

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BIYOLOJİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI İZOTİAZOLİNON BİLEŞİKLERİNİN UYGULANDIĞI
***Pisum sativum* L.'de SIVI VERMİKOMPOSTUN İYİLEŞTİRİCİ**
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DUYGU AYDIN

KOCAELİ 2021

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAZI İZOTIAZOLİNON BİLEŞİKLERİNİN UYGULANDIĞI
***Pisum sativum* L.'de SIVI VERMİKOMPOSTUN İYİLEŞTİRİCİ**
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

DUYGU AYDIN

Doç. Dr. Özlem AKSOY
Danışman, Kocaeli Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Yonca Yüzügüllü KARAKUŞ
Jüri Üyesi, Kocaeli Üniversitesi

.....

Doç. Dr. Nuran EKİCİ
Jüri Üyesi, Trakya Üniversitesi

.....

Dr. Öğr. Üyesi Burcu YÜKSEL
Eş Danışman, Kocaeli Üniversitesi

Enstitü Yönetim Kurulunun 18.01.2019
tarih ve 2019/03 nolu toplantısında II.
tez danışmanı olarak atanmıştır

Tezin savunulduğu tarih: 24.05.2021

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Günlük hayatımızda geniş bir kullanım alanına sahip izotiazolinon bileşikleri, kişisel bakım ürünleri, gıda paketleri, tuvalet kağıdı ve boyalar içerisinde kullanılan biyositlerdir. İzotiazolinon bileşikleri su ile durulama yoluyla nehirler, denizler ve toprağa karışarak bitkilere ulaşmaktadır. Çalışmamızda, *Pisum sativum*'a bu biyositler uyguladıktan sonra hücrel ve biyokimyasal olarak hangi değişimlerin meydana geldiği incelendi. Ayrıca *P. sativum*'a sıvı vermikompost uygulanarak izotiazolinon bileşiklerinin etkilerini iyileştirici özelliği araştırıldı.

Bilimin en temel amacı objektif gerçekliği anlamaktır. Bu ışık doğrultusunda kişisel düşüncelerimi karıştırmadan en doğru bilgiye ulaşabilmek için çabaladım. Doğayı öğrenmek ve anlamak için hayatımın her anında keşfetmek üzerine çalışmaya devam edeceğim.

Doğru bir araştırmacı olarak yetişmemi sağlayan, ışığını, sevgisini, şevkatini ve anlayışını her daim hissettiğim, her zaman örnek alacağım canım hocam Doç. Dr. Özlem Aksoy'a sonsuz teşekkür ediyorum. Bizlere sınırsız bir çalışma ortamı sağladığı ve her zaman bizi önceliğine aldığı için ayrıca teşekkür ediyorum. Yardımları ve desteğinden dolayı ikinci danışman hocam Dr. Burcu Yüksel'e teşekkür ederim.

Her sorumu büyük bir özenle cevaplayan ve yardımcı olan Doç. Dr. Yonca Yüzügüllü Karakuş'a, akademik hayatım içerisinde en doğru yönlendirmeyi yapan, bilime bakış açımı değiştiren ve bilgi dolu bir biyolog olan Dr. Arda Acemi'ye, çok teşekkür ederim.

Sevgili çalışma arkadaşlarım Dilek Aksoy, Gülen Sinem İnci ve Bektöre Mansurov'a yardımları, desteği ve dostlukları için çok teşekkür ederim. Yardımlarından dolayı, Dr. Asuman Deveci Özkan, Araş. Gör. Salih Dikilitaş, Sibel Sütüoğlu ve Dilek Sezer'e teşekkür ederim.

Her zaman eğitimimi daha ileriye taşımam için yüreklendiren, sevgilerini ve desteklerini her daim aldığım canım ailem, annem Şahhanım, babam Ürfet, ablalarım Nazan, Suzan ve kardeşim Murat'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması, Kocaeli Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Birimi BAP tarafından 2019/019 No'lu proje ile destelenmiştir. Desteklerinden dolayı BAP Birimi çalışanlarına teşekkür ederim.

Mayıs - 2021

Duygu AYDIN

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLOLAR DİZİNİ.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ÖZET.....	x
ABSTRACT.....	xi
GİRİŞ.....	1
1. GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. <i>Pisum sativum ssp. sativum var. arvense</i> L. (Yem Bezelyesi).....	3
1.2. İzotiazolinon Bileşikleri.....	7
1.2.1. MIT ve Kathon CG'nin insan sağlığına etkileri.....	11
1.3. Sıvı Vermikopost Gübresi.....	13
1.3.1. Sıvı vermikompost gübresinin elde edilmesi.....	15
1.4. Sitolojik Analiz.....	15
1.5. Biyokimyasal Aktivite.....	17
2. MALZEME VE YÖNTEM.....	21
2.1. Kimyasal Maddelerin Hazırlanması.....	21
2.2. EC50 Değerinin Belirlenmesi.....	21
2.3. Sıvı Vermikompost Verimlilik Oranının Belirlenmesi.....	21
2.4. Mitoz Bölünme Testi.....	22
2.5. Total Protein Tayini.....	23
2.6. Malondialdehit (TBARS) Tayini.....	24
2.7. Hidrojen Peroksit Tayini.....	25
2.8. Süperoksitdismutaz (SOD) Enzim Tayini.....	26
2.9. İstatistik.....	27
3. BULGULAR.....	28
3.1. MIT için EC50 Değeri.....	28
3.2. Kathon CG için EC50 Değeri.....	30
3.3. Sıvı Vermikompost Verimlilik Oranı.....	31
3.4. MIT ve MIT+%10 SV'nin Kök Uzunluğuna Etkisi.....	32
3.5. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV'nin Kök Uzunluğuna Etkisi.....	33
3.6. Sitolojik Analiz Sonuçları.....	34
3.6.1. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında mitotik indeks.....	34
3.6.2. MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum</i> var. <i>arvense</i> kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri.....	36
3.6.3. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında mitotik indeks.....	41
3.6.4. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum</i> var. <i>arvense</i> kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri.....	43
3.7. Biyokimyasal Analiz Sonuçları.....	48

3.7.1. MIT Uygulamasında Biyokimyasal Analizler.....	48
3.7.1.1. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında total protein analizi.....	48
3.7.1.2. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında MDA tayini	50
3.7.1.3. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında H ₂ O ₂ tayini	51
3.7.1.4. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında SOD enzimi tayini.....	53
3.7.2. Kathon CG Uygulamasında Biyokimyasal Analiz.....	54
3.7.2.1. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında total protein analizi.....	55
3.7.2.2. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında MDA tayini.....	56
3.7.2.3. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında H ₂ O ₂ tayini.....	58
3.7.2.4. Kathon CG ve Kathon CG+%10SV uygulamasında SOD enzimi tayini.....	59
4. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	62
4.1. Mitoz Bölünme Testi.....	62
4.2. Biyokimyasal Analiz.....	65
4.2.1. MIT ve Kathon CG'nin biyokimyasal analizleri.....	65
4.2.2. MIT veya Kathon CG'nin SV ile birlikte uygulamasının biyokimyasal analizleri	70
KAYNAKLAR	75
KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER.....	91
ÖZGEÇMİŞ.....	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	İzotiazolinon bileşiklerinin moleküler yapısı a. izotiazolinon; b. 2-metil-4-izotiazolin-3on; c. 2-oktil-4-izotiazolin-3-on; d. 5-klor-2-metil-4-izotiazolin-3-on; e. 4,5-diklor-2-oktil-4izotiazolin-3-on; f. 1,2-benzizotiazolin-3 on.....	8
Şekil 2.1.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> 'de total protein miktarını belirlemek için kullanılan protein standart grafiği.....	24
Şekil 2.2.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> 'de hidrojen peroksit miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	26
Şekil 3.1.	Distile su ile çimlendirilen <i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> 'in 5 günlük çimlenme sürecinde köklerin boy uzunluğu ortalaması (cm).....	28
Şekil 3.2.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> 'de MIT uygulaması sonucunda EC50 değerinin belirlenmesi. Ok işareti EC50 değerini göstermektedir.....	29
Şekil 3.3.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> 'de Kathon CG uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlenmek için kullanılan konsantrasyonlar. Ok işareti EC50 değerini göstermektedir.....	30
Şekil 3.4.	Farklı SV konsantrasyonlarının <i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarında çimlenme oranına etkisi. Ok işareti kök uzunluğunun en yüksek olduğu konsantrasyonu göstermektedir.....	31
Şekil 3.5.	MIT+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra <i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> kök uzunluğu ortalamaları (cm).....	32
Şekil 3.6.	Kathon CG+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra <i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> 'de kök uzunluğu ortalamaları (cm).....	33
Şekil 3.7.	MIT ve MIT+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra <i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%).....	34
Şekil 3.8.	MIT konsantrasyonları <i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom ve çekirdek anormallikleri (a-d, 0,4 g/L MIT) a. metafazda kalgın kromozom; b. C-mitoz; c. anafazda kromozom köprüsü d. telofazda düzensizlik. (e-h, 0,8 g/L MIT) e. profazda kromozom fragmentasyonu, f. C-mitoz; g: anafazda kromozom köprüsü; h. telofazda kromozom köprüsü ve kalgın kromozom. (ı-m, 1,6 g/L MIT) ı. interfazda kromatin granülasyonu; i.piknotik çekirdek; j. metafazda kromozom yapışması; k. telofazda kromozom köprüsü.....	39

Şekil 3.9.	MIT+%10 SV konsantrasyonları <i>P. sativum var. arvence</i> tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra elde edilen kromozom ve çekirdek anormallikleri. (a-c, 0,4 g/L MIT+%10 SV) a. profazda kromozom yapışması; b. metafazda kromozom yapışması; c. telofazda kalgın kromozom. (d-f, 0,8 g/L MIT+%10 SV) d. metafazda kutup kayması; e. anafazda kromozom yapışması; f. telofazda geç kalmış kromozom. (g-ı, 1,6 g/L MIT+%10 SV uygulaması) g. piknotik çekirdek; h. C-mitoz ve profazda kromozom fragmentasyonu; ı. telofazda kromozom köprüsü.....	40
Şekil 3.10.	Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra <i>P. sativum var. arvence</i> kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%).....	41
Şekil 3.11.	Kathon CG konsantrasyonları <i>P. sativum var. arvence</i> tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri. (a-d, 1,5 mL/L Kathon CG) a.piknotik çekirdek; b. interfazda kromatin granülasyonu; c. profazda kromozom fragmentasyonu d. telofazda kalgın kromozom. (e-h, 3 mL/L Kathon CG) e. çekirdekte parçalanma, f. çekirdekte parçalanma; g: profazda kromozom yapışması; h. telofazda kromozom granülasyonu. (j-m, 6 mL/L Kathon CG) j. piknotik çekirdek; k. interfazda kromatin granülasyonu; l.hayalet hücre; m. metafazda kromozom yapışmas	46
Şekil 3.12.	Kathon CG+%10 SV konsantrasyonları <i>P. sativum var. arvence</i> tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri. (a-c, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV) a. Metafazda kromozom yapışması, b.metafazda kutup kayması; c. telofazda kromozom köprüsü. (d-f, 3 mL/L Kathon CG +%10 SV) d. telofazda kutup kayması ve c-mitoz, e. anafazda kutup kayması; f. telofazda kalgın kromozom. (g-j, 6 mL/L Kathon CG+%10 SV) g. piknotik çekirdek; h.hayalet hücre; j. telofazda düzensizlik.....	47
Şekil 4.1.	MIT uygulanmış <i>P. sativum var. arvence</i> 'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları.....	67
Şekil 4.2.	Kathon CG uygulanmış <i>P. sativum var. arvence</i> 'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları.....	69
Şekil 4.3.	MIT+%10 SV uygulanmış <i>P. sativum var. arvence</i> de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçlar.....	71
Şekil 4.4.	Kathon CG+%10 SV uygulanmış <i>P. sativum var. arvence</i> 'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları.....	72

TABLolar DİZİNİ

Tablo 2.1.	Sıvı vermikompostun içeriği.....	22
Tablo 3.1.	<i>P. sativum var. arvence</i> 'de MIT uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlemek için kullanılan konsantrasyonların sonuçları.....	29
Tablo 3.2.	<i>P. sativum var. arvence</i> 'de Kathon CG uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlemek için kullanılan konsantrasyonların sonuçları.....	30
Tablo 3.3.	MIT ve MIT+%10 SV uygulanan <i>P. sativum var. arvence</i> 'de 48 saat sonra kök uzunluğu ortalaması (cm) sonuçları	32
Tablo 3.4.	Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulanan <i>P. sativum var. arvence</i> 'de 48 saat sonra kök uzunluğu ortalaması (cm) sonuçları.....	33
Tablo 3.5.	MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum var. arvence</i> 'in meristematik kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%).....	35
Tablo 3.6.	MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum var. arvence</i> 'in meristematik kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme evreleri ve oranları.....	37
Tablo 3.7.	MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum var. arvence</i> 'in meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri, çekirdek anormallikleri ve oranları.....	38
Tablo 3.8.	Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum var. arvence</i> 'in meristematik kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%).....	42
Tablo 3.9.	Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum var. arvence</i> 'in meristematik kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme evreleri ve oranları.....	44
Tablo 3.10.	Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda <i>P. sativum var. arvence</i> 'in meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri, çekirdek anormallikleri ve oranları.....	45
Tablo 3.11.	<i>P. sativum var. arvence</i> tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen total protein miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	49
Tablo 3.12.	<i>P. sativum var. arvence</i> tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen MDA miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	50

Tablo 3.13.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen H ₂ O ₂ miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	52
Tablo 3.14.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen SOD enzimi miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	54
Tablo 3.15.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen total protein miktarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	55
Tablo 3.16.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen MDA miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	57
Tablo 3.17.	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen H ₂ O ₂ miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	59
Tablo 3.18	<i>P. sativum</i> var. <i>arvence</i> tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen SOD enzimi miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	: Santimetre
Fe	: Demir
g	: Gram
KI	: Potasyum iyodür
M	: Molar
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
N	: Azot
nm	: Nanometre
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
U	: Unit
Zn	: Çinko
°C	: Santigrat derece
%	: Yüzde

Kısaltmalar

BIT	: Benzizotiazolinon
BSA	: Bovine Serum Albumin
CMIT	: Metilkloroizotiazolinon
DCOIT	: Dikloroizotiazolinon
EC50	: Effective Concentrate 50 (Ortalama Etkili Konsantrasyon)
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
Kathon CG	: Metilizotiazolinon ve Metilkloroizotiazolinon Karışımı (3:1)
MDA	: Malondialdehit
MI	: Mitotik İndeks
MIT	: Metilizotiazolinon
M.Ö.	: Milattan Önce
NBT	: Nitro Blue Tetrazolium
OIT	: Oktilizotiazolinon
PBS	: Phosphate Buffer Solution (Fosfat Tampon Solüsyonu)
PPM	: Plant Protect Mixture (Bitki Koruma Karışımı)
ROS	: Reaktif Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
SOD	: Süperoksit dismutaz
SPSS	: Statistical Package for the Social Sciences (Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi)
SV	: Sıvı Vermikompost

TBA : Tiyobarbütirik asit
TCA : Triklorasetik asit



BAZI İZOTIAZOLİNON BİLEŞİKLERİNİN UYGULANDIĞI *Pisum sativum* L.'de SIVI VERMİKOMPOSTUN İYİLEŞTİRİCİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Metilizotiazolinon (MIT) ve metilkloroizotiazolinon (CMIT) bileşikleri, deterjanlar, kişisel bakım ürünleri, kağıt üretimi, su arıtımı gibi birçok alanda koruyucu olarak kullanılmakta olan antifungal ve antibakteriyel özelliğe sahip biyositlerdir. Bu çalışmanın birinci aşamasında, MIT ve CMIT/MIT karışımının (Kathon CG) hayvanlar için önemli bir besin kaynağı olan, protein, karbonhidrat, lif içeriği bakımından yüksek *Pisum sativum var. arvense* (yem bezelyesi) üzerindeki sitotoksik ve biyokimyasal etkileri incelendi. İkinci aşamada sıvı vermikompostun (solucan gübresi) uygulama gruplarındaki iyileştirici etkisi tespit edildi. Bu amaçla öncelikle kök uzunluğunu yarıya indiren etki konsantrasyon (EC50) değerleri belirlendi. MIT konsantrasyonu uygulanan *P. sativum var. arvense*'de 48. saatin sonucunda EC50 değeri MIT için 0,8 g/L, Kathon CG için ise 3mL/L olarak belirlendi. Uygulamadan 48 saat sonra mitotik aktivite incelendi. 48 ve 72 saatlerin sonunda total protein içeriği, malondialdehit, hidrojen peroksit ve süperoksit dismutaz enzimi tayinleri yapıldı. Sonuç olarak, MIT ve Kathon CG'nin mitotik aktiviteyi azalttığı, özellikle yüksek konsantrasyonlarda çekirdekte piknoz ve kromatin granülasyonu ile hayalet hücreye neden olduğu tespit edildi. İzotiazolinon bileşiklerinin yem bezelyesi tohumlarına uygulandıktan 48 ve 72 saatleri sonunda total protein, malondialdehit ve hidrojen peroksit içeriğini arttırdığı belirlendi. İzotiazolinon bileşikleri SV ile birlikte uygulandığında, mitotik indeksi arttırdığı, çekirdekte oluşan anormallikleri azalttığı ve SOD enzim miktarını hem 48 hem de 72 saatleri sonunda arttırdığı tespit edildi. Vermikompost kullanımı, uygulanan biyositlerin yem bezelyesi üzerinde gösterdiği sitotoksik ve biyokimyasal parametrelerde olumsuz etkileri indirgeyerek iyileştirici etkisi olduğu tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Metilizotiazolinon, Metilkloroizotiazolinon, Mitotik İndeks, *Pisum sativum*, Vermikompost.

INVESTIGATION OF THE HEALING EFFECTS OF LIQUID VERMICOMPOST IN *Pisum sativum* L. WHICH WAS APPLIED WITH SOME ISOTHIAZINONE COMPOUNDS

ABSTRACT

Methylisothiazolinone (MIT) and methylchloroisothiazolinone (CMIT) compounds are biocides with antifungal and antibacterial properties that are used in many areas such as detergents, personal care products, paper production and water treatment. In the first phase of this study, the cytotoxic and biochemical effects of the MIT and CMIT / MIT mix on *Pisum sativum* var. *arvense* (field peas), which is a high protein, carbohydrate and fiber content and is an important food source for animals were investigated. In the second stage, the healing effect of liquid vermicompost (worm compost) in the application groups was determined. For this purpose, first of all, the effective concentration (EC50) values that halved the root length were determined. The EC50 value for MIT was 0.8 g/L and it was 3mL/L for CMIT / MIT mix in *P. sativum* var. *arvense* after 48 hour treatment. At the end of 48th and 72nd hours after the application, total protein content, lipid peroxidation, hydrogen peroxide and superoxide dismutase enzyme were determined. As a result, it was determined that MIT and Kathon CG decreased mitotic activity and caused ghost cells, and pycnosis, and chromatin granulation in the nucleus, especially at high concentrations. It was determined that isothiazolinone compounds increased the content of total protein, malondialdehyde, and hydrogen peroxide at the end of 48 and 72 hours after application to field pea seeds. It was determined that when isothiazolinone compounds were applied together with SV, it increased the mitotic index, decreased the abnormalities in the nucleus, and increased the amount of SOD enzyme at the end of both 48 and 72 hours. It was determined that the use of vermicompost had a healing effect by reducing the negative effects of the applied biocides on the cytotoxic and biochemical parameters of the field pea.

Keywords: Methylisothiazolinone, Methylchloroisothiazolinone, Mitotic Index, *Pisum sativum*, Vermicompost

GİRİŞ

Son yıllarda, kozmetik temelli kişisel bakım ve gzellik rnlerinin kullanımı dünya çapında her zamankinden daha fazla artmıştır. Günümüzde kozmetik ürünlerin performansını, kalitesini ve ömrünü arttırmak için formülasyonlarında koruyucular, kokular, yüzey aktif maddeler vb. artan sayıda bileşik kullanılmaktadır. Bu kimyasal katkı maddelerinin çoğu halk sağlığını tehdit eden önemli bir sorun haline gelmiştir (Bilal ve Iqbal, 2019).

Kişisel bakım ürünleri, temizlik ürünleri ve oda spreylelerinin uzun süreli raflarda kalabilmesi için koruyucu madde olarak izotiazolinon bileşiklerinden MIT ve MIT/CMIT karışımı kullanılmaktadır. İzotiazolinon bileşikleri ayrıca duvar boyları, kağıt üretimi, su arıtımı vb. alanlarda geniş bir kullanıma sahiptir. Oyuncaklar, ojeler, boylar içerisinde koruyucu madde olarak kullanılan MIT ve CMIT/MIT karışımı çocuklar için de dermatit reaksiyonların gelişmesinde büyük bir sorun teşkil etmektedir (Belloni Fortina ve diğ., 2020).

İnsanlar üzerinde alerjik reaksiyonlara neden olan bu bileşikler günlük hayatımızın içerisinde kullandığımız ürünlerde sıklıkla yer almaktadır. Temizlik ve kişisel bakım ürünleri, su ile durulama yoluyla akarsu, nehir, deniz gibi alanlara ulaştıktan sonra toprağa karışmakta ya da direk olarak toprağa ulaşmaktadır. Bu da yetiştirdiğimiz bitkisel gıda maddelerine ulaşabilir olduğunu göstermektedir. Ayrıca kolayca buharlaşabilme özelliğinden dolayı gaz halinde havaya karışarak yağmur ile tekrar toprağa ve suya ulaşabilir özelliktedir (Bollmann ve diğ., 2017).

Toprağa karışarak bitkilere ulaşabilen bu bileşikler bitki metabolizması ve genetiğini olumsuz etkiler. Bu çalışmanın ilk amacı izotiazolinon bileşiklerinin bezelye bitkisi üzerindeki etkisi hakkında bilgi sahibi olabilmektir. Bu amaçla, günümüzde büyükbaş hayvanlarının beslenmesinde önemli ölçüde kullanılan yem bezelyesi (Pereira ve diğ., 2020) alışmamızda model organizma olarak kullanılmıştır. Yüksek oranda protein içeren yem bezelyesi, hayvan beslenmesinde, soya fasulyesi veya mısır bitkilerine alternatif olarak kullanılmaya başlanmıştır (Birkelo ve diğ., 2000).

Soğuk hava koşullarına dayanıklı olması, ara ürün olarak yetiştirilebilmesi, toprağa yüksek oranda azot bağlayabilmesi bezelyenin zirai alanda önemli bir yer almasını sağlamıştır. Hem insan hem de hayvan beslenmesinde kullanılan ve çiftçiler için kışlık ara ürün olarak yetiştirilebilen bezelye yüksek oranda proteine ve ayrıca lif kaynağına sahiptir. Bu da besinlerdeki vitamin ve mineral eksikliğinden dolayı ortaya çıkan gizli açlıkla mücadelede için kullanılabileceğini göstermektedir (Powers ve Thavarajah, 2019).

Daha önce yapılan çalışmalar sonucunda vermikompostun bitki verimliliğini arttırdığı tespit edilmiştir (Maltaş ve diğ., 2017). Vermikompost, solucanların dışkısından elde edilen ve bitkilerin büyümek için ihtiyaç duyduğu önemli minerallere sahip bir gübredir. Çalışmamızda, vermikompostun yapısı bozulmadan, yüksek ısı bir işleminden geçirilerek özüt haline getirilen sıvı vermikompost kullanılmıştır. Ticari olarak yaygın bir kullanım alanına sahip olan sıvı vermikompost, vermikompost çayı olarak da tanımlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı,

MIT ve Kathon CG (CMIT/MIT karışımı), *P. sativum spp sativum var. arvence* üzerindeki etkisini incelemek; ardından her iki kimyasalı ayrı ayrı sıvı vermikompost ile birlikte uygulayarak sonuçları gözlemlemektir.

İlk olarak MIT ve CMIT/MIT karışımını, *P. sativum var. arvence* üzerinde farklı dozlarda uygulanarak EC50 değerleri belirlendi.

İkinci aşamada bu kimyasallardan E50/2, EC50 ve EC50x2 konsantrasyonları *P. sativum var. arvence* üzerinde uygulanarak, 48. saati sonunda mitotik indeks analizi yapılarak kromozomlardaki anormallikler ve çekirdek yapısındaki bozunmalar incelendi. Biyokimyasal analiz için 48 ve 72 saatleri sonunda total protein, MDA, hidrojen peroksit ve süperoksit dismutaz enzimi tayin edildi.

Son aşamada MIT ile sıvı vermikompost ve Kathon CG ile sıvı vermikompost uygulanarak, 48 saat sonunda mitotik indeks, kromozomal ve çekirdek anormallikleri belirlendi. Ayrıca 48 ve 72 saatleri sonunda, total protein, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz tayini ile sonuçlar analiz edildi.

1. GENEL BİLGİLER

1.1. *Pisum sativum ssp. sativum var. arvence L. (Yem Bezelyesi)*

Bezelye (*Pisum sativum* L., $2n=14$ kromozom) serin ve ılıman bölgelere iyi adapte olmuş, yüksek oranda azot bağlayıcı özelliğe sahip (Uzun ve diğ., 2012), tohumları protein, karbohidrat, diyet lifleri, vitaminler ve mineraller açısından zengin olan (Venkidasamy ve diğ., 2019) önemli bir bitkidir. Bezelye genomu 4.45 gigabaz (Gb=1.000.000.000 baz çifti) boyutundadır (Burstin ve diğ., 2020).

Bezelye ilk olarak Jarmo olarak adlandırılan günümüzde Irak'ın Zagros Dağları'ndaki bölgede yer alan arkeolojik kazılarda tespit edilmiş (Helbaek, 1959) ve yaklaşık 10000 yıl önce (M.Ö 7000) (Ambrose, 1995) kültüre alınmıştır. Bezelyenin ıslahı ile ilgili çeşitliliğin ilk merkezi Türkiye, Suriye, Irak ve Lübnan ve ikinci olarak Akdeniz Bölgesi ile Etiyopya'nın da dahil olduğu bölgedir (van der Maesen ve diğ., 1998). Bezelye, mercimek (*Lens culinaris* Medik.), nohut (*Cicer arietinum* L.), bakla (*Vicia faba* L.), fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.), börülce (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) ve maş fasulyesi (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) ile birlikte Fabaceae familyasına ait baklagildir. Ayrıca soya fasulyesi ve kuru fasulyeden sonra dünyada en çok tüketilen baklagildir (FAOSTAT 2020).

Mendel'in de kalıtım teorisinde kullandığı önemli bir genetik model olan bezelyenin sistematik sınıflandırılması aşağıdaki şekildedir (Burstin ve diğ., 2020; Güner ve diğ., 2012).

Alem : Plantae

Filum: Tracheophyta

Üst sınıf : Angiospermae

Sınıf : Magnoliopsida

Alt sınıf : Rosidae

Takım : Fabales

Familya : Fabaceae (veya Leguminosae veya Papilionaceae)

Altfamilya : Papilionideae

Oymak (Tribe) : Fabeae

Cins : *Pisum* L.

Tür: *P. sativum ssp. sativum*

Fabaceae diğer adı ile Leguminosae familyası, baklagillerin yetişmesine bağlı olarak Papilionideae altfamilyası iki farklı klada ayrılır. Birincisi 50 milyon yıl önce gelişen Hologalegina ve ikincisi 45 milyon yıl önce gelişen Phaseoloids'tir. Hologalegina kladı, tarla bezelyesi (*P. sativum*), mercimek (*Lens culinaris*), nohut (*Cicer arietinum*) ve ot bezelyesi (*Lathyrus sativus*) gibi tüm serin mevsim baklagillerinden; Phaseoloids kladı, güvercin bezelyesi (*Cajanus cajan*) soya fasulyesi (*Glycine max*), fasulye (*Phaseolus vulgaris*), maş fasulyesi (*Vigna radiata*) ve börülce (*Vigna unguiculata*) gibi ılık mevsim baklagillerinden oluşur (Foyer ve diğ., 2016). Serin mevsim baklagilleri, özellikle kışın ekildiklerinden dolayı sürdürülebilir tarım için kritik öneme sahiptir.

5 kıtada bulunan 62 ülkeden 197 bezelye tohumu üzerinde yapılan genetik araştırmada gen havuzunun 3 gruba ayrıldığı olduğu tespit edilmiştir. 1. grup 'sativum gen havuzu' + 'arvence gen havuzu'; 2.grup 'abyssinicum gen havuzu' ve 3. grup 'fulvum gen havuzu'dur. 'sativum gen havuzu' *P. sativum ssp. asiaticum*, *P. sativum ssp. transcaucasicum*, *P. sativum ssp. elatius var. elatius*, *P. sativum ssp. elatius var. pumilio* ve *P. sativum ssp. sativum var. sativum*'dan oluşan 5 tane taksonomik türü içerir. 'arvence gen havuzu'nu *P. sativum ssp. arvence* türü; 'abyssinicum gen havuzu'nü *P. sativum ssp. abyssinicum* türü; 'fulvum gen havuzu'nu *P. fulvum* türü oluşturmaktadır (Zong ve diğ., 2009). *Pisum* cinsinin tür çalışması ve genomik dizilim haritası tam olarak çıkarılmadığı için bu yönde çalışmalar devam etmektedir (Malovichko ve diğ., 2020).

Bezelye genom dizisi, genom genişlemesi ve tekrarlayan dizilerden kaynaklı olarak büyük genom boyutuna sahiptir ve genomundaki transpozon aracılı düzensiz rekombinasyon nedeniyle diğer Leguminosae genomları ile farklı genom evrimiyle sonuçlanmıştır (Kreplak ve diğ., 2019). İlave olarak, anormal bir yerde çift iplik kırığının tamiri veya genlerin kazanılmasına ya da kaybına yol açan transpozon aracılı düzensiz rekombinasyon nedeniyle bezelye genomu Leguminosae familyasındaki diğer genomlardan daha hızlı bir şekilde evrimleşmiştir (Li ve diğ., 2017).

Baklagiller familyası, azot (N) sabitleyici nodülleri ile rizobiyum (*Rhizobium leguminosarum*) toprak bakterileriyle simbiyotik yaşamları sayesinde atmosferden azotu sabitleyebilme yeteneğine sahiptir (Oldroyd, 2013). Azot sabitleyici toprak bakterileriyle simbiyotik yaşamı, azotlu gübrelere olan ihtiyacı azaltarak sera gazı emisyonlarını azaltır (Nemecek ve diğ., 2008).

Bezelye, kuru bezelye, sarı bezelye ve bahçe bezelyesi olarak da isimlendirilen ve tarla bezelyesi olarak adlandırılan tohumluk bezelyedir. Yeşil bezelye ise sebze olarak tüketildiği, tohumu hala yeşil ve sulu olduğundan dolayı kullanılan terimdir (Karkanis ve diğ., 2016). 1961 yılından beri küresel olarak kuru bezelye üretimi, yıllar içerisinde sürekli bir artış göstermiştir. Dünya çapında yeşil bezelye üretimi, iniş – çıkışlı bir ivmeye sahip olmasına rağmen 1961 yılından beri 7 milyon tonun altına düşmeden ve son 10 yılda 10 milyon tondan fazla üretilmiştir. 2018 yılında, kuru bezelye, dünya üzerinde 7,9 milyon hektar (ha) alanda yetiştirilmiş, 13,5 milyon ton üretilmiş ve 1,8 ton/ha da hasat edilmiştir. Yeşil bezelye ise 21 milyon tonun üzerinde üretilmiş, 2,7 milyon hektar alanda yetiştirilmiş ve 7,7 ton/ha hasat edilmiştir (FAOSTAT 2020; <http://www.fao.org/faostat/en/#compare>). 2050 yılına kadar dünya nüfusunun 10 milyara ulaşması beklenilmektedir. Bezelye, sürdürülebilir bir gelecek, iyi gıda sistemi ve de gizli açlıkla mücadele için önemli bir bakliyat ürünüdür (Powers ve Thavarajah, 2019).

Bezelye besin değeri açısından oldukça zengindir. %19,1 - %30,9 protein, %17,8 - %58,3 nişasta (Gali vd., 2019), 46-54 mg/kg demir (Fe), 39-63 mg/kg çinko (Zn), 1350-1427 mg/kg magnezyum (Mg) içerir (Amarakoon ve diğ., 2012). Bezelye hem insan hem de hayvan beslenmesi için her yerde yetiştirilen önemli bir kültür bitkisidir. Yüksek oranda protein içeren yem bezelyesi hayvanlar için de bitkisel proteindir

(Rodino ve diğ., 2009). Bezelye proteini 4 büyük gruba ayrılır: Globulin, albümin, prolamin ve glutelin. Globulin ana depolama proteindir ve çimlenme sırasında besin sağlamak için parçalanır (Adebiyi ve Aluko, 2011). Metabolik ve enzimatik bir protein olan albümin, tohum çimlenmesinde görev alır (McCarthy ve diğ., 2016). Prolamin ve glutelin bezelyede az miktarda bulunur. Tahıl proteinlerine kıyasla bezelye proteini, yüksek düzeyde lizin içeren iyi dengelenmiş bir amino asit profiline sahiptir, ancak kükürt içeren amino asitler nispeten daha azdır. Bezelye proteini, gelecekte soya fasulyesi ve hayvansal proteinin yerini alabilir (Lu ve diğ. 2020).

Baklagiller, yüksek oranda α -tokoferol ve β -karoten üretir (Lindqvist ve diğ.,2011). Bunlar insan ve hayvan bağışıklık sistemi üzerinde olumlu etkileri olan antioksidanlardır (McDowell, 2000). Bitki ve hayvan hücrelerini, oksidasyondan ve oksidasyon kaynaklı zararlı ürünlerden korumaktır (Paiva ve Russel, 1999). Makro elementler (kalsiyum, fosfor, potasyum vb.) geniş getiren ve geniş getirmeyenler için önemli minerallerdir. *P. sativum var. arvense*, 23,6-29,7 mg/kg α -tokoferol, 29,7-33,7 mg/kg β -karoten, 6,50-11 ton/ha kuru ağırlık, % 1,54-1,65 Ca, %0,39-0,44 Mg, %0,26-0,34 P içerir (Ates ve diğ., 2019). İçerik bakımından zengin yem bezelyesi dana, sığır vb. hayvanların beslenmesinde kullanılmaktadır (Lardy ve diğ., 2009); büyükbaş hayvanlar ise insanlar tarafından önemli bir besin maddesi olarak tüketilmektedir.

Yem bezelyesinin Türkiye’de Bursa, Trakya gibi kıyı bölgelerde (Tekeli ve Ateş, 2003; Acikgoz ve diğ., 2009) ve Ardahan, Bayburt, Erzurum, Kars gibi Doğu Anadolu Bölgesi’nde (Tan ve diğ., 2012) ekimi yapılmaktadır. Ekim-Kasım aylarında ekildiğinde, yüksek verim ile kışlık ara ürün olarak yetiştirilebilmektedir (Erkovan ve diğ., 2020). Böylece kışın farklı bitkiler ile bir arada ekimi yapılarak hem besin kaynağı olarak hem de toprağın verimliliğinin korumasına yardımcı olabilir.

Yem bezelyesi çeşitleri arasında yer alan Gölyazı, Ulubatlı, Ürünlü ve Kirazlı’nın verimlilik oranı ve protein içeriği incelendiğinde, bitkilerin gelişim sürecinde baklaların içerisindeki tohumlar daha oluşmadan hasat edildiğinde en yüksek verimlilik oranı ve çiçeklenme aşamasında en yüksek protein elde edilmiştir (Uzun ve diğ., 2012).

Türkiye’de yetiştirilen 18 farklı genotipe sahip yem bezelye çeşidinin düşük sıcaklık koşulları altında sorunsuz yetiştiği gözlenmiştir. Yem ve tohum olarak kullanıma

uygundur. Ticari olarak kolay bulunabilen bazı yem bezelyesi çeşitleri, saman yetiştiriciliğinde de kullanılabilir (Kadıoğlu ve diğ., 2020).

P. sativum L. topraktaki zararlı kimyasal maddeleri ayırt edebilmek için kullanılan önemli bir biyoindikatördür (Alzandi, 2012; Salazar-Mercado ve diğ., 2019). Diğer tarla bitkileri ile birlikte yetiştirilebilmektedir (Ndiaye ve diğ., 2000).

Çinko nanonopartikülleri tek başına ya da manganez, bakır veya demir nanonopartikülleri ile birlikte *P. sativum*'a uygulandıktan sonra ikili uygulamalarda metal etkileşimlerinden dolayı bezelyede zararlı metal iyon alımının arttığı rapor edilmiştir (Skiba ve diğ., 2020).

Farklı bir çalışmada, *P. sativum* kökleri, imazamoks herbisitine maruz bırakıldıktan sonra 24 ve 48 saatleri sonunda, kök ile sürgün uzunluklarında azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (Gil-Monreal ve diğ., 2020).

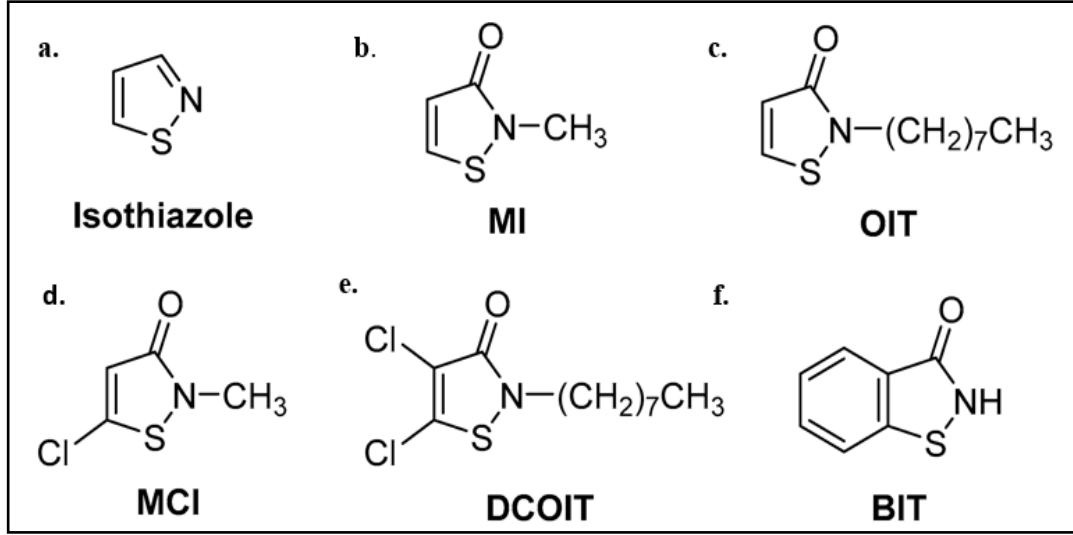
P. sativum tohumları farklı kadmiyum (0,25, 0,5 ve 1 mM) konsantrasyonlarına maruz bırakılıp incelendiğinde; kadmiyumun çimlenmeyi engellendiği, alfa ve beta amilaz enzimlerinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Chugh ve Shawhney, 1995).

1.2. İzotiazolinon Bileşikleri

İzotiazol (1,2 tiazol), ikinci pozisyonunda azot atomu bulunduran ve tiyofenden (C_4H_4S formülünde renksiz, yağlı, benzen türevinde bileşik) üretildiği düşünülen beş üyeye sahip bir heteroaromatik bileşiktir. Bunlar metilizotiazolinon (MIT), metilklorizotiazolinon (CMIT), benzizotiazolinon (BIT), oktilizotiazolinon (OIT), diklorizotiazolinon (DCOIT) olarak bulunur (Silva ve diğ., 2020). İzotiazolinon bileşiklerinin moleküler yapısı Şekil 1.1'de gösterilmektedir.

MIT, ilk olarak 1965 yılında Crow ve Leonard tarafından %80'lik verimle sentezlenmiştir. Ardından 1971 yılında Lewis ve diğ., ilk prosedüre göre daha kolay hazırlanabilen bir yöntemle MIT ve OIT'yi sırasıyla %33 ve %96'lık verimle sentezlediklerini rapor etmişlerdir. Ayrıca MIT'yi veren reaksiyonun yan ürünü olarak CMIT'ı %20'nin altında bir verimle elde ettiklerini bildirmişlerdir. 1987 yılında Tsolomitis ve Sandris %90'lık verimle MIT'ı elde etmiştir. 1994 yılında Beeley ve diğ., CMIT gibi yan ürünlerin oluşmadığı, sülfürlü klorürün (SO_2Cl_2) kullanılmadığı

bir protokolle MIT'in ilk defa %70 verimle elde edildiği göstermişlerdir. DCOIT'in sentezi ilk olarak 1977 yılında, OIT ve SO₂Cl₂ arasında meydana gelen bir reaksiyondan %51 verim ile elde edilmiştir (Weiler ve diğ., 1977). BIT ilk olarak 1923 yılında (McKibben ve McClelland, 1922) sentezlenmiş, yıllar içerisinde farklı reaksiyon yöntemleriyle sentezlenme çalışmaları devam etmiştir (Silva ve diğ., 2020).



Şekil 1.1. İzotiazolinon bileşiklerinin moleküler yapısı a. izotiazolinon; b. 2-metil-4-izotiazolin-3on; c. 2-oktil-4-izotiazolin-3-on; d. 5-klor-2-metil-4-izotiazolin-3-on; e. 4,5-diklor-2-oktil-4izotiazolin-3-on; f. 1,2-benzizotiazolin-3-on

İzotiazolinonlar 1970'lerden beri kullanılan antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip koruyuculardır (de Groot ve Herxheimer, 1989; Menne ve Hospital, 1999). CMIT ve MIT 3:1 oranında, Kathon olarak adlandırılan karışım halinde (US EPA, 1998) ve 1980'li yıllardan itibaren Kathon 886 mw, Kathon wt, Kathon lx, Kathon CG/icp (yalnızca Amerika Birleşik Devletleri), Kathon dp (yalnızca Avrupa) ve Kathon CG (Rohm and Haas Company, Philadelphia) isimleri altında çeşitli formülasyonlarla ticari olarak satışa sunulmuştur (de Groot ve diğ., 1988).

CMIT/MIT karışımı Kathon CG (kozmetikteki isimlendirilmesi) 1980'lerde kozmetik, tuvalet malzemeleri ve çeşitli endüstriyel uygulamalarda mantarlar, mayalar, gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı koruyucu olarak kullanılmaya başlanmıştır (Menne ve Hospital 1999). Ardından 1980'lerden itibaren CMIT/MIT karışımı nedeniyle Avrupa ve Amerika'da dermatit vakalarında artışlar meydana gelmiştir (de Groot ve Herxheimer, 1989). Kathon CG kullanımı için maksimum konsantrasyon, alerjik reaksiyonlara neden olması nedeniyle kısıtlanmıştır.

İzotiazolinonlar günümüzde çok geniş kullanım alanına sahiptir. CMIT/MIT karışımı veya MIT; el, yüz, ayak kremleri ve duş jelleri (Uter ve diğ., 2014), şampuanlar (Hoa ve diğ., 2019), deterjanlar (Yazar ve diğ., 2011) oda spreyleri (Park ve Kwon, 2016), ıslak mendiller (Chang ve Nakrani, 2014), tuvalet kağıtları (Gardner ve diğ., 2010), endüstriyel ürünler (Aerts ve diğ., 2017) metal işleme sıvıları (Geier ve Lessmann, 2020), ahşap koruyucu olarak (Wang ve diğ., 2020), su ve yağ bazlı duvar boyalarında (Goodier ve diğ., 2018) ve gıda paketlenmesinde kullanılan kağıtların içerisinde (Lin ve diğ., 2010) bulunan biyositlerdir. Ayrıca MIT, soğutma suyu sistemleri, yakıt depolama tankları, kağıt hamuru ve kağıt fabrikası su sistemleri, petrol çıkarma ve diğer endüstriyel sistemlerde su yüzeyinde balçık oluşturan bakteri, fungus ve algleri kontrol etmek için kullanılmaktadır (US EPA, 1998).

Bitkilerin yetiştirilmesinde kullanılan farklı agar ortamları PPM (Bitki Koruma Karışımı) içermektedir. PPM'in içerisinde %0,05-%0,1 oranlarında MIT ve CMIT bulunur (Niedz, 1998).

CMIT, BIT ve MIT *Escherichia coli* bakterisi ve *Schizo-saccharomyces pombe* (fasyon mayası) üzerinde biyosidal aktiviteye sahiptir. Bakteri ve fasyon mayası üzerinde etkili inhibisyon konsantrasyonları CMIT için 0,1-0,5 µg/ml; BIT için 15–20 µg/ml ve MIT için 40–250 µg/ml'dir (Collier ve diğ., 1990).

BIT ve OIT güçlü bakterisit, fungusit ve algisit özelliklerinden dolayı endüstriyel ürünler, ev deterjanları, su bazlı boyalarda kullanılmaktadır; kozmetikte kullanımı yasaktır (Aerts ve diğ., 2017).

Geniş uygulama alanları göz önüne alındığında, izotiazolinonların su veya toprak ortamlarına girmesine izin veren birçok yol vardır. Seri üretimleri ve yaygın kullanımlarına rağmen bu maddelerin doğal ortamda oluşumuna ilişkin çok az bilimsel çalışma vardır. İzotiazolinonlar, ahşap ürünler, endüstriyel ürünler, kozmetikler ve kişisel bakım ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaları nedeniyle, atık sularda ve yüzey sularında sıklıkla tespit edilmektedir (Li, 2019). Çok çeşitli alanlarda kullanılan MIT yağmur yağmasıyla toprağa karışmaktadır (Bollmann ve diğ., 2017).

Almanya'da yüzey suları, yer altı suları ve içme sularında 0,01-0,1 µg/L oranlarında MIT, CMIT, BIT, OIT ve DCOIT izotiazolinon bileşikleri tespit edilmiş; nehir

sularında ise bu biyositlere rastlanmamıştır. Bu durum, izotiazolinon bileşiklerin nehir suları ve özellikle de atık sularına karıştıktan sonra ortamdaki hızlı bir şekilde uzaklaştığı anlamına gelmektedir. Aynı araştırmada, yüzey suları, musluk suyu veya yer altı sularından alınan örnekler farklı sıcaklık koşullarında saklandığında ortamdaki yok olma sürelerinde değişiklik olduğu belirlenmiştir. Ayrıca yüksek biyosit konsantrasyonları kanalizasyon arıtma tesislerinde yaşayan mikroorganizmalar için tehlikeli olabilir (Rafoth ve diğ., 2007).

Taylan'da, yıllık OIT kullanımı ülke genelinde 0,08 ton, başkenti Bangkok'ta 0,01 ton iken yıllık BIT kullanımı ülke genelinde 11,6 ton, başkentinde 1 tondur. Bangkok'taki atıksu arıtma tesislerinin yüzey sularından alınan örneklerde BIT ve OIT tespit edilmiştir (Jusu ve diğ., 2019). Polonya'da 1,04-10,08 µg/L MIT toprakta; 1,21 µg/L oranında MIT kanalizasyon suyunda tespit edilmiştir (Nowak ve diğ., 2020).

MIT, BIT, OIT, DCOIT izotiazol bileşikleri toprağa karıştıktan sonra bozunma süreleri incelendiğinde, MIT 7 saatte, BIT 13 saatte, DCOIT 4 ila 5 günde ve OIT ise 9 günde toprakta %50 oranında azalarak hızla bozunduğu gözlemlenmiştir (Bollmann ve diğ., 2017). Bazı biyositlerin kalıntılarının, tekrarlanan girdilerden dolayı sürekli olarak mevcut olma olasılığı yüksektir ve çoğu biyositlerin bu bağlamda "sözde kalıcı" kirletici madde olarak kabul edilebilir (Bollmann ve diğ., 2017).

MIT'ya maruz bırakılan *Xenopus laevis* (Güney Afrika pençeli kurbağa) embriyoları ve iribaşları, kurbağa yavruları doğal rejeneratif yeteneklerini kaybettiklerini ve omurilik, kas, notokord da dahil olarak dokuları yeniden oluşturulamadığını belirleyen Delos Santos ve diğ. (2016), bu maddeye maruz kalan peçeli kurbağalarda yara iyileşmesinin engellendiğini tespit etmiştir. LC50 değeri 0.072 mg/L olarak tespit edilen MIT, gökkuşuğu alabalığına (*Oncorhynchus mykiss*) 6,8±1,1 µg/L konsantrasyonunda 15°C'de uygulandıktan sonra düşük oranda kullanılmasına rağmen balık üzerinde CAT, SOD ile GPX enzim miktarlarında artışa neden olduğu, kırmızı kan hücrelerinde yüksek oranda DNA hasarı ve incelenen tüm genlerin ifadesini arttırdığı tespit edilmiştir (Capkin ve diğ. 2017).

Kathon CG, %0,001: %0,01: %0,05: %0,1: (v/v) oranlarında hazırlanıp HL60 tümör hücreleri 10 dakika maruz bırakıldıktan sonra 0, 3, 6 ile 24. saatleri sonunda hücre canlılığı ve DNA kırığı analizi yapılmıştır. CMIT/MIT karışımının, %0,05 ile %0,1

konsantrasyonları uygulandıkları andan itibaren ani hücre ölümlerinin görülmesi; 3., 6. ve 24. saatleri sonunda yaşayan hücre sayısının çok düşük olması; 6.saat sonunda, %0,01 konsantrasyonunda büyük oranda DNA kırığı oluşturması nedeniyle yüksek toksisiteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Anselmi ve diğ., 2002).

BIT, mikroalglerde fotosentez reaksiyonlarına zarar vererek büyümeyi önemli ölçüde engeller. Eğer miktarı yüksek değil ise mikroalgler yüksek oranda inhibisyona uğramalarına rağmen hala hayatta kalmaya devam edebilirler (Wang ve diğ., 2018).

İzothiazolinon bileşiklerinden MIT, BIT, OIT ve DCOIT bulunan 10 farklı biyosit 3 tane omurgasız hayvan türü, su piresi (*Daphnia similis*), tatlı su planaryası (*Dugesia japonica*) ve yeşil neon karides (*Neocaridina denticulata*) üzerinde uygulanmıştır. Uygulama sonucunda DCOIT, subiti ve tatlı su planaryası üzerinde en yüksek, MIT'in ise 3 omurgasız üzerinde düşük toksisiteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Li, 2019).

1.2.1. MIT ve Kathon CG'nin insan sağlığına etkileri

Kişisel bakım ürünleri, deterjanların vb. içerisinde bulunan MIT ve Kathon CG, el, yüz, kol ve göz kapağında alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir (Schwensen ve diğ., 2017).

1991-2000 arasında yapılan yama testleri sonuçlarına göre CMIT/MIT karışımına karşı zaman içerisinde hassasiyet oranlarının arttığı tespit edilmiştir (Wilkinson ve diğ., 2002). 2005 ile 2013 arasında MIT için yapılan yama testinde, yıllar içerisinde MIT'a karşı hassasiyetin arttığı tespit edilmiştir (Gameiro ve diğ., 2014). MIT, öncelikle endüstriyel ürünlerde ve ardından kozmetik ürünlerde tek başına kullanılmıştır. 2000'li yıllardan itibaren CMIT/MIT karışımı ve tek başına kullanılmaya başlanan MIT için temas sonucu alerji büyük oranda artış göstermiştir (Urwin ve Wilkinson, 2013; Gameiro ve diğ., 2014). Ayrıca MIT, 2013 yılında Amerikan Kontakt Dermatit Derneği (ACDS) tarafından yılın alerjeni seçilmiştir (Militello ve diğ., 2020).

2017'de Avrupa Komisyonu, durulanmayan, vücutta ve saçta bekletilen (el, yüz, saç kremleri ve maskeleri) kozmetik ürünlerinde MIT'nin kullanımını yasaklanmıştır ve 2018 yılında durulanan kozmetik ürünlerinin içerisinde MIT kullanımını 15 ppm ile

sınırlandırılmıştır (Schwensen ve Johansen, 2020). Doğal duyarlılaşma potansiyelleri (CMIT> MIT> BIT> OIT ile) göz önüne alındığında, hem tüketicilerde hem de çeşitli endüstrilerdeki çalışanlarda sıklıkla alerjik kontakt dermatit gözlenmiştir (Aerts ve diğ., 2017).

MIT temas alerjisi ile ilişkili mesleki maruziyetler çoğunlukla işyerinde kullanılan nemlendiriciler, sıvı sabunlar ve ıslak mendiller gibi kozmetik ürünler ve ardından temizlik maddeleri, su bazlı boyalar, kesme yağları, yapıştırıcılar ve cilalardır (Schwensen ve Johansen, 2020). Özel risk altındaki meslekler ressam, demirciler, makine operatörleri, güzellik uzmanları ve fayans döşemecileridir.

Fabrika çalışanları, sürekli olarak tahriş edici potansiyele sahip çeşitli kimyasallara ve sıvılara maruz kaldıkları için kontakt dermatit geliştirme riski altındadır. Su şişesi fabrikasında, soğutma sistemlerinde 365 ppm MIT'ya maruz kalan fabrika çalışanlarında alerjik reaksiyonlar meydana gelmiştir (Hollins ve diğ., 2020).

MIT, su bazlı boyaların içerisinde diğer izotiazolinon bileşikleriyle kullanılmakla birlikte diğerlerinden nispeten daha yüksek oranlarda yer almaktadır (Thomsen ve diğ., 2018). MIT, yeni boyanmış odalardan buharlaşıp havaya karışarak alerjik reaksiyonlara neden olabilir (Schwensen ve diğ., 2017). 2013-2019 yılları arasında Türkiye'de 1309 kişi arasından yapılan Kathon CG yama testi sonucuna göre 19 erkek ve 21 kadın pozitif vaka tespit edilmiştir (Boyvat ve diğ., 2021).

Türkiye'de de 1996-2019 yılları arasında toplamda 2310 hasta üzerinde yapılan MIT ve Kathon CG alerji testi sonuçlarına göre genel olarak % 3,3 temas hassasiyet oranı tespit edilmiştir. Ayrıca %16,4 ile en yüksek pik, 2015 yılında elde edilmiştir ve 2019 yılında ise % 6,5 temas hassasiyet oranı tespit edilmiştir (Özkaya ve diğ., 2020).

Farklı bir çalışmada, Türkiye'de 2016 – 2018 yılları arasında izotiazolinonlar ile ilgili yapılan alerji testi sonuçlarına göre 324 hastanın %8,9'unun test sonucu MIT veya Kathon CG'ye pozitif sonuç vermiştir. Bu hastalar, boya üretimindeki işçiler ya da boyacılar, metal kesme sıvılarındaki işçiler veya ıslak mendiller gibi durulanmayan ve de durulanan kozmetik ürünlerinden dolayı MIT'a ve Kathon CG'ye maruz kalmışlardır (Salman, 2019).

MIT ve Kathon CG, özellikle çocukların kullandığı ürünlerin içerisinde sıkça bulunmaktadır ve alerjik reaksiyonlara neden olmaktadır (Belloni Fortina ve diğ., 2020). Su bazlı poster boyalar, koruyucu olarak uçucu özelliğe sahip MIT (50 ppm) içermesi sebebiyle çocuklarda hava yolu kaynaklı alerjik kontakt dermatite neden olmaktadır (Filippi ve diğ., 2020). Ev yapımı slime oynayan ve ellerinde alerjik reaksiyon görülen 9, 10 ve 12 yaşlarındaki 3 çocuğa yama testi yapıldığında üçünün de pozitif çıktığı gözlenmiştir (Salman ve diğ., 2019). Ticari olarak satılan slime içeriğinde polivinil alkol, polivinil asetat (yapıştırıcı) veya nişasta ve boraks bulunmaktadır (Labadie ve diğ., 2020). Evde hazırlanan slime içerisinde boraks yerine kontakt lens solüsyonu, deterjan, şampuan, sıvı sabun, traş kremi ve tutkal kullanılmasından (Piazza ve Cestari, 2018) dolayı, MIT ve CMIT ile direk temastan dolayı alerjik reaksiyon riski artmaktadır (Aerts ve diğ., 2018; Mainwaring ve diğ., 2019).

Normal insan keratinositleri 0,15: 1,5: 7,5: 15 ppm Kathon CG konsantrasyonlarına 10 dakika maruz bırakıldıktan sonra incelenmiş, 3. saatin sonunda 1,5 ppm ve 7,5 ppm de hücre canlılığının azalma; 15 ppm de ise büyük oranda azalma gözlenmiştir. 0,15: 1,5: 7,5: ppm konsantrasyonlarında kaspaz -3, -8 ile -9'da aktivitesi zaman içerisinde konsantrasyona bağlı olarak artış göstererek apoptotik ölüm görülürken, 15 ppm de kaspaz aktivasyonu görülmemiş ancak nekrotik ölüm gerçekleştiği tespit edilmiştir (Ettorre ve diğ., 2003). Araştırmacılar CMIT/MIT karışımının en yüksek kullanım oranının 7,5 ppm olarak izin sınırlandırılması gerektiğini düşünmektedirler.

1.3. Sıvı Vermikompost Gübresi

Vermikompost, solucanların mikroplar ile işbirliği yapması sonucunda ortaya çıkan solucan gübresidir (Bhat ve diğ., 2018). Vermikompost katı gübre, sıvı gübre veya çay şeklinde kullanılabilir.

Vermikompost, bitkinin büyüme ve verimliliğini arttırabilme özelliğine sahip hümik asit (Arancon ve diğ., 2006) ile çinko, bakır, manganez ve demir gibi mikro besinleri yüksek oranda içermesi (Kumar ve diğ., 2015) bitki büyümesi için birçok avantaj sağlamaktadır. Ayrıca vermikompost bitki büyümesi için gerekli olan fulvik asit, fosfor, potasyum ve azot içermektedir.

Vermikompostun içerisinde bitki büyümesinde görev alan Trans-zeatin (tZ), N6- [2-isopentyl] adenin (iP), N6-isopentenyladenosine (iPR) ve indol asetik asit (IAA) gibi fitohormonları bulunmaktadır (Zhang ve diğ., 2015) .

Sıvı vermikompost, zararlı organizmalar ve hastalıklara karşı bitkilerin daha dirençli olmasını sağlar (Polat Akköprü, 2021). Ayrıca, pestisitlere karşı etkili karboksilestraz içermektedir ve pestisit ile kontaminyonlu topraklarda temizleyici-iyileştirici olarak kullanılabilir (Sanchez-Hernandez ve diğ., 2019).

Sıvı vermikompostun başlıca avantajları, istenilen koku, dengeli pH, düşük elektriksel iletkenlik, yüksek katyon değişim kapasitesi, bitki büyümesi için mevcut besin elementlerini içermesidir (Atiyeh ve diğ., 2002; Atiyeh ve diğ., 2000).

Solucanlar, toprakta Proteobacteria, Bacteroidetes, Basidiomycota ve Ascomycota gibi bakteri ve mantarların büyümesini sağlayarak mikrobiyal topluluğu artırır (Chen ve diğ., 2018). Böylece vermikompost uygulanan topraklarda makro ve mikro besin elementi içeriğini artmaktadır (Tejada ve diğ., 2009).

Eisenia fetida üzerinde farklı hayvanların atık ürünü ve bitki kompostunun etkisini inceleyen araştırmacılar, inek, koyun, domuz, tavşan, kümes hayvanları ile bitki kompostu karışımı karşılaştırmasında en yüksek verimi inek atığı ve bitki kompostu karışımından elde etmiştir (Vodounnou ve diğ., 2016).

Yeni Zelanda'da bir arada bulunan yerli ve egzotik solucan türleri, bitki gelişimini olumlu yönde etkileyerek sera gazı ve nitrojen hareketliliğinde değişim sağlamıştır (Kim ve diğ., 2015). Artan sanayileşmeyle birlikte, sanayi bölgesinin çevresindeki toprakların kirlenmesi ve sonucunda oluşan zararlı atıkların daha iyi ve verimli topraklara dönüşebilmesi için solucanlar kullanılıp, daha verimli ve iyileştirilmiş bir toprak elde edilebilebileceği önerilmektedir (Bhat ve diğ., 2018).

Pestisite maruz bırakılan topraklara sıvı solucan gübresi uygulandığında, toprakta bulunan pestisiti parçalayarak etkisiz hale getiren ve topraktaki enzimatik aktiviteyi arttıran; toprak biyoremediasyonunda kullanılan bir biyo-gübredir (Sanchez-Hernandez ve diğ., 2019).

Türkiye’de katı ve sıvı vermikompost üretimi 2011 yılından itibaren başlamıştır. 2017 yılında, Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı resmi üretim izinlerine sahip 15 tesis tarafından yaklaşık 20000 ton katı vermikompost üretimi yapılmıştır. Özellikle Marmara ve Ege Bölgesi’nde vermikompost üretim tesisleri bulunmaktadır (Bellitürk, 2018).

1.3.1. Sıvı vermikompost gübresinin elde edilmesi

Özütleme ünitesi olarak kullanılan hidrodinamik kavitasyon teknolojisi (Sun ve diğ., 2020) ile solucan gübresi nano moleküler düzeyde parçalanarak sıvı hale getirilir. Bu, sıvı solucan gübresi ya da vermiekstrakt olarak adlandırılır. Böylece ince kabarcık difüzyon teknolojisi kullanılarak basınçlı hava vermikompost özütü elde edilmiş olur (Salter ve Edwards, 2010).

Genellikle vermikompost çayları olarak adlandırılan solucan gübresi sulu çözeltileri, mikroorganizmaların, çözünen besleyicilerin ve bitkiye yararlı maddelerin sıvı bir forma dönüştürüldüğü katı solucan gübresinin sulu ekstraktları olarak tanımlanabilir ve birçok farklı yöntem ile elde edilmektedir (Salter ve Edwards, 2010). Solucan gübresi çayının en önemli özellikleri, katı muadilinden farklı olarak bitki yapraklarına doğrudan uygulanabilmesi ve toprağı ıslatmak için kullanılabilmesidir (Salter ve Edwards, 2010).

1.4. Sitolojik Analiz

Mitoz bölünme, iki yavru hücrenin oluştuğu, büyüme, onarım vb. organizma için gerekli olan hücre bölünmesi şeklidir. Bitkilerde kök ucu ve gövde sürgünlerinde bölünmekte olan hücre sayısının fazla olduğu meristematik dokularda mitoz bölünme kolaylıkla gözlemlenebilmektedir. Her bir kromozom, kromozom bölgesi olarak bilinen sınırlı, özel bir nükleer etki alanını kaplar. Mutajenler, genetik materyal üzerinde doğrudan bir etkiye sahip oldukları için DNA’da hasar meydana geldiğinde, kromozomun yapısında tespit edilebilir (Silva ve diğ., 2018).

P. sativum, kimyasallar, radyasyon ve çevresel kirleticiler tarafından indüklenen somatik mutasyonlar için hem mitoz hem de mayoz bölünmede kromozom hasarlarını tespit etmek için kullanılan önemli bir bitkidir (Grant ve Owens, 2001). Pisum cinsi

üzerinde 179 farklı kimyasal madde uygulanmış, 117 tanesinde kromozom anormallikleri tespit edilmiştir (Grant ve Owens, 2001).

Kadmiyum konsantrasyonlarına (0.25, 2.5, 25, 250 µM) maruz bırakılan *P.sativum*, konsantrasyonların artışıyla doğru orantılı olarak kök uzunluğu, mitotik aktivite ve DNA sentezleyen hücrelerin yüzdesinde azalma olduğu gözlenmiştir (Fusconi ve diğ., 2007).

P. sativum, plastik endüstrisinde kullanılan Bisfenol A kimyasalının farklı konsantrasyonlarına (20 mg/L, 50 mg/L ve 100 mg/L) maruz bırakıldığında, normal kromozom segregasyonunu etkilediği, sitokinezin tamamlanmasını engellediği, interfaz ve mitotik mikrotübül dizilerini bozduğu tespit edilmiştir (Adamakis ve diğ., 2013).

P. sativum tohumları 0,1, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 2 mg/L sodyum hipoklorit (NaClO) konsantrasyonlarına maruz bırakılarak, kök büyümesi ve mitotik indeks oranı incelenmiştir. 0,4 mg/L, 0,8 mg/L ve 1,6 mg/L NaClO uygulamalarında kök büyümesinin azaldığı; 72.saat sonunda mitoz inhibisyonunun her bir dozda %50'den fazla olduğu, 1,6 ve 2 mg/L NaClO konsantrasyonlarında mikronükleus olduğu tespit edilmiştir (Salazar-Mercado vd., 2019).

Bridellia spilutaris L. Blume yapraklarından elde edilen gümüş nanopartikülleri (AgNPs) 4, 8, 12, 16 µg/mL oranlarında *P. sativum* köklerine uygulandıktan sonra yüksek konsantrasyonlarda mitotik indeksin azaldığı, kromozomal anormalliklerin arttığı tespit edilmiştir (Daphedar ve Taranath, 2019).

Benzer sonuçlar *Allium cepa* üzerinde yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir. Protham ve Cloropham herbisitlerini farklı konsantrasyon ($10^{-1} - 10^{-7}$) aralığında *A. cepa* köklerine uygulayan Hidalgo ve diğ. (1989), herbisitlerin kök büyümesini inhibe ettiği, mitotik indeksi azalttığı ve özellikle anafaz evresinde birçok anormalliğe neden olduğunu gözlemlemiştir.

A. cepa kökleri kenevir'e maruz bırakıldıktan sonra kromotin yapısının zarar gördüğü, kenevirin maruziyet süresinin artmasıyla kromatinin tamamıyla parçalanarak yalnızca

çekirdek zarının kaldığı veya çekirdeğin parçalara ayrıldığı tespit edilmiştir (Malallah ve Kabarity, 1982).

1.5. Biyokimyasal Aktivite

Oksijen, aerobik organizmalar için hayati bir moleküldür. Elektron taşınımı ile ilgili reaksiyonlarda, elektronlar stres faktörlerinin etkisiyle asıl hedef molekül yerine oksijene verilir. Bu şekilde başlayan zincirleme reaksiyonlar bitki dokularında reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olur. ROS'ların birikmesi, hücresel bileşenlere zarar vermeye başlar ve bu olay oksidatif stres olarak isimlendirilir (Dogru, 2020).

Hücre içerisinde ROS'ların oluştuğu organeller, apoplast, mitokondri, kloroplast ve peroksizomdur. Normal koşullar altında, ROS'un oluşumu ve ortadan kaldırılması arasında bir denge vardır. Ancak bu denge zararlı kimyasal maddeler ve ağır metallerle maruz kalma, yüksek ve düşük ışık koşulları, patojenler, böcekler ve aşırı sıcaklıklar vs. gibi farklı biyotik ve abiyotik stres faktörleri tarafından engellenir (García-Caparrós ve diğ., 2020).

Süperoksit anyon radikali (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (OH) ve singlet oksijen (1O_2) reaktif oksijen türleridir ve hem bitkiler hem de hayvanlar tarafından sentezlenen metabolik bir yan üründür (Halliwell ve Gutteridge, 2006).

Antioksidan savunma sistemi iki gruptan oluşur: (i) süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX), genel peroksidazlar (PRX) (örn. guaiacol peroksidaz (GPX), glutatyon redüktaz (GR), monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) gibi enzimatik antioksidanlar; (ii) Askorbik asit (AA), indirgenmiş glutatyon (GSH), α -tokoferol, karotenoidler, plastokinon/ubikinon ve flavonoidler gibi enzimatik olmayan antioksidanlardır (Duhan ve diğ., 2019). Bu iki metabolit ve enzim grubu, ROS'ların temizlenmesinde, aynı zamanda bitki sinyalleşmesi, bitki büyümesi ve gelişimini belirlemede rol alır.

Son yıllarda, ROS'ların bitkilerde hem toksik bileşikler hem de büyümesi, gelişimi, hücre döngüsü, programlanmış hücre ölümü, hormon sinyalleşmesi, biyotik ve abiyotik hücre tepkileri gibi çeşitli biyolojik süreçler de anahtar düzenleyiciler olarak ikili bir rol oynadığı ortaya çıkmıştır (Duhan ve diğ., 2019; Talaat, 2019).

ROS, bitki büyümesi ve gelişimi, stres tepkisi ve programlanmış hücre ölümü gibi çeşitli süreçleri kontrol eden sinyal iletim yollarında ikincil haberciler olarak görev alır (Gechev ve diğ., 2006). Özellikle hücre dışı olarak üretilen ROS, bitki hastalığı direncinin önemli bileşenlerindedir. Yaralanma veya patojen saldırısının ardından, birçok bitki, patojenlere doğrudan toksik olabilen hızlı ve geçici olarak ROS'ları üretir (Mika ve diğ., 2004). Ayrıca, gerekli hücre duvarı gevşemesini kolaylaştırarak büyümede hayati bir rol oynarlar (Passardi ve diğ., 2006; Passardi ve diğ., 2004).

Yüksek ROS miktarı, güçlü oksitleyici olmasından dolayı, proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi biyomoleküllerde geri döndürülemez veya neredeyse geri döndürülemez değişiklikler nedeniyle hücrel hasara neden olabilir (Moller ve diğ., 2007).

Hücrelerin kuru ağırlığının %50'sinden fazlasını proteinler oluşturmaktadır ve ROS'un ana hedefidir. Protein oksidasyonu, genel olarak ROS tarafından indüklenen, proteinlerin modifikasyonu olarak tanımlanır. Çeşitli oksidatif protein modifikasyonu türleri arasında çoğu geri döndürülemezdir ve ürünleri oksidatif stresin belirteçleri olarak kabul edilir (Sweetlove ve Moller, 2009).

ROS'lar tarafından en fazla etkilenen bileşiklerden bir diğeri hücre zarının ana yapısını oluşturan lipitlerdir (Cai ve diğ., 2004). ROS'lar hücrede membranların yapısında bulunan lipitleri oksitleyerek bozar ve seçici geçirgenlik özelliklerini azaltabilirler. Oksidatif stres sonucunda lipitlerde oksitlenme reaksiyonları gerçekleşir ve ara ürün malondialdehit (MDA) oluşur. Membrandaki doymamış yağ asitlerinin ayrışma ürünlerinden biri olan MDA, stres sonucu oluşan zararın ölçüsünü belirlemede kullanılır (Parida ve Das, 2005; Gill ve Tuteja, 2010; Yuksel and Aksoy, 2019).

Bitki hücre zarlarını oluşturan çoklu doymamış yağ asitleri, özellikle singlet oksijen ve hidroksil radikalleri olmak üzere ROS'un etkisine maruz kalırlar. ROS, çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipit peroksitlerin oluşumuna yol açar. ROS nedeniyle, plazma membranının fizikokimyasal yapısı daha az sıvı hale gelir ve geçirgenliği artar, bu da elektrolit sızıntısına neden olur (Soltabayeva ve diğ., 2021).

Peroksidazlar ve katalaz esas olarak H₂O₂'nin temizlenmesinden sorumludur. Genel olarak, peroksidazlar H₂O₂ ile fenoller, aminler ve alkoller gibi çeşitli indirgeyiciler

arasındaki redoks reaksiyonları katalize eder. Aynı zamanda, bitki büyümesi sırasında meydana gelen lignin sentezinde ve hücre duvarı bileşenleri arasındaki çapraz bağların savunma yanıtlarının oluşumunda rol oynar. (Francoz vd., 2015).

Kısacası, peroksidazlar H_2O_2 'yi ortadan kaldırırken, aynı zamanda oluşumuna yol açan çeşitli oksidatif reaksiyonları da katalize ederler (Lee ve diğ., 2007; Wojtaszek, 1997).

ROS'lar tohum gelişimi sırasında erken embriyogeneze meydana gelen büyüme süreçlerinde yer alırlar ve tohum çimlenmesi sırasında kök çıkıntısının altında yatan mekanizmalara katılırlar (Bailly, 2004).

Çimlenme, tohumların uyku durumundan metabolik olarak aktif ve büyüme başlangıcının olduğu kritik bir aşamayı oluşturur. Tohum çimlenmesi, bitki yaşam döngüsünün en önemli aşamasıdır ve bitki büyümesi ile üretkenliğini etkiler (Wojtyla ve diğ., 2016).

Tohum çimlenme sürecine girdiğinde solunum metabolizması aktifleşir. Tohumda bulunan ROS, hücre duvarını zayıflatarak çimlendirmeyi başlatır. Çimlenme sürecinde, ROS apoplastta üretilir ve hayati bir öneme sahiptir (Kranner ve diğ., 2010). Tohumlar su alıp şişmeye başladıktan sonra, protein sentezi ve solunum aktiviteleri başlar. Tohuma su alımının ilk evrelerinde transkripsiyon ve translasyon da başlamaktadır (Nonogaki ve diğ., 2010).

H_2O_2 , toksik bir molekül ve sinyal molekülü olarak ikili görevi bulunmaktadır. H_2O_2 ile absisik asit, gibberellin ve etilen gibi bitki fitohormonları ve tohum çimlenmesi sırasında hücre sinyalleşmesinde görev yapan nitrik oksit ve hidrojen sülfid gibi reaktif moleküller dahil olmak üzere bir dizi sinyal molekülü arasındaki önemli bir bağlantı bulunmaktadır (Wojtyla ve diğ., 2016).

P. sativum tohumları ışıklı veya ışısız ortamda çimlendirilmesi, gelişimi üzerinde etkili değildir (Urbano ve diğ., 2005). *P. sativum*'un çimlenme sürecinde, tohumlar su aldıktan 30 dakika sonra H_2O_2 yüksek oranda sentezlenerek ilk oksidatif artış gerçekleşir, ancak kısa sürede miktarı azalmaktadır. İkinci oksidatif artış, kök büyümesinin başlangıcında O_2^- radikali sentezlenir, ancak H_2O_2 bu süreçte

gözlenmemiştir. Erken fide gelişimi sürecinde de O_2^- miktarı artmaktadır (Kranner ve diğ., 2010).

P. sativum tohumlarında su aldıktan sonra gözlemlenen oksitatif radikaller ve enzimatik değişiklikler çimlenmeyle ilişkilidir. Kuru tohumlarda antioksidatif enzimlerin varlığı ve erken çimlenme sırasındaki aktivasyonu, kök ortaya çıktıktan sonra, çimlenme sırasında meydana gelen koşullara tohumu hazırlar (Wojtyla ve diğ., 2006).

P. sativum'un kökleri üzerinde, ağrı kesici özelliğe sahip naproksen (NPX) ilacının etkisi incelendiğinde, düşük konsantrasyonlarda (0,1: 0,5: mg/L) kök uzunluğu ve APX, SOD gibi antioksidan enzim kapasitesini artmıştır. 1 mg/L, 10 mg/L NPX, kök uzunluğu ve yan kök sayısını azaltarak, süperoksit anyon radikali, H_2O_2 ve lipid peroksidasyonunun artmasına, SOD, APX gibi total antioksidan kapasitesinin düşmesine ve membran bütünlüğünün bozulmasına neden olmuştur (Svobodníkova ve diğ., 2020).

Su stresine maruz bırakılan *P. sativum*'dan (F1 nesli) elde edilen tohumların çimlenme süreci incelenmiştir. F1 neslinden elde edilen tohumlar (F2 nesli) çimlendirildiğinde, çimlenme oranında artış ve köklerde ROS birikiminin azaldığı tespit edilmiştir (Kumari ve Vujanovic, 2020).

2. MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Maddelerin Hazırlanması

Ticari olarak satın alınan MIT (Sigma) ve CMIT/MIT karışımı veya diğer adı ile Kathon CG (Cayman Chemical, USA) maddeleri distile su ile her çalışma için taze olarak cam şişelerde hazırlandı. Her iki kimyasal, en az 15 dakika en fazla 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra uygulandı.

Sıvı vermikompost gübresi ticari olarak (Riverm Ltd. Şti. Tekirdağ/Türkiye) temin edildi ve dilüsyon işlemi distile su ile yapıldı.

Pisum sativum ssp. sativum var. arvence tohumları ticari olarak (HK Tohumculuk, Kütahya) temin edildi.

2.2. EC50 Değerinin Belirlenmesi

Bezelye tohumları, 3 kere distile su ile yıkandıktan sonra UV ışık altında bekletilmiş kağıt havlu bulunan (El-Amier ve diğ., 2019), 22x25 cm boyutlarındaki petrilere 20'şer adet yerleştirildi. EC50 değerini belirlemek için, MIT için 16 konsantrasyon ve Kathon CG için 8 konsantrasyon uygulandı. Kontrol grubunda distile su kullanıldı. Bezelyeler 23,5°C'de etüv içerisinde karanlık bir ortamda çimlendirildi. Her uygulama 3 tekrarlı olarak yapıldı. 48 saatin sonunda kök uzunluğunu yarıya indiren konsantrasyon EC50 değeri olarak kabul edildi (Yuksel ve Aksoy, 2017; Roy ve diğ., 2021). Çalışmamız boyunca her iki kimyasal için EC50/2, EC50, EC50x2 konsantrasyonları kullanıldı.

2.3. Sıvı Vermikompost Verimlilik Oranının Belirlenmesi

P. sativum tohumları, içerisinde kağıt havlu bulunan petri kaplarında, %100, %25, %20, %15, %10, %7,5, %5, %4, %2, %1, %0,5 (v/v) oranlarında sıvı vermikompost gübresi uygulaması yapıldı. 48.saatin sonunda *P. sativum*'in kök uzunluğu ölçümü alındı ve *P. sativum* çimlenme oranının en iyi olduğu konsantrasyon, iyileştirici

konsantrasyon olarak uygulandı. Sıvı vermikompost gübresi içeriği (w/w) Tablo 2.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 2.1. Sıvı vermikompostun içeriği

Sıvı Vermikompost İçeriği	(w/w)
Organik madde	%5,2
Toplam azot (N)	% 1,1
Organik azot	% 1,1
Toplam fosfor pentaoksit (P ₂ O ₅)	% 1
Suda çözünür potasyum oksit (K ₂ O)	1,2
Toplam hümik+fulvik asit	% 1,2
EC (Elektriksel iletkenlik)	2,8 dS/m
pH	7

2.4. Mitoz Bölünme

Mitoz bölünmenin gerçekleştiği saati belirlemek için tohum ekimi yapıldıktan 48 saat sonra 08.00 – 19.00 saatleri arasında, yarım saat aralıklar ile kök örnekleri alınarak, incelendi. Kök örnekleri incelendikten sonra bölünme saati 11:00-12:00 olarak belirlendi. Bu süre aralığında kökler alındı ve 3 kısım alkol (%95): 1 kısım glacial asetik asit (%45) içeren Carnoy fiksatifinde +4°C'de 24 saat boyunca fikse edildi. Ardından %70 alkol içerisine alındı ve kullanılıncaya kadar +4°C'de muhafaza edildi.

Mitoz bölünmenin incelenmesi amacıyla, ezme preperasyon işlemi yapıldı. Öncelikle *P. sativum* kökleri saat camına alındı, 1 N HCl eklenerek 2 dakika bekletildikten sonra %2'lik aseto-orsein eklenip 2 dakika daha bekletildi. Süre sonunda saat camı

ispirto ateşi üzerinde buharlaşma görülünceye kadar ısıtıldı. Sonra kökler lam üzerine alınarak %2'lik aseto orcein damlatıldı ve ince uçlu spatula yardımıyla hafifçe ezilerek 2 dakika boyunca beklendi. Ardından boyanan köklerin üzeri lam ile kapatıldı ve kibrit çöpü yardımıyla hafifçe vurularak hücrelerin dağılması sağlandı. Örnekler ışık mikroskobu (DP71, Olympus) altında incelendi.

Her konsantrasyon ve kontrol grubu için rastgele 5 adet kök örneği seçildi. Farklı konsantrasyonların uygulandığı tohumlarda, her bir preparat için 1000 hücre olmak üzere toplamda 5000 hücre sayılarak mitotik indeks hesaplandı (Younis ve diğ., 2019).

$$\text{Mitotik İndeks (\%)} = \frac{\text{Bölünen Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (2.4.1)$$

$$\text{Anormal Hücre (\%)} = \frac{\text{Anormal Hücre Sayısı}}{\text{Bölünen Hücre Sayısı}} \times 100 \quad (2.4.2)$$

%2'lik aceto orcein hazırlamak için,

2 gr aceto orcein tartıldıktan sonra %45'lik glasiyel asetik asitten 55 ml, %95'lik etil alkolden 45 ml eklenerek, karıştırıldı. Öncelikle ısıtıcıda 100°C'de ısınmaya kadar bekletildi ve ardından 200°C'de (kaynadığı sıcaklık) yaklaşık 60 dakika kaynatıldı. Aceto orcein soğuduktan sonra en az 3 kere orta kalınlıktaki (0,26 mm) filtre kağıdı ile süzüldü.

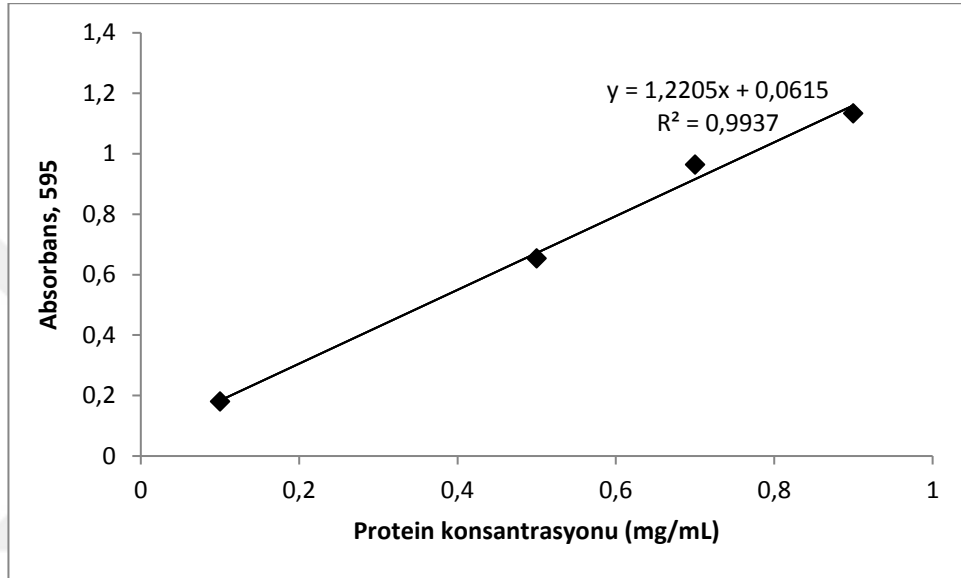
2.5. Total Protein Tayini

Biyokimyasal analizlerin tamamı köklerde mitoz bölünmenin gerçekleştiği, 11:00-12:00 saatleri içerisinde hücresel aktivitenin en yüksek olduğu zamanlarda incelemeler yapıldı.

1977 yılında Pedrol'un yayınladığı çalışma (Bonjoch ve Tamayo, 2001) temel alınarak, Acemi ve diğ. (2020)'nin çalışmasına göre total protein analizi yapıldı. Total protein tayini için, 200 mg kök örneği 0,05 gr PVP (Polivinilprolidon) ve 0,05 M Tris tampon çözeltisi (pH 8) içerisinde homojenize edildi. 15000 g devirde, 20 dakika boyunca +4°C de santrifüj edilerek, süpernatant alındı. Süpernatant, 1:2 oranında Tris tampon çözeltisi (pH 8) ile seyreltilti. Bradford (1976)'a göre 3 ml Bradford Reagent içerisinde 200 µl örnek eklendi ve 595 nm de spektrofotometrede (UV mini 1240, Shimadzu),

her biri 3 tekrarlı olarak ölçümü yapıldı. Her bir konsantrasyon için yaklaşık olarak toplam 50-80 taze kök örneği kullanıldı.

Protein tayini hesaplamasını yapabilmek için standart grafiği hazırlandı. Buna göre 3 mg/mL BSA (Bovine Serum Albümin) stok çözeltisi hazırlandı ve farklı konsantrasyonlarda seyreltildi. 595 nm'de spektrofotometrede ölçüldükten sonra standart grafiği hazırlandı. Total protein standart grafiği Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. *P. sativum var. arvense*'de total protein miktarını belirlemek için kullanılan protein standart grafiği

2.6. Malondialdehit (TBARS) Tayini

Malondialdehit miktarı, ve Packer (1968)'in çalışması temel alınarak, Çakmak ve Horst (1991)'un çalışması modifiye edilerek tayin edildi. Buna göre, 300 mg kök örneği sıvı azot ile havanda ezildi. Üzerine 3 mL %0,1 TCA (Trikloroasetikasit) eklendi ve falcon tüplerine alındı. Ardından 15000 g devirde 10 dakika boyunca oda sıcaklığında santrifüj edildi. Süpernatant, %0,5 TBA (Tiyobarbütirik asit) içeren %20 TCA ile eşit oranlarda bir beher içerisinde karıştırıldı. Beher içerisindeki karışım, ısıtıcı tabla (MR Hei-Standart, Heidolph) üzerinde 100°C'de 20 dakika boyunca kırmızımsı bir renk alana kadar bekletildi. Örnekler hemen buz üzerine alındı ve oda sıcaklığına ulaştıktan sonra 15000 g devirde 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant alındı; spektrofotometrede 532 ve 600 nm'de malondialdehit miktarının ölçümü yapıldı. Kör

olarak %0,5 TBA içeren % 20'lik TCA karışımı kullanıldı. Hesaplama $155 \text{ m}^{-1}\text{c}^{-1}$ formülü esas alınarak yapıldı (Cakmak ve Horst, 1991).

$$\text{Malondialdehit Miktarı } (\mu\text{M}) = \frac{A_{532} - A_{600}}{155} \times 1000 \times 3 \quad (2.6.1)$$

3: küvete konulan karışım miktarı (mL)

%5 TBA içeren %20 TCA çözeltisi için,

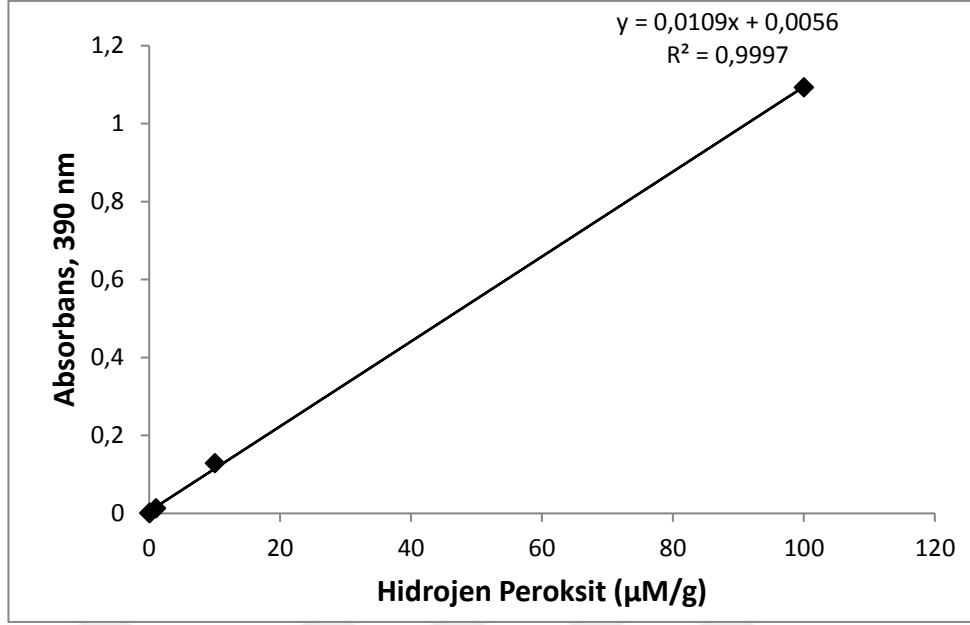
20 gr TCA tartılarak üzerine 80 mL distile su eklendi ve çözünmesi sağlandı. Çözeltiye 0,5 gr TBA eklendi ve 80°C 'deki su banyosunda 30 dakika boyunca bekletilerek, çözdürüldü. Ardından buz üzerine alındı ve oda sıcaklığına geldiğinde 100 mL'ye tamamlandı.

2.7. Hidrojen Peroksit (H_2O_2) Tayini

Hidrojen peroksit standart grafiğini hazırlamak için %36,5 H_2O_2 , distile su kullanılarak %30 H_2O_2 'ye seyreltildi. 1 M %30 H_2O_2 'den, 1 M KI içeren % 0,1'lik TCA (pH 7) çözeltisi ile $0,001 \mu\text{M} - 100 \mu\text{M}$ arasında konsantrasyonlar hazırlandı ve 390 nm de spektrofotometrede ölçülerek standart grafiği hazırlandı (Junglee ve diğ., 2014). H_2O_2 standart grafiği Şekil 2.2'de gösterilmektedir.

0,5 gr olarak *P. sativum*'dan alınan kök örnekleri 5 mL % 0,1 TCA içerisinde havanda ezildi. Ezme işlemi buz üzerinde gerçekleştirildi. Homojenat 10,000 g devirde, 30 dakika boyunca $+4^\circ\text{C}$ de santrifüj edildi (Doupis ve diğ., 2011).

0,5 ml süpernatant 0,5 ml 100 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi (pH 7) ve 2 mL 1 M potasyum iyodür (KI) (taze bidistile su ile hazırlandı) içeren toplamda 3 mL lik çözelti cam şişelerde hazırlandı, karıştırıldı ve ışıktan korumak için şişeler alüminyum folyo ile kaplandı. Ham ekstraktın, KI ile reaksiyona girmesi için 1 saat $+4^\circ\text{C}$ de karanlıkta bekletildi. 1 saat sonra örnekler spektrofotometrede 390 nm de ölçüldü. % 0,1 TCA kör olarak kullanıldı (Alexieva ve diğ., 2001). H_2O_2 değerleri düştüğü için her bir doz en geç 50 dakika içinde ölçüldü.



Şekil 2.2. *P. sativum* var. *arvence*'de hidrojen peroksit miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği

2.8. Süperoksitdismutaz (SOD) Enzimi Tayini

0,2 gr taze *P. sativum* kök örneği 5 mL 0,1 mM EDTA ve %1 PVP içeren 100 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi (pH 7) içerisinde havanda ezildi. Bu işlem buz üzerinde gerçekleştirildi. Homojenat 15,000 g devirde +4°C 15 dk boyunca santrifüj edildi (Mishra ve diğ., 2006).

SOD analizi için substrat tamponu olarak, 50 mM potasyum fosfat tamponu (ph 7,8), 9,9 mM L-methionine, 57 mM NBT (Nitroblue tetrazolium chlorid), %0,025 (w/v) Triton X-100, %0,0044 (w/v) riboflavin tartılıp hazırlandı. Solüsyon 30 dk boyunca karıştırıcıda karıştırılarak çözdürüldü ve ardından +4°C ye alınıp (Dixit ve diğ., 2001) ve her çalışma için taze olarak hazırlandı.

2,95 mL substrat tamponu ve 0,05 mL süpernatant olmak üzere toplamda 21 mL olarak hazırlanan karışım 25 mL'lik erlen içerisinde alınarak, karıştırıldı. Karışım 15 dakika boyunca iki tane 21 Wattlık floresan lamba (iki lamba arasındaki mesafe 17,5 cm ve örnek ile ışık arasındaki mesafe 15 cm, etrafı kapalı bir şekilde) altında 15 dakika boyunca bekletildi. İçerisinde enzim bulunmayan substrat tamponu erlen içerisine alınarak ışık altında 15 dakika bekletildi ve kör olarak kullanıldı (Mishra ve diğ., 2006; Tripathi ve Gaur, 2004). Işık altındaki reaksiyondan sonra beherler, alüminyum folyo

ile kaplandı ve 3 ml örnek spektrofotometrede 560 nm de ölçüm yapıldı. Absorbans değerleri düşmeye başladığı için her bir doz en geç 15 dakika içinde ölçüldü. SOD değeri $U\ mg^{-1}$ olarak hesaplandı.

$$\text{Unit} = \frac{\frac{\text{Kör}-\text{Örnek}}{\text{Kör}} \times 100}{50} \times \text{Dilüsyon faktörü} \times \frac{\text{Küvetteki örnek miktarı}}{\text{Enzim miktarı}} \quad (2.8.1)$$

50 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi pH 7,8 hazırlamak için,

0,6397 g (0,0047 M) KH_2PO_4 , 7,8903 g (0,0453 M) K_2HPO_4 tartılıp 800 mL su eklendi ve pH'ı ayarlandıktan sonra 1000 mL'ye tamamlandı.

100 mM potasyum fosfat tampon çözeltisi pH 7 hazırlamak için,

5,3887 g (0,0396 M) KH_2PO_4 , 10,520 g (0,0604 M) K_2HPO_4 tartılıp 800 mL su eklendi ve pH'ı ayarlandıktan sonra 1000 mL'ye tamamlandı.

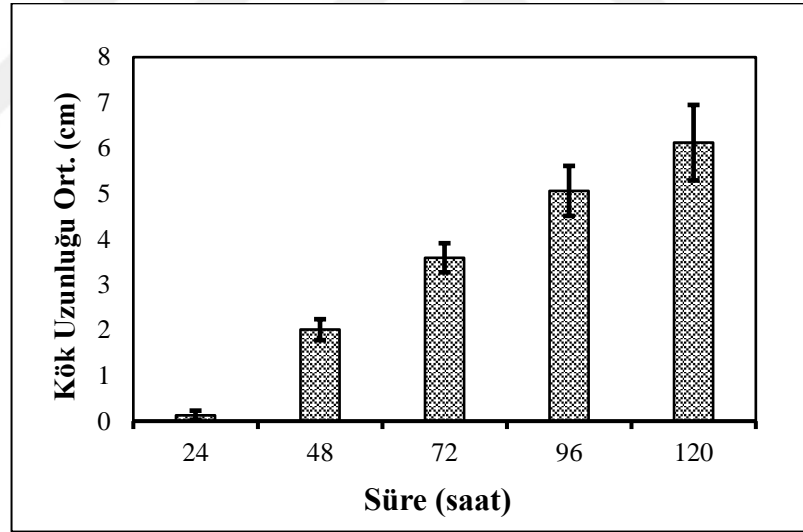
2.9. İstatistik

Veriler arasında farklılığı tespit edebilmek için SPSS programı kullanılarak (sürüm 22) ANOVA (tek yönlü varyasyon analizi) yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun (Test of Normality – Shapiro-Wilk) tespiti yapıldıktan sonra varyansların homojenlik testi (Test of Homogeneity of Variances – Levene Statistic) uygulanarak varyansları homojen olan veriler için Tukey, heterojen olanlar için ise Dunnett T3 testi yapıldı. Mitotik indeks gibi sayım yapılarak elde edilen veriler için Kruskal Wallis non-parametrik testi yapıldı.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, izotiazolinonlar grubundan olan ve çok geniş kullanım alanına sahip MIT ve Kathon CG'nin önemli bir besin kaynağı olan yem bezelyesi (*Pisum sativum spp. arvense*) üzerine mitoz bölünme ve bazı biyokimyasal etkileri belirlendi. Çalışmanın ikinci aşamasında, MIT ve Kathon CG uygulaması ile birlikte SV eklenerek, biyokimyasal etkileri ve mitoz bölünme üzerindeki iyileştirici etkileri incelendi.

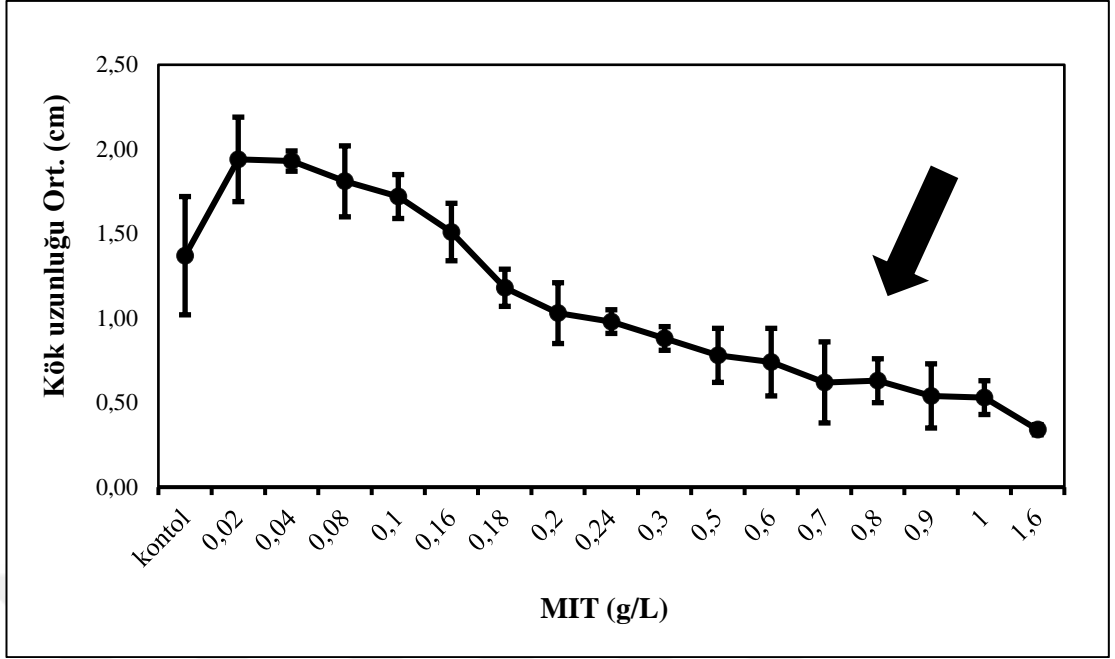
Ön çalışma olarak, distile su ile çimlendirilen *P. sativum var. arvense* kök uçlarından, 5 gün boyunca ölçümler alındı ve kök uzunluklarında zaman bağlı düzgün bir artış tespit edildi. Elde edilen sonuçlar Şekil 3.1'de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. Distile su ile çimlendirilen *P. sativum var. arvense* tohumlarının 5 günlük kök uzunluğu ortalaması (cm)

3.1. MIT için EC50 Değeri

16 farklı MIT konsantrasyonu uygulanan *P. sativum var. arvense*'de 48. saatin sonucunda EC50 değeri 0,8 g/L olarak belirlendi. *P. sativum var. arvense*'e MIT uygulaması sonucunda belirlenen EC50 değeri ve uygulanan konsantrasyonlar Şekil 3.2'de gösterilmektedir. EC50/2, EC50 ve 2xEC50 değeri olmak üzere üç farklı konsantrasyon ve distile su ile hazırlanan kontrol grubu ile deneyler yapıldı.



Şekil 3.2. *P. sativum var. arvence*'de MIT uygulaması sonucunda EC50 değerinin belirlenmesi. Ok işareti EC50 değerini göstermektedir.

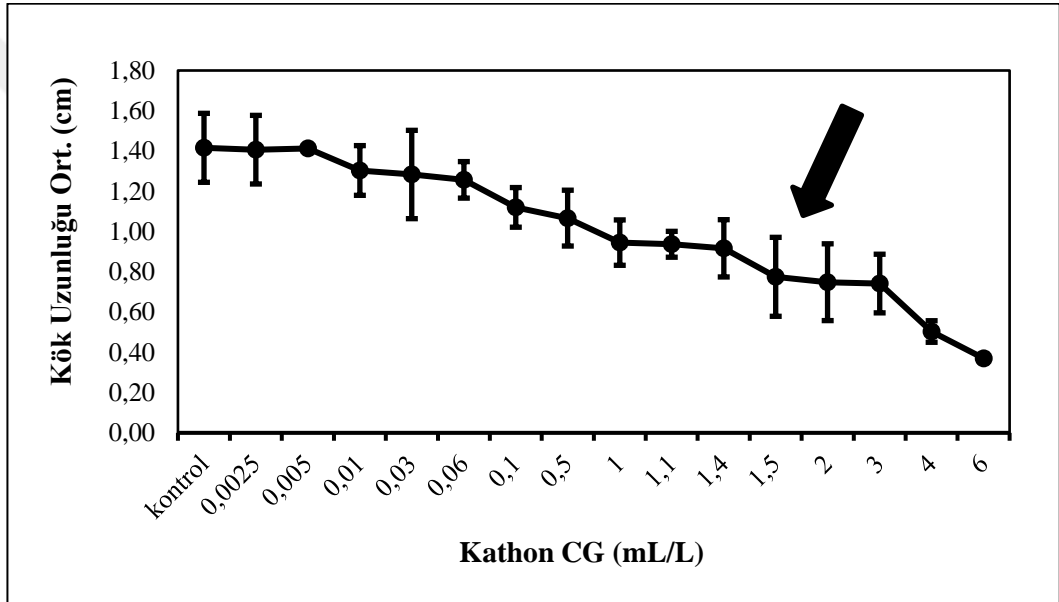
Tablo 3.1. *P. sativum var. arvence*'de MIT uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlemek için kullanılan konsantrasyonların sonuçları

Konsantrasyon (g/L)	Kök Uzunluğu Ort. (cm)
kontrol	1,37 ± 0,35
0,02	1,94 ± 0,25
0,04	1,93 ± 0,25
0,08	1,81 ± 0,06
0,1	1,72 ± 0,21
0,16	1,51 ± 0,13
0,18	1,18 ± 0,17
0,2	1,03 ± 0,11
0,24	0,98 ± 0,18
0,3	0,88 ± 0,07
0,5	0,78 ± 0,07
0,6	0,74 ± 0,16
0,7	0,62 ± 0,20
0,8	0,64 ± 0,13
0,9	0,54 ± 0,13
1	0,53 ± 0,10
1,6	0,33 ± 0,06

Kök uzunluğu kontrol grubunda $1,37 \pm 0,35$ cm olarak belirlendikten sonra EC50 değeri $0,64 \pm 0,14$ cm olarak tespit edildi. MIT için EC50/2 değeri 0,4 g/L, EC50x2 değeri ise 1,6 g/L olarak belirlendi. Elde edilen veriler Tablo 3.1’de gösterilmektedir.

3.2. Kathon CG için EC50 Değeri

48. saatin sonucunda Kathon CG için EC50 değeri 3 mL/L olarak bulundu. *P. sativum* var. *arvence*’e uygulanan Kathon CG konsantrasyonları ve belirlenen EC50 değeri Şekil 3.3’de gösterilmektedir. Belirlenen EC50/2, EC50 ve 2xEC50 değeri olmak üzere üç farklı konsantrasyon ve distile su ile hazırlanan kontrol grubu ile deneyler yapıldı.



Şekil 3.3. *P. sativum* var. *arvence*'de Kathon CG uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlemek için kullanılan konsantrasyonlar. Ok işareti EC50 değerini göstermektedir.

Kathon CG için EC50 değeri 3 mL/L, EC50/2 değeri 1,5 mL/L ve EC50x2 değeri ise 6 mL/L olarak belirlendi. Elde edilen veriler Tablo 3.2’de gösterilmektedir.

Tablo 3.2. *P. sativum* var. *arvence*'de Kathon CG uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlemek için kullanılan konsantrasyonların sonuçları

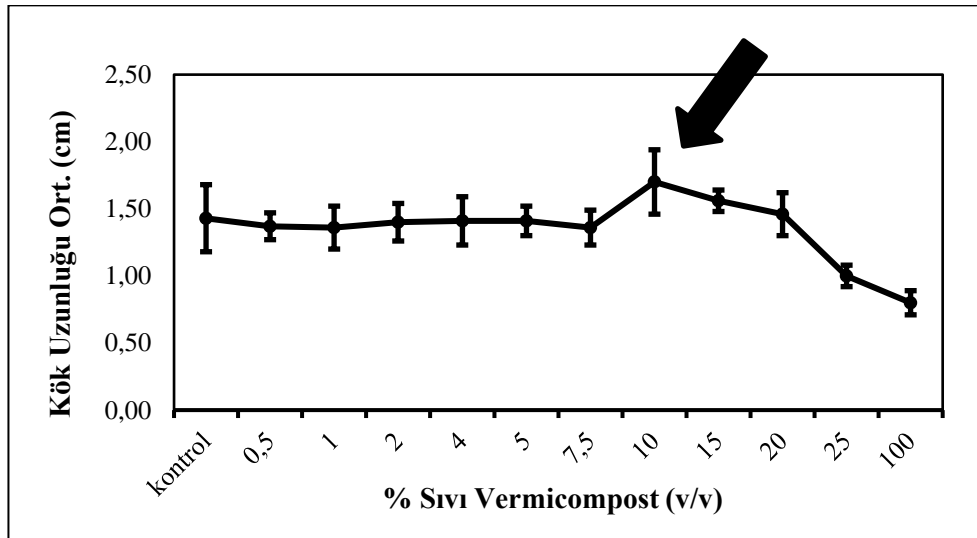
Kathon CG konsantrasyonu (mL/L)	Kök uzunluğu ort. (cm) ± SS
kontrol	1,39 ± 0,19
0,0025	1,41 ± 0,17
0,005	1,41 ± 0,02
0,01	1,30 ± 0,12

Tablo 3.2. (Devamı). *P. sativum var. arvence*'de Kathon CG uygulaması sonucunda EC50 değerini belirlemek için kullanılan konsantrasyonların sonuçları

Kathon CG konsantrasyonu (mL/L)	Kök uzunluğu ort. (cm) \pm SS
0,03	1,28 \pm 0,22
0,06	1,26 \pm 0,09
0,1	1,12 \pm 0,10
0,5	1,07 \pm 0,14
1	0,95 \pm 0,11
1,1	0,94 \pm 0,06
1,4	0,92 \pm 0,14
1,5	0,77 \pm 0,20
2	0,75 \pm 0,19
3	0,74 \pm 0,14
4	0,50 \pm 0,05
6	0,37 \pm 0,02

3.3 Sıvı Vermikompost Verimlilik Oranı

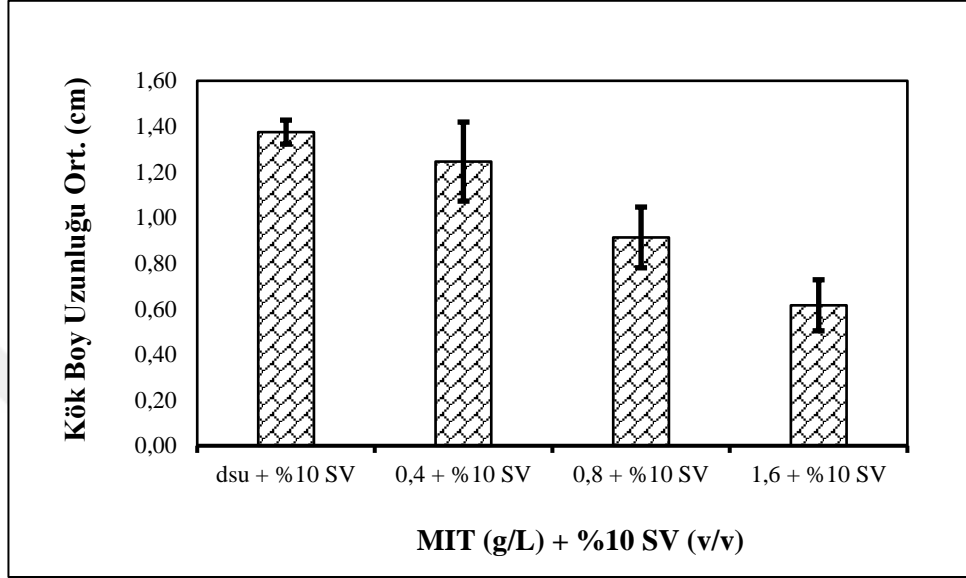
P. sativum var. arvence tohumlarına, farklı konsantrasyonlarda SV uygulandıktan 48 saat sonra, kök uzunluğunun ortalamasının en iyi olduğu konsantrasyon %10 SV (v/v) (kök uzunluğu ortalaması 1,7 \pm 0,24 cm) olarak tespit edildiği Şekil 3.4'de gösterilmektedir.



Şekil 3.4. Farklı SV konsantrasyonlarının *P. sativum var. arvence* tohumlarında çimlenme oranına etkisi. Ok işareti kök uzunluğunun en yüksek olduğu konsantrasyonu göstermektedir.

3.4. MIT ve MIT+%10 SV'nin Kök Uzunluğuna Etkisi

MIT, %10 SV ile birlikte uygulandıktan 48 saat sonra *P. sativum var. arvence* kök uzunluklarında yalnızca MIT konsantrasyonları uygulanan bezelye köklerine göre artış tespit edildi. Elde edilen veriler Şekil 3.5'de gösterilmektedir.



Şekil 3.5. MIT+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra *P. sativum var. arvence* kök uzunluğu ortalamaları (cm)

1,6 g/L MIT konsantrasyonu *P. sativum var. arvence* tohumlarına uygulandığında kök uzunluğu $0,34 \pm 0,11$ cm iken SV ile birlikte uygulamasında $0,62 \pm 0,11$ cm uzunluğuna ulaşarak iki kat arttığı Tablo 3.3'de gösterilmektedir.

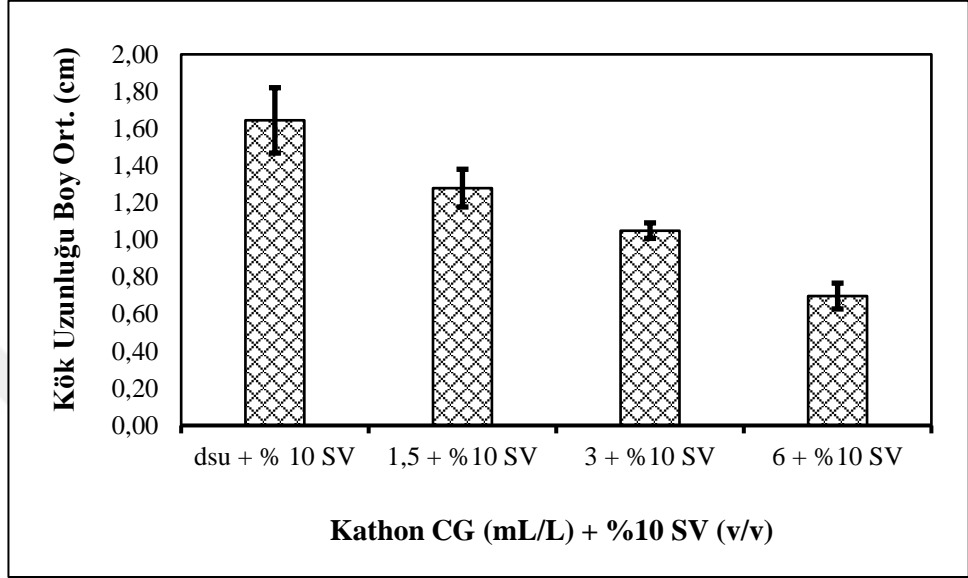
Tablo 3.3. MIT ve MIT+%10 SV uygulanan *P. sativum var. arvence*'de 48 saat sonra kök uzunluğu ortalaması (cm) sonuçları

MIT Konsant.	Kök uzunluğu ort.(cm)	P değeri	MIT+%10 SV	Kök uzunluğu ort.(cm)	P değeri
dsu	$1,37 \pm 0,35$	-	dsu+%10 SV	$1,38 \pm 0,05$	-
0,4 g/L	$0,87 \pm 0,16$	0.002*	0,4 g/L+%10 SV	$1,25 \pm 0,17$	0.991
0,8 g/L	$0,63 \pm 0,24$	0.000*	0,8 g/L+%10 SV	$0,91 \pm 0,13$	0.439
1,6 g/L	$0,34 \pm 0,03$	0.000*	1,6 g/L+%10 SV	$0,62 \pm 0,11$	0.009*

* $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulandı.

3.5. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV'nin Kök Uzunluğuna Etkisi

Kathon CG, %10 SV birlikte uygulandıktan 48 saat sonra *P. sativum var. arvence* kök uzunlukları ölçüldü. Kathon CG, %10 SV ile uygulandığında yalnızca Kathon CG uygulanmasına göre kök uzunluklarında gözlenen artış Şekil 3.6'da gösterilmektedir.



Şekil 3.6. Kathon CG+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra *P. sativum var.arvence*'de kök uzunluğu ortalamaları (cm)

6 mL/L Kathon CG, *P. sativum var. arvence* tohumlarına uygulandığında kök uzunluğu $0,37 \pm 0,2$ cm iken SV ile birlikte uygulandığında kök uzunluğunun $0,70 \pm 0,07$ cm ile kök uzunluğunun arttığı Tablo 3.4'de gösterilmektedir.

Tablo 3.4. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra *P.sativum var.arvence*'de kök uzunluğu ortalaması (cm) sonuçları

Kathon CG Konsant.	Kök uzunluğu ort.(cm) \pm SS	P değeri	Kathon CG+%10 SV	Kök uzunluğu ort.(cm) \pm SS	P değeri
dsu	$1,39 \pm 0,19$	-	dsu + %10 SV	$1,64 \pm 0,18$	-
1,5 mL/L	$0,77 \pm 0,20$	0.002*	1,5 mL/L+%10 SV	$1,28 \pm 0,10$	0.342
3 mL/L	$0,74 \pm 0,14$	0.000*	3 mL/L+%10 SV	$1,05 \pm 0,04$	0.134
6 mL/L	$0,37 \pm 0,02$	0.000*	6 mL/L+%10 SV	$0,70 \pm 0,07$	0.038*

* $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlıdır. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulandı.

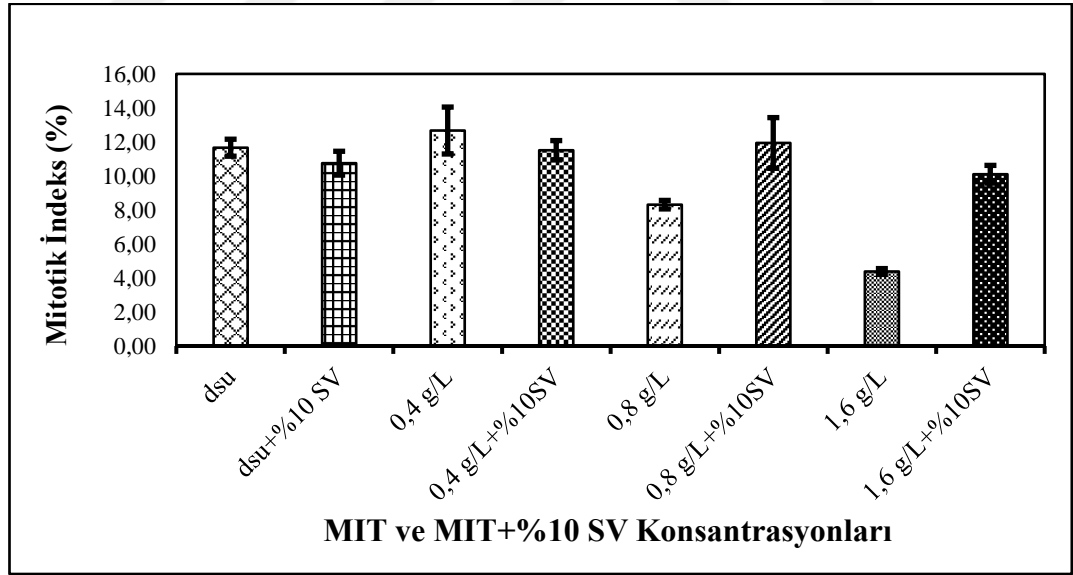
3.6. Sitolojik Analiz Sonuçları

Mitoz bölünme testi, kromozom anormallikleri ve çekirdek hasarlarının tespitinde kullanılan önemli bir methodur. Çalışmamızda, mitotik indeks, kromozom anormallikleri ve çekirdekte meydana gelen anormallikler tespit edildi.

3.6.1. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında mitotik indeks

Mitotik indeksi hesaplamak için 48. saat sonunda, 5 farklı kök ucundan yaklaşık 5000 hücre tarandı ve bölünen hücreler sayıldı.

MIT uygulanan *P. sativum var. arvence*'de mitotik indeks oranları, distile su ile çimlendirilen tohumlarda %11,66 iken 0,4: 0,8: 1,6 g/L MIT konsantrasyonlarında sırasıyla %13,03, %8,31 ve %4,38 olduğu tespit edildi. 0,8: 1,6 g/L MIT konsantrasyonları uygulanan bezelye tohumlarında mitotik indeks kontrol grubuna göre azalış gösterdi. MIT uygulamasından sonra *P. sativum var. arvence* kök ucu hücrelerinden elde edilen mitotik indeks sonuçları Şekil 3.7'de gösterilmektedir.



Şekil 3.7. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra *P. sativum var. arvence* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%)

MIT+%10 SV uygulanan *P. sativum var. arvence* tohumlarında mitotik indeks, distile su ile çimlendirilenlerde %10,75 iken, 0,4 g/L MIT+%10 SV uygulamasında 11,51, 0,8 g/L MIT+%10 SV uygulamasında %11,94 ile kontrol grubuna göre artış olduğu gözlemlendi. 1,6 g/L MIT+%10 SV uygulamasında ise %10,10 ile kontrol grubuna çok

yakın bir sonuç elde edildi. MIT+%10 SV uygulamasından sonra *P. sativum var. arvence* kök uçlarından elde edilen mitotik indeks sonuçları Şekil 3.7’de gösterilmektedir.

MIT, *P. sativum var. arvence*’e uygulandıktan sonra kök hücrelerinde sayılan 5000 hücrede, toplam bölünen hücre sayısı kontrol grubunda %11,65 iken 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda %12,69 ile arttığı, 0,8: 1,6: g/L MIT konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre azaldığı belirlendi (%9,29, %6,31). Elde edilen veriler Tablo 3.5’de gösterilmektedir).

MIT ile %10 SV birlikte uygulandığında kontrol grubunda toplam bölünen hücre sayısı %10,79 iken 0,4 g/L+%10 SV konsantrasyonunda %11,45 ve 0,8 g/L+%10 SV konsantrasyonunda %12,37 ile arttığı, 1,6 g/L+ %10 SV de %9,94 olarak azaldığı Tablo 3.5’de gösterilmektedir.

MIT ve MIT+%10 SV için mitotik indeks sonuçları Kruskal Wallis testine göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu Tablo 3.5’de gösterilmektedir.

Tablo 3.5. MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvence*’in meristematik kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%)

MIT (g/L)	Toplam Hücre	Bölünen Hücre Sayısı		Mitotik İndeks (%) $\bar{x} \pm SS$
		Toplam	%	
dsu	5148	600	11,65	11,66 ± 0,50*
0,4	5139	652	12,69	13,03 ± 1,28*
0,8	5114	424	9,29	8,31 ± 0,25*
1,6	5115	323	6,31	4,38 ± 0,17*
dsu+%10 SV	5168	552	10,79	10,75 ± 0,70*
0,4+%10 SV	5126	587	11,45	11,51 ± 0,57*
0,8+%10 SV	5094	630	12,37	11,94 ± 1,49*
1,6+%10 SV	5059	503	9,94	10,10 ± 0,52*

*P=0,002. Bu veriler için Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır.

MIT uygulanan *P. sativum var. arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde profaz safhası, kontrol grubunda %48,66 iken, 0,4 g/L ve 0,8 g/L MIT konsantrasyonlarında sırasıyla %48,77, %50,23'e arttığı, 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda %33,13'e düştüğü gözlemlendi. MIT+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde ise kontrol grubunda %35,14 profaz gözlenirken 0,4: 0,8: 1,6: g/L MIT+%10SV konsantrasyonlarında sırasıyla %42,25, %44,13, %40,56 olarak arttığı tespit edildi. Elde edilen bu veriler Tablo 3.6'da gösterilmektedir.

MIT uygulanan kök ucu hücrelerinde metafaz safhası, kontrol grubunda %29,66 iken 0,4: 0,8: 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda sırasıyla %23,62, %24,76, %18,27'ye düştüğü Tablo 3.6'da gösterilmektedir. MIT+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde metafaz evresi oranı kontrol grubuna (%29,35) göre 0,4: 0,8: 1,6: g/L MIT+%10SV konsantrasyonlarında artış olduğu tespit edildi (%29,13, %26,19, %34,39).

MIT uygulanan kök ucu hücrelerinde anafaz safhası, kontrol grubunda %7 iken, 0,4: 0,8: 1,6: g/L MIT konsantrasyonlarında sırasıyla %5,52, %8,25, %4,95'e düştüğü gözlemlendi. MIT+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde anafaz safhası kontrol grubunda %9,24 iken 0,4: 0,8: 1,6: g/L MIT+%10SV konsantrasyonlarında sırasıyla %7,15, %6,66, %6,16 ile düştüğü Tablo 3.6'da gösterilmektedir.

Telofaz safhasının kontrol grubunda %16,33 iken 0,4 g/L MIT varlığında %21,47'ye artarken, 0,8: 1,6: g/L MIT konsantrasyonlarında sırasıyla %15,57, %12,07'ye düştüğü gözlemlendi. MIT+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde telofaz safhası kontrol grubunda %27,72 olan değerinin 0,4: 0,8: 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonlarında sırasıyla %21,29, %24,44, %18,89'a düştüğü tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 3.6'da gösterilmektedir.

3.6.2. MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvence* kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri

P. sativum var. arvence meristematik kök ucu hücrelerinde MIT'in neden olduğu kromozom ve çekirdek anormallikleri tespit edildi. Anormalliklerin tespitinde her konsantrasyon için 5000 hücre sayıldı.

Tablo 3.6. MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvence*'in meristematik kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme evreleri ve oranları

MIT (g/L)	Profaz					Metefaz					Anafaz					Telofaz				
	%T	N	%	A	%	%T	N	%	A	%	%T	N	%	A	%	%T	N	%	A	%
dsu	48,66	247	41,16	45	7,50	29,66	119	19,83	59	9,83	7,00	25	4,17	17	2,83	16,33	94	15,66	4	0,66
0,4	48,77	274	42,02	44	6,75	23,62	98	15,03	56	8,59	5,52	21	3,22	15	2,30	21,47	123	18,86	17	2,61
0,8	50,23	162	38,21	51	12,03	24,76	50	11,79	55	12,97	8,25	25	5,90	10	2,36	15,57	57	13,44	9	2,12
1,6	33,13	79	24,46	28	8,67	18,27	31	9,60	28	8,67	4,95	12	3,71	4	1,24	12,07	36	11,14	3	0,93
dsu+%10 SV	35,14	169	30,73	25	4,53	29,35	99	17,93	63	11,41	9,24	32	5,80	19	3,44	27,72	141	25,54	12	2,17
0,4+%10 SV	42,25	190	32,37	58	9,88	29,13	111	18,91	60	10,22	7,15	23	3,92	19	3,24	21,29	99	16,86	26	4,43
0,8+%10 SV	44,13	145	23,02	133	21,11	26,19	91	14,44	74	11,75	6,66	20	3,17	22	3,49	24,44	130	20,63	24	3,81
1,6+%10 SV	40,56	140	27,83	64	12,72	34,39	54	10,74	119	23,66	6,16	13	2,58	18	3,58	18,89	69	13,72	26	5,17

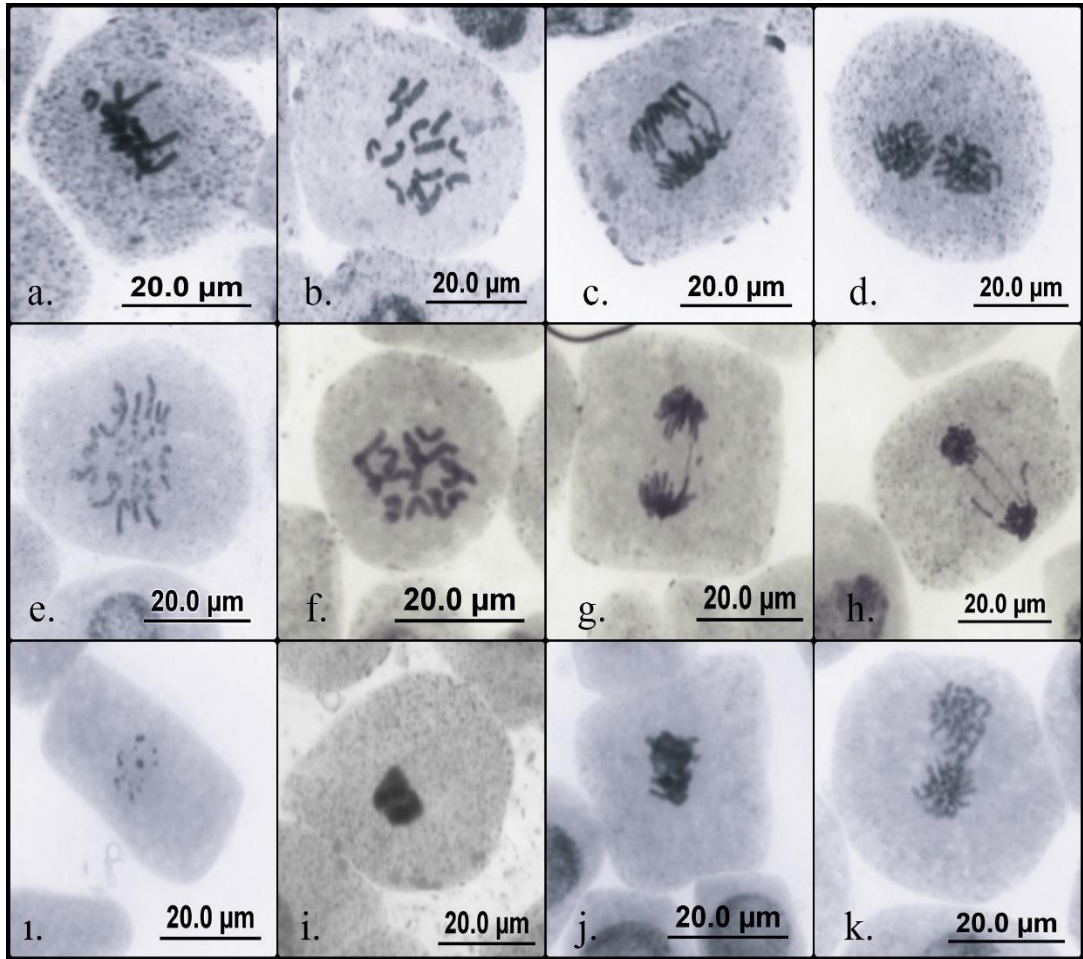
(%T: toplam yüzdeleri; N: Normal; A: Anormal, %: yüzde)

Tablo 3.7. MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvense*'in meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri, çekirdek anormallikleri ve oranları

MIT (g/L)	Bölünen Kons.	Hücre	pkf	pky	mky	c- mit	mkr	md	mkka	akkö	akka	aky	akkr	ad	tkkö	tky	tgkk	tkka	tkg	td	tkkr	pç	çkg	çp	hh
dsu	600	41	4	38	3	3	8	7	10	0	5	0	2	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0
0,4	652	43	1	37	11	1	5	4	14	1	0	0	0	0	8	0	2	6	0	1	1	0	0	29	
0,8	419	37	4	30	9	0	4	3	6	2	12	0	0	3	1	4	0	0	0	0	1	49	30	0	4
1,6	221	22	6	22	0	1	4	1	4	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	152	137	0	48	
dsu+%10SV	552	28	6	47	3	0	1	12	16	1	0	2	1	8	0	3	0	0	1	0	0	0	0	10	
0,4+%10SV	587	43	13	49	0	2	8	3	14	1	1	0	3	3	1	14	4	0	0	2	1	0	0	0	
0,8+%10SV	630	65	9	55	1	2	9	7	20	3	0	0	0	3	0	20	1	0	0	0	1	0	0	0	
1,6+%10SV	503	58	6	95	6	4	9	5	13	1	3	0	0	9	8	7	2	0	0	0	8	17	0	0	

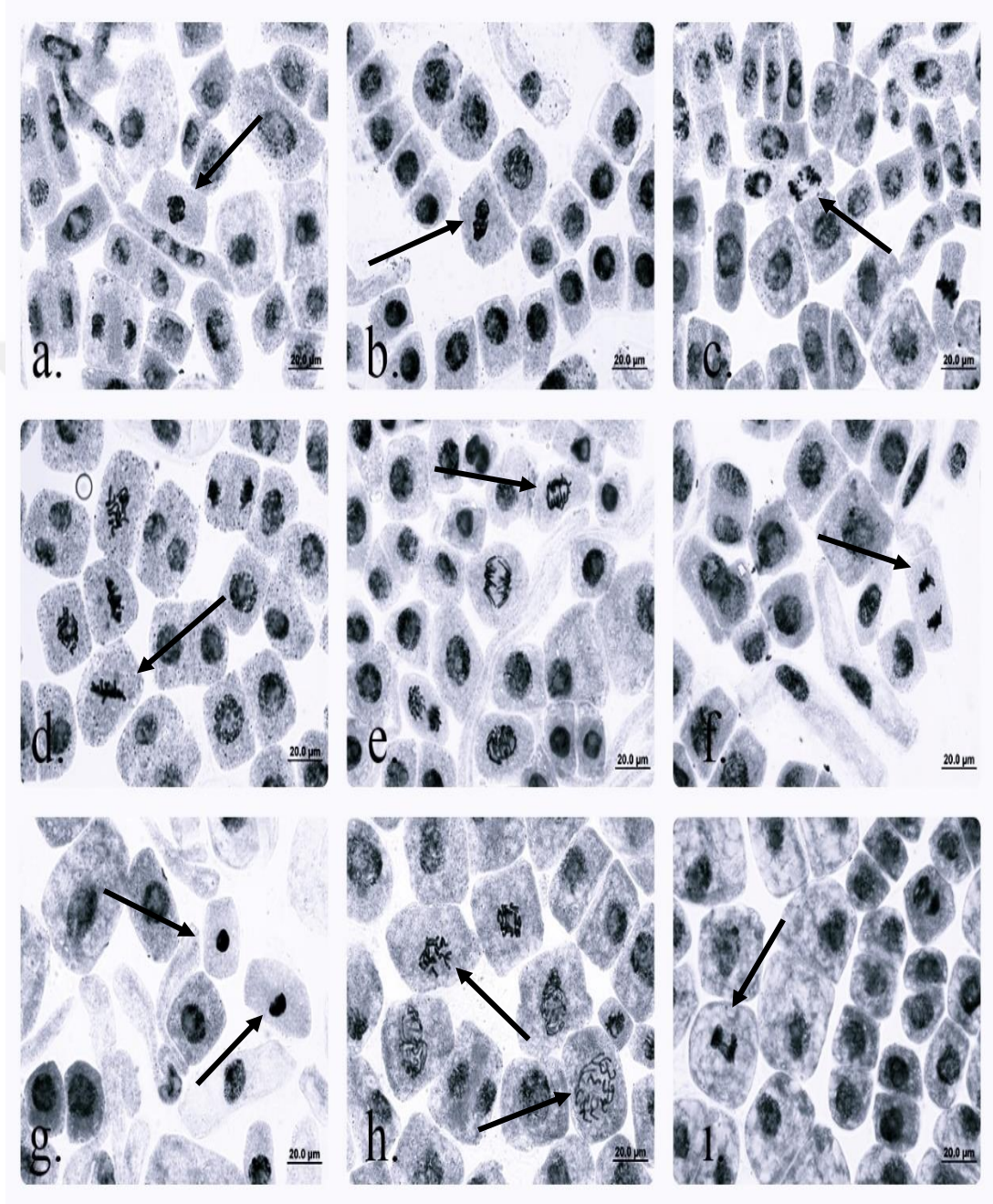
pkf: profazda kromozom fragmentasyonu; pky: profazda kromozom yapışması; mky: metafazda kromozom yapışması; c-mit: metafazda c-mitoz; mkr: metafazda kalın kromozom; md: metafazda düzensizlik; mkka: metafazda kutup kayması; akkö: anafazda kromozom köprüsü; akka: anafazda kutup kayması; aky: anafazda kromozom yapışması; akkr: anafazda kalın kromozom; ad: anafazda düzensizlik; tkkö: telofazda kromozom köprüsü; tky: telofazda kromozom yapışması; tgkk: telofazda geç kalmış kromozom; tkka: telofazda kutup kayması; tkg: telofazda kromozom granülasyonu; pç: piknotik çekirdek; çkg: çekirdekte kromatin granülasyonu; çp: çekirdeğin parçalanması; hh: hayalet hücre

Profaz, metafaz, anafaz ve telofaz bölünme evrelerinde kromozom fragmentasyonu, kromozom yapışması, kalın kromozom, kromozom köprüsü, c-mitoz, geç kalmış kromozom gibi anormallikler gözlemlendi. Ayrıca MIT uygulandıktan sonra kök ucu hücre çekirdeklerinde piknoz, kromatin granülasyonu, parçalanma ve hayalet hücreler tespit edildi. MIT ve MIT+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum* var. *arvence*'in meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri ve çekirdek anormallikleri Tablo 3.7'de gösterilmektedir. MIT konsantrasyonları uygulandıktan sonra *P. sativum* var. *arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallik göreselleri Şekil 3.8'de gösterilmektedir.



Şekil 3.8. MIT konsantrasyonları *P. sativum* var. *arvence* tohumlarına uygulandıktan sonra kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom ve çekirdek anormallikleri. (a-d: 0,4 g/L MIT) a. metafazda kalın kromozom; b. C-mitoz; c. anafazda kromozom köprüsü d. telofazda düzensizlik. (e-h: 0,8 g/L MIT) e. profazda kromozom fragmentasyonu, f. C-mitoz; g: anafazda kromozom köprüsü; h. telofazda kromozom köprüsü ve kalın kromozom. (ı-m: 1,6 g/L MIT) ı. interfazda kromatin granülasyonu; i.piknotik çekirdek; j. metafazda kromozom yapışması; k. telofazda kromozom köprüsü.

MIT+%10 SV konsantrasyonları uygulandıktan sonra *P. sativum* var. *arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallik görselleri Şekil 3.9'de gösterilmektedir.

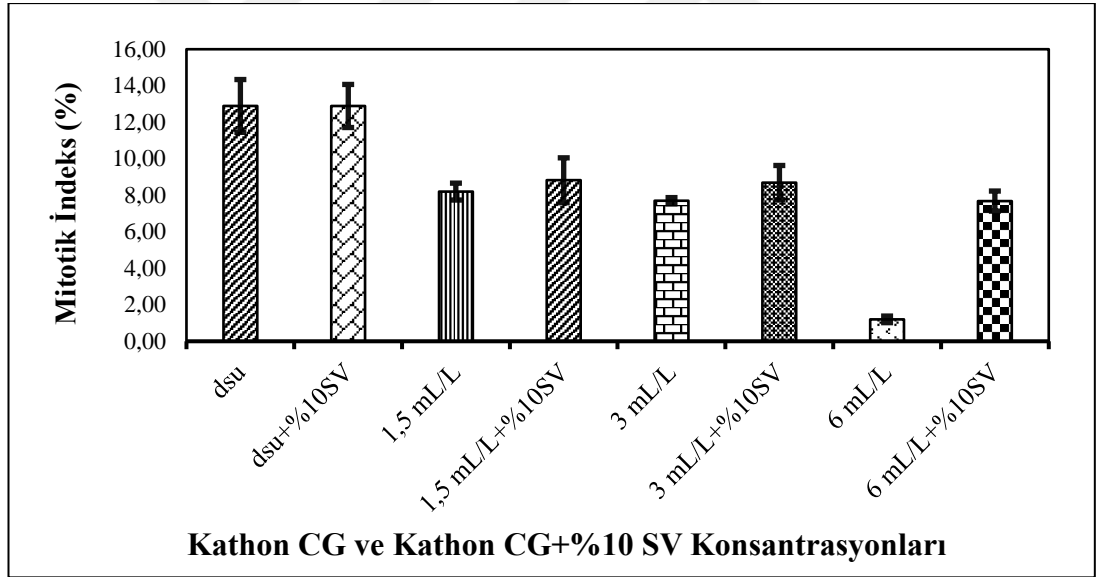


Şekil 3.9. MIT+%10 SV konsantrasyonları *P. sativum* var. *arvence* tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra elde edilen kromozom ve çekirdek anormallikleri. (a-c, 0,4 g/L MIT+%10 SV) a. profazda kromozom yapışması; b. metafazda kromozom yapışması; c. telofazda kalgın kromozom. (d-f, 0,8 g/L MIT+%10 SV) d. metafazda kutup kayması; e. anafazda kromozom yapışması; f. telofazda geç kalmış kromozom. (g-i, 1,6 g/L MIT+%10 SV uygulaması) g. piknotik çekirdek; h. C-mitoz ve profazda kromozom fragmentasyonu; i. telofazda kromozom köprüsü.

3.6.3. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında mitotik indeks

Kathon CG uygulanan *P. sativum var. arvence*'de mitotik indeks oranları, distile su ile çimlendirilen tohumlarda %12,89 iken 1,5: 3: 6 g/L Kathon CG konsantrasyonlarında sırasıyla %8,20, %7,70, %1,20 olduğu tespit edildi. Kathon CG konsantrasyonları miktarının artışı ile birlikte mitotik indeks oranları kontrol grubuna göre azalış gösterdi. Kathon CG konsantrasyonları uygulanan *P. sativum var. arvence*'e kök ucu hücrelerinden elde edilen mitotik indeks sonuçları Şekil 3.10'da gösterilmektedir.

Kathon CG +%10 SV uygulanan *P. sativum var. arvence* tohumlarında mitotik indeks, kontrol grubunda %12,89 iken, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV uygulamasında 8,82, 3 mL/L MIT+%10 SV uygulamasında %8,69 ile 6 g/L MIT+%10 SV uygulamasında ise %7,68 olarak tespit edildiği Şekil 3.10'da gösterilmektedir.



Şekil 3.10. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasından 48 saat sonra *P. sativum var. arvence* kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%)

Kathon CG, *P. sativum var. arvence*'e uygulandıktan sonra kök hücrelerinde sayılan 5000 hücrede, toplam bölünen hücre sayısı kontrol grubunda %1,89 iken artan Kathon CG konsantrasyonlarıyla birlikte azalma gözlemlendi (%8,22, %7,74, %1,16).

Kathon CG ile %10 SV birlikte uygulandığında, toplam bölünen hücre sayısı kontrol grubunda %12,57 iken 1,5 mL/L+%10 SV konsantrasyonunda %8,73, 3 mL/L+%10 SV konsantrasyonunda %8,60, 6 mL/L+%10 SV de ise %7,80 olarak tespit edildi.

Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV için mitotik indeks sonuçları Kruskal Wallis testine göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu Tablo 3.8’de gösterilmektedir.

Tablo 3.8 Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvence*’in meristematik kök ucu hücrelerinde mitotik indeks (%)

Kathon CG (mL/L)	Toplam Hücre	Bölünen Hücre		Mitotik İndeks (%) $\bar{x} \pm SS$
		Toplam	%	
dsu	5059	652	12,89	12,89 ± 1,45*
1,5	5058	416	8,22	8,20 ± 0,46*
3	5024	387	7,74	7,70 ± 0,17*
6	5000	58	1,16	1,20 ± 0,18*
dsu+%10 SV	5115	643	12,57	12,89 ± 1,18*
1,5+%10 SV	5084	444	8,73	8,82 ± 1,23*
3+%10 SV	5056	435	8,60	8,69 ± 0,94*
6+%10 SV	5063	395	7,80	7,68 ± 0,55*

P=0,004.Bu veriler için Kruskal-Wallis testi uygulandı.

Kathon CG uygulanan *P. sativum var. arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde, profaz safhası kontrol grubunda %46,01 iken 1,5 ml/L Kathon CG konsantrasyonunda %52,88 yükselirken 3: 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonlarında sırasıyla %48,58, %31,03 düştüğü gözlemlendi. Kathon CG+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde ise kontrol grubunda %42,61 iken 1,5 ve 6 g/L Kathon CG+%10SV konsantrasyonlarında ise sırasıyla %48,65, %47,09’a yükseldiği tespit edildi. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvence*’in meristematik kök ucu hücrelerinden elde edilen profaz safhası verileri Tablo 3.9’da gösterilmektedir.

Kathon CG uygulanan kök ucu hücrelerinde metafaz safhası, kontrol grubunda %24,69 iken 3 g/L ve 6 g/L Kathon CG konsantrasyonlarında sırasıyla %26,61, %41,38’e yükseldiği gözlemlendi. SV’li uygulamada kontrol grubunda %32,19 iken 1,5:

3: 6: mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonlarında, metafaz safhası oranı sırasıyla %27,70, %31,03, %25,82'ye düştüğü tespit edildi. Elde edilen metafaz safhası verileri Tablo 3.9'da gösterilmektedir.

Kathon CG uygulanan kök ucu hücrelerinde anafaz safhası, kontrol grubunda %7,51 iken 1,5: 3: mL/L Kathon CG konsantrasyonlarında sırasıyla %5,05, %6,72'ye düştüğü, 6 g/L Kathon CG konsantrasyonunda %10,34'e yükseldiği gözlemlendi.

Kathon CG+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde anafaz safhası kontrol grubunda %6,84 iken 1,5: 3: 6 mL/L Kathon CG+%10SV konsantrasyonlarında sırasıyla %6,53, %7,82, %5,32 olduğu tespit edildi. Elde edilen anafaz safhası verileri Tablo 3.9'da gösterilmektedir.

Kathon CG uygulanan kök ucu hücrelerinde telofaz safhası, kontrol grubunda %21,17 iken 1,5: 3: 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonlarında sırasıyla %18,75, %18,09, %17,24'e düştüğü tespit edildi. Kathon CG+%10 SV uygulanan kök ucu hücrelerinde telofaz safhası kontrol grubunda %22,39 iken 1,5: 3: 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonlarında sırasıyla %18,47, %23,68, %21,77 olduğu tespit edildi. Elde edilen telofaz safhası verileri Tablo 3.9'da gösterilmektedir.

3.6.4. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum* var. *arvence* kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri

Kathon CG uygulanan *P. sativum* var. *arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde kromozom ve çekirdek anormallikleri tespit edildi. Anormalliklerin tespitinde her konsantrasyon için 5000 hücre sayıldı.

Profaz, metafaz, anafaz ve telofaz bölünme evrelerinde kromozom fragmentasyonu, kromozom yapışması, kalgın kromozom, kromozom köprüsü, c-mitoz, geç kalmış kromozom gibi anormallikler gözlemlendi. Ayrıca Kathon CG uygulandıktan sonra kök ucu hücre çekirdeklerinde piknoz, kromatin granülasyonu, parçalanma ve hayalet hücreler tespit edildi. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum* var. *arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri ve çekirdek anormallikleri Tablo 3.10'da gösterilmektedir.

Tablo 3.9. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum var. arvence*'in meristematik kök ucu hücrelerinde mitoz bölünme evreleri ve oranları

Kathon CG (mL/L)	Profaz					Metefaz					Anafaz					Telofaz				
	T(%)	N	%	A	%	T(%)	N	%	A	%	T(%)	N	%	A	%	T(%)	N	%	A	%
dsu	46,01	244	37,42	56	8,59	24,69	96	14,72	65	9,97	7,51	26	3,99	23	3,53	21,17	119	18,25	19	2,91
1,5	52,88	121	29,09	99	23,80	23,56	62	14,90	36	8,65	5,05	9	2,16	12	2,88	18,75	68	16,35	10	2,40
3	48,58	93	24,03	95	24,55	26,61	48	12,40	55	14,21	6,72	16	4,13	10	2,58	18,09	49	12,66	21	5,43
6	31,03	11	18,96	7	12,07	41,38	19	32,76	5	8,62	10,34	2	3,45	4	6,90	17,24	10	17,24	0	0
dsu+%10 SV	42,61	220	34,21	54	8,40	32,19	116	18,04	91	14,15	6,84	19	2,95	25	3,89	22,39	138	21,46	6	0,93
1,5+%10 SV	48,65	173	38,96	43	9,68	27,70	73	16,44	50	11,26	6,53	12	2,70	17	3,83	18,47	73	16,44	9	2,03
3+%10 SV	38,16	142	32,64	24	5,52	31,03	64	14,71	71	16,32	7,82	12	2,76	22	5,06	23,68	91	20,92	12	2,76
6+%10 SV	47,09	132	33,42	54	13,67	25,82	40	10,13	62	15,70	5,32	11	2,78	10	2,53	21,77	75	18,99	11	2,78

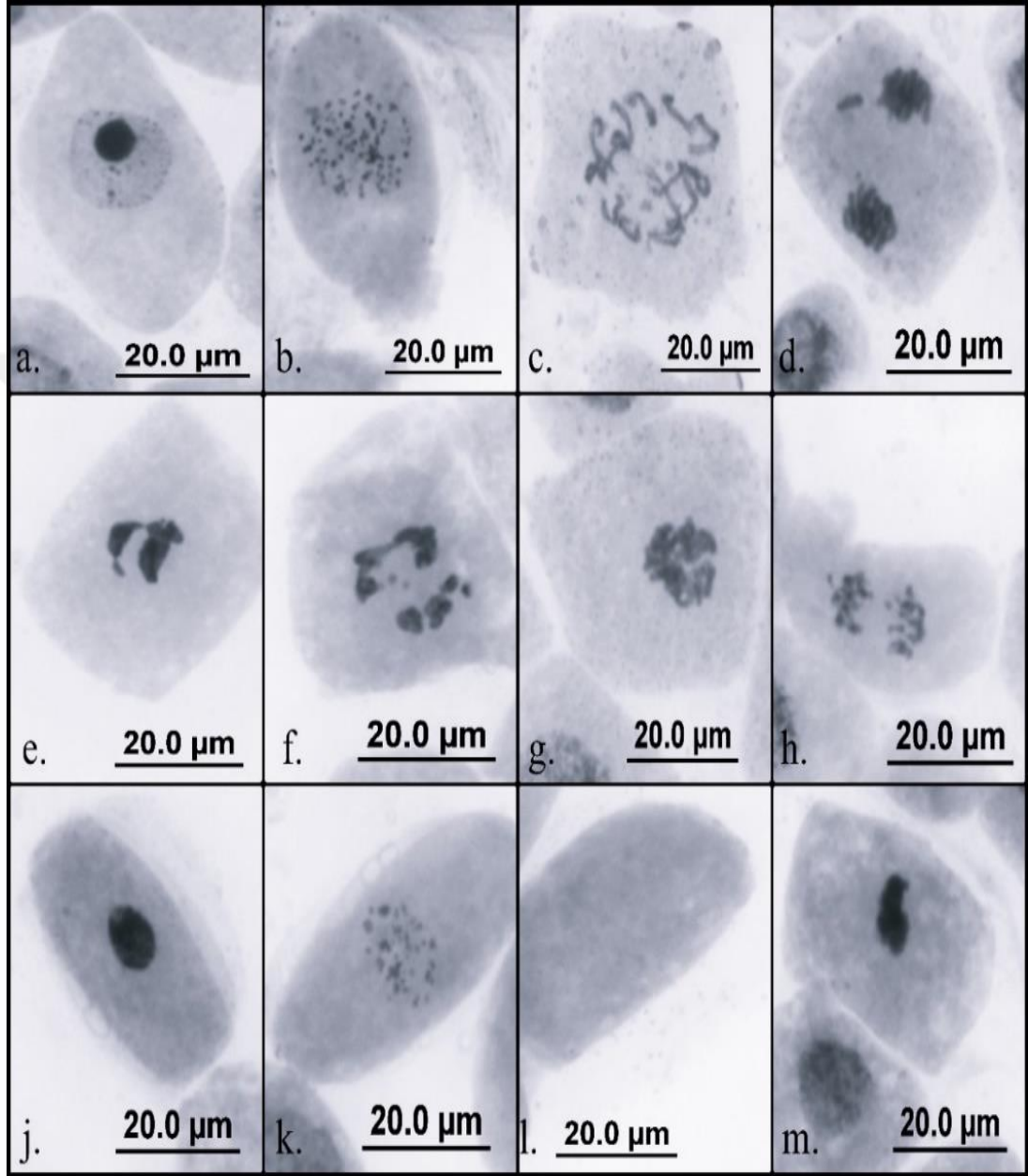
(%T: toplam yüzdeleri; N: Normal; A: Anormal, %: yüzde)

Tablo 3.10 Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulaması sonucunda *P. sativum* var. *arvence* meristematik kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri, çekirdek anormallikleri ve oranları

Kathon CG (mL/L) Kons.	Bölünen Hücre	pkf	pky	mky	c- mit	mkkr	md	mkka	akkö	akka	aky	akkr	ad	tkkö	tky	tgkk	tkka	tkg	td	tkkr	pç	çkg	çp	hh
dsu	652	50	6	39	5	3	14	5	16	1	5	1	1	14	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0
1,5	416	112	6	25	4	1	12	2	9	0	3	0	1	7	1	0	1	1	0	0	114	82	2	27
3	387	83	12	39	7	0	7	0	9	0	1	0	0	10	3	3	2	5	0	0	56	206	5	120
6	58	7	0	4	0	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	155	37	0	507
dsu+%10SV	632	25	3	64	8	2	10	7	20	0	4	0	1	1	0	3	2	0	0	0	0	0	1	11
1,5+%10SV	444	41	2	33	6	4	2	5	11	2	3	0	0	2	3	3	0	0	1	0	0	0	1	93
3+%10SV	435	21	3	47	6	2	10	6	17	0	3	0	2	1	1	5	4	0	1	0	6	0	1	60
6+%10SV	395	52	2	25	18	3	6	11	7	0	2	0	1	0	2	3	4	0	2	0	28	0	1	122

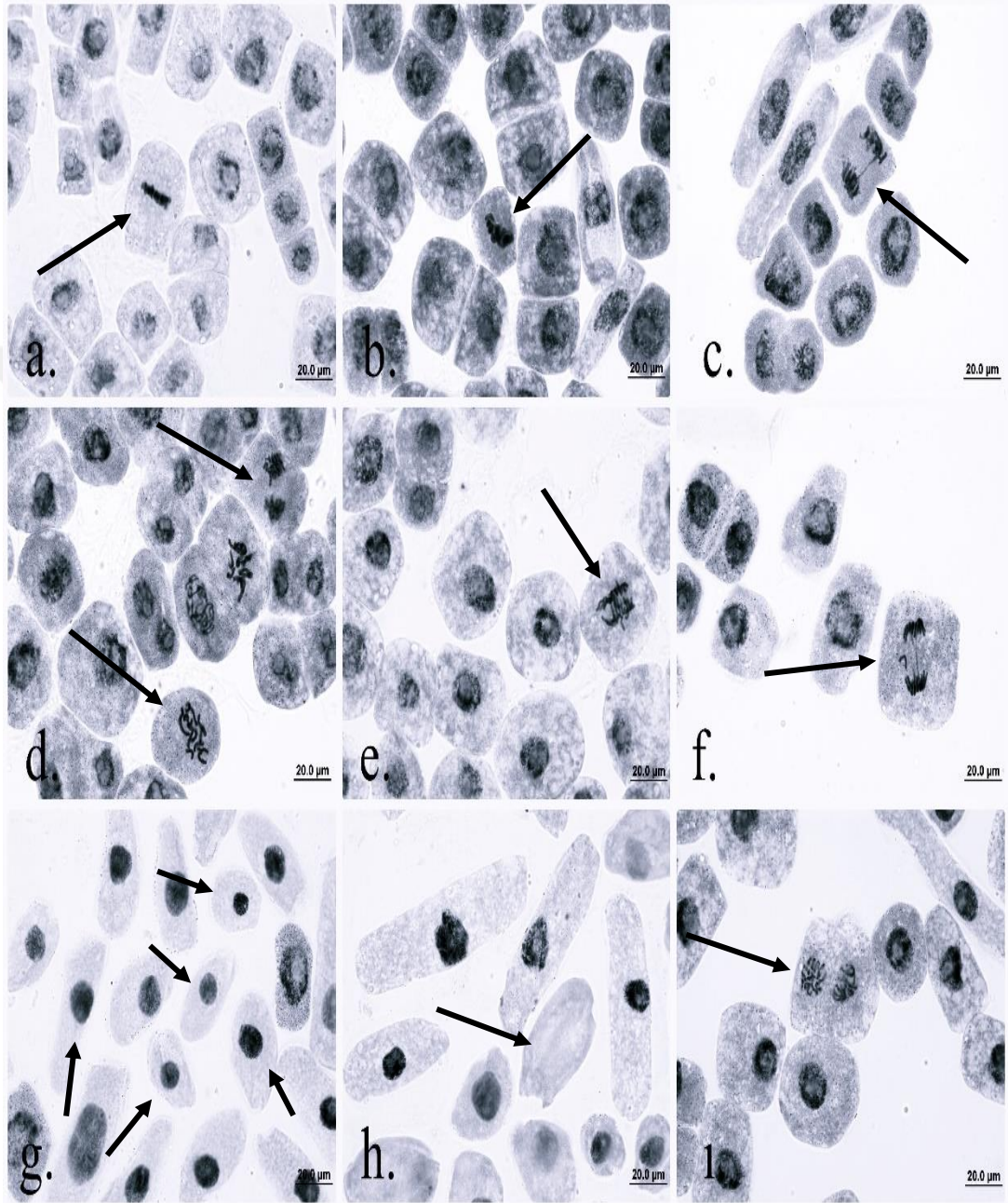
pkf: profazda kromozom fragmentasyonu; pky: profazda kromozom yapışması; mky: metafazda kromozom yapışması; c-mit: metafazda c-mitoz; mkkr: metafazda kalın kromozom; md: metafazda düzensizlik; mkka: metafazda kutup kayması; akkö: anafazda kromozom köprüsü; akka: anafazda kutup kayması; aky: anafazda kromozom yapışması; akkr: anafazda kalın kromozom; ad: anafazda düzensizlik; tkkö: telofazda kromozom köprüsü; tky: telofazda kromozom yapışması; tgkk: telofazda geç kalmış kromozom; tkka: telofazda kutup kayması; tkg: telofazda kromozom granülasyonu; pç: piknotik çekirdek; çkg: çekirdekte kromatin granülasyonu; çp: çekirdeğin parçalanması; hh: hayalet hücre

Kathon CG konsantrasyonları uygulandıktan 48 saat sonra *P. sativum* var. *arvence* kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallik görselleri Şekil 3.11'de gösterilmektedir.



Şekil 3.11. Kathon CG konsantrasyonları *P. sativum* var. *arvence* tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri. (a-d: 1,5 mL/L Kathon CG) a. piknotik çekirdek; b. interfazda kromatin granülasyonu; c. profazda kromozom fragmentasyonu d. telofazda kalgın kromozom. (e-h: 3 mL/L Kathon CG) e. çekirdekte parçalanma, f. çekirdekte parçalanma; g. profazda kromozom yapışması; h. telofazda kromozom granülasyonu. (j-m: 6 mL/L Kathon CG) j. piknotik çekirdek; k. interfazda kromatin granülasyonu; l.hayalet hücre; m. metafazda kromozom yapışması.

Kathon CG+%10 SV konsantrasyonları uygulandıktan sonra *P. sativum* var. *arvence* kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallik görselleri Şekil 3.12’de gösterilmektedir.



Şekil 3.12. Kathon CG+%10 SV konsantrasyonları *P. sativum* var. *arvence* tohumlarına uygulandıktan 48 saat sonra kök ucu hücrelerinde gözlenen kromozom anormallikleri. (a-c, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV) a. metafazda kromozom yapışması, b. metafazda kutup kayması; c. telofazda kromozom köprüsü. (d-f, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV) d. telofazda kutup kayması ve c-mitoz, e. anafazda kutup kayması; f. telofazda kalgın kromozom. (g-j, 6 mL/L Kathon CG+%10 SV) g. piknotik çekirdek; h. hayalet hücre; j. telofazda düzensizlik

3.7. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

İzotiazolinon bileşikleri *P. sativum* var. *arvence*'e, uygulandıktan 48 ve 72 saatleri sonunda taze olarak alınan köklerden biyokimyasal analizler yapıldı.

3.7.1 MIT Uygulamasında Biyokimyasal Analiz

P. sativum'a 0,4: 0,8: 1,6: g/L konsantrasyonlarında MIT ve kontrol grubuna distile su uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda çimlenen tohumlardaki köklerde total protein, MDA, SOD enzimi ve H₂O₂ molekülü tayin edildi.

MIT ile SV birlikte farklı oranlarda (0,4 g/L MIT+%10 SV, 0,8 g/L MIT+%10 SV, 1,6 g/L MIT+%10 SV) hazırlanarak ve kontrol grubunda distile su ile %10 SV, *P. sativum*'a uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda çimlenen tohumlardaki köklerde total protein, MDA, SOD enzimi ve H₂O₂ molekülü tayin edildi.

3.7.1.1. MIT ve MIT+%10 sv uygulamasında total protein analizi

Kontrol grubu ve MIT uygulanmış *P.sativum* var. *arvence* köklerinden 48 ve 72 saatleri sonunda tüm deney gruplarında total protein miktarı (mg/mL taze ağırlık), standart grafik kullanılarak belirlendi. Total protein miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi.

48. saat sonrasında ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 1,17 mg/mL, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda 1,36 mg/mL, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda 1,55 mg/mL ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda 1,89 mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 1,6 g/L MIT uygulaması istatistiksel olarak farklı bulundu. MIT uygulanan *P.sativum* var. *arvence* köklerinden 48. saat sonunda elde edilen total protein verileri Tablo 3.11'de gösterilmektedir.

72. saat sonrasında ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 0,56 mg/mL, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda 0,57 mg/mL, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda 0,82 mg/mL ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda 0,94 mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. MIT uygulanan *P. sativum* var. *arvence* köklerinden 72. saat sonunda elde edilen total protein verileri Tablo 3.11'de gösterilmektedir.

Tablo 3.11. *P. sativum* var. *arvense* tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen total protein miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	MIT	total protein (mg/mL)	P değeri	MIT+%10 SV t.protein (mg/mL)	P değeri
48	dsu	1,17 ± 0,07	-	1,24 ± 0,05	-
	0,4 g/L	1,36 ± 0,08	.477	1,37 ± 0,04	.018*
	0,8 g/L	1,55 ± 0,1	.112	1,56 ± 0,01	.013*
	1,6 g/L	1,89 ± 0,12	.034*	1,52 ± 0,02	.014*
72	dsu	0,56 ± 0,03	-	0,54 ± 0,02	-
	0,4 g/L	0,57 ± 0,03	.478	0,49 ± 0,001	.010*
	0,8 g/L	0,82 ± 0,01	.070	0,60 ± 0,04	.738
	1,6 g/L	0,94 ± 0,01	.060	0,79 ± 0,02	.002*

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulanmıştır.

MIT+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonra ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 1,24 mg/mL, 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,37 mg/mL, 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,56 mg/mL ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,52 mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 48. saat sonundaki MIT+%10 SV uygulamasındaki tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.11’de gösterilmektedir.

MIT+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonra ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 0,54 mg/mL, 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 0,49 mg/mL, 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 0,60 mg/mL ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 0,79 mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 72. saat sonunda, 0,4 g/L+%10 SV ve 0,4 g/L+%10 SV konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.11’de gösterilmektedir.

3.7.1.2. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında MDA tayini

Kontrol grubu ve MIT uygulanmış *P. sativum var. arvence* köklerinden 48. ve 72. saat sonunda tüm deney gruplarında total MDA miktarı (μM) olarak belirlendi. MDA miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi.

48.saat sonrasında ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda $5,72 \mu\text{M}$, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda $3,37 \mu\text{M}$, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda $2,84 \mu\text{M}$ ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda $3,66 \mu\text{M}$ tespit edildi. MIT konsantrasyonları uygulamalarının tümü istatistiksel olarak farklı bulundu. MIT uygulandıktan 48 saat sonra *P. sativum var. arvence* köklerinden elde edilen MDA verileri Tablo 3.12’de gösterilmektedir.

Tablo 3.12. *P. sativum var. arvence* tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen MDA miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	MIT	MDA (μM)	P değeri	MIT+10% SV MDA (μM)	P değeri
48	dsu	$5,72 \pm 0,02$	-	$2,62 \pm 0,02$	-
	0,4 g/L	$3,37 \pm 0,03$.000*	$1,69 \pm 0,02$.018*
	0,8 g/L	$2,84 \pm 0,02$.000*	$1,85 \pm 0,01$.000*
	1,6 g/L	$3,66 \pm 0,03$.000*	$4,60 \pm 0,02$.000*
72	dsu	$1,10 \pm 0,01$	-	$2,18 \pm 0,02$	-
	0,4 g/L	$1,03 \pm 0,02$.000*	$1,54 \pm 0,02$.000*
	0,8 g/L	$1,85 \pm 0,02$.000*	$1,29 \pm 0,005$.000*
	1,6 g/L	$3,57 \pm 0,02$.000*	$1,22 \pm 0,007$.000*

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Tukey testi uygulanmıştır.

72. saat sonrasında ölçülen MDA miktarları, kontrol grubunda $1,10 \mu\text{M}$, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda $1,03 \mu\text{M}$, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda $1,85 \mu\text{M}$ ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda $3,66 \mu\text{M}$ olarak tespit edildi. MIT konsantrasyonları

uygulamalarının tümü istatistiksel olarak farklı bulundu. MIT uygulandıktan 72 saat sonra *P.sativum var. arvence* köklerinden elde edilen MDA verileri Tablo 3.12’de gösterilmektedir.

MIT+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonra ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 2,62 μM , 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,69 μM , 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,85 μM ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 4,60 μM olarak tespit edildi. 48. saat sonundaki MIT+%10 SV uygulamasındaki tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.12’de gösterilmektedir.

MIT+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonra ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 2,18 μM , 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,54 μM , 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,29 μM ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 1,22 μM olarak kontrole göre azalan değerler tespit edildi. 72. saat sonunda MIT+%10 SV konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.12’de gösterilmektedir.

3.7.1.3. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında H₂O₂ tayini

Kontrol grubu ve MIT uygulanmış *P.sativum var. arvence* köklerinden 48. ve 72. saat sonunda tüm deney gruplarında H₂O₂ miktarı ($\mu\text{M/g}$) belirlendi. H₂O₂ miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi. *P. sativum var. arvence* tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen H₂O₂ miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri Tablo 3.13’de gösterilmektedir.

48.saat sonrasında ölçülen H₂O₂ miktarları, kontrol grubunda 5,81 $\mu\text{M/g}$, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda 6,07 $\mu\text{M/g}$, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda 8,52 $\mu\text{M/g}$ ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda 10,31 $\mu\text{M/g}$ olarak tespit edildi. MIT uygulaması konsantrasyonları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

72. saat sonrasında ölçülen H₂O₂ miktarları, kontrol grubunda 3,85 $\mu\text{M/g}$, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda 3,93 $\mu\text{M/g}$, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda 4,61 $\mu\text{M/g}$ ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda 5,23 $\mu\text{M/g}$ olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi.

Bezelye çimlenme süreci üzerinde yapılan çalışmada H₂O₂'nin 48.saatte en yüksek seviyede olduğu tespit edildi.

Tablo 3.13. *P. sativum var. arvense* tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen H₂O₂ miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	MIT	H ₂ O ₂ (µM /g)	P değeri	MIT+10% SV H ₂ O ₂ (µM /g)	P değeri
48	dsu	5,81 ± 0,02	-	6,00 ± 0,08	-
	0,4 g/L	6,07 ± 0,02	.002*	5,77 ± 0,05	.507
	0,8 g/L	8,52 ± 0,05	.000*	8,01 ± 0,02	.000*
	1,6 g/L	10,31 ± 0,08	.000*	8,46 ± 0,01	.000*
72	dsu	3,85 ± 0,03	-	3,95 ± 0,01	-
	0,4 g/L	3,93 ± 0,04	.240	4,27 ± 0,06	.068
	0,8 g/L	4,61 ± 0,03	.003*	4,88 ± 0,02	.000*
	1,6 g/L	5,23 ± 0,03	.003*	5,15 ± 0,07	.008*

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulanmıştır.

Çimlenme sürecinde (48.saat) kontrol grubundaki hidrojen peroksit oranı 5,81 µM/g, filizlenmenin ilk aşamalarında (72.saat) 3,85 µM/g olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada *P. sativum* L.'un çimlenme sürecinde yüksek oranda hidrojen peroksit sentezlendiği ve elde ettiğimiz veriler ile uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Bu da hidrojen peroksitin çimlenme sürecinde etkili olduğunu göstermektedir. 72. saat sonunda ve de fide gelişiminin gözlenmeye başladığı zaman, hidrojen peroksit miktarının 3.85 µM/g'a düşürdüğü tespit edildi.

MIT+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonra ölçülen H₂O₂ miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 6,00 µM/g, 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 5,77 µM/g, 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 8,01 µM/g ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 8,46 µM/g olarak tespit edildi. 48. saat sonundaki 0,8 g/L MIT+%10 SV ve 1,6 g/L MIT+%10 SV uygulamasındaki tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

MIT+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonra ölçülen H₂O₂ miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 3,95 µM/g, 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 4,27 µM/g, 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 4,88 µM/g ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 5,15 µM/g olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 72. saat sonunda, 0,8 g/L+%10 SV ve 1,6 g/L+%10 SV konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

3.7.1.4. MIT ve MIT+%10 SV uygulamasında SOD enzimi tayini

Kontrol grubu ve MIT uygulanmış *P. sativum var. arvence* köklerinden 48. ve 72. saat sonunda tüm deney gruplarında SOD enzimi miktarı (U/mg) belirlendi. SOD enzimi miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi. *P. sativum var. arvence* tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen SOD enzimi miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri Tablo 3.14’de gösterilmektedir.

48. saat sonrasında ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 2,33 U/mg, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda 3,29 U/mg, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda 6,92 U/mg ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda 10,37 U/mg olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 1,6 g/L MIT uygulaması istatistiksel olarak farklı bulundu.

72. saat sonrasında ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 7,82 U/mg, 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda 11,49 U/mg, 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda 10,95 U/mg ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda 9,99 U/mg olarak tespit edildi.

MIT+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonra ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 13,57 U/mg , 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 17,06 U/mg, 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 24,12 U/mg ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 14,63 U/mg olarak tespit edildi.

Tablo 3.14. *P. sativum* var. *arvense* tohumlarına MIT ve MIT+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen SOD enzimi miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	MIT	SOD (U/mg)	P değeri	MIT+%10 SV SOD (U/mg)	P değeri
48	dsu	2,33 ± 0,28	-	13,57 ± 0,37	-
	0,4 g/L	3,29 ± 0,28	.198	17,06 ± 0,35	.000*
	0,8 g/L	6,92 ± 0,27	.044*	24,12 ± 0,3	.000*
	1,6 g/L	10,37 ± 0,42	.000*	14,63 ± 0,36	.086
72	dsu	7,82 ± 0,24	-	5,10 ± 0,77	-
	0,4 g/L	11,49 ± 0,23	.000*	6,77 ± 0,49	.074
	0,8 g/L	10,95 ± 0,23	.000*	10,56 ± 0,46	.000*
	1,6 g/L	9,99 ± 0,24	.007*	3,39 ± 0,30	.060

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Tukey testi uygulanmıştır.

MIT+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonra ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 5,10 U/mg, 0,4 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 6,77 U/mg, 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 10,56 U/mg ve 1,6 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda 3,39 U/mg olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 72. saat sonunda, 0,8 g/L+%10 SV ve 1,6 g/L+%10 SV konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

3.7.2. Kathon CG Uygulamasında Biyokimyasal Analiz

P. sativum'a 1,5: 3: 6: mL/L konsantrasyonlarında Kathon CG ve kontrol grubuna distile su uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda çimlenen tohumlardaki köklerde total protein, MDA, SOD enzimi ve H₂O₂ molekülü tayin edildi.

Kathon CG ile SV birlikte farklı oranlarda (1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV, 6 mL/L Kathon CG+%10 SV ve kontrol grubunda distile su ile %10 SV, *P. sativum*'a uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda çimlenen tohumlardaki köklerde total protein, MDA, SOD enzimi ve H₂O₂ molekülü tayin edildi.

3.7.2.1. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında total protein analizi

Kontrol grubu ve Kathon CG uygulanmış *P. sativum var. arvence* köklerinden 48 ve 72 saatleri sonunda tüm deney gruplarında total protein miktarı (mg/mL), standart grafik kullanılarak belirlendi. Total protein miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi.

48 saat sonunda ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 0,88 mg/mL, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 0,94 mg/mL, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 1,05 mg/mL ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 1,24 mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.15’de gösterilmektedir.

Tablo 3.15 *P. sativum var. arvence* tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen total protein miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	Kathon CG	total protein (mg/mL)	P değeri	Kathon CG + 10% SV total pro. (mg/mL)	P değeri
48	dsu	0,88 ± 0,05	-	1,06 ± 0,01	-
	1,5 mL/L	0,94 ± 0,03	.877	0,96 ± 0,01	.020*
	3 mL/L	1,05 ± 0,03	.158	1,21 ± 0,01	.005*
	6 mL/L	1,24 ± 0,01	.044*	1,32 ± 0,02	.001*
72	dsu	0,47 ± 0,02	-	0,58 ± 0,03	-
	1,5 mL/L	0,75 ± 0,01	.001*	0,67 ± 0,02	.156
	3 mL/L	0,83 ± 0,003	.003*	0,72 ± 0,01	.063
	6 mL/L	0,91 ± 0,01	.001*	0,91 ± 0,01	.004*

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulanmıştır.

72 saat sonunda ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 0,47 mg/mL, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 0,75 mg/mL, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 0,83 mg/mL ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 0,91

mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. Kathon CG uygulamasının kontrol grubuna göre tüm konsantrasyonlarda istatikselsel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.15’de sunulmaktadır.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonra ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 1,06 mg/mL, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 0,96 mg/mL, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 1,21 mg/mL ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 1,32 mg/mL olarak tespit edildi. 48. saat sonundaki Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki tüm konsantrasyonlarda, kontrol grubuna göre istatikselsel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.15’de gösterilmektedir.

Kathon CG+%10 vermikompost çayı uygulandıktan 72 saat sonra ölçülen total protein miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 0,58 mg/mL, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 0,67 mg/mL, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 0,72 mg/mL ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 0,91 mg/mL olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 48. saat sonundaki 3 mL/L Kathon CG+%10 SV ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki konsantrasyonlar, kontrol grubuna göre istatikselsel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.15’de sunulmaktadır.

3.7.2.2. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında MDA tayini

Kontrol grubu ve Kathon CG uygulanmış *P. sativum var. arvence* köklerinden 48 ve 72 saatleri sonunda tüm deney gruplarında MDA miktarı (μ M), kullanılarak belirlendi. MDA miktarları, istatikselsel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi. . *P. sativum var. arvence* tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen MDA miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri Tablo 3.16’da gösterilmektedir.

48 saat sonunda ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 4,37 μ M, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 3,62 μ M, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 2,92 μ M ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 5,31 μ M olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. Kathon CG konsantrasyonları uygulaması istatikselsel olarak farklı bulundu.

72 saat sonunda ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 2,62 μM , 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 2,14 μM , 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 1,73 μM ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 6,21 μM olarak tespit edildi. Kathon CG konsantrasyonları uygulaması istatistiksel olarak farklı bulundu.

Tablo 3.16. *P. sativum var. arvense* tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen MDA miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	Kathon CG	MDA (μM)	P değeri	Kathon CG +10% SV MDA (μM)	P değeri
48	dsu	4,37 \pm 0,04	-	3,28 \pm 0,01	-
	1,5 mL/L	3,62 \pm 0,04	.000*	2,60 \pm 0,03	.002*
	3 mL/L	2,92 \pm 0,06	.000*	2,35 \pm 0,02	.000*
	6 mL/L	5,31 \pm 0,03	.000*	2,74 \pm 0,02	.002*
72	dsu	2,62 \pm 0,02	-	1,29 \pm 0,01	-
	1,5 mL/L	2,14 \pm 0,02	.000*	0,91 \pm 0,001	.000*
	3 mL/L	1,73 \pm 0,02	.000*	1,69 \pm 0,02	.002*
	6 mL/L	6,21 \pm 0,03	.000*	2,72 \pm 0,01	.000*

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulanmıştır.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonunda ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 3,28 μM , 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 2,60 μM , 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 2,35 μM ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 2,74 μM olarak tespit edildi. 48. saat sonundaki Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonunda ölçülen MDA miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 1,29 μM , 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 0,91 μM , 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 1,69 μM ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 2,72

μM olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

3.7.2.3. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulamasında H_2O_2 tayini

Kontrol grubu ve Kathon CG uygulanmış *P. sativum var. arvence* köklerinden 48 ve 72 saatleri sonunda tüm deney gruplarında H_2O_2 miktarı ($\mu\text{M/g}$) belirlendi. H_2O_2 miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi. *P. sativum var. arvence* tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen H_2O_2 miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri Tablo 3.17’de gösterilmektedir.

48 saat sonunda ölçülen H_2O_2 miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 7,07 $\mu\text{M/g}$, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 7,69 $\mu\text{M/g}$, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 11,25 $\mu\text{M/g}$ ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 16,48 $\mu\text{M/g}$ olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. Kathon CG uygulaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

72 saat sonunda ölçülen H_2O_2 miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 3,19 $\mu\text{M/g}$, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 4,02 $\mu\text{M/g}$, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 4,14 $\mu\text{M/g}$ ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 5,83 $\mu\text{M/g}$ olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 3 mL/L Kathon CG ve 6 mL/L Kathon CG uygulamaları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

72 saat sonunda ölçülen H_2O_2 miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 3,19 $\mu\text{M/g}$, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 4,02 $\mu\text{M/g}$, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 4,14 $\mu\text{M/g}$ ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 5,83 $\mu\text{M/g}$ olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 3 mL/L Kathon CG ve 6 mL/L Kathon CG uygulamaları kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonunda ölçülen H_2O_2 miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 6,28 $\mu\text{M/g}$, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 5,55 $\mu\text{M/g}$, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 8,00 $\mu\text{M/g}$ ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda

9,02 µM/g olarak tespit edildi. 48. saat sonundaki 3 mL/L Kathon CG+%10 SV ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

Tablo 3.17 *P. sativum var. arvense* tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen H₂O₂ miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	Kathon CG	H ₂ O ₂ (µM /g)	P değeri	Kathon CG +10% SV H ₂ O ₂ (µM /g)	P değeri
48	dsu	7,07 ± 0,02	-	6,28 ± 0,02	-
	1,5 mL/L	7,69 ± 0,06	.002*	5,55 ± 0,05	.240
	3 mL/L	11,25 ± 0,13	.000*	8,00 ± 0,03	.003*
	6 mL/L	16,48 ± 0,07	.000*	9,02 ± 0,11	.003*
72	dsu	3,19 ± 0,01	-	4,48 ± 0,06	-
	1,5 mL/L	4,02 ± 0,02	.507	4,76 ± 0,02	.068
	3 mL/L	4,14 ± 0,04	.000*	5,20 ± 0,05	.000*
	6 mL/L	5,83 ± 0,01	.000*	5,76 ± 0,03	.008*

*P<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Dunnett T3 testi uygulanmıştır.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonunda ölçülen H₂O₂ miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 4,48 µM/g, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 4,76 µM/g, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 5,20 µM/g ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 5,76 µM/g olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. 72. saat sonundaki 3 mL/L Kathon CG+%10 SV ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulundu.

3.7.2.4. Kathon CG ve Kathon CG+%10 uygulamasında SOD enzimi tayini

Kontrol grubu ve Kathon CG uygulanmış *P. sativum var. arvense* köklerinden 48 ve 72 saatleri sonunda tüm deney gruplarında SOD enzimi miktarı (U/mg) belirlendi.

SOD enzimi miktarları, istatistiksel olarak anlamlılığı SPSS 22.0 programında ANOVA testi kullanılarak belirlendi.

48 saat sonunda ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 10,77 U/mg, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 7,04 U/mg, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 6,86 U/mg ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 1,60 U/mg olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi. Kathon CG uygulaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.18’de gösterilmektedir.

72 saat sonunda ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubunda 4,10 U/mg, 1,5 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 11,64 U/mg, 3 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 8,36 U/mg ve 6 mL/L Kathon CG konsantrasyonunda 0,93 U/mg olarak kontrole göre artan değerler tespit edildi.

Tablo 3.18. *P. sativum var. arvense* tohumlarına Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV uygulandıktan sonra 48 ve 72 saatleri sonunda elde edilen SOD enzimi miktarlarının ortalama değerleri ve istatistik verileri

Zaman (saat)	Kathon CG	SOD (U/mg)	P değeri	Kathon CG +10% SV SOD (U/mg)	P değeri
	dsu	10,77 ± 0,23	-	20,52 ± 0,63	-
48	1,5 mL/L	7,04 ± 0,26	.001*	12,62 ± 0,69	.000*
	3 mL/L	6,86 ± 0,44	.000*	14,03 ± 0,68	.000*
	6 mL/L	1,60 ± 0,28	.000*	19,92 ± 0,63	.993
	dsu	4,10 ± 0,44	-	15,7 ± 0,71	-
72	1,5 mL/L	11,64 ± 0,39	.000*	21,90 ± 0,85	.000*
	3 mL/L	8,36 ± 0,42	.000*	14,49 ± 0,76	.417
	6 mL/L	0,93 ± 0,46	.000*	21,28 ± 0,68	.000*

*p<0,05 ise istatistiksel olarak önemli bir anlama sahiptir. Bu veriler için Tukey testi uygulanmıştır.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 48 saat sonunda ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 20,52 U/mg, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 12,62 U/mg, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV

konsantrasyonunda 14,03 U/mg ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 19,92 U/mg olarak tespit edildi. 48. saat sonundaki Kathon CG+%10 SV uygulamasındaki konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak farklı bulunduğu Tablo 3.18'de sunulmaktadır.

Kathon CG+%10 SV uygulandıktan 72 saat sonunda ölçülen SOD enzimi miktarları değerlendirildiğinde, dsu+%10 SV uygulana kontrol grubunda 15,70 U/mg, 1,5 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 21,90 U/mg, 3 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 14,49 U/mg ve 6 mL/L Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda 21,28 U/mg olarak tespit edildi. Elde edilen veriler Tablo 3.18'de gösterilmektedir.



4. TARTIŞMA VE ÖNERİLER

EC50 değerini belirlemek için yapılan deneyimizde, *P.sativum var. arvence* üzerine uygulanmış MIT grubunda kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlara bağlı olarak kök uzunluğunda azalma meydana geldi. Özellikle EC50x2 MIT konsantrasyonunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalma oldu. MIT'in artan konsantrasyonları, kontrole göre kök gelişimini yavaşlatarak çimlenmeyi olumsuz etkilediği tespit edildi. *P. sativum var. arvence* üzerinde Kathon CG kimyasalının EC50 değerini belirlemek için kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlara bağlı olarak kök uzunluğunda azalma meydana geldi. Özellikle EC50x2 Kathon CG konsantrasyonunda kontrol grubuna göre önemli ölçüde azalma oldu. Kathon CG'nin konsantrasyonları arttıkça kontrole göre kök gelişimini ve çimlenmeyi yavaşlattığı tespit edildi. MIT ve Kathon CG bileşiklerinin, çimlenmeyi ve kök uzunluğunu geciktiren ve inhibe edebilen bir sitotoksik ajan gibi davrandığı görüşündeyiz. Elde edilen sitotoksik verilere karşılık vermikompost materyalinin verimliliğini belirlemede kullanılan deneylerde %10 luk sıvı vermikompost uygulanmasının kök uzamasına olumlu etki yaptığını söyleyebiliriz.

Sıvı vermikompost ilavesi ile kök büyüme oranını, MIT'in tek başına maruziyetine karşı önemli ölçüde arttırdığı Tablo 3.3'de gösterilmektedir. Aynı şekilde Kathon CG'nin SV ile birlikte uygulanması, Kathon CG'nin olumsuz etkisini azaltarak kök uzunluğunu arttırdığı Tablo 3.4'de gösterilmektedir. Gözlemlenen bu fark büyük olasılıkla, solucanlar tarafından işlenmiş organik madde yani vermikompostun etkisidir. Vermikompostun içerisinde bulunan hümik asit, kök uzamasında görev alan enzimin aktivasyonunu sağlayarak hücre zarındaki H⁺-ATPaz aktivitesini uyardığı ve böylece bitki büyümesine yardımcı olduğunu bilinmektedir (Canellas ve diğ., 2002).

4.1. Mitoz Bölünme Testi

Kök meristemlerinin yüksek oranda hücre içermesi, mitoz bölünme sırasında bitki hücrelerindeki toksik kontaminantların görülme sıklığını kolaylaştırır. Mitotik indeks ve kromozom anormallikleri, çeşitli kimyasal maddelerin toksisitesiteni

değerlendirmek için kullanılmaktadır (Khanna ve Sharma, 2013; Fernandes ve diğ., 2007). Mutajen ajanın sitotoksosite seviyesi, MI oranının artması ya da azalması ile orantılı olarak belirlenir (Prajitha ve Thoppil, 2016).

MIT uygulamasında MI oranında kontrol grubuna göre 0,4 g/L MIT konsantrasyonunda %1,07'lik bir artış gözlemlenirken, 0,8 ve 1,6 g/L MIT konsantrasyonlarında azalma gözlemlendi.

Kathon CG uygulamasında kontrol grubuna göre, konsantrasyon artışıyla birlikte MI oranında azalma gözlemlendi. EC50x2 Kathon CG konsantrasyonunda kontrol grubuna göre %11,69'luk azalış tespit edildi.

Elde ettiğimiz veriler, MIT ve Kathon CG konsantrasyonlarının hücre bölünmesine karşı inhibisyon etkisi yaptığını göstermektedir. Çalışmamıza benzer bir araştırmada, sodyum hipokloritin farklı konsantrasyonları, *P. sativum*'a uygulandığında mitoz bölünme sürecinde, G2 fazını blok ederek DNA sentezini inhibe ettiği ve böylece hücre döngüsünün normal gelişimini engelleyerek MI da inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir (Salazar-Mercado ve diğ., 2019). Verilerimiz doğrultusunda MIT ve Kathon CG'nin, G2 fazını bloke ederek, hücre döngüsünün normal gelişimini önlediğini ve böylece mitotik aktiviteyi bastırdığını düşünmekteyiz.

MIT ve SV'nin birlikte uygulanması sonucunda, kontrol grubuna göre EC50/2 ve EC50 MIT+%10 SV konsantrasyonlarında MI oranının arttığı gözlemlendi. Kontrol grubuna göre EC50x2 MIT maruziyetinde, MI oranı %0,74 oranında azalırken, SV ile birlikte uygulandığında MI oranını arttırdığı Tablo 3.5'de gösterilmektedir.

Kathon CG ile SV uygulaması sonucunda, artan Kathon CG+%10 SV konsantrasyonlarıyla birlikte MI oranının kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi. Ancak yalnızca Kathon CG'ye maruz bırakıldığında giderek azalan MI oranları, SV ile birlikte yapılan uygulamalarda önemli ölçüde arttığı Tablo 3.6'da gösterilmektedir.

SV'nin G2 fazını bloke eden mutajenleri yok ederek hücre döngüsünün normal gelişimine devam etmesini sağladığını düşünmekteyiz.

Kirleticiler, genetik materyale doğrudan zarar vererek kromozomun yapısında değişikliklere neden olur (Silva ve diğerleri, 2018). Kromozomal anormallikleri

değerlendirmek için profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri dikkatle incelenmelidir. Ayrıca, hücre bölünmesinin aşamaları ve anormallikler hakkında doğru bilgiye sahip olmayı gerektirdiği için mitotik analizin değerlendirilmesi kolay değildir (Rank ve Nielsen, 1993). Hücresel anormallikler, kendiliğinden veya bir kimyasal maddeye fiziksel olarak maruz kalmanın sonucunda oluşur (Hemachandra ve Pathiratne, 2015; Russel, 2002). Yapısal kromozomal değişiklikler, DNA kırılmaları, DNA sentezinin inhibisyonu ve değiştirilmiş DNA replikasyonu gibi birkaç faktör tarafından indüklenebilir (Leme ve Marin-Morales, 2009).

MIT ve MIT+%10 SV konsantrasyonlarında anormallik oranları, profazda kromozom fragmentasyonu (pkf) > metafazda kromozom yapışması (mky) > anafazda kromozom köprüsü (akkö) > c-mitoz > profazda kromozom yapışması (pky) şeklindedir. Kathon CG ve Kathon CG+%10 SV konsantrasyonlarında gözlemlenen benzer sonuçlar Tablo 3.7'de gösterilmektedir.

Piknotik çekirdek, kromatin ipliğinin kalıcı olarak yoğunlaşmasıyla çekirdeğin küçülmüş halidir (Ghanim ve diğ., 2016). Senensens (Lingua ve diğ., 2002) ve apoptotik (Karakaş ve diğ., 2017) veya nekrotik hücre ölümünün göstergesi sayılır (Ghanim ve diğ., 2016; Wohlan ve diğ., 2014). Hayalet hücre, çekirdeği bulunmayan (Rajesh ve diğ., 2015), apoptotik ve/veya nekrotik hücre ölümü temsilcisi (Meinteres ve diğ., 2003) olan hücrelerdir.

0,4 g/L MIT konsantrasyonunda, hayalet hücre (29 adet) gözlenirken SV'li uygulamada gözlenmedi. 0,8 g/L MIT konsantrasyonunda sayılan 5000 hücre içerisinde, yüksek oranda piknotik çekirdek (pç), çekirdekte kromatin granülasyonu (çkg) ve hayalet hücre (hh) görüldü (pç:49; çgb:30; hh:4). 0,8 g/L MIT+%10 SV konsantrasyonunda yalnızca 1 adet pç gözlemlendi. 1,6 g/L MIT konsantrasyonunda sayılan 5000 hücre içerisinde en çok pç, çkg, hh gözlemlendi (pç:152; çkg:137; hh:48). 1,6 g/L MIT+%10 SV uygulanan meristematik kök ucu hücrelerinde hayalet hücre gözlemlenmedi. Ayrıca piknotik çekirdek ile çekirdekte kromatin granülasyonu oranlarının büyük oranda azaldığı (pç:8; çkg:17) gözlemlenen veriler Tablo 3.7'de gösterilmektedir. Kromatin ipliğinin çok sıkı bir hale gelerek oluşturduğu piknotik çekirdek ve geri döndürülemez hasar seviyesi kabul edilen kromatin granülasyonu ile hücre ölümlerinin göstergesi hayalet hücreler MIT'in bezelye kök hücreleri üzerinde önemli ölçüde toksik etkiye

sahip olduğunu göstermektedir. MIT konsantrasyonlarının artışı ile birlikte hücrede meydana gelen hasar seviyeleri tamir edilemez oranlara ulaşmıştır.

Bununla birlikte, SV'li uygulamalarda, DNA da meydana gelen geri döndürülemez hasarların oluşmasını engellenerek, çekirdekteki kromatin yapısında meydana gelen bozunmaların büyük oranda azalması nedeniyle MIT'in etkisini indirgediğini düşünmekteyiz. Bu veriler doğrultusunda SV, MIT maruziyetinin meydana getirdiği çekirdek hasarlarını azaltarak, mitotik indeks de arttırmıştır..

Kathon CG konsantrasyonlarının tamamında maruziyet ile birlikte meristematik kök ucu hücrelerinde çok yüksek oranda belirlenen piknotik çekirdek, çekirdekte kromatin granülasyonu, çekirdek parçalanması ve hayalet hücre anormallikleri Tablo 3.10'da gösterilmektedir.

1,5 mL/L Kathon CG uygulamasında gözlenen çekirdek anormallikleri (pç:114, çgb:82, çp:2, hh:27; adet), SV uygulaması ile birlikte azaldığı belirlendi (pç:0, çgb:0, çp:1, hh:93; adet). Benzer şekilde, 3 mL/L Kathon CG uygulamasında gözlenen çekirdek anormallikleri (pç:56, çgb:206, çp:5, hh:120; adet), SV uygulaması ile birlikte azaldığı gözlemlendi (pç:6, çgb:0, çp:1, hh:60; adet). En yüksek konsantrasyonda da benzer şekilde, 6 mL/L Kathon CG uygulamasında, toplam 5000 adet içerisinde 155 adet piknotik çekirdek, 37 adet çekirdekte kromatin granülasyonu, ve 507 adet hayalet hücre gözlenirken, 6 mL/L+%10 SV konsantrasyonunda bu oranların düştüğü (çkg:37, hh:122) gözlemlendi. Elde edilen veriler Tablo 3.10'da gösterilmektedir.

Güçlü biyositler olan MIT ve de özellikle Kathon CG bileşikleri nedeniyle oluşan hasarları engelleyen ya da hasar seviyesini azaltan SV, çekirdekte bulunan kromatin yapısının bozulmasını engellediği görüşündeyiz. SV, iyileştirici-düzenleyici özelliği sayesinde mutajenler nedeniyle hücrede bozulan normal hayat döngüsünü düzenleyerek, hücresel hasarı indirgediğini ve böylece diğer çalışma sonuçlarıyla uyumlu olarak zirai alanlarda kullanım için önemli bir biyo-ekolojik uygulama olduğunu düşünmekteyiz.

4.2. Biyokimyasal Analiz

4.2.1. MIT ve Kathon CG'nin biyokimyasal analizleri

Canlı metabolizmasının önemli bir göstergesi olan toplam protein içeriği, organizmanın karşılaştığı olumsuz koşullara karşı bir cevap oluşturmaktadır (Nagajyoti ve diğ., 2010). Stres türüne ve bitki metabolizmasına bağlı olarak, total protein miktarı yanıt olarak artıp azalabilir. Örneğin, kuraklık stresi total protein miktarında azalmaya neden olmuştur (Fazeli ve diğ., 2007). Farklı bir çalışmada, kuraklık ve tuzluluk stresi süpürge darısı bitkisinde proteinin yapısında bulunan total prolin, H₂O₂ ile MDA miktarında artışına neden olarak bitki büyümesinde neden olmuştur (Nxele ve diğ., 2017).

48 saat sonunda yapılan ölçümlerde kontrol grubuna göre uygulanan MIT konsantrasyonu oranlarının artışı ile birlikte total protein miktarında artış gözlemlendi. 72 saat sonunda, kontrol grubuna göre MIT'in artan konsantrasyonlarıyla orantılı olarak total protein miktarındaki artış Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

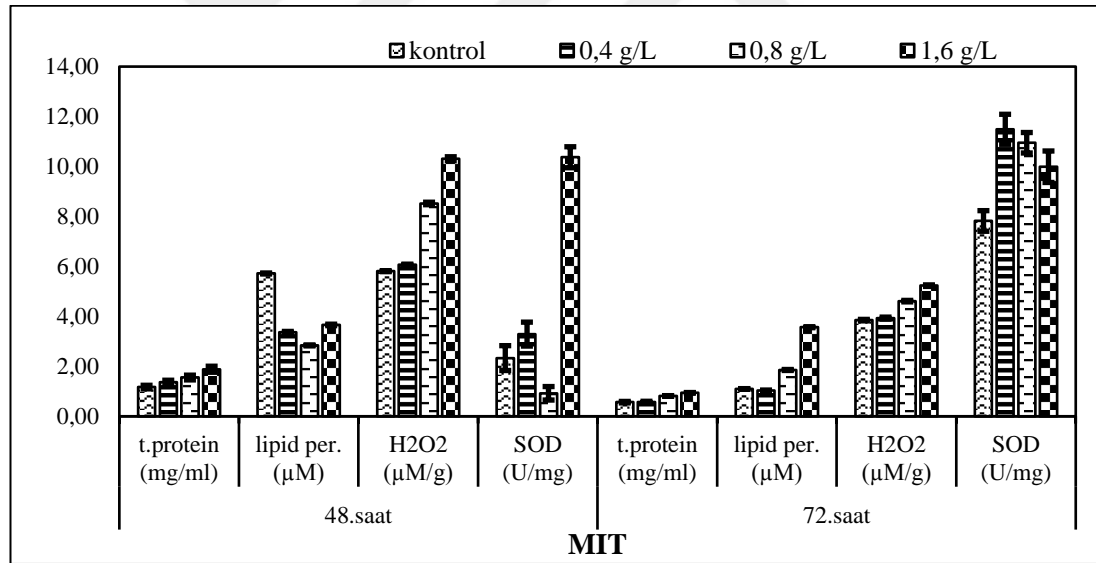
MDA, hücre zarlarındaki iyon alışverişini etkileyerek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına sebep olur. Böylelikle iyon geçirgenliğinin değişmesine, enzim aktivitelerinde artma ya da azalma gibi olumsuz sonuçlara sebep olur. MDA bu özelliği nedeniyle, DNA'nın azot taşıyan grupları ile reaksiyona girebilir; bundan dolayı mutajenik ve genotoksik özellikte olduğu söylenebilir (Halliwell ve Chirico, 1993).

P. sativum'da çimlenme ve fide oluşumu aşamasında, total protein miktarının zaman içerisinde azaldığı gözlemlenmiştir (Basha ve Bevers, 1975). Bununla uyumlu olarak çalışmamızda, *P. sativum var. arvence* çimlenme sürecinde iken 48. saatin sonunda köklerde protein miktarı yüksek iken çimlenme sona erip, fide gelişiminin başlamasıyla (72. saatin sonunda) protein miktarının düştüğü belirlendi.

MIT uygulanmış *P. sativum var. arvence*'de, 48 saat sonunda oluşan MDA miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre MIT maruziyeti sonucunda MDA miktarının azaldığı tespit edildi. Bu durum çimlenmeden kaynaklanıyor olabilir. Çimlenme esnasında oluşan proteinler, ROS oluşumuna bağlı olarak MDA oluşumunu önleyebilir. 72 saat sonrasında ise kontrol grubuna göre MDA miktarlarında özellikle EC50x2 konsantrasyonunda önemli ölçüde arttığı Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

48 saat sonunda kontrol grubuna göre uygulanan MIT konsantrasyonları ile birlikte H₂O₂ miktarının arttığı tespit edilirken aynı şekilde 72. saatin sonunda da kontrol grubuna göre MIT uygulanmış *P. sativum*'da H₂O₂ miktarındaki artış Şekil 4.1'de gösterilmektedir.

H₂O₂, aerobik organizmalarda süperoksitlerin katalitik aktivitesi yüksek olan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi tarafından katalizlenmesi sonucunda meydana gelir. Diğer ROS türlerine göre uzun bir yaşam döngüsüne (1 ms) sahip olan H₂O₂, orta derecede reaktif bir moleküldür (Das ve Roychoudhury 2014). H₂O₂ tiyol gruplarını okside ederek peroksizomlarda oksidatif hasara ve hücre ölümüne neden olurken düşük seviyede üretildiklerinde programlı hücre ölümünde sinyal molekülleri olarak görev alırlar. (Gratao ve diğ., 2005; Livanos ve diğ., 2012; Ren ve diğ., 2014). H₂O₂'in tehlikeli oluşu, onun hücre membranından kolayca difüze olabilmesi ve OH• radikaline dönüşmeye hazır olmasından kaynaklanır (Asad ve diğ., 2004).



Şekil 4.1. MIT uygulanmış *P. sativum var. arvense*'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları

SOD (E.C.1.15.1.1), tüm aerobik organizmalarda bulunan metaloenzimler ailesine ait en etkili hücre içi enzimatik antioksidanlardan biridir. SOD stres altında ROS kaynaklı hasarlara karşı ilk savunma hattını oluşturan ve O₂⁻ ve H₂O₂'yi su ve moleküler oksijene çeviren enzimlerdir. SOD'un abiyotik stres koşulları tarafından düzenlendiği bulunmuştur (Boguszewska ve diğ., 2010). Süperoksit anyonunun, membran hasarına, hücrel toksisite ve DNA'daki tek zincir kırıklarına, lipid peroksidasyonuna, sebep

olduğu bazı araştırmacılar tarafından belirtilmiştir. (Turrens, 2003; Halliwell, 2006; Sharma ve diğ., 2012).

MIT uygulanmasında, kontrol grubuna göre 48 ve 72 saatleri sonundan SOD miktarlarının arttığı tespit edilmiştir (şekil 4.1’de gösterilmektedir). Verilerimiz stres durumunda SOD aktivitesinin artışını raporlayan çalışmaları desteklemektedir. Bu durum MIT ile oksidatif strese mauz bırakılan bitkinin, yaşamını sürdürebilmek için ROS’ların kontrolünü ve antioksidatif savunma sistemlerini devreye soktuğunun göstergesi olabilir.

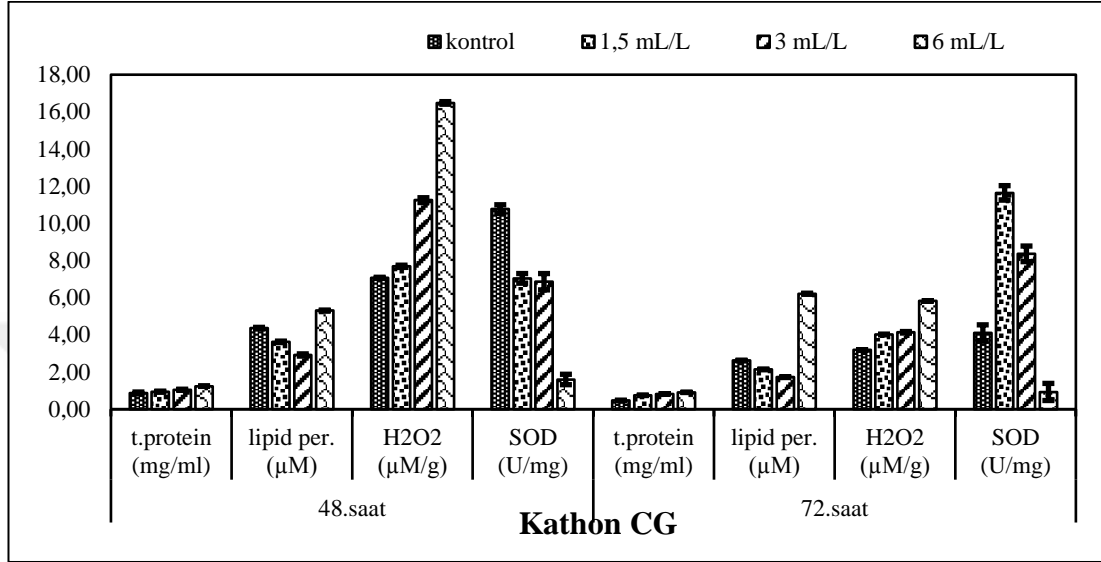
Kathon CG için yapılan ölçümlerde, 48 saat sonunda kontrol grubuna göre uygulanan konsantrasyon artışı ile birlikte total protein miktarında artış gözlendi. Aynı şekilde 72 saatin sonunda, kontrol grubuna göre Kathon CG’nin artan konsantrasyonlarıyla orantılı olarak total protein miktarında gözlemlenen artış şekil 4.2’de gösterilmektedir.

Kathon CG uygulanmış *P. sativum var. arvence* de 48 saat sonrasında oluşan MDA miktarları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna MDA miktarı belirlenirken, uygulanan EC50/2 ve EC50 de MDA miktarının azaldığı ve EC50x2 de artış olduğu tespit edildi. 72 saat sonrasında ise kontrol grubuna göre EC50/2 ve EC50 Kathon CG konsantrasyonlarında azaldığı ve EC50x2 konsantrasyonunda önemli miktarda arttığı şekil 4.2’de sunulmaktadır.

48 saat sonunda kontrol grubuna göre uygulanan Kathon CG ile birlikte H₂O₂ miktarının arttığı tespit edildi. 72 saatin sonunda da kontrol grubuna göre Kathon CG uygulanmış bezelye köklerinde belirlenen H₂O₂ miktarındaki artış şekil 4.2’de gösterilmektedir.

Kontrol grubuna göre artmış H₂O₂ miktarları bitkinin strese girmiş olabileceğinin bir göstergesi olabilir. Stres anında H₂O₂’nin bir sinyal molekül olarak kullanılması (Valko ve diğ., 2007) ve oksidatif stresler anında miktarının artması, bitkilerde stresin bir işareti olduğu düşüncesini ne çıkarır. Bu çalışmada özellikle artan MIT ve Kathon CG konsantrasyonlarında MDA miktarının ve H₂O₂ miktarının doğrusal olarak artması literatür bilgilerini destekler niteliktedir.

Kathon CG uygulanmış deney grubumuzda kontrol grubuna göre, 48 saat sonundan SOD miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. 72 saat sonunda kontrol grubuna göre, EC50/2 Kathon CG konsantrasyonunda artış, ardından EC50 ve EC50x2 konsantrasyonlarında gözlemlenen azalma Şekil 4.2’de gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Kathon CG uygulanmış *P. sativum var. arvence*'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları

P. sativum var. arvece'e Kathon CG uygulanmasının ardından 48 ve 72 saat sonunda gözlenen SOD enzimi miktarındaki azalma, bu bileşiğin güçlü bir toksik madde olduğunu özellikle vurgulamaktadır. Stres koşulları altın SOD enzimi miktrında artış beklenirken Kathon CG uygulamasının ardından antioksidan enzimin miktarı azalmıştır.

Kontrol grubuna göre MIT ve Kathon CG'ye maruz kalan köklerde, total protein miktarındaki gözlemlenen artış bitkinin stres koşullarına karşı vermiş olduğu metabolik tepki olabilir. Tohum çimlenmesi sırasında depo proteinlerinin proteolitik olarak yıkıldığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiş (Palma ve diğ., 2002; Bartels ve Sunkar 2005; Yuksel, 2017). Artan MIT ve Kathon CG konsantrasyonlarında protein yıkımının hızlı olmadığı, bundan dolayı çimlenme oranının düşük ve kök uzamasının da daha az olması nedeniyle izotiazolinon bileşiklerinin *P. sativum* üzerinde toksik etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda kök örneklerinde kontrole göre MIT ve Kathon CG konsantrasyonlarında görülen çözünür protein miktarlarındaki artış, stres şartlarında

bitkinin verdiği tepki olarak değerlendirilebilir. Farklı stres koşullarında bitkide çözünür proteinlerin çözünürlüğünü artıran prolin amino asidinin artışı buna örnek olarak gösterilebilir. (Miller ve diğ., 2010; Yuksel, 2017).

ROS'ların artışıyla birlikte izotiazolinon bileşiklerindeki en yüksek konsantrasyonlarda görülen MDA miktarındaki artış çimlenmeyi etkileyerek kök büyümesinin azalmasına neden olabilir. Bu durum bitkinin MIT ve Kathon CG ile birlikte strese girmiş olabileceği ve lipid peroksidasyonunu artırdığını gösteriyor olabilir.

4.2.2. MIT veya Kathon CG'nin SV ile birlikte uygulamasının biyokimyasal analizleri

Elde edilen veriler doğrultusunda, 48 ve 72 saatleri sonunda kontrol grubuna göre MIT ile birlikte SV uygulanmış deney gruplarında total protein miktarında artış olduğu Şekil 4.3'de gösterilmektedir.

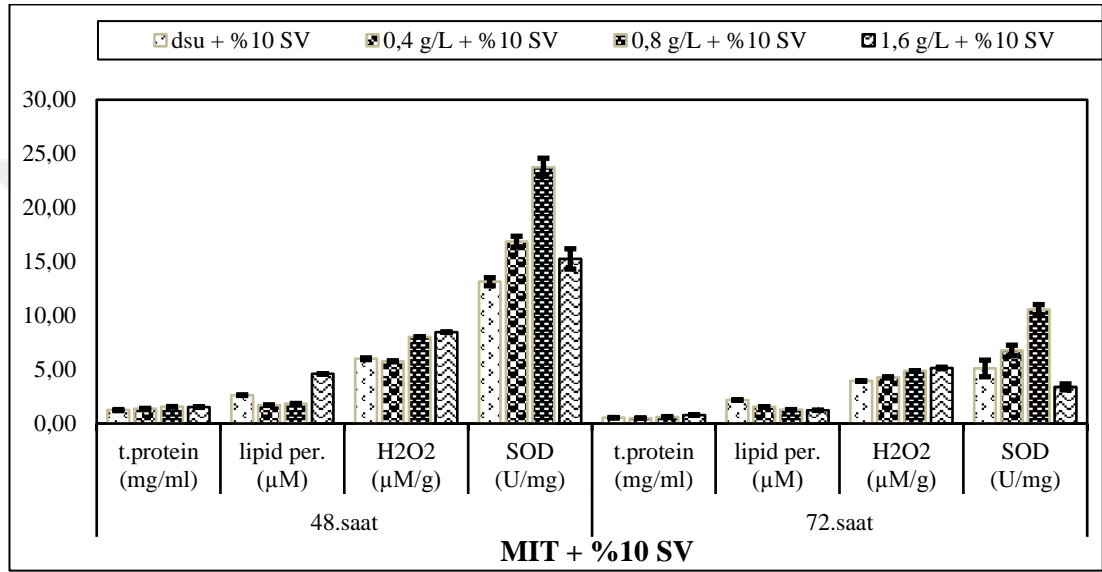
MIT ile birlikte SV uygulanmış *P. sativum var. arvence*'de hem 48 saat hem de 72 saat sonunda kontrol grubuna göre MDA miktarlarında azalma olduğu Şekil 4.3'de gösterilmektedir.

Aynı koşullar altında çimlendirilmiş ve büyütülmüş tohumlar, MIT ile birlikte SV uygulaması sonucunda MDA miktarının azalmasının SV'nin etkili olduğunu gösterir. MDA analizi tayininde tüm verilerimiz kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

MIT+SV uygulanmış deney grubumuzda, 48 saat sonunda kontrol grubuna göre, EC50/2 MIT konsantrasyonunda H₂O₂ miktarında azalma gözlemlenirken, EC50 ve EC50x2 MIT konsantrasyonlarında artış tespit edildi. 72. saatin sonunda ise kontrol grubuna göre MIT+%10 SV'nin artan konsantrasyonlarında H₂O₂ miktarlarında gözlenen artış Şekil 4.3'de gösterilmektedir.

Stres altındaki *P. sativum var. arvence*'in büyüme ortamına SV eklenerek bu antioksidan aktivitesinin nasıl değiştiği gözlemlenmiştir. Bu amaçla deney gruplarında 48. saat sonunda kontrol grubuna göre MIT+%10 SV eklenmiş deney gruplarında artan konsantrasyonla beraber SOD aktivitesinde artış gözlemlendi. EC50/2 de bir miktar artması ardından EC50 miktarında ani yükseliş ve EC50x2 MIT konsantrasyonunda

kontrol grubundaki yakın seviyeye dönmesi bitkinin stres ile baş edebildiğinin bir göstergesi olabilir. EC50x2 MIT konsantrasyonundaki ani SOD aktivite azalması bu teoriyi destekler niteliktedir. Bu durumda SV eklenmesinin etkili olduğu düşüncesindeyiz. Aynı sonuç 72 saat sonundaki örneklerimiz için gözlemlendi. Kontrol grubuna göre SV eklemiş MIT'nin EC50/2 ve EC50 MIT konsantrasyonlarında SOD aktivitesinde artma gözlemlenirken EC50x2 MIT konsantrasyonunda tespit edilen azalma Şekil 4.3'de gösterilmektedir.



Şekil 4.3. MIT+%10 SV uygulanmış *P. sativum var. arvence*'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları

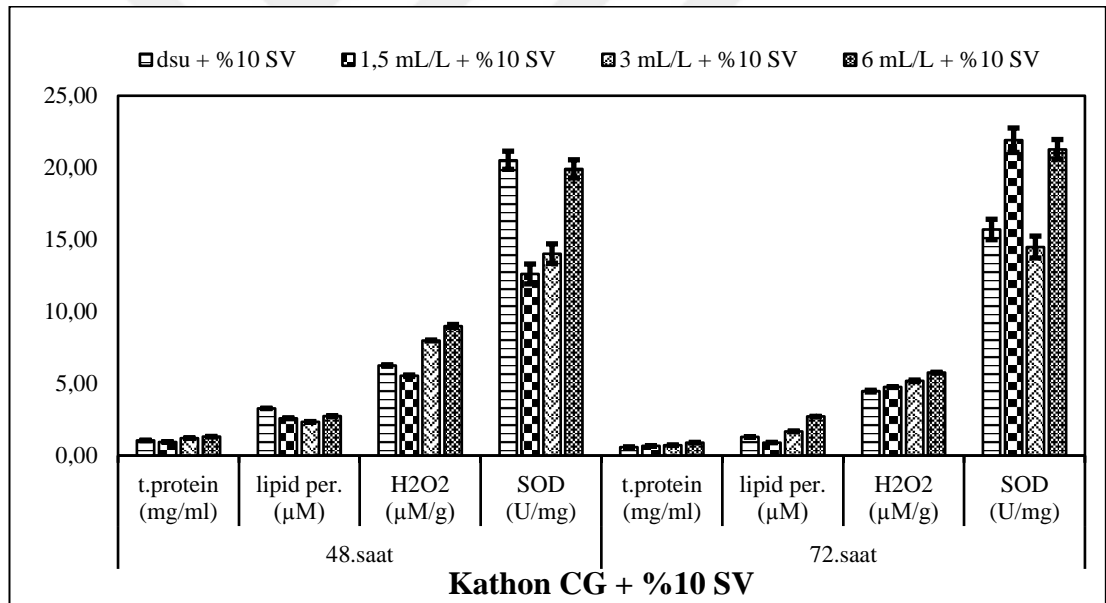
Yapılan araştırmalarda; süperoksit dismutaz enzimlerinin gen ekspresyonlardaki artışların biyotik ve abiyotik strese bağlı olarak meydana çıkan ROS'lara karşı koymada, stresle başa çıkmada ve bitkilerin stres koşulları altında canlılığını sürdürmesine katkı sağlamada önemli görevleri olduğu belirtilmiştir (Hoogewijs ve diğ., 2008; Fischer ve diğ., 2013; Yuksel ve Aksoy, 2019).

Kathon CG ile birlikte SV uygulanmış deney gruplarını incelediğimizde, 48 ve 72 saatleri sonunda kontrol gurubuna göre total protein miktarlarında da gözlenen artış Şekil 4.4'de gösterilmektedir.

Distile su ile birlikte SV uygulanmış kontrol grubunda, uygulanmayan gruba göre kontrolde gözlenen total protein miktarlarındaki artış, bitkinin kök uzamasına bağlı olarak çimlenmeyi arttırdığı Tablo 3.11'de gösterilmektedir. 48 ve 72 saat sonunda

MIT veya Kathon CG ile birlikte uygulanan SV'nin deney gruplarında kontrole göre protein miktarı artmaktadır. Total protein bir sinyal molekülü olarak görev almasına rağmen, MIT veya Kathon CG ile birlikte SV uygulanmış gruptaki kök uzunluğu, yalnızca izotiazolinon bileşikleri uygulamasındaki deney gruplarına göre daha yüksektir. Bu veriler Tablo 3.11 ve Tablo 3.15'de gösterilmektedir. Vermikompost içerisinde bulunan büyüme hormonları (Zhang ve diğ., 2015), izotiazolinon bileşiklerinin oluşturduğu stresin etkisini azalttığını düşünmekteyiz. Vermikompostun pestisit gibi kimyasal maddeleri parçalayıcı özelliği (Sanchez-Hernandez ve diğ., 2019) sayesinde izotiazolinon bileşiklerinin etkisini azaltmış olabilir.

Vermikompostun bitki metabolizmasını etkileyerek stres koşullarını azalttığı bu tarz çalışmalar mevcuttur (Blouin ve diğ., 2019). Total protein miktarlarının belirlenmesinde tüm deney grupları istatistiksel olarak anlamlı bulundu.



Şekil 4.4. Kathon CG+%10 SV uygulanmış *P. sativum var. arvence*'de 48 ve 72 saatleri sonunda biyokimyasal analiz sonuçları

Kathon CG ile birlikte SV uygulanmış *P. sativum var. arvence*'de 48 saat sonunda kontrol grubuna göre MDA miktarlarında azalma olduğu tespit edildi. 72 saat sonunda ise kontrol grubuna göre EC50 ve EC50x2 Kathon CG+%10 SV konsantrasyonlarında gözlemlenen artış Şekil 4.4'de gösterilmektedir.

Kathon CG ile birlikte SV uygulamasında, 48 saat sonunda MDA miktarının azalmasının SV'nin etkisinin olduğunu göstermektedir. 72 saat sonunda ise kontrol

grubuna göre özellikle EC50x2 konsantrasyonunda gözlenen MDA miktarındaki artış SV'nin, Kathon CG biyositolinin etkisini azaltıcı ya da önleyici bir etkiye sahip olmadığını düşünmekteyiz. MDA analizi tayininde tüm verilerimiz kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < ,05$).

Kathon CG ile birlikte SV uygulanmış deney grubumuzda 48 saat sonunda, H₂O₂ miktarı kontrol grubuna göre, EC50/2 Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda azalırken, EC50 ve EC50x2 konsantrasyonlarında artış tespit edildi, 72 saatin sonunda ise kontrol grubuna göre Kathon CG+%10 SV'nin artan konsantrasyonlarında H₂O₂ miktarlarındaki artış Şekil 4.4'de gösterilmektedir.

Toksik bir molekül ve sinyal molekülü olarak ikili görevi bulunan H₂O₂, fitohormonlar ve çimlenme sürecindeki sinyalleşmede görev alan reaktif moleküller ile arasında bağlantı bulunmaktadır (Wojtyla ve diğ., 2016). SV ile birlikte uygulanan MI veya Kathon CG konsantrasyonlarının artışıyla beraber H₂O₂ miktarındaki artış, sinyalleşme sürecinde görev almasından kaynaklanıyor olabilir.

Kathon CG ile birlikte SV eklenen deney gruplarında, 48 saat sonunda kontrol grubuna göre, Kathon CG+%10 SV eklenmiş deney gruplarında artan konsantrasyonla beraber SOD aktivitesinde azalma gözlemlendi. 72 saat sonunda kontrol grubuna göre, Kathon CG+%10 SV eklenmiş deney gruplarında artan konsantrasyonla beraber SOD aktivitesinde gözlenen artış Şekil 4.4'de gösterilmektedir. SOD aktivitesinde de meydana gelen anlamlı antioksidatif yanıtlar ise, SV'nin bitki stres mekanizmasında işlevsel olabileceğini göstermektedir.

SV ilavesinde antioksidan aktivitesinin nasıl değiştiği gözlemlendiğimiz çalışmamızda, 48. saat sonunda kontrol grubuna göre artan konsantrasyonlarda Kathon CG+%10 SV eklenmiş deney gruplarında SOD aktivitesinde artma gözlemlendi. EC50x2 Kathon CG+%10 SV konsantrasyonunda kontrol grubundaki yakın seviyeye dönmesi bitkinin stres ile baş edebildiğinin bir göstergesi olabilir. SV eklenmesinin etkili olduğu düşüncesindeyiz. 72 saat sonunda kontrol grubuna göre, SV eklenmiş Kathon CG'nin EC50/2 konsantrasyonunda ani bir artış, EC50 Kathon CG konsantrasyonunda azalış, EC50x2 Kathon CG konsantrasyonunda ise artış olduğu gözlemlendi. SOD miktarındaki artış, antioksidan enzim olarak görevini yaptığını göstermektedir. SOD aktivitesinde

de meydana gelen anlamlı antioksidatif yanıtlar ise, SV'nin bitkinin stres mekanizmasında işlevsel olabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızın amacı endüstri ve kozmetik sanayiinde kullanılan izotiazolinon bileşiklerinin, model organizmamız olan *P. sativum var. arvence* üzerinde yapmış olduğu sitolojik ve biyokimyasal değişiklikleri belirlemek, ardından uygulanan sıvı vermikompost ile bitkide meydana gelebilecek olası oksidatif stres izlerini, mitoz bölünme üzerindeki etkisini, bitkinin strese yanıtını, lipid peroksidasyonu ve bitki gelişimi üzerine etkilerini ortaya koymaktır. Yapılan çalışma sonunda elde edilen tespitler genel bir değerlendirme niteliğinde olacağı gibi ayrıca analizlerin sonuçları üretici ve tüketiciye, izotiazolinon bileşiklerinin kullanıldığı alanlarda avantaj ve dezavantajları hakkında fikir verebilecektir. İzotiazolinon bileşiklerinin *P. sativum* üzerindeki sitolojik ve biyokimyasal etkilerinin belirlenmesi ile elde edilen verilere göre literatürde bu konu ile ilgili eksikliğin belirli bir dereceye kadar kapatılması, bazı açık kalmış noktaların aydınlatılması ve bitki fizyolojisi ile çalışan araştırmacılarına katkı sağlayacağı ümit edilmektedir. Bu veriler ışığında vermikompost çayının hem artan organik atık miktarını geri dönüştürmek hem de yapay gübre kullanımını azaltmak için iyi bir çözüm olduğunu söyleyebiliriz. Sonuç olarak izotiazolinon bileşikleri, yem bezelyesi (*Pisum sativum var. arvence*) üzerinde sitolojik ve bazı biyokimyasal parametrelerde olumsuz etkiye sahiptir ve toksik maddelerdir. Sıvı vermikompost uygulaması, izotiazolinon bileşiklerinin neden olduğu olumsuz etkiyi azaltarak, bitki büyümesini desteklemektedir.

KAYNAKLAR

Acikgoz E., Ustun A., Gul I., Anlarsal E., Tekeli A. S., Nizam I., Avcioglu R., Geren H., Cakmakci S., Aydinoglu B., Yücel C., Avcı M., Genotype x Environment Interaction and Stability Analysis for Dry Matter and Seed Yield in Field Pea (*Pisum sativum* L.), *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2009, **7**(1), 96-106.

Acemi A. Duman Y.A., Karakuş Y.Y., Özen F., Effect of Zinc and Molybdenum on European Blueear (*Amsonia orientalis*): An in vitro study, *The EuroBiotech Journal*, 2020, **4**(1), 32-41.

Adamakis I. D. S., Panteris E., Cherianidou A., Eleftheriou E. P., Effects of Bisphenol A on The Mikrotubule Arrays in The Mikrotubule Arrays in Root Meristematic Cells of *Pisum sativum* L., *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanism of Mutagenesis*, 2013, **750**(1-2), 111-120.

Adebiyi A. P., Aluko R. E., Functional Properties of Protein Fractions Obtained from Commercial Yellow Field Pea (*Pisum sativum* L.) Seed Protein Isolate, *Food Chemistry*, 2011, **128**(4), 902-908.

Aerts O., De Free C., van Hoof T., Ghys K., Ortopelea R. A., Lambert J., Slime: A New Fashion Among Children Causing Severe Hand Dermatitis, *Contact Dermatitis*, 2018, **79**(6), 385-387.

Aerts O., Goossens A., Labert J., Lepoittevin J., Contact Allergy Caused By Isothiazolinone Derivatives: An Overview of Non-Cosmetic and Unusual Cosmetic Sources, *European Journal Dermatol*, 2017, **27**(2), 115-122.

Alexieva V., Sergiev I., Mapelli S., Karanov E., The Effect of Drought and Ultraviolet Radiation on Growth and Stress Markers in Pea and Wheat, *Plant, Cell and Environment*, 2001, **24**(12), 1337-1344.

Alzandi A. R. A., The Use of *Pisum sativum* L. as Bioindicator for Lead Ions Detoxification, *International Journal of Scientific and Technology Research*, 2012, **1**(2), 42-45.

Amarakoon D., Thavaraj D., McPhee K., Thavarajah P., Iron-, Zinc-, and Magnesium-Rich Field Peas (*Pisum sativum* L.) with Naturally Low Phytic Acid: A Potential Food-Based Solution to Global Micronutrient Malnutrition, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2012, **27**(1), 8-13.

Ambrose M. J., From Near East Centre of Origin the Prized Pea Migrates Throughout World, *Diversity, Appl. Eco*, 1995, **9**, 67-77.

Anselmi C., Ettorre A., Andreassi M., Centini M., Neri P., Di Stefano A., In Vitro Induction of Apoptosis vs. Necrosis by Widely Used Preservatives: 2-Phenoxyethanol, A Mixture of Isothiazolinones, Imidazolidinyl Urea and 1,2-pentanediol, *Biochemical Pharmacology*, 2002, **63**(3), 437-453.

Arancon N. Q., Edwards C. A., Lee S., Byrne R., Effects of Humic Acids from Vermikomposts on Plant Growth, *European Journal of Soil Biology*, 2006, **42**(1), 65-69.

Asad N. R., Asad L. M. B. O., Almeida C. E. B. D., Felzenszwalb I., Cabral-Neto J. B., Leitao, A. C., Several Pathways of Hydrogen Peroxide Action that Damage the E. coli Genome, *Genetics and Molecular Biology*, 2004, **27**(2), 291-303.

Ates E., Tenikecier H. S. Ozkan U., The Dry Matter Yield α - Tocopherol, β - Carotene and Some Mineral Content sin Fodder Pea (*Pisum arvense* L.) Varieties at Different Growth Stages, *Agricultural Science*, 2019, **73**(4), 579-586.

Atiyeh R. M., Arancon N. Q., Edwards C. A., Metzger J. D., The Influence of Earthworm Processed Pig Manure on The Growth and Productivity of Marigolds, *Bioresource Technology*, 2002, **81**, 103-108.

Atiyeh R. M., Subler S., Edwards C. A., Bachman G., Metzger J. D., Shuster W., Effects of Vermicomposts and Composts on Plant Growth in Horticultural Container Media and Soil, *Pedobiologia*, 2000, **44**(5), 579-590.

Bailly C., Active Oxygen Species and Antioxidants in Seed Biology, *Seed Science Research*, 2004, **14**(2), 93-107.

Bartels D., Sunkar R., Drought and Salt Tolerance in Plants, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2005, **24**(1), 23-58.

Basha S. M. M., Beevers L., The Development of Proteolytic Activity and Protein Degredation During The Germination of *Pisum sativum* L., *Planta*, 1975, **124**(1), 77-87.

Beeley N. R. A., Harwood L. M., Hedgerb P. C., A General Synthesis of N-Substituted Isothiazol-3(2H)-ones, 1994, **3**, 2245-2251.

Bellitürk K., Vermicomposting in Turkey: Challenges and Opportunities in Future, *Eurasian Journal of Forest Science*, 2018, **6**(4), 32-41.

Belloni Fortina A., Caroppo F., Tadiotto Cicogna G., Allergic Contact Dermatitis in Children, *Expert Review of Clinical Immunology*, 2020, **16**(6), 579-589.

Bhat S. A., Singh S., Singh J., Kumar s., Bhawana, Vig A.P., Bioremedition and Deoxygenation of Industrial Wastes by Earthworms: Vermikompost as Powerful Crop Nutrient in Sustainable Agriculture, 2018, **252**, 172-179.

Bilal M., Iqbal H. M. N., An Insight Into Toxicity and Human Health Related Adverse Consequences of Cosmeceuticals, *Science of The Total Environment*, 2019, **670**, 555-568.

- Birkelo C. P., Johnson B. J., Rops B. D., Field Peas in Finishing Cattle Diets and The Effect of Processing, *South Dakota Beef Report*, UCID-5, 15-17, 2000.
- Blouin M., Barrere J., Meyer N., Lartigue S., Barot S., Mathieu J., Vermicompost Significantly Affects Plant Growth. A meta-analysis, *Agron. Sustain. Dev.*, 2019, **39**, 1-15.
- Boguszewska D., Grudkowska M., Zagdanska, B., Drought-Responsive Antioxidant Enzymes in Potato (*Solanum tuberosum* L), *Potato Res.*, 2010, **53**, 373–382.
- Bollmann U. E., Fernandez-Calvino D., Brandt K. K., Storgaard M. S., Sanderson H., Bester K., Biocide Run off from Building Facades: Degredation Kinetics in Soil, *Environmental Science and Technology*, 2017, **51**(7), 3694-3702.
- Bonjoch N. P., Tamayo P. R., Protein Content Quantification by Bradford Method, Editors: Reigosa Roger M. J., *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques*, 1nd ed., Springer, Dordrecht, 283-295, 2001.
- Bradford M. M., A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding, *Analytical Biochemistry*, 1976, **7**(72), 248-254.
- Boyyat A., Kalay Yıldızhan I., Patch Test Results of the European Baseline series Among 1309 Patients in Turkey Between 2013 and 2019, *Contact Dermatitis*, 2021, **84**(1), 15-23.
- Burstin J., Kreplak J., Macas J., Lichtenzveig J., *Pisum sativum* (Pea), *Trends in Genetics*, 2020, **36**(4), 312-313.
- Cai Y., Luo Q., Sun M., Corke H., Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated with Anticancer, *Life sciences*, 2004, **74**(17), 2157-2184.
- Cakmak I., Horst W. J., Effect of Aluminium on Lipid Peroxidation, Superoxide Dismutase, Catalase, and Peroxidase Activities in Root Tips of Soybean (*Glycine max*), *Physiologia Plantarum*, 1991, **83**(3), 463–468.
- Canellas L. P., Olivares F. L., Okorokova-Façanha A. L., Façanha A. R., Humic Acids Isolated from Eathworm Compost Enhance Root Elongation, Lateral Root Emergence and Plasma Membrane H⁺-ATPase Activity in Maize Roots, *Plant Physiology*, 2002, **130**(4), 1951-1957.
- Capkin E., Ozcelep T., Kayis S., Altınok I., Antimicrobial Agents, Triclosan, Chloroxylenol, Methylisothiazolinone and Borax, Used in Cleaning Had Genotoxic and Histopathologic effects on Rainbow Trout, *Chemosphere*, 2017, **182**, 720-729.
- Chang M. W., Nakrani R. Six Children with Allergic Contact Dermatitis to Methylisothiazolinone in Wet Wipes (Baby Wipes), *Pediatrics*, 2014, **133**(2),434-438.

Chen Y., Chang S. K. C., Chen J., Zhang Q., Yu H., Characterization of Microbial Community Succession During Vermikomposting of Medicinal Herbal residues, *Bioresource Technology*, 2018, **249**, 542-549.

Chugh L. K., Sawhney S. K., Effect of Cadmium on Germination, Amylases and Rate of Respiration of Germinating Pea Seeds, *Environmental Pollution*, 1996, **92**(1), 1-5.

Collier P. J., Ramsey A. J., Austin P., Gilbert P., Growth Inhibitory and Biocidal Activity of Some Isothiazolinone Biocides, *Journal of Applied Bacteriology*, 1990, **69**(4), 569-577.

Crow W. D., Leonard N., 3-Isothiazolone-cis-3-Thiocyanoacrylamide Equilibria, *The Journal of Organic Chemistry*, 1965, **30**(10), 2660-2665.

Daphedar A., Taranath T. C., Biomimetic Synthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Synthesized by Leaf Extract of *Bridellia stipularis* L Blume and Evaluation of their Effect on Mitotic Chromosomes of *Pisum Sativum* L, *Journal of Nanosciences:Current Research*, 2019, **4**(2), 1-9.

Das K., Roychoudhury A., Reactive Oxygen Species (ROS) and Response of Antioxidants as ROS-scavengers During Environmental Stress in Plants, *Frontiers in Environmental Science*, 2014, **2**(53), 1-13.

de Groot A. C. D. M., Weyland J. W., Kathon CG: A review. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 1988, **18**(2), 350-358.

de Groot A. C., Herxheimer A., Isothiazolinone Preservative: Cause of a Continuing Epidemic of Cosmetic Dermatitis, *The Lancet*, 1989, **333**(8633), 314-316.

Delos Santos N., Azmat S., Cuenca Y., Drenth J., Lauper J., Tseng A. S., Effect of The Biocide Methylisothiazolinone on *Xenopus leavis* Wound Healing and Tail Regeneration, *Aquatic Toxicology*, 2016, **181**, 37-45.

Dixit V., Pandey V., Shyam R., Differential Antioxidative Responses To Cadmium in Roots and Leaves of Pea (*Pisum sativum* L. cv. Azad), *Journal of Experimental Botany*, 2001, **252**(358), 1101-1109.

Dogru A., Bitkilerde Aktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres, *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2020, **3**(2), 205-226.

Doupis G., Chartzoulakis K., Beis A., Patakas A., Allometric and Biochemical Responses of Grapevines Subjected to Drought and Enhanced Ultraviolet-B Radiation, *Australian Journal of Grape and Grape and Wine Research*, 2011, **17**(1), 36-42.

Do V. Q., Seo Y. S., Park J. M., Yu J., Duong M. T. H., Nakai J., Kim S. K., Ahn H. C., Lee M. Y., A Mixture of Chloromethylisothiazolinone and Methylisothiazolinone Impairs Rat Vascular Smooth Muscle by Depleting Thiols and Thereby Elevating Cytosolic Zn²⁺ and Generating Reactive Oxygen Species, *Archives of Toxicology*, 2021, **95**, 541-556.

Duhan S., Kumari A., Lal M., Sheokand S., Oxidative Stress and Antioxidant Defence Under Combined Waterlogging and Salinity Stresses, Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants, 2019, **1**, 113-142.

El-Amier Y., Elhindi K., El-Hendawy S., Al-Rashed S., Abd-ElGawad A., Antioxidant System and Biomolecules Alteration in *Pisum sativum* Under Heavy Metal Stress and Possible Alleviation by 5-aminolevulinic Acid, *Molecules*, 2019, **24**(22), 1-20.

Erkovan Ş., İleri O., Erkovan H. İ., Koç A., Eskişehir Ekolojisinde Uygun Ekim Zamanı ve Ekim Sıklığının Yem Bezelyesinin Yaş Ot Verimi ve Bazı Özelliklerine Etkisi, *Çomü Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2020, **8**(1), 225-232.

Ettore A., Neri P., Di Stefano A., Andreassi M., Anselmi C., Andreassi L., Involvement of Oxidative Stress in Apoptosis Induced by A Mixture of Isothiazolinones in Normal Human Keratinocytes, *Journal of Investigative Dermatology*, 2003, **121**(2), 328-336.

Fazeli A., Ghorbanlı M., Niknam V., Effect of Drought on Biomass, Protein Content, Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzymes in Two Sesame Cultivars, *Biologia Plantarum*, 2007, **51**(1), 98-103.

Fernandes T., Mazzeo D., Marin-Morales M., Mechanism of Micronuclei Formation in Polyploidized Cells of *Allium cepa* Exposed to Trifluralin Herbicide, *Pest. Biochem. Physiol.*, 2007, **88**, 252–259.

Filippi F., Vincenzi C., Bruni F., Piraccini B. M., La Placa M., Methylisothiazolinone Is Still Used and Undeclared: A Paediatric case of Airborne Contact Dermatitis Caused by Water-based Poster Paints for Children, *Contact Dermatitis*, 2020, **82**(4), 260-261.

Fischer T. W., Kleszczynski K., Hardkop L. H., Kruse N., Zillikens D., Melatonin Enhances Antioxidative Enzyme Gene Expression (CAT, GPx, SOD), Prevents Their UVR-induced Depletion, and Protects Against the Formation of DNA Damage (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) in Ex Vivo Human Skin, *Journal of Pineal Research*, 2013, **54**(3), 303-312.

Francoz E., Ranocha P., Nguyen-Kim H., Jamet E., Burlat V., Dunand C., Roles of Cell Wall Peroxidases in Plant Development, *Phytochemistry*, 2015, **112**(1), 15-21.

Fusconi A., Gallo C., Camusso W., Effect of Cadmium on Root Apical Meristems of *Pisum sativum* L.: Cell Viability, Cell Proliferation and Microtubule Pattern as Suitable Markers for Assessment of Stress Pollution, Mutation Research-Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2007, **632**(1-2), 9-19.

Foyer C. H., Lam H. M., Nyugen H. T., Siddique K. H. M., Varshney R. K., Colmer T. D., Cowling W., Bramley H., Mori T. A., Hodgson J. M., Cooper J. W., Miller A. J., Kunert K., Vorster J., Cullis C., Ozga J. A., Wahlqvist M. L., Liang Y., Shou H., Shi K., Yu J., Fodor N., Kaiser B. N., Valliyodan B., Wong F. L., Considine M. J., Neglecting Legumes Has Compromised Human Health and Sustainable Food Production, *Nature Plants*, 2016, **2**(8), 1–10.

Gali K. K., Sackville A., Tafesse E. G., Lachagari, V. B. R., McPhee K., Hybl M., Mikic A., Smykal P., McGee R., Burstin J., Domoney C., Ellis T. H. N., Tar'an B., Warkentin T. D., Genom-Wide Association Mapping for Agronomic and Seed Quality Traits of Field Pea (*Pisum sativum* L.), *Frontiers in Plant Science*, 2019, **10**, 1-19.

Gameiro A., Coutinho I., Ramos L., Gonçalo M., Methylisothiazolinone: Second Epidemic of Isothiazolinone Sensitization, *Contact Dermatitis*, 2014, **70**(4), 242-243.

Garcia-Caparros P., De Filippis L., Gul A., Hasanuzzaman M., Ozturk M., Altay V., Lao M. T., Oxidative Stress and Antioxidant Metabolism Under Adverse environmental Conditions: A Review, *Botanical Review*, DOI: <https://doi.org/10.1007/s12229-020-09231-1>.

Gardner K. H., Davis M. D. P., Richardson D. M., Pittelkow M. R., The Hazards of Moist Toilet Paper: Allergy to The Preservative Methylchloroisothiazolinone/Methylisothiazolinone, *Archives of Dermatology*, 2010, **146**(8), 886-890.

Gechev T. S., Van Breusegem F., Stone J. M., Denev I., Laloi C., Reactive Oxygen Species as Signals That Modulate Plant Stress Responses and Programmed Cell Death, *BioEssays*, 2006, **28**(11), 1091-1101.

Geier J., Lessmann H., Contact Allergy to Metalworking Fluids, *Contact Dermatitis*, 2020, 1-17.

Ghanim M., Fattah-Hosseini S., Levy A., Cilia M., Morphological Abnormalities and Cell Death in the Asian citrus psyllid (*Diaphorina citri*) Midgut Associated with Candidatus *Liberibacter asiaticus*, *Scientific Reports*, 2016, **6**(33418), 1-11.

Gill S. S., Tuteja N., Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2010, **48**(12), 909-930.

Gil-Monreal M., Royuela M., Zabalza A., Hypoxic Treatment Decreases the Physiological Action of the Herbicide Imazamox on *Pisum sativum* Roots, *Plants*, 2020, **9**(981), 1-14.

Goodier M. C., Siegel P. D., Zang L. Y., Warshaw E. M., Isothiazolinone in Residential Interior Wall Paint: A High-Performance Liquid Chromatographic Mass Spectrometry Analysis, *Dermatitis*, 2018, **29**(6), 332-338.

Grant W. F., Owens E. T., Chromosome Aberration Assays in *Pisum* for The Study of Environmental Mutagens, *Mutation Research-Rewievs in Mutation Research*, 2001, **488**(2), 93-118.

Gratao P. L., Polle A., Lea P. J., Azevedo R. A., Making the Life of Heavy Metal-Stressed Plants a Little Easier, *Functional Plant Biology*, 2005, **32**(6), 481-494.

Güner A., Akyıldırım B., Alkayış M. F., Çıngay B., Kanoğlu S.S., Özkan A. M., Öztekin M. ve Tuğ G. N., *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*, 1, Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi, İstanbul, 2012.

Halliwell, B., Reactive Species and Antioxidants. Redox Biology is a Fundamental Theme of Aerobic Life, *Plant Physiology*, 2006, **141**(2), 312-322.

Halliwell B., Chirico S., Lipid Peroxidation: its Mechanism, Measurement, and Significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1993, **57**(5), 715S-725S.

Halliwell B., Gutteridge J. M. C., *Free radicals in biology and medicine*, 4th ed. Oxford University Press, United Kingdom, 2006.

Heath R. L., Packer L., Photoperoxidation in Isolated Chloroplasts, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 1968, **125**(1), 189-198.

Helbaek H., Domestication of Food Plants in The Old World, *Science*, 1959, **130**(3372), 365-370.

Hemachandra C. K., Pathiratne A., Assessing Toxicity of Copper, Cadmium and Chromium Levels Relevant to Discharge Limits of Industrial Effluents into Inland Surface Waters Using Common Onion, *Allium cepa* Bioassay, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, **94**, 199–203.

Hidalgo A., Gonzales-Reyes J. A., Navas P., Garcia-Herdugo G., Abnormal Mitosis and Growth Inhibition in *Allium cepa* Roots Induced by Prothiopham and Chlorprothiopham, *Cytobios*, 1989, **57**, 7-14.

Hoa L. T. H., Hung V. T. N., Trang D. T., Thu T. N. H., Le D. C., Development and Validation of an HPLC Method for Simultaneous Assay of MCI and MI in Shampoos Containing Plant Extracts, *International Journal of Analytical Chemistry*, DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/1851796>.

Hoogewijs D., Houthoofd K., Matthijssens F., Vandesompele J., Vanfleteren J. R., Selection and Validation of a Set of Reliable Reference Genes for Quantitative Sod Gene Expression Analysis in *C. elegans*, *BMC Molecular Biology*, 2008, **9**(1), 1-8.

Hollins L. C., Hallock K., Disse M., Chu C., Szollas R., Marks J., Flamm A., Occupationally Induced Allergic Contact Dermatitis to Methylchloroisothiazolinone/Methylisothiazolinone Among Water Bottle Plant Workers, *Dermatitis*, 2020, **31**(4), 265-267.

Juksu K., Zhao J. L., Liu Y. S., Yao L., Sarin C., Sreesai S., Klomjek P., Jiang Y. X., Ying G. G., Occurrence, Fate and Risk Assessment of Biocides in Wastewater treatment Plants and Aquatic Environments in Thailand, *Science of the Total Environment*, 2019, **690**, 1110-1119.

Junglee S., Urban L., Sallanon H., Lopez-Lauri P., Optimized Assay for Hydrogen Peroxide Determination in Plant Tissue Using Potassium Iodide, *American Journal of Analytical Chemistry*, 2014, **5**, 730-736.

Kadioğlu S., Tan M., Kadioğlu B., Taşgın G., Determination of Yield and Some Characteristics of Forage Pea Genotypes (*Pisum sativum* ssp. *arvense* L.) under Erzurum Conditions, *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2020, **51**(2), 151-158.

Karakaş D., Arı F., The MTT Viability Assay Yields Strikingly False-Positive Viabilities Although the Cells are Killed by Some Plant Extracts, *Turkish Journal Biology*, 2017, **41**, 919-925.

Khanna N, Sharma S., Allium Cepa Root Chromosomal Aberration Assay: A Review, *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, 2013, **1**(03), 105-19.

Karkanis A., Ntatsi G., Kontopoulou C. K., Pristeri A., Bilalis D., Savvas D., Field Pea in European Cropping Systems: Adaptability, Biological Nitrogen Fixation and Cultivation Practices, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2016, **44**(2), 325-336.

Kim Y., Robinson B., Boyer S., Zhong H., Dickinson N., Interactions of Native and Introduced Earthworms with Soils and Plant Rhizospheres in Production Landscapes of New Zealand, *Applied Soil Ecology*, 2015, **96**, 141-150.

Kranner I., Roach T., Beckett R. P., Whitaker C., Minibayeva F. V., Extracellular Production of Reactive Oxygen Species During Seed Germination and Early Seedling Growth in *Pisum sativum*, *Journal of Plant Physiology*, 2010, **167**(10), 805-811.

Kreplak J., Madoui M. A., Capal P., Novak P., Labadie K., Aubert G., Bayer P. E., Gali K. K., Syme R. A., Main D., Klein A., Berard A., Vrbova I., Fournier C., d'Agata L., Belser C., Berrebah W., Toegelova H., Milec Z., Vrana J., Lee H. T., Kougbéadjó A., Terezol M., Huneau C., Turo C. J., Mohellibi N., Neumann P., Falque M., Gallardo K., McGee R., Tar'an B., Bendahmane A., Aury J. M., Batley J., Le Paslier M. C., Ellis N., Warkentin T. D., Coyne C. J., Salse J., Edwards D., Lichtenzweig J., Macas J., Dolezel J., Wincker P., Burstin, J., A Reference Genome For Pea Provides Insight into Legume Genome Evolution, *Nature Genetics*, 2019, **51**(9), 1411-1422.

Kumar M. S., Rajiv P., Rajashwari S., Venkatesh R., Spectroscopic Analysis of Vermikompost For Determination of Nutritional Quality, *Spectrochimica Acta-Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2015, **135**, 252-255.

Kumari V., Vujanovic V., Transgenerational Benefits of Endophytes on Resilience and Antioxidant Genes Expressions in Pea (*Pisum sativum* L.) under Osmotic Stress, *Acta Physiologiae Plantarum*, 2020, **42**(4), 1-11.

Labadie M., Langrand J., Leroux G., Manel J., Nisse P., Saporì J. M., Tournoud C., Sinno-Tellier S., Greillet C., Solal C., Exposures Associated with Making or Playing with Viscoelastic Polymer Toys Known as Slime: A Retrospective Case Series From French Poison Control Centres, *Clinical Toxicology*, 2020, **58**(6), 482-487.

Lardy G. P., Loken B. A., Anderson V. L., Larson D. M., Maddock-Carlin K. R., Ilse B. R., Maddock R., Leupp J. L., Clark R., Paterson J. A., Baur M. L., Effect of Increasing Field Pea (*Pisum sativum*) Level in High-concentrate Diets on Growth Performance and Carcass Traits in Finishing Steers and Heifers, *American Society of Animal Science*, 2009, **87**, 3335-3341.

Lee B. R., Kim K. Y., Jung W. J., Avice J. C., Ourry A., Kim T. H., Peroxidases and Lignification in Relation to The Intensity of Water Deficit Stress in White Clover (*Trifolium repens* L.), *Journal of Experimental Botany*, 2007, **58**(6), 1271-1279.

Leme D. M., Marin-Morales M. A., Allium cepa Test in Environmental Monitoring: A Review on its Application, *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 2009, **682**(1), 71-81.

Lewis S. N., Miller G. A., Hausman M., Szamborski E. C., Isothiazoles I: 4-isothiazolin-3-ones. A General Synthesis from 3,3'-dithiodipropionamides, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1971, **8**(4), 571-580.

Li M. H., Comparative Toxicities of 10 Widely Used Biocides in Three Freshwater Invertebrate Species, *Chemistry an Ecology*, 2019, **35**(5), 472-482.

Li S. F., Su T., Cheng G. Q., Wang B. X., Li X., Deng C. L., Gao W. J., Chromosome Evolution in Connection with Repetitive Sequences and Epigenetics in Plants, *Genes*, 2017, **8**(10), 290.

Lin Q. B., Wang T. J., Song H., Li B., Analysis of Isothiazolinone Biocides in Paper For Food Packaging by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Food Additives and Contaminants-Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 2010, **27**(12), 1775-1781.

Lindqvist H., Nadeau E., Jensen S. K., Alpha-Tocopherol and B-Carotene in Legume–Grass Mixtures as Influenced by Wilting, Ensiling and Type of Silage Additive, *Grass and Forege Science*, 2011, **67**, 119-128.

Lingua G., Sgorbati S., Citterio A., Fusconi A., Trotta A., Gnavi E., Berta G., Arbuscular mycorrhizal colonization delays nucleus senescence in leek root cortical cells, *New Phytologist*, 2002, **141**(1), 161-169.

Livanos P., Apostolakos P., Galatis B., Plant Cell Division: ROS Homeostasis is Required, *Plant Signaling and Behavior*, 2012, **7**, 771-778.

Lu Z. X., He J. F., Zhang Y. C., Bing D. J., Composition, Physicochemical Properties of Pea Protein and its Application in Functional Foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2020, **60**(15), 2593-2605.

Ma Z., Bykova N. V., Igamberdiev A. U., Cell Signaling Mechanisms and Metabolic Regulation of Germination and Dormancy in Barley Seeds, *Crop Journal*, 2017, **5**(6), 459-477.

- Mainwaring W., Zhao J., Hunt R., Allergic Contact Dermatitis Related to Homemade Slime: A Case and Review of the Literature, *Dermatology Online Journal*, 2019, **25**(4), 1-4.
- Malallah G., Kabarity A., Effect of Cannabis (Hashish) on Mitosis of *Allium cepa* L. Root Tips, *Cytologia*, 1982, **47**, 565-573.
- Malovichko Y. V., Shtark O. Y., Vasileva E. N., Nizhnikov A. A., Antonets K. S., Transcriptomic Insights into Mechanisms of Early Seed Maturation in the Garden Pea (*Pisum sativum* L.), *Cells*, 2020, **9**(3), 779.
- Maltaş A. Ş., Tavali İ. E., Uz İ., Kaplan M., Kırmızı Baş Lahana (*Brassica oleracea* var. *capitata* f. *rubra*) Yetiştiriciliğinde Vermikompost Uygulaması, *Mediterranean Agricultural Science*, 2017, **30**(2), 155-161.
- McCarthy N. A., Kennedy D., Hogan S. A., Kelly P. M., Thapa K., Murphy K. M., Fenelon M. A., Emulsification Properties of Pea Protein Isolate Using Homogenization, Microfluidization and Ultrasonication, *Food Research International*, 2016, **89**(1), 415-421.
- McDowell R. E., *Vitamins in Animal and Human Nutrition*, 2rd. ed., Iowa State University Press, Iowa in USA, 2000.
- McKibben M., McClelland E. W., XXI.-Production and Reactions of 2-dithiobenzoyl. *Journal of the Chemical Society Transaction*, 1922, **123**, 170-173.
- Meintieres S., Nessler F., Pallardy M., Marzin D., Detection of Ghost Cells in the Standard Alkaline Comet Assay Is Not a Good Measure of Apoptosis, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2003, **41**, 260-269.
- Menne T., Hospital G., An Update of The Risk Assessment For Methylchloroisothiazolinone/Methylisothiazolinone (MCI/MI) with Focus on Rinse-off Products, *Contact Dermatitis*, 1999, **41**, 1-13.
- Mika A., Minibayeva F., Beckett R., Lüthje S., Possible Functions of Extracellular Peroxidases in Stress Induced Generation and Detoxification of Active Oxygen Species, *Phytochemistry Reviews*, 2004, **3**(1-2), 173-193.
- Miller G., Suzuki N., Cıftcı-Yılmaz S., Mittler R., Reactive Oxygen Species Homeostasis and Signalling During Drought and Salinity Stresses, *Plant, Cell and Environment*, 2010, **33**(4), 453-467.
- Militello M., Hu S., Laughter M., Dunnick C. A., American Contact Dermatitis Society Allergens of The Year 2000 to 2020, *Dermatologic Clinics*, 2020, **38**(3), 309-320.
- Mishra S., Srivastava S., Tripathi R. D., Govindarajan R., Kuriakose S. V., Prasad M. N. V., Phytochelatin Synthesis and Response of Antioxidants During Cadmium Stress in *Bacopa monnieri* L., *Plant Physiology and Biochemistry*, 2006, **44**(1), 25-37.

Moller I. M., Jensen P. E., Hansson A., Oxidative Modifications to Cellular Components in Plants, *Annual Review of Plant Biology*, 2007, **58**, 459-481.

Nagajyoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M., Heavy Metals, Occurrence and Toxicity for Plants: a Review, *Environmental Chemistry Letters*, 2010, **8**(3), 199-216.

Nemecek T., von Richthofen J. S., Dubois G., Casta P., Charles R., Pahl H., Environmental Impacts of Introducing Grain Legumes into European Crop Rotations, *European Journal of Agronomy*, 2008, **28**(3), 380-393.

Ndiaye E. L., Sandeno J. M., McGrath D., Dick R. P., Integrative Biological Indicators for Detecting Change in Soil Quality, *American Journal of Alternative Agriculture*, 2000, **15**(1), 26-36.

Niedz R. P., Using Isothiazolone Biocides to Control Microbial and Fungal Contaminants in Plant Tissue Cultures, *HortTechnology*, 1998, **8**(4), 598-601.

Nonogaki H., Bassel G. W., Bewley J. D., Germination Still A Mystery, *Plant Science*, 2010, **179**(6), 574-581.

Nowak M., Zawadzka K., Lisowska K., Occurrence of Methylisothiazolinone in Water and Soil Samples in Poland and Its Biodegradation by *Phanerochaete chrysosporium*, *Chemosphere*, 2020, **254**, 1-11.

Nxele X., Klein A., Ndimba B. K., Drought and Salinity Stress Alters ROS Accumulation, Water Retention, and Osmolyte Content in Sorghum Plants, *South African Journal of Botany*, 2017, **108**, 261-266.

Oldroyd G. E. D., Speak, Friend, and Enter: Signalling Systems That Promote Beneficial Symbiotic Associations in Plants, *Nature Reviews Microbiology*, 2013, **11**(4), 252-263.

Özkaya E., Kılıç Sayar S., Babuna Kobaner G., Pehlivan G., Methylchloroisothiazolinone/Methylisothiazolinone and Methylisothiazolinone Contact allergy: A 24-year, Single-Center, Retrospective Cohort Study from Turkey, *Contact Dermatitis*, 2020, **84**(1), 24-33.

Paiva S. A. R., Russell R. M., β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants, *Journal of the American College of Nutrition*, 1999, **18**(5), 426-433.

Palma J. M., Sandalio L. M., Corpas F. J., Romero-Puertas M. C., McCarthy I., del Río L. A., Plant Proteases, Protein Degradation and Oxidative Stress: Role of Peroxisomes, *Plant Physiology Biochemical*, 2002, **40**, 521-530.

Parida A. K., Das A. B., Salt Tolerance and Salinity Effects on Plants: a Review, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2005, **60**(3), 324-349.

Park S., Kwon J., The Fate of Two Isothiazolinone Biocides, 5-chloro-2-methylisothiazol Fresheners and Assessment of Inhalation Exposure, *Chemosphere*, 2016, **144**, 2270-227.

Passardi F., Penel C., Dunand C., Performing The Paradoxical: How Plant Peroxidases Modify The Cell Wall, *Trends in Plant Science*, 2004, **9**(11), 534-540.

Passardi F., Tognolli M., De Meyer M., Penel C., Dunand C., Two Cell Wall Associated Peroxidases from Arabidopsis Influence Root Elongation, *Planta*, 2006, **223**(5), 965-974.

Pereira A. B. D., Moura D. C., Whitehouse N. L., Brito A. F., Production and Nitrogen Metabolism in Lactating Dairy Cows Fed Finely Ground Field Pea Plus Soybean Meal or Canola Meal with or without Rumen-Protected Methionine Supplementation, *Journal of Dairy Science*, 2020, **103**(4), 3161-3176.

Piazza C. D., Cestari S. C., Contact Dermatitis from Do It Yourself Slime, *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 2018, **93**(6), 930-944.

Polat Akköprü E., Effects of Liquid Vermikompost and Synthetic NPK Fertilizer Sources on Myzus persicae Sulzer (Aphididae:Hemiptera) Fed on Tobacco, *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2021, **128**(3), 789-798.

Powers S. E., Thavarajah D., Checking Agriculture's Pulse: Field Pea (*Pisum Sativum* L.), Sustainability and Phosphorus Use Efficiency, *Frontiers in Plant Science*, 2019, **10**, 1-8.

Prajitha V., Thoppil J. E., Genotoxic and Antigenotoxic Potential of the Aqueous Leaf Extracts of *Amaranthus spinosus* Linn. Using *Allium cepa* Assay, *South African Journal of Botany*, 2016, **102**, 18-25.

Rafoth A., Gabriel S., Sacher F., Brauch H. J., Analysis of Isothiazolinones in Environmental Waters by Gas Chromatography Mass Spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 2007, **1164**(1-2), 74-81.

Rank J., Nielsen M. E., A Modified Allium Test as a Tool in the Screening of the Genotoxicity of Complex Mixtures, *Hereditas*, 1993, **118**(1), 49-53.

Rajesh E., Jimson S., Masthan K. M. K., Balachander N., Ghost Cell Lesions, *Dental Science*, 2015, **7**, 142-144.

Ren C. G., Li X., Liu X. L., Wei X. D., Dai C. C., Hydrogen Peroxide Regulated Photosynthesis in C4-pepc Transgenic Rice, *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, **74**, 218-229.

Rodino A. P., Hernandez-Nistal J., Hermida M., Santalla M., De Ron A. M., Sources of Variation For Sustainable Field Pea Breeding, *Euphytica*, 2009, **166**(1), 95-107.

Roy B., Kadam K., Krishnan S. P., Natarajan C., Mukherjee A., Assessing Combined Toxic Effects of Tetracycline and P25 Titanium Dioxide Nonoparticles Using *Allium cepa* Bioassay, *Frontiers of Environmental Science and Engineering*, 2021, **15**(1), 1-12.

Russel P., *Chromosomal mutation In: B. Cummings. Genetics*, vPearson Education Inc, San Francisco, 2002.

Salter C. E., Edwards C. A., The Production of Vermikompost Aqueous Solutions or Teas, Editors: Edwards C. A., Arancon N., Sherman R. L., *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes and Environmental Management*, 1nd ed., CRC Press, Boca Raton, 153-163, 2011.

Salazar-Mercado S. A., Torres-Leon C. A., Rojas-Suarez J. P., Cytotoxic Evaluation of Sodium Hypochlorite, Using *Pisum sativum* L. as Effective Bioindicator, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, **173**, 71-76.

Salman A., Methylchloroisothiazolinone and Methylisothiazolinone Contact Allergy: A Retrospective Cohort Study From A Tertiary Dermatology Clinic in Turkey, *Contact Dermatitis*, 2019, **80**(3), 193-194.

Salman A., Demir G., Apti O., Slime: A trending Cause of Isothiazolinone Contact Allergy in Children, *Contact Dermatitis*, 2019, **80**(6), 409-411.

Sanchez-Hernandez J. C., Cares X. A., Dominguez J., Exploring The Potential Enzymatic Bioremediation of Vermikompost Through Pesticide Detoxifying Carboxylesterases, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, **183**(109586), 1-8.

Schwensen J. F., Johansen J. D., Isothiazolinones. Editors: John S. M., Johansen J. D., Rustemeyer T., Elsner P., Maibach H., *Kanerva's Occupational Dermatology*, 3 nd ed., Springer, Cham., 507-520, 2020

Schwensen J. F., Uter W., Bruze M., Svedman C., Goossens A., Wilkinson M., Arnau A. G., Gonçalo M., Andersen K. E., Paulsen E., Agner T., Foti C., Aalto-Korte K., McFadden J., White I., Johansen J. D., The Epidemic of Methylisothiazolinone: A European Prospective Study, *Contact Dermatitis*, 2017, **76**(5), 272-279.

Sharma P., Jha A. B., Dubey R. S., Pessarakli M., Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants Under Stressful Conditions, *Journal of Botany*, 2012, 1-26.

Silva M. S. A., Yamashita O. M., Rossi A. A. B., Concenço G., Carvalho M. A. C., Felito R. A., Cytotoxic and Genotoxic Effect of *Marcoptilium lathyroides*, *Planta Daninha*, 2018, **36**, 1-8.

Silva V., Silva C., Soares P., Garrido E. M., Borges F., Garrido J., Isothiazolinone Biocides: Chemistry, Biological and Toxicity Profiles, *Molecules*, 2020, **25**(4), 991.

Skiba E., Michlewska S., Pietrzak M., Wolf W. M., Additive Interactions of Nanoparticulate ZnO with Copper, Manganese and Iron in *Pisum sativum* L., a Hydroponic Study, *Scientific Reports*, 2020, **10**, 1-10.

Soltabayeva A., Ongoltay A., Omondi J. O., Srivastava S., Morphological, Physiological and Molecular Markers for Salt-Stressed Plants, *Plants*, 2021, **10**(2), 1-18.

Sun X., Chen S., Liu J., Zhao S., Yoon J. Y., Hydrodynamic Cavitation: A Promising Technology for Industrial Scale Synthesis of Nanomaterials, *Frontiers in Chemistry*, 2020, **8**, 1-7.

Svobodnikova L., Kummerova M., Zezulka S., Babula P., Sendekka K., Root Response in *Pisum sativum* Under Naproxen Stress: Morpho-anatomical, Cytological and Biochemical Traits, *Chemosphere*, 2020, **258**(127411), 1-9.

Sweetlove L. J., Moller I. M., Oxidation of Proteins in Plants Mechanisms and Consequences, *Advances in Botanical Research*, 2009, **52**, 1-23.

Talaat N. B., Role of Reactive Oxygen Species Signaling in Plant Growth and Development, *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfer Species in Plants*, 2019, **1**, 225-266.

Tan M., Koç A., Dumlu Gül Z., Morphological Characteristics And Seed Yield Of East Anatolian Local Forage Pea (*Pisum sativum* ssp. *arvense* L.) Ecotypes, *Turkish Journal of Field Crops*, 2012, **17**(1), 24-30.

Tekeli A. S., Ateş E., Yield and Its Components in Field Pea (*Pisum arvense* L.) Lines, *Journal of Central European Agriculture*, 2003, **4**(4), 313-318.

Tejada M., Garcia-Martinez A. M., Parrado J., Effect of A Vermicompost Composted with Beet Vinasse on Soil Properties, Soil Losses and Soil Restoration, *Catena*, 2009, **77**(3), 238-247.

Thomsen A. V., Schwensen J. F., Bossi R., Banerjee P., Gimenez-Arnau E., Lepoittevin J. P., Carola L., Uter W., White I. R., Johansen J. D., Isothiazolinones Are Still Widely Used in Paints Purchased in Five European Countries: A Follow-up Study, *Contact Dermatitis*, 2018, **78**(4), 246-253.

Tripathi B. N., Gaur J. P., Relationship Between Copper- and Zinc- Induced Oxidative Stress and Proline Accumulation in *Scenedesmus* sp., *Planta*, 2004, **219**(3), 397-404.

Tsolomitis, A., Sandris, C., Synthesis of 2-substituted 3(2H)-isothiazolones from 2-substituted 5-aryl-3(2H)-isothiazolones. *Heterocycles* 1987, **25**, 569–575.

Turrens J. F., Mitochondrial Formation of Reactive Oxygen Species, *The Journal of Physiology*, 2003, **552**(2), 335-344.

Urbano G., Aranda P., Vilchez A., Aranda C., Cabrera L., Porres J. M., Lopez-Jurado M., Effects of Germination on the Composition and Nutritive Value of Proteins in *Pisum sativum*, L, *Food Chemistry*, 2005, **93**, 671-679.

URL-1: <http://www.fao.org/faostat/en/#compare> (Ziyaret Tarihi: 22 Ekim 2020).

Urwin R., Wilkinson M., Methylchlorisothiazolinone and Methylisothiazolinone Contact Allergy: A New Epidemic, *Contact Dermatitis*, 2013, **68**(4), 253-255.

US EPA, Reregistration Eligibility Decision (RED) Methylisothiazolinone, 1998.

Uter W., Yazar K., Kratz E. M., Midau G., Liden C., Coupled Exposure To Ingredients Of Cosmetic Products: II. Preservatives. *Contact Dermatitis*, 2014, **70**(4), 219–226.

Uzun A., Gün H., Açıköz E., Farklı Gelişme Dönemlerinde Biçilen Bazı Yem Bezelyesi (*Pisum sativum* L.) Çeşitlerinin Ot , Tohum ve Ham Protein Verimlerinin Belirlenmesi, *U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 2012, **38**(1), 27–38.

Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M. T., Mazur M., Telser J., Free Radicals and Antioxidants in Normal Physiological Functions and Human Disease, *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 2007, **39**(1), 44-84.

Van Der Maesen L. J. G., Wild Plants as Genetic Resources For Crop Improvement, Editors: Austin D. F., Mathews P., Sivadasan M., *Diversity and Taxonomy of Tropical Flowering Plants*, 1nd ed., Mentor Books, Calicut, 93-112, 1998.

Verma S., Arora K., Srivastava A., Monitoring of Genotoxic Risks of Nitrogen Fertilizers by *Allium cepa* L. Mitosis Bioassay, *Caryologia*, 2016, **69**(4), 343-350.

Venkidasamy B., Selvaraj D., Nile A. S., Ramalingam S., Kai G., Nile S. H., Indian pulses: A review on Nutritional, Functional and Biochemical Properties with Future Perspectives, *Trends in Food Science and Technology*, 2019, **88**, 228-242.

Vodounnou D. S. J. V., Kpogue D. N. S., Tossavi C. E., Mennsah G. A., Fiogbe E. D., Effect of Animal Waste and Vegetable Compost on Production and Growth of Earthworm (*Eisenia fetida*) During Vermiculture, *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 2016, **5**(1), 87-92.

Yazar K., Johnsson S., Lind M. L., Boman A., Liden C., Preservatives And Fragrances in Selected Consumer-Available Cosmetics And Detergents, *Contact Dermatitis*, 2011, **64**(5), 265–272.

Younis M. E., Abdel-Aziz H. M. M., Heikal Y. M., Nanopriming Technology Enhances Vigor and Mitotic Index of Aged *Vicia faba* Seeds Using Chemically Synthesized Silver Nanoparticles, *South African Journal of Botany*, 2019, **125**, 393-401.

Yuksel, B., Kumarinin Mercimek Bitkisi (*Lens culinaris* Medic) Üzerindeki Sitotoksik, Biyokimyasal ve Genotoksik Etkileri, Doktora Tezi, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kocaeli, 2017, 494801.

Yuksel B., Aksoy O., Analysis of the Effects of Coumarin on *Lens culinaris* Medik by Some Biochemical Parameters Using Real-Time Polymerase Chain Reaction, *Legume Research-An International Journal*, 2019, **42**(5), 640-645.

Yuksel B., Aksoy O., Cytological Effects of Coumarin on the Mitosis of *Lens culinaris* Medik, *Fresenius Environmental Bulletin*, 2017, **26**(11), 6400–6407.

Zhang H., Tan S. N., Teo C. H., Yew Y. R., Ge L., Chen X., Yong J. W. H., Analysis of Phytohormones in Vermicompost Using a Novel Combinative Sample Preparation Strategy of Ultrasound-Assisted Extraction and Solid-Phase Extraction Coupled with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, *Talanta*, 2015, **139**, 189–197.

Zong X-x., Ford R., Redden R. R., Guan J.-p., Wang S.-m., Identification and Analysis of Genetic Diversity Structure Within Pisum Genus Based on Microsatellite Markers, *Agricultural Sciences in China*, 2009, **8**(3), 257-267.

Wang Q., Cao J., Jiang M., Self-healing Coating to Reduce Isothiazolinone (MCI/MI) Leaching From Preservative Treated Bamboo, *BioResources*, 2020, **15**(1), 1904-1914.

Wang X. X., Zhang T. Y., Dao G. H., Hu H. Y., Interaction Between 1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one and Microalga: Growth Inhibition and Detoxification Mechanism, *Aquatic Toxicology*, 2018, **205**, 66-75.

Weiler E. D., Petigara R. B., Wolfersberger M. H., Miller G. A., Isothiazoles IX. Halogenation of 2-Substituted-4-isothiazolin-3-ones, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 1977, **14**(4), 627-630.

Wilkinson J. D., Shaw S., Andersen K. E., Brandao F. M., Bruynzeel D. P., Bruz M., Camarasa J. M. G., Diepgen T. L., Ducombs G., Frosch P. J., Lachappelle J.-M. Lahti A., Menne T., Tosti A., Wahlberg J. E., Monitoring levels of preservative sensitivity in Europe: A 10-year overview (1991-2000), *Contact Dermatitis*, 2002, **46**(4), 207-210.

Wohlan K., Goy S., Olling A., Srivaratharajan S., Tatge H., Genth H., Gerhard R., Pyknotic Cell Death Induced by Clostridium Difficile TcdB: Chromatin Condensation and Nuclear Blister are Induced Independently of the Glucosyltransferase Activity, *Cellular Microbiology*, 2014, **16**(11), 1678-1692.

Wojtyla L., Garnczarska M., Zalewski T., Bednarski W., Ratajczaka L., Jurga S., A Comparative Study of Water Distribution, Free Radical Production and Activation of Antioxidative Metabolism in Germinating Pea Seeds, *Journal of Plant Physiology*, 2006, **163**(12), 1207-1221.

Wojtyla L., Lechowska K., Kubala S., Garnczarska M., Different Modes of Hydrogen Peroxide Action During Seed Germination, *Frontiers in Plant Science*, 2016, **7**, 1-16.

Wojtaszek P., Mechanisms for the generation of reactive oxygen species in plant defence response Aspects of spatial and temporal regulation of ROS generation, *Acta Physiologiae Plantarum*, 1997, **19**(4), 581-589.

KİŞİSEL YAYINLAR VE ESERLER

Aksoy Ö., **Aydın D.**, Yüksel B., The Healing Effect of Liquid Vermicompost Against Kathon CG Application in *Pisum sativum* spp. arvence, *Acta Physiologiae Plantarum*, 2021, (Accepted), May.

Aksoy Ö., Dikilitaş S., Sütlüoğlu S., **Aydın D.**, Sipermetrinin *Begonia semperflorens*'de Polen Tüpü Oluşumu Üzerindeki Etkisi, *Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2020, **3**(2), 160-163.

Aksoy Ö., Dikilitaş S., Sütlüoğlu S., **Aydın D.**, Sipermetrinin *Begonia semperflorens*'de Polen Tüpü Oluşumu Üzerine Etkisi, V. Ulusal Çevre Kongresi, 29 Ekim – 1 Kasım 2018.

Aydın D., Aksoy Ö., Yüksel B., Kathon CG'nin Bezelye Üzerinde Sitotoksik Etkisi ve Sıvı Vermikompostun Düzenleyici Özelliği, Uluslararası Göbeklitepe Uygulamalı Bilimler Kongresi, 6 – 8 Mayıs 2021.

Aydın D., Aksoy Ö., Ava R., Kılıç H., Kesnik G., The Effect of NaCl On Pollen Germination of *Begonia semperflorens*, International Marmara Science and Social Science Congress, 26 – 28 April 2019.

Aydın D., Aksoy Ö., Sezer D., Terzi E., The Effect of Aluminium On Pollen Germination of *Begonia semperflorens*, International Marmara Science and Social Science Congress, 26 – 28 April 2019.

Aydın D., Aksoy Ö., Yüksel B., Cytotoxic Effects of Methylisothiazolinone in *Pisum sativum* (Peas), International Marmara Science and Social Science Congress, 26 – 28 April 2019.

Yüksel B., **Aydın D.**, Aksoy Ö., Investigation of the Changes at the Biochemical Level After Applying Liquid Vermicompost to *Pisum sativum* spp. Exposed to 2-methyl-2H-isothiazol-3-one, International Iğdır Conference on Applied Science, 14 – 15 April 2021.

Kurban Z. E., Terzi A., Tek A., Dikilitaş S., **Aydın D.**, Aksoy Ö., *Eisenia fetida* (Kırmızı Kaliforniya solucanı) Sölom Sıvısının Ekmek Küfü Üzerindeki Antifungal Etkisinin İncelenmesi 24. Ulusal Biyoloji Kongresi, Manisa, Türkiye, 10-14 Eylül 2018, ss. 75.

ÖZGEÇMİŞ

2009'da Yakacık Lisesi'nde orta öğrenimini tamamladı. Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden 2016 yılında mezun oldu. 2017 yılında Kocaeli Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümünde yüksek lisansa başladı.

