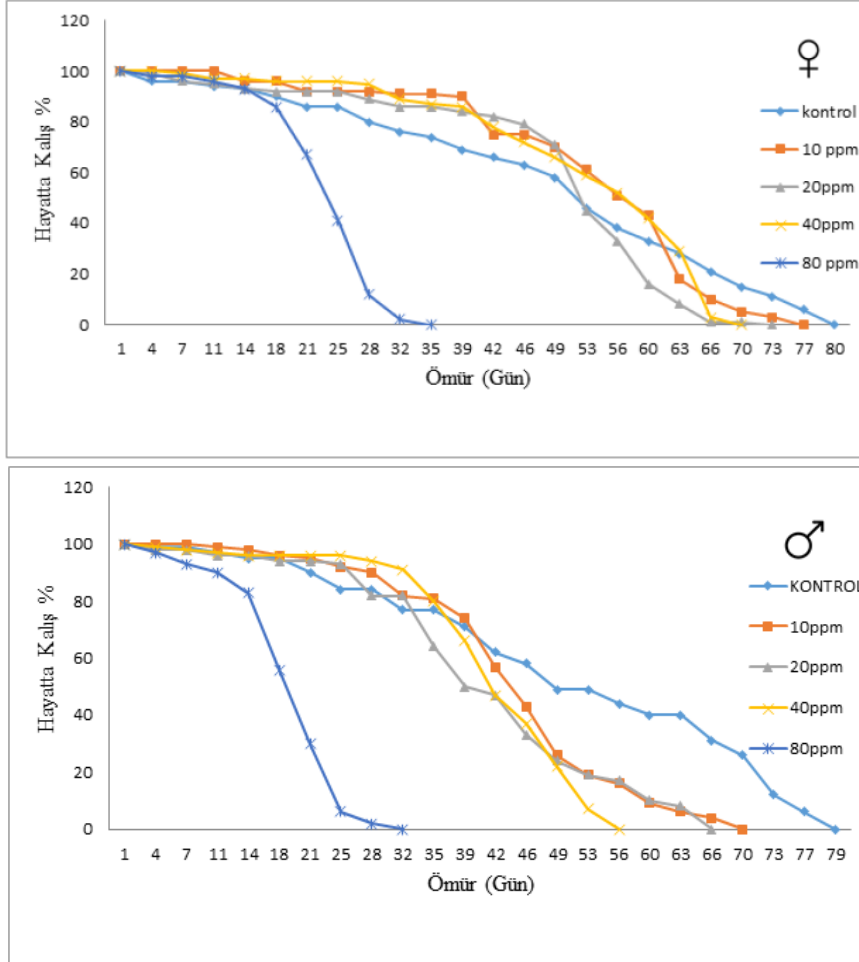
3. Bulgular ve Tartışma

Sunulan bu çalışmada kısa süreli *in vivo* ömür uzunluğu testi için♀♀ ve♂♂ popülasyonlarında hem maksimum ömür uzunluğu hem de ortalama ömür uzunluğu dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Deneysel prosedürde de bahsedildiği gibi $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisiti suda çözünebildiği için kontrol grubu olarak yalnızca distile su ile hazırlanan SDB (1) kullanılmıştır. Maksimum ömür uzunluğu♀♀ popülasyonu için kontrol grubunda 80 gün ve♂♂ popülasyonu için de 79 gün olarak belirlenmiştir. Uygulama grubunda ise bu değerler dişi popülasyonunda 2 nolu deney grubunda 77 gün; 3 nolu deney grubunda 73 gün; 4 nolu deney grubunda 70 gün ve 5 nolu deney grubunda ise 35 gün olarak bulunmuştur (Şekil 1). Erkek popülasyonuna ait maksimum ömür uzunluğu değerleri de en düşük uygulama grubundan (2) en yüksek uygulama grubuna doğru (5) 70 günden 32 güne kadar gerilemiştir (Şekil 2). Tüm bu değerler doz artışına bağlı olarak $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisitinin maksimum ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre özellikle en yüksek uygulama gruplarında (5)♀♀ popülasyonu için %43,75 ve♂♂ popülasyonu için de %40,51 oranında azalttığını göstermektedir (Tablo 1).

D. melanogaster'in♀♀ ve♂♂ popülasyonlarına ait ortalama ömür uzunluğu değerleri de Tablo 1'de görülmektedir.♀♀ popülasyonunda kontrol grubu (1) için ortalama ömür uzunluğu 65,87±1,43 gün iken♂♂ popülasyonunda bu değer 58,95±1,63 gündür.♀♀ popülasyonunda ortalama ömür uzunluğu değerleri, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisitinin artan dozuna bağlı olarak (2, 3, 4 ve 5 nolu uygulamalar için) sırasıyla 54,33±1,45;

50,63±1,47; 53,90±1,39 ve 24,49±0,56 gün iken ♂♂ popülasyonunda aynı uygulamalar için bu değerler 45,28±1,22; 42,37±1,37; 42,61±1,01 ve 19,79±0,57 gün olarak hesaplanmıştır. Ortalama ömür uzunluğu bakımından kontrol ve uygulama grupları arasında gözlenen bu fark hem dişi hem de erkek popülasyonu için istatistiki olarak $p<0,05$ düzeyinde önemlidir (Tablo 1). Bu çalışmada ayrıca ortalama ömür uzunluğu bakımından

regresyon düzeyleri de belirlenmiş ve dişi popülasyonu için $R= -0,622$ ve erkek popülasyonu için de $R= -0,655$ olarak bulunmuştur. Hem maksimum hem de ortalama ömür uzunluğu bakımından kontrol grubuna göre uygulama gruplarında gözlenen gerilemeler $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisitinin her iki popülasyonda da sınırlayıcı bir faktör olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀♀ ve ♂♂ bireylerine ait ömür eğrileri

Tablo 1. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ uygulanmış *D. melanogaster*'in ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait maksimum ve ortalama ömür uzunluğu değerleri ile regresyon düzeyleri

| Cu(OH) ₂ nanopestisiti | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------|---------------|---------------------------|------------------------------------|--------------|---------------|---------------------------|------------------------------------|
| | | ♀♀ | | | ♂♂ | | | |
| Deney grupları | Birey sayısı | Maksimum ömür | Ortalama ömür uzunluğu±SH | Önem kontrolü(p) | Birey sayısı | Maksimum ömür | Ortalama ömür uzunluğu±SH | Önem kontrolü(p) |
| Distile su kontrol (1) | 100 | 80 | 65,87±1,43 | 1-2,3,4,5* 2-5* 3-5* 4-5* | 100 | 79 | 58,95±1,63 | 1-2,3,4,5* 2-5* 3-5* 4-5* |
| 10 ppm (2) | 100 | 77 | 54,33±1,45 | | 100 | 70 | 45,28±1,22 | |
| 20 ppm (3) | 100 | 73 | 50,63±1,47 | | 100 | 66 | 42,37±1,37 | |
| 40 ppm (4) | 100 | 70 | 53,90±1,39 | | 100 | 56 | 42,61±1,01 | |
| 80 ppm (5) | 100 | 35 | 24,49±0,56 | | 100 | 32 | 19,79±0,57 | |
| Regresyon düzeyi | R= -0,622 | | | | R= -0,655 | | | |

SH:Standart hata, * $p<0,05$ düzeyinde önemlidir.

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (Food and Agriculture Organization/FAO), dünyada herhangi bir bölge ya da ülkede baş gösterebilecek açlığı yok etmek ve beslenme şartlarını iyileştirmek amacıyla 1943 yılında kurulmuş bir örgüttür. FAO (2018)'ya göre, pestisitlerin etkin ve yaygın şekilde uygulanmasına rağmen dünyada zirai mahsullerin % 40'a yakın kısmı bitki zararlıları ve bitkisel hastalıklardan etkilenmektedir. Bu bağlamda "Agrokimya"ya (tarım ürünlerini hammadde olarak kullanarak çeşitli kimyasal faaliyetler ile nitelik ve niceliklerini iyileştiren, aynı zamanda bitkiler için zirai ilaçlar ve gübreler üreten kimyanın alt bilim dallarından birisi) dayalı olarak artan dünya nüfusunun açlığa karşı korunabilmesi için ürün kaybının azaltılması, verimin artırılması, ekosistemlerin doğru yönetimi ve çevrenin korunabilmesi amacıyla tarımsal uygulamalarda pestisit veya gübre kullanımı gerek şart olarak görülmektedir (Das 2018). Ancak daha az ve dayanıklı aktif madde kullanılarak maliyetin azaltılması, böylece birim alandan alınan ürün miktarının artırılması, geleneksel pestisitlerin çevre üzerindeki baskısının en aza indirgenmesi ile sürdürülebilir tarım gibi bir dizi fayda agrokimyaya göre yeni nanoteknolojik gelişme ile elde edilen nanopestisitleri ön plana çıkarmaktadır (Sharon ve ark. 2010). Ticari kimyasal pestisitlere göre nanopestisitler hedef organizmalar üzerine düşük konsantrasyonlarda bile daha fazla etki göstermektedir (Kah ve ark. 2013). Son yıllarda özellikle bakır bazlı nanopestisitler toprakların çoğunda bakır bulunduğu ve diğer kimyasal pestisitlere göre daha az toksik kabul edildiklerinden dolayı oldukça yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Kamel ve Mousa 2015). Bakır bazlı nanopestisitlerin özellikle üzüm bağı, zeytin, turuncgil, patates ve domates ekili alanlarda yaygın görülen hastalıklarla mücadelede etkili ve mükemmel koruma sağladığı da bildirilmektedir (Zhao ve ark. 2018).

Günümüzde organik ve inorganik olmak üzere üretilen ve zirai amaçlı olarak kullanılan nanopestisitlerin sayısı arttıkça bu pestisitlerin kültür bitkileri ve hedef olmayan diğer organizmalar üzerine olası etkilerinin anlaşılması insan ve çevre sağlığı açısından oldukça önemlidir (Jacques ve ark. 2017; Fojtova ve ark. 2019). Bu amaçla özellikle nanopestisitlerin biyoakümüülasyonunun belirlenebilmesi için model bir organizma olan *D.melanogaster* ve *in vivo* ömür uzunluğu testi ideal bir biyobelirteçtir.

Tablo 1'de de görüldüğü gibi uygulama gruplarında $Cu(OH)_2$ nanopestisitinin artan dozlarda ve kronik olarak kullanımı, dişi ve erkek bireylerde biyoakümüülasyona dayalı olarak maksimum ve ortalama ömür uzunluğunu kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşürmüştür ($p<0,05$). Çünkü deneysel prosedüre göre, uygulama gruplarına ait sıcaklık, bağıl nem ve besiyeri içeriği gibi ortam şartları stabil tutulmuştur ve tek değişgenin besiyerine farklı dozlarda ilave edilen $Cu(OH)_2$ nanopestisiti olması sebebiyle ömür uzunluğunda meydana gelen değişmeler tarafımızdan bu nanopestisite atfedilmektedir. Özellikle Şekil 1'de verilen ♀♀ ve ♂♂ popülasyonlarına ait dikkörtgösel ömür eğrileri, $Cu(OH)_2$

nanopestisitinin sebep olduğu toplu ölümleri açıkça göstermektedir. Khan ve Rizvi (2014)'ye göre, nanopestisitler kullanıldıkları alanlarda bitkilerin yaprak ve çiçek kısımlarına akümüle olarak stomaların tıkanmasına, stigma üzerinde polen çimlenmesini engelleyen bir tabaka oluşumuna ve vasküler dokulara girerek su, besin gibi ürünlerin taşınmasına olumsuz etkilerde bulunabilirler. Nanopestisitler insan ve hayvanlar tarafından teneffüs edildiğinde de akciğerlerde alveollere kadar girebilmekte ve gaz alışverişini engelleyerek solunumu güçleştirmektedir. Özellikle tarım arazilerinde hedef olmayan omurgasız hayvanlar için de benzeri bir mekanizma ile ister doğal ortamda hava yoluyla taşınma dayalı olarak ister sunulan bu çalışmada olduğu gibi *Drosophila* popülasyonunun kronik beslenmesi ile organizma tarafından alınan nanopestisit partikülleri, vücudu ağ gibi saran tübüler yapıdaki trake sistemini tıkayarak solunum güçlüğüne bağlı toplu ölümlere sebep olabilmektedir. Şekil 1'de doz artışı ile birlikte görülen dikkörtgösel grafikler, tarafımızdan biyoakümüülasyonun göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Popülasyon büyüklüğünü etkileyen ve popülasyonun yaşlanmasına sebep olan faktörler olarak bilinen coğrafik izolasyonlar, seleksiyon, mutasyon, göçler ya da doğum ve ölüm oranları arasında özellikle herhangi bir faktöre dayalı ölüm oranlarındaki artış, bu çalışmada olduğu gibi hem ömür uzunluğunu kısaltmakta hem de buna paralel olarak popülasyonun yaşlanmasına sebep olmaktadır. Ancak bize göre, nanopestisitler biyoakümüülasyona dayalı ölümleri tetikleyerek popülasyon yaşlanmasına neden olabileceği gibi genotoksisiteye dayalı mutasyon teorisi, proteinlerin değişikliğe uğrama teorisi ya da oksidatif stres teorisi gibi yaşlanma teorilerine bağlı olarak da günümüzde popülasyon yaşlanmasını hızlandırabilecek inovatif bir faktör olarak kabul edilebilir. Çünkü Lemire ve ark. (2013)'a göre, hücrel proteinlere bağlanabilen nanopartiküller hem membranda yer alan integral proteinlerin hem de sitoplazmada bulunan periferik proteinlerin düzgün çalışmasını engelleyerek hücre geçirgenliğinde ve hücrel taşımadaki bozulmalara sebep olabilmektedir. Zeng ve ark. (2007)'a göre de, nanopartiküller DNA'ya bağlanarak genotoksik etkisiyle hücrel ölümleri uyurabilmektedir. Ayrıca ROT'ların miktarını artırarak yine hücrel düzeyde oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasına da sebep olabilmektedir. Tüm bu mekanizmalar canlı sistemlerde tek başına çalışabildiği gibi bir ya da daha fazla mekanizma eş zamanlı olarak ömür uzunluğu üzerinde ket vurucu etki gösterebilir. Ayrıca yukarıda sayılan mekanizmalar kapsamında *Drosophila* gibi hedef olmayan herhangi bir organizmanın nanopestisitlerden etkilenmiş olması biyoçeşitlilik bakımından da sınırlandırıcı bir faktör olarak gözden uzak tutulmamalıdır (Gomes ve ark. 2019).

4. Sonuç

Geleneksel pestisitler, amaç dışı ve doz aşımına bağlı kullanımlarından dolayı faydalı ve/veya hedef olmayan türlerin yok oluşuna, gıdalar üzerinde kalıntı oluşumuna, dirençli zararlıların gelişimine ve özellikle ilk etapta

kullanıcılarda zehirlenme etkileri ile ileri boyutlarda kanser gibi olası sağlık sorunlarına sebep olmaktadır. Tüm bu sorunların yaşanmaması için günümüzde nanoteknolojik üretim teknikleri kullanılarak çok daha az oranda aktif madde içeriğine sahip ticari nanoformülasyonlar üretilmektedir. Ancak ultraküçük boyutlara sahip olmasıyla birçok alanda başarıyla kullanılabilen nanopartiküller, bitki koruma amaçlı kullanılmadan önce farklı mutajenite, toksisite ve hatta genotoksisite testlerine tabi tutulmalıdır. Çünkü nanopestisitler yalnızca kullanıldıkları alanlardaki bitkileri değil daha uzak bölgelerdeki flora ve faunayı da etkileyebilmektedir. Bu sebeple, nanoteknoloji tabanlı ürünlerin bitki koruma amaçlı kullanımından önce ekosistemde oluşturabileceği riskler bakımından detaylı araştırılması çevre ve farklı canlı toplulukları bakımından gerek şarttır.

Kaynaklar

- Amorim MJB, Fernandez-Cruz ML, Hund-Rinke K, Scott-Fordsmand JJ. 2020. Environmental hazard testing of nanobiomaterials. *Environ Sci Eur*. 32: 101.
- Buseck PR, Pósfai M. 1999. Airborne minerals and related aerosol particles: effects on climate and the environment. *Proc Natl Acad Sci*. 96(7): 3372-3379.
- Buzea C, Blandino IIP, Robbie K. 2007. Nanomaterials and nanoparticles: sources and toxicity. *Biointerphases*. 2(4): 17-71.
- Chowdappa P, Shivakumar G, 2013. Nanotechnology in crop protection: Status and scope. *Pest Manag Horticult Ecosyst*. 19(2): 131-151.
- Das SK. 2018. Nanoscience in agriculture for agrochemicals. *Acta Sci Agric*. 2:1.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2018. The importance of bees and other pollinators for food and agriculture: Slovenia, Balkans.
- Fojtova D, Vasickova J, Grillo R, Bilkova Z, Simek Z, Neuwirthova N, Kah M, Hofman J. 2019. Nanoformulations can significantly affect pesticide degradation and uptake by earthworms and plants. *Environ Chem*. 16: 470-481.
- Gomes SIL, Scott-Fordsmand JJ, Campos EVR, Grillo R, Fraceto LF, Amorim MJB. 2019. On the safety of nanoformulations to non-target soil invertebrates. An atrazine case study. *Environ Sci Nano*. 6: 1950-1958.
- Hanks NA, Caruso JA, Zhang P. 2015. Assessing *Pistia stratiotes* for phytoremediation of silver nanoparticles and Ag(I) contaminated waters. *J Environ Manag*. 164: 41-45.
- Jacques MT, Oliveira JL, Campos EVR, Fraceto LF, Avila DS. 2017. Safety assessment of nanopesticides using the roundworm *Caenorhabditis elegans*. *Ecotoxicol Environ Saf*. 139: 245-253.
- Kah M, Beulke S, Tiede K, Hofmann T. 2013. Nanopesticides: state of knowledge, environmental fate, and exposure modeling. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 43: 1823-1867.
- Kamel A, Mousa A. 2015. Nanobiofungicides: are they the next-generation of fungicides? *J Nanotechnol Mater Sci*. 2(1): 1-3.
- Khan MR, Rizvi TF. 2014. Nanotechnology: scope and application in plant disease management. *Plant Pathol J*. 13(3): 214-231.
- Kumar S, Nehra M, Dilbaghi N, Marrazza G, Hassan AA, Kim KH. 2019. Nano-based smart pesticide formulations emerging opportunities for agriculture. *J Control Release*. 294: 131-153.
- Lemire JA, Harrison JJ, Turner RJ. 2013. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat Rev Microbiol*. 11(6): 371-384.
- Medina C, Santos-Martinez MJ, Radomski A, Corrigan OI, Radomski MW. 2007. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance. *Br J Pharmacol*. 150: 552-560.
- Özyurt E, Kızılet H, Uysal H. 2018. Bio-interaction of chlordane on non-target organisms. *Commagene J Biol*. 2 (1): 48-54.
- Patra P, Goswami A. 2012. Zinc nitrate derived nano ZnO: Fungicide for disease management of horticultural crops. *Int J Innov Horticult*. 1(1):28-33.
- Pfuhler S, Elespuru R, Aardema MJ, Doak SH, Donner EM, Honma M. 2013. Genotoxicity of nanomaterials: refining strategies and tests for hazard identification. *Environ Mol Mutagen*. 54 (4): 229-268.
- Raghvendra PS, Rahul H, Geetanjali M. 2021. Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *Environ Sci Process Impacts*. 329:1234-1248.
- Ram P, Atanu B, Quang DN. 2017. Nanotechnology in sustainable agriculture: recent developments, challenges, and perspectives. *Front Microbiol*. 8: 1-13.
- Revell PA. 2006. The biological effects of nanoparticles. *Nanotechnol Percept*. 2: 283-381.
- Seaton A, Donaldson K. 2005. Nanoscience, nanotoxicology, and the need to think small. *Lancet*. 365: 923-927.
- Sharon M, Choudhary AK, Kumar R. 2010. Nanotechnology in agricultural diseases and food safety. *J Phytol* 2(4): 83-92.
- Uysal H, Şişman T, Aşkın H. 2006. *Drosophila* biyolojisi ve çaprazlama yöntemleri. Erzurum, Türkiye, Atatürk Üniversitesi Yayınları, 53 pp. ISBN:975-442-111-0.
- Xu ZP, Zeng QP, Lu GQ, Yu AB. 2006. Inorganic nanoparticles as carriers for efficient cellular delivery. *Chem Engrg Sci*. 61: 1027-1040.
- Vijayalakshmi C, Chellaram C, Kumar SL. 2015. Modern approaches of nanotechnology in agriculture-A review. *Biosci Biotechnol Res Asia*. 12(1): 327-331.
- Zeng F, Hou C, Wu SZ, Liu XX, Tong Z, Yu SN. 2007. Silver nanoparticles directly formed on natural macroporous matrix and their anti-microbial activities. *Nanotechnol*. 18:1-8.
- Zhao X, Cui H, Wang Y, Sun C, Cui B, Zeng Z. 2018. Development strategies and prospects of nano-based smart pesticide formulation. *J Agric Food Chem*. 66: 6504-6512.