

## Eş Zamanlı Uygulanan İnektisit ve Tuz Streslerinin Biber Bitkisinde (*Capsicum annuum* L.) Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Etkileri

Armağan KAYA \* 

Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Temel Bilimleri Bölümü  
Alanya/Antalya

Geliş / Received: 19/09/2019, Kabul / Accepted: 15/12/2019

### Öz

İnektisiler tarımsal üretimde böceklerle mücadelede kullanılan pestisitlerdir. Metaflumizone özellikle sebze yetiştiriciliğinde yaygın olarak kullanılan bir inektisittir. Bu çalışma metaflumizone uygulamasının biber bitkisinde meydana getirdiği değişimleri belirlemeyi ve bu değişimler üzerine tuz stresinin etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır. Bu amaçla biberde 50 mM NaCl ve farklı dozlarda metaflumizone (1.2, 2.4 ve 4.8 mM) streslerinin ayrı ayrı ve eş zamanlı uygulamalarının etkileri incelenmiştir. 1.2 mM metaflumizone uygulaması bitkilerde önemli bir değişime sebep olmamıştır. Bununla birlikte yüksek dozda metaflumizone uygulaması % RWC, toplam klorofil ve karotenoid içeriklerinde azalmaya, APX, GST, GR aktiviteleri ile GSH, MDA ve prolin içeriklerinde bir artışa sebep olmuştur. Bitkilere metaflumizone ile eş zamanlı olarak NaCl uygulanması inektisit meydana getirdiği değişimleri indüklemiştir. Bu çalışma inektisit ve tuz streslerinin sinerjistik etki gösterdiğini ve bu nedenle inektisit ile eş zamanlı uygulanan tuz stresinin inektisit etkisi ile oluşan hasarı arttırdığını ortaya çıkarmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Metaflumizone, NaCl, *Capsicum annuum* L., antioksidan aktivite

### The Effects of Combined Insecticide and Salt Stresses on Some Physiological and Biochemical Parameters of Pepper Plant (*Capsicum annuum* L.)

### Abstract

Insecticides are the pesticides that are commonly used to kill insect in agriculture. Metaflumizone is a commonly used insecticide in vegetable cultivation. The aim of this study is to determine the changes on pepper plant due to metaflumizone application and to investigate the effect of salt stress on these changes. For this purpose 50 mM NaCl and different concentrations of metaflumizone (1.2, 2.4 ve 4.8 mM) was used as a stress factor in the separate and simultaneous applications at the pepper. 1.2 mM metaflumizone application did not cause significant changes in plants. Meanwhile, high concentrations of metaflumizone decreased % RWC, total chlorophyll, and carotenoid while increasing APX, GST, GR activities as well as GSH, MDA, and prolin contents. Application of NaCl to the plants simultaneously with metaflumizone induced changes caused by insecticide. This study showed that the insecticide and salt stresses show synergistic effect and therefore the salt stress simultaneously with metaflumizone increases the insecticide effect.

**Keywords:** Metaflumizone, NaCl, *Capsicum annuum* L, antioxidant activity

## 1. Giriş

Günümüzde çevre kirliliğinin en önemli nedenlerinden biri tarımsal alanlarda kullanılan pestisitlerdir. Pestisitler tarımsal alanlarda hastalık ve zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılan kimyasal bileşiklerdir. Dünya nüfusunun hızla artışı ile birlikte birim alandan daha çok ürün elde etmek önemli hale gelmiştir. Bu nedenle tarımda hastalık ve zararlıların sebep olduğu ürün kaybını azaltmak için zirai mücadelede pestisit kullanımı yaygınlaşmıştır. Ayrıca pestisitler etkilerini kısa sürede gösterdiği için genellikle tercih edilen bir zirai mücadele yöntemi haline gelmiştir (Altıkat vd., 2009; Tiryaki vd., 2010). Ancak yapılan araştırmalar pestisitlerin sadece hedef organizma üzerinde değil aynı zamanda doğadaki diğer canlılar üzerinde de olumsuz etki gösterdiğini ortaya çıkarmıştır (Jiang ve Yang, 2009; Bertrand vd., 2017; Whang ve Zhang, 2017).

İnsektisitler böceklerle mücadelede kullanılan pestisitlerdir. Dünya genelinde insektisit kullanımı % 29 luk bir payla herbisitlerden sonra ikinci sırada yer almaktadır (Kaymak ve ark. 2015). Metaflumizone, (EZ)-20-[2-(4-cyanophenyl)-1-(a,a,a-trifluoro-m-tolyl)ethylidene]-4-(trifluoromethoxy) carbanilohydrazide, bir semikarbazone insektisidi olup sinir sisteminin voltaj kapılı sodyum kanallarını bloke ederek hedef organizmada etkisini gösterir (Salgado ve Hayashi, 2007). Metaflumizone özellikle sebze yetiştirilen alanlarda domates güvesi, yeşil kurt, pamuk yaprak kurdu, patates böceği gibi zararlılarla mücadelede yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu insektisit çevre ve insan sağlığının yanında hedef organizma olmayan yararlı böcekler ve polinatörler için de düşük bir risk taşıdığı da belirtilmektedir (Dong vd., 2009).

Tarımsal alanlarda ürünlerin verim ve kalitesini azaltan tek sebep bitkilerin hastalık ve zararlılara maruziyeti değildir. Ekstrem sıcaklık, kuraklık, tuzluluk vb. koşullar da bitki büyüme ve gelişmesini olumsuz yönde etkileyerek ürünlerde verim ve kaliteyi azaltmaktadır. Tarımsal alanlarda tuzluluk yeraltı sularındaki tuzların, suyun kapiller etkisi ile toprak yüzeyine çıkması ve suyun buharlaşmasının ardından bu tuzların yüzeyde birikmesi sonucu oluşmaktadır (Akgül, 2003). Tuzluluğun bitkiler üzerindeki etkisi bitkinin türüne, gelişme evresine, tuzun çeşidine ve maruz kalınan tuz stresinin süresine ve şiddetine göre değişiklik gösterebilmektedir. Tuzluluk başta fotosentetik aktivite olmak üzere bitkilerde pek çok metabolik olayı etkilemektedir. Bununla birlikte bitkiler bazı fizyolojik, biyokimyasal ve metabolik savunma cevapları oluşturarak tuzluluk koşullarına karşı tolerans geliştirebilirler (Çulha ve Çakırlar, 2011).

Literatürde insektisitler ile ilgili çalışmalar genellikle hayvansal organizmalar üzerinde yoğunlaşmış olup, insektisitlerin bitkiler üzerindeki etkilerini gösteren çalışmalar sınırlıdır. Bertrand vd. (2017)'in klorpirifosa maruz kalan *Potamogeton pusillus* (gölet otu)'da, Whang ve Zhang (2017)'in klorpirifosa maruz kalan buğday (*Triticum aestivum*)'da, Doganlar (2012)'in disulfoton, klorpirifos ve ethiona maruz kalan at teresi (*Veronica beccabunga*)'nde yaptıkları araştırmalar insektisitlerin bitkiler üzerine etkilerini inceleyen araştırmalara örnek olarak verilebilir. Bu çalışmada kullanılan metaflumizone biber (*Capsicum annuum* L.) yetiştirilen alanlarda sıklıkla kullanılan bir insektisit olmakla birlikte bu insektisit biberde oluşturduğu cevaplar ve bu cevaplar üzerine yaygın bir çevresel stres olan tuzluluğun etkisini inceleyen bir çalışma

bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı metaflumizone uygulamasının bir kültür bitkisi olan biberde meydana getirdiği değişimleri belirlemek ve tuz stresinin bu değişimleri nasıl etkilediğini saptamaktır.

## 2. Materyal ve Metot

### 2.1. Bitki Materyali

Anavatanı Orta Amerika ve Meksika olan biber (*Capsicum annuum* L.) *Solanaceae* familyasına ait bir bitki olup, Türkiye’de yaygın olarak batı ve güney bölgelerde yetiştirilmektedir. Besin değeri bakımından önemli bir bitki olan biberin besinsel içeriği farklı biber çeşitlerine göre değişiklik göstermektedir. İnsan beslenmesi açısından önemli bir yere sahip olan bu bitki üretim miktarı bakımından *Solanaceae* familyasında ilk sıralarda yer almaktadır (Korkmaz vd., 2010; Sönmez ve Ellialtıoğlu, 2017).

### 2.2. Bitki gelişimi ve uygulamalar

Bu araştırma için biber tohumu olarak Yüksel Tohum Şirketinden satın alınan “Mert

F1” çeşidi kullanılmıştır. Tohumlar dikimden önce su içerisinde 6 saat şişmeye bırakılmıştır ve sonra torf ve perlit (3:1) içeren saksılarda, 30 °C sıcaklık ve % 65 nem koşullarına sahip iklim odasında yetiştirilmiştir. Yaklaşık 5 haftalık fidelere üç grup halinde stres uygulaması yapılmıştır. Birinci grupta sadece üç farklı dozda (1.2, 2.4 ve 4.8 mM) metaflumizone uygulanmıştır. İkinci grup bitkilere metaflumizone uygulaması yapılmaksızın tuz stresi oluşturmak için sadece 50 mM NaCl uygulaması yapılmıştır. Üçüncü grup bitkilerde ise hem 50 mM NaCl hem de metaflumizone uygulaması eş zamanlı yapılmıştır (Tablo 1). Uygulanan metaflumizonun konsantrasyonları belirlenirken insektisit araziye uygulama dozu temel alınmış ve 2.4 mM yaklaşık arazi dozu olarak belirlenmiştir. Stres uygulamalarından 15 gün sonra bitki yaprak örnekleri toplanmış, yaprakların bir bölümü RWC’yi belirlemek için taze olarak kullanılmış ve geri kalanları diğer parametreleri çalışmak üzere -80°C’de saklanmıştır.

**Tablo 1.** Araştırmada kullanılan uygulama grupları

Uygulamalar	
Saf Su	Kontrol
1.2 mM Metaflumizone	İnsektisit Stresi
2.4 mM Metaflumizone	
4.8mM Metaflumizone	
50 mM NaCl	Tuz Stresi
50 mM NaCl +1.2 mM Metaflumizone	İnsektisit+Tuz Stresi
50 mM NaCl +2.4 mM Metaflumizone	
50 mM NaCl +4.8 mM Metaflumizone	

### 2.3. Nispi Su İçeriği (% RWC) Tayini

Disk şeklinde kesilen yaprakların yaş ağırlıkları (YA) tartıldıktan sonra yapraklar 4 saat distile suda bekletilerek turgorlu hale getirilmiştir. Bu yaprakların turgor durumundaki ağırlıkları (TA) tartıldıktan sonra örnekler etüvde 70 °C'de kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra yaprak örneklerinin kuru ağırlıkları (KA) tartılmıştır. Bu işlemlerden sonra yaprakların nispi su içeriği Barr and Weatherley (1962) yöntemine göre hesaplanmıştır.

### 2.4. Toplam Klorofil ve Karotenoid İçeriği

Toplam klorofil ve karotenoid içeriğinin belirlenmesi De Kok ve Graham (1980)'a göre yapılmıştır. Aseton (50 mL) içerisinde homojenize edilen 1 g yaprak dokusu santrifüj edilmiştir. Örneklerin absorbans değerleri 662, 645, 470 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür ve pigment içerikleri µg/g olarak hesaplanmıştır (Lichtenthaler and Welburn, 1983).

### 2.5. Prolin tayini

0.5 g yaprak örneği %3'lük sülfosalisilik asit ile homojenize edilmiştir. Elde edilen ekstraktın 2 mL'sine 2 mL ninhidrin ve 2 mL glasiyal asetik asit ilave edilmiştir. Karışım 1 saat süreyle 100°C su banyosunda bekletilmiş ve sonra reaksiyonun durdurulması için buz banyosuna alınmıştır. Örneklerin üzerine 4 mL toluen ilave edilmiş ve absorbans değerleri spektrofotometre kullanılarak 520 nm'de ölçülmüştür (Bates vd., 1973).

### 2.6. MDA içeriği

0.5 g yaprak dokusu % 0.1'lik trikloroasetik asit (TCA) içinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat santrifüj edildikten sonra örneğin 2 mL'si üzerine 2 mL

% 0.5'lik thiobarbiturik asit (TBA) ilave edilmiştir. Karışım 95 °C'de su banyosunda 30 dakika kaynatılmış ve sonra buz banyosunda hızla soğutulmuştur. Soğutulan karışım tekrar 15 dakika 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Örneklerin absorbansları 532 ve 600 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Heath ve Packer, 1968).

### 2.7. Antioksidan Aktivite Tayini

0.5 gr yaprak örneği tartılarak 2,5 mL 0,1 M pH 7,5 Tris-HCl tamponu, 2.5 mL 0.1mM EDTA ve 0.5 mL % 1'lik PVP'den oluşan karışım içerisinde homojenize edilmiştir. Homojenat 20 dk süreyle 15.000 rpm'de ve 4 °C'de santrifüj edilmiştir (Andrews, 2005). Elde edilen süpernatantlar APX, GST, GR aktiviteleri ve GSH içeriğinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Enzim aktiviteleri spesifik aktivite olarak hesaplanmıştır.

APX aktivite tayini için reaksiyon karışımı Nakano ve Asada (1981) ile Cakmak (1994) yöntemlerinde belirtildiği gibi hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımına 250 µL ekstrakt ilave edilmiştir. Reaksiyonun ilerleyişi 290 nm'de 1 dakika sürede spektrofotometrik olarak izlenmiştir.

GR aktivitesinin tayininde Carlberg ve Mannervik (1985) yöntemine göre hazırlanan reaksiyon karışımı kullanılmıştır. Reaksiyon karışımına 300 µL ekstrakt ilave edilmiştir. Reaksiyonun ilerleyişi 340 nm'de 1 dakika sürede spektrofotometrik olarak izlenmiştir.

GST aktivitesi tayini için Habig vd. (1974)'e göre reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Reaksiyon karışımına 100 µL ekstrakt ilave edilmiştir. Reaksiyonun ilerleyişi 344 nm'de 1 dakika sürede spektrofotometrik olarak izlenmiştir.

GSH içeriği Akerboom ve Sies (1981)' e göre belirlenmiştir. Hazırlanan örneklerin absorbans değerleri spektrofotometrik olarak 412 nm de ölçülmüştür.

## 2.8. Toplam Protein İçeriği

Toplam protein içeriği Bradford (1976)'a göre yapılmıştır. Örneklerin absorbans değerleri 595 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

## 2.9. İstatistiksel analizler

İstatistiksel analizler SPSS 17.0 paket programı kullanılarak tesadüf blokları deneme desenine göre yapılmıştır. Tüm uygulama gruplarında ortalamalar arasındaki farklılıklar Duncan's Multiple Test (1955)'e göre belirlenmiştir. İstatistiksel analizlerde  $p < 0.05$  önemli kabul edilmiştir.

## 3. Bulgular

### 3.1. Nispi Su İçeriği (% RWC)

Bu araştırmada, % RWC seviyeleri 1.2 mM metaflumizone uygulama grubu hariç tüm stres gruplarında kontrole kıyasla azaldı. NaCl uygulaması RWC seviyesindeki azalışı indükledi. Sadece metaflumizone uygulanan gruplardaki % RWC seviyesi NaCl+metaflumizone uygulanan gruplardan daha yüksek çıktı ( $p < 0.05$ ). En yüksek RWC, % 70.43 olarak kontrol grubunda saptanırken en düşük RWC seviyesi % 31.13 olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda belirlendi (Tablo2).

**Tablo 2.** Metaflumizone ve NaCl uygulamalarının % RWC, toplam klorofil ve karotenoid içeriği üzerine etkileri. Farklı küçük harfler uygulama grupları arasındaki farklılıkları Duncan testine göre gösterir ( $p < 0.05$ ).

Uygulama Grupları	% RWC	Toplam Klorofil İçeriği ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	Karotenoid İçeriği ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
0 (Kontrol)	70.43±0.65 <sup>a</sup>	9.43±0,39 <sup>a</sup>	1,47±0,03 <sup>a</sup>
1.2 mM Metaflumizone	69.81±1.01 <sup>a</sup>	9.17±0,11 <sup>a</sup>	1.45±0,02 <sup>a</sup>
2.4 mM Metaflumizone	66.59±0.78 <sup>b</sup>	9.13±0,37 <sup>a</sup>	1.37±0,01 <sup>b</sup>
4.8 mM Metaflumizone	61.21±1.15 <sup>c</sup>	8.51±0,23 <sup>b</sup>	0,94±0,01 <sup>c</sup>
50 mM NaCl	48.17± 1.97 <sup>d</sup>	6,43±0,08 <sup>c</sup>	0,75±0,02 <sup>d</sup>
50 mM NaCl + 1.2 mM Metaflumizone	42.11±1.34 <sup>e</sup>	6.08±0,24 <sup>c</sup>	0,71±0,02 <sup>d</sup>
50 mM NaCl + 2.4 mM Metaflumizone	36.21±1.23 <sup>f</sup>	5,21±0,15 <sup>d</sup>	0,56±0,01 <sup>e</sup>
50 mM NaCl + 4.8 mM Metaflumizone	31.13±0.86 <sup>g</sup>	4.78±0,09 <sup>e</sup>	0,41±0,03 <sup>f</sup>

### 3.2. Toplam Klorofil ve Karotenoid İçeriği

Bu çalışmada toplam klorofil içeriği 1.2 ve 2.4 mM metaflumizone uygulama grupları hariç diğer stres gruplarında kontrole kıyasla azaldı. Düşük konsantrasyonlarda metaflumizone uygulaması klorofil içeriğinde istatistiksel olarak önemli bir değişime sebep olmadı. Bununla birlikte NaCl uygulanan tüm gruplarda toplam klorofil içeriği azaldı. Sadece metaflumizone uygulanan bitkilerde toplam klorofil içeriği eş zamanlı NaCl+metaflumizone uygulanan bitkilere kıyasla daha yüksek bulundu ( $p<0.05$ ). En yüksek toplam klorofil içeriği  $9.43 \mu\text{g g}^{-1}$  olarak kontrol grubunda saptanırken en düşük toplam klorofil içeriği  $4.78 \mu\text{g g}^{-1}$  olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda belirlendi (Tablo 2).

Karotenoid içeriği 1.2 mM metaflumizone uygulama grubu hariç tüm stres gruplarında kontrole kıyasla azaldı. NaCl uygulaması karotenoid içeriğindeki azalmayı teşvik etti ( $p<0.05$ ). En yüksek karotenoid içeriği  $1.47 \mu\text{g g}^{-1}$  olarak kontrol grubunda saptanırken en düşük karotenoid içeriği  $0.41 \mu\text{g g}^{-1}$  olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda bulundu (Tablo 2).

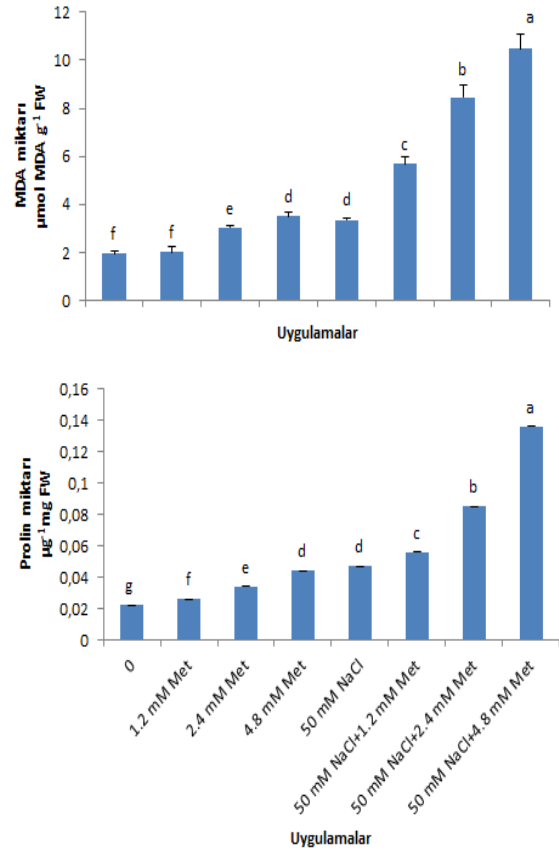
### 3.3. Prolin İçeriği

Prolin içeriği tüm stres gruplarında kontrole kıyasla arttı. NaCl uygulaması prolin birikimini teşvik etti ( $p<0.05$ ). En yüksek prolin içeriği  $0.136 \mu\text{g mg}^{-1}$  FW olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda saptandı (Şekil 1).

### 3.4. MDA içeriği

MDA içeriği 1.2 mM metaflumizone uygulama grubu hariç tüm stres gruplarında kontrole kıyasla arttı ( $p<0.05$ ). Özellikle eş

zamanlı olarak NaCl+metaflumizone uygulanan gruplarda MDA birikimi en yüksek seviyelere ulaştı. En yüksek MDA içeriği  $10.47 \mu\text{mol MDA g}^{-1}$  FW olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda bulunurken en düşük MDA içeriği  $1.94 \mu\text{mol MDA g}^{-1}$  FW olarak kontrol grubunda belirlendi (Şekil 1).



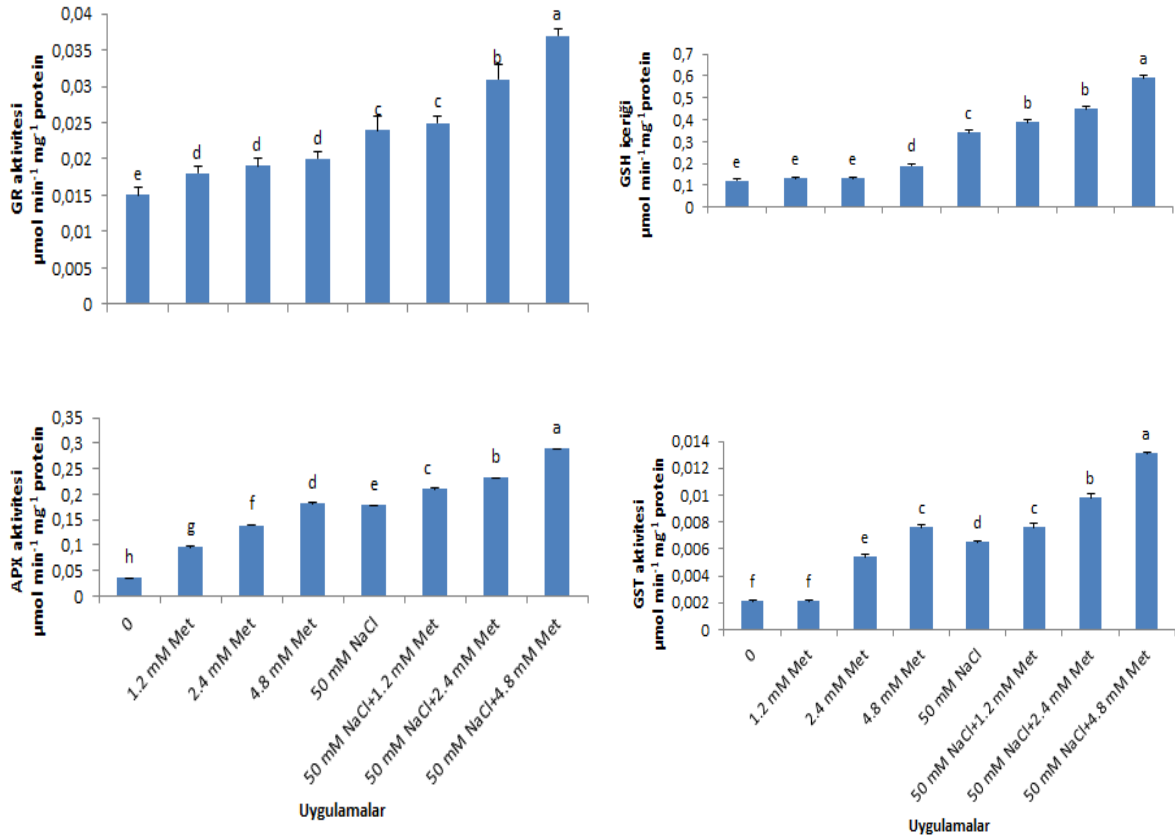
Şekil 1. Metaflumizone ve NaCl uygulamalarının prolin ve MDA içerikleri üzerine etkileri. Farklı küçük harfler uygulama grupları arasındaki farklılıkları Duncan testine göre gösterir ( $p<0.05$ ). (Met:metaflumizone)

### 3.5. Antioksidan aktivite

APX, GST ve GR aktiviteleri bu çalışmada hem metaflumizone hem de NaCl uygulanan gruplarda genel olarak kontrole kıyasla arttı. NaCl uygulaması enzim aktivitelerindeki artışı teşvik etti. Bununla birlikte özellikle eş

zamanlı olarak NaCl+metaflumizone uygulanan gruplardaki APX, GST ve GR aktiviteleri sadece metaflumizone ya da sadece NaCl uygulanan gruplara kıyasla artış gösterdi ( $p<0.05$ ).

GSH içeriği antioksidan enzim aktivitelerine benzer bir değişim gösterdi. NaCl uygulaması stres gruplarında GSH birikimi arttırdı ( $p<0.05$ ). En yüksek GSH içeriği  $0.59 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda belirlendi (Şekil 3)



**Şekil 2.** Metaflumizone ve NaCl uygulamalarının APX ve GR aktiviteleri üzerine etkileri. Farklı küçük harfler uygulama grupları arasındaki farklılıkları Duncan testine göre gösterir ( $p<0.05$ ). (Met:metaflumizone)

**Şekil 3.** Metaflumizone ve NaCl uygulamalarının GST aktivitesi ve GSH içeriği üzerine etkileri. Farklı küçük harfler uygulama grupları arasındaki farklılıkları Duncan testine göre gösterir ( $p<0.05$ ). (Met:metaflumizone)

En yüksek APX aktivitesi  $0.289 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein olarak, en yüksek GST aktivitesi  $0.0131 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein olarak ve en yüksek GR aktivitesi  $0.037 \mu\text{mol min}^{-1} \text{mg}^{-1}$  protein olarak 50 mM NaCl+4.8 mM metaflumizone uygulama grubunda bulundu (Şekil 2 ve 3). Bizim bulgularımıza göre

#### 4. Sonuç ve Tartışma

Tarımsal alanlarda hastalık ve zararlılarla mücadelede kullanılan pestisitler sadece hedef organizmalar üzerinde değil aynı zamanda çevredeki diğer canlılar üzerinde de olumsuz etkiler göstermektedir. Bu

araştırmada böceklerle mücadelede kullanılan bir insektisit olan metaflumizone düşük konsantrasyonda biber yapraklarında önemli bir değişime yol açmazken yüksek konsantrasyonlarda bir takım fizyolojik ve biyokimyasal değişimlere sebep olmuştur. Bizim bulgularımıza göre stres uygulanan bitkilerde nispi su içeriği kontrole kıyasla genel olarak azalmıştır. NaCl+Metaflumizone uygulanan gruplarda RWC seviyesi daha düşük bulunmuştur (Tablo 2). Özellikle NaCl uygulanan gruplarda RWC seviyesinin düşük çıkması, bu gruplarda toprak çözeltisinde su potansiyelinin azalması ile ilişkilendirilebilir. Bu araştırmanın bulgularına benzer şekilde Yakıt ve Tuna (2006) NaCl uygulanan mısır (*Zea mays*) fidelerinde tuzluluğun etkisi ile % RWC seviyesinin azaldığını rapor etmiştir.

Stres altındaki bitkilerde klorofil içeriğindeki değişimler önemli bir stres biyobelirteci olarak kabul edilmektedir. Bizim bulgularımıza göre düşük konsantrasyonlarda insektisit uygulaması klorofil içeriğinde önemli bir değişime sebep olmazken, yüksek konsantrasyonlarda insektisit uygulaması ve özellikle eş zamanlı stres uygulamaları klorofil içeriğinde azalmaya sebep olmuştur (Tablo 2). Stres altındaki bitkilerde klorofil içeriğinin azalması klorofil yıkımının artması ya da klorofil biyosentezinin azalması ile ilişkili olabilir (Santoz, 2004). Bu araştırmanın bulgularına benzer olarak Kaya ve Higgs (2006) tuz stresine maruz kalan biberde toplam klorofil içeriğinin kontrole kıyasla azaldığını belirtmiştir. Ayrıca tuz stresine maruziyet sonucu Santoz (2004) ayçiçeğinde (*Helianthus annuus*), Li ve ark (2012) çay çiçek elmasında (*Malus hupehensis*), Kaya ve ark. (2001) ıspanakta (*Spinacia oleracea*) toplam klorofil içeriğinin azaldığını rapor etmiştir. Tuz stresinin etkilerine benzer olarak insektisite maruz

kalan bitkilerde de toplam klorofil içeriğinin azaldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Bertrand vd., 2017; Whang ve Zhang, 2017).

Farklı stres uygulamaları yaprak karotenoid içeriğinde de değişime sebep olmaktadır (Çanakçı ve Munzuroğlu, 2004; Yakıt ve Tuna, 2006; Hancı ve Cebeci, 2014; Akbulut vd., 2018). Bu araştırmada karotenoid içeriği 1.2 mM metaflumizone uygulama grubu hariç tüm stres gruplarında kontrole kıyasla azalmış ve NaCl uygulaması karotenoid içeriğindeki azalmayı teşvik etmiştir (Tablo 2). Bu bulgulara benzer olarak tuz stresinin etkisi ile Yakıt ve Tuna (2006) mısırdaki, Çanakçı ve Munzuroğlu (2004) fasulyede (*Phaseolus vulgaris* L.) karotenoid içeriğinin azaldığını rapor etmiştir.

Prolin bitkilerin stres adaptasyonunda rol oynayan önemli bir osmoregülatördür (Delauney ve Verma, 1993). Stres koşullarında prolin birikimi hücrelerin turgor basıncının korunması, enzim aktivitelerinin sürdürülmesi ve hücresel bileşenlerin korunması açısından önemlidir (Özden ve ark. 2011). Bizim bulgularımıza göre prolin birikimi tüm stres gruplarında kontrole kıyasla artmış ve NaCl uygulaması prolin birikimini daha çok teşvik etmiştir. Bu bulgulara benzer şekilde literatürde strese maruz kalan bitkilerde prolin birikiminin teşvik edildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Öncel ve Keleş, 2002; Sivacı vd., 2014; Kaya ve İnan, 2018).

Stres altındaki bitkilerde oksidatif hasarın önemli göstergelerinden biri olan MDA içeriği bu çalışmada 1.2 mM metaflumizone uygulama grubu hariç tüm stres gruplarında kontrole kıyasla artmış ve eş zamanlı stres uygulanan gruplarda MDA birikimi en yüksek seviyelere ulaşmıştır (Şekil 1). Bu



çalışmada, MDA içeriğindeki artış sadece tuz stresinin değil aynı zamanda yüksek konsantrasyonda insektisit uygulamasının da bitkilerde oksidatif hasara yol açtığını göstermektedir. Bu araştırmanın bulgularına benzer olarak Bertrand vd. (2017) klorpirifosa maruz kalan *Potamogeton pusillus*'da ve Whang ve Zhang (2017) yine klorpirifosa maruz kalan *Triticum aestivum*'da MDA içeriğinin arttığını belirtmiştir. Whang ve Zhang (2017) MDA içeriğindeki artışı insektisit uygulamasının ROS birikimini teşvik etmesi ve antioksidan dengeyi bozması ile ilişkilendirmiştir.

Çevresel stres şartları bitkilerde reaktif oksijen türlerinin (ROS) birikimini teşvik eder. Artan ROS birikimi hücrel bileşenlere zarar vererek hücrelerin ölümlerine yol açar. Bitkiler sahip oldukları antioksidan sistemleri ile ROS birikimini engeller ve bu sayede stres şartlarında hayatta kalabilirler (Mittler, 2002). Literatürde farklı pestisitlere maruz kalan bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerinin değiştirdiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Jiang ve Yang, 2009; Zhang vd., 2014; Whang ve Zhang, 2017). Bitki stres cevabında rol oynayan antioksidan enzimlerden olan APX, GST ve GR aktiviteleri bu çalışmada stres uygulanan bitkilerde genel olarak kontrole kıyasla artmıştır. NaCl uygulaması enzim aktivitelerindeki artışı teşvik etmiştir (Şekil 2 ve 3). Stres uygulanan bitkilerde antioksidan enzim aktivitelerinin artması, bu enzimlerin ROS detoksifikasyonunu sağlayarak oksidatif stres cevabında rol oynaması ile ilişkilendirilebilir. Bu araştırmanın bulgularına benzer olarak Whang ve Zhang (2017) klorpirifosa maruz kalan *Triticum aestivum*'da ve Bertrand vd. (2017) ise aynı insektisite maruz kalan *Potamogeton pusillus*'da insektisit stresine cevap olarak

antioksidan enzim aktivitelerinin arttığını belirtmiştir. Ayrıca bizim bulgularımıza göre GSH içeriği antioksidan enzim aktivitelerine benzer bir değişim göstermiştir (Şekil 3). GSH enzimatik olmayan bir antioksidan bileşik olup oksidatif strese karşı koruyucu rol oynar. Stres uygulanan gruplarda GSH içeriğinin artışı GSH'ın hücrelerde oksidatif hasarı önleyerek bitkilerde stres toleransını arttırmada oynadığı rol ile ilişkilendirilebilir.

Sonuç olarak biber bitkisine metaflumizone uygulaması özellikle toplam klorofil ve karotenoid içeriğini ve % RWC seviyelerini azaltarak ve MDA birikimi arttırarak bitkide olumsuz değişimleri tetiklemiştir. Metaflumizone ile eş zamanlı olarak NaCl uygulanması insektisit ile sinerjistik etki göstererek insektisit meydana getirdiği olumsuz cevapları arttırmıştır. Doğada bitkiler çok sayıda stres faktörüne eş zamanlı olarak maruz kalmaktadır. Bu nedenle stres faktörleri arasındaki olası sinerjistik etki ve pestisitlerin hedef olmayan organizmalarda sebep olduğu olumsuzluklar göz önünde bulundurularak tarımsal alanlarda pestisit kullanımının en aza indirilmesi ve üreticilerin pestisit kullanımı ile ilgili olarak bilinçlendirilmesi gerekmektedir. Bu konuda biyolojik mücadele yöntemlerinin daha yaygın kullanımı teşvik edilmeli ve sağlanmalıdır.

## 5. Kaynaklar

Akbulut, GB., Yigit, E., Kaya, A., Aktas, A. 2018. "Effects of salicylic acid and organic selenium on wheat (*Triticum aestivum* L.) exposed to fenoxaprop-p-ethyl", *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 148, 901–909.

Akerboom, T.P.M., Sies, H. (1981). "Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfide in biological samples", In: Jakoby, WB (ed.), *Methods*

- Enzymol.* Academic Press, New York, 77, 373–382.
- Akgül, H. 2003. “Tuzluluk”. *Ziraat Mühendisliği Dergisi*, No: 340.
- Altıkat, A., Turan, T., Torun, F.E. 2009. “Türkiye’de pestisit kullanımı ve çevreye olan etkileri”, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40 (2), 87-92.
- Andrews, C.J. 2005. “Purification and characterisation of a family of glutathione transferases with roles in herbicide detoxification in soybean (*Glycine max* L.); selective enhancement by herbicides and herbicide safeners”. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 82, 205–219.
- Barr, H.D., Weatherley, P.E. 1962. “Are-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit inleaves”, *Australian Journal of Biological Sciences Society*, 15, 413–428.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D. 1973.” Rapid determination of proline for water-studies”, *Plant and Soil*, 39, 205-207.
- Bertrand, L., Marino, D.J., Monferrán, M.V., Amé, M.V. 2017. “Can a low concentration of an organophosphate insecticide cause negative effects on an aquatic macrophyte? Exposure of *Potamogeton pusillus* at environmentally relevant chlorpyrifos concentrations”, *Environmental and Experimental Botany*, 138, 139–147.
- Bradford, M.M. 1976. “A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding”, *Analytical Biochemistry*, 72, 248–254.
- Cakmak, I. 1994. “Activity of ascorbate-dependent H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-scavenging enzymes and leaf chlorosis are enhanced in magnesium-deficient and potassium deficient leaves, but not in phosphorus-deficient leaves”, *Journal of Experimental Botany*, 45, 1259–1266.
- Carlberg, I., Mannervik, B. (1985). “Glutathione reductase”, *Methods in Enzymology*, 113, 484–490.
- Çanakçı, S., Munzuroğlu, M. 2004. “Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) çeliklerinde ağırlık değişimleri, pigment ve protein miktarları üzerine asetilsalisilik asit ve tuz (NaCl) uygulamasının karşılıklı etkileri”, *Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24(1), 23-40.
- Çulha, Ş., Çakırlar, H. 2011. “Tuzluluğun bitkiler üzerine etkileri ve tuz tolerans mekanizmaları”, *AKU Fen Bilimleri Dergisi*, 11, 11-34.
- De-Kok, L., Graham, M. 1980. “Levels of pigments, soluble proteins, amino acids and sulfhydryl compounds in foliar tissue of *Arabidopsis thaliana* during dark induced and natural senescence”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 27, 133-142.
- Delauney, A.J., Verma, D.P.S. 1993. “Proline biosynthesis and osmoregulation in plants”, *The Plant Journal*, 4(2), 215-223.
- Doganlar, Z.B. 2012. Physiological and genetic responses to pesticide mixture treatment of *Veronica beccabunga*. *Water, Air Soil Pollution*, 223, 6201–6212.
- Dong, F., Liu, X., Cheng, L., Chen, W., Li, J., Qin, D., Zheng, Y. 2009. “Determination of metaflumizone residues in cabbage and soil using ultra-performance liquid chromatography/ESI-MS/MS”, *Journal of Separation Science*, 32, 3692–3697.
- Duncan, D.B. 1955. “Multiple range and multiple F tests biometrics. International Biometric Society”, 11(1), 1–42.
- Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B. 1974. “The first enzymatic step in mercapturic acid formation Glutathion S-Transferases”, *Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130–7139.
- Hancı, F., Cebeci, E. 2014. “Investigation of proline, chlorophyll and carotenoids changes under drought stress in some onion (*Allium cepa* L.) cultivars”, *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences Special Issue: 2*, 1499-1504.
- Heath, R.L., Packer, L. 1968. “Photoperoxidation in isolated chloroplast, I. kinetics stoichiometry of fatty acid

- peroxidation”, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 180–198.
- Jiang, L., Yang, H. 2009. “Prometryne-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in wheat”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72, 1687–1693.
- Kaya, A., Inan, M. 2018. “Kuraklık ve Tuz Streslerine Maruz Kalan Tütün (*Nicotiana tabacum* L.) Bitkisinde Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Parametreler Üzerine Melatoninin Etkileri”. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 21(4), 559-564.
- Kaya, C., Higgs, D. 2006. “Supplementary potassium nitrate improves salt tolerance in bell Pepper Plants”, *Journal of Plant Nutrition*, 26(7), 1367–1382.
- Kaya, C., Higgs, D., Kirnak, H. 2001. “The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach”, *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 27(3-4), 47–59.
- Kaymak, S., Özdem, A., Karahan, A., Özeran, B., Aksu, P., Aydar, A., Kodan, M., Yılmaz, A., Başaran, S., Asav, Ü., Erdoğan, P., Güler, Y. 2015. “Ülkemizde zirai mücadele girdilerinin değerlendirilmesi”, TC Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı.
- Korkmaz, A., Korkmaz, Y., Demirkıran, A.R. 2010. “Enhancing chilling stress tolerance of pepper seedlings by exogenous application of 5-aminolevulinic acid”, *Environmental and Experimental Botany*, 60, 495-501.
- Li, C., Wang, P., Wei, Z., Liang, D., Liu, C., Yin, L., Jia, D., Fu, M., Ma, F. 2012. “The mitigation effects of exogenous melatonin on salinity-induced stress in *Malus hupehensis*”, *Journal of Pineal Research*, 53, 298–306.
- Lichtenthaler, K., Welburn, A.R. 1983. “Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents”. *Botanisches Institut der Universität, Kaiserstrasse 12, Postfach pp. 591-592.*
- Mittler, R. 2002. “Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance”, *Trends Plant Science*, 7(9), 405–410.
- Nakano, Y., Asada, K. 1981. “Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts”, *Plant and Cell Physiology*, 22, 867–880.
- Öncel, I., Keleş, Y. 2002. “Tuz stresi altındaki buğday genotiplerinde büyüme, pigment içeriği ve çözünür madde kompozisyonunda değişimler”, *CÜ. Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 23, 8-16.
- Özden, M., Dikilitaş M., Gürsöz, S., Ak, B.E. 2011. “110R anacı üzerine aşılı şiraz üzüm (*Vitis vinifera* L.) çeşidinin NaCl ve prolin uygulamalarına karşı fizyolojik ve biyokimyasal tepkileri”, *Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 15(1), 1-9.
- Salgado, V.L., Hayashi, J.H. 2007. “Metaflumizone is a novel sodium channel blocker insecticide”, *Veterinary Parasitology*, 150, 182–189.
- Santos, C.V. 2004. “Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves”, *Scientia Horticulturae*, 103, 93–99.
- Sivaci, A., Kaya, A., Duman, S. 2014. “Effects of ascorbic acid on some physiological changes of pepino (*Solanum muricatum* Ait.) under chilling stress”, *Acta Biologica Hungarica*, 65(3), 305–318.
- Sönmez, K., Ellialtıoğlu Ş.Ş. “O-11 Solanaceae Familyasındaki Sekonder Metabolitler ve Nikotin Hakkında Bir İnceleme”, *The Eurasian agriculture and natural sciences congress*, Krygyzstan September 20-23, 2017. pp 44-51.
- Tiryaki, O., Canhilal, R., Horuz, S. 2010. “Tarım ilaçları kullanımı ve riskleri”, *ERÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 154-169.
- Wang, C., Zhang, Q. 2017. “Exogenous salicylic acid alleviates the toxicity of chlorpyrifos in wheat plants (*Triticum*

aestivum)”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 137, 218–224.

Yakıt, S., Tuna, A.L. 2006. “Tuz stresi altındaki mısır bitkisinde (*Zea mays* L.) stres parametreleri üzerine Ca, Mg ve K'nın etkileri”, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 19(1), 59-67.

Zhang, J.J., Lu, Y.C., Zhang, J.J., Tan, L.R., Yang, H. 2014. “Accumulation and toxicological response of atrazine in rice crops”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 102, 105–112.