

**T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİTKİ KORUMA YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
2021-YL-077**

**MISIR GUTASYON SIVISINDA THIAMETHOXAM ve
CYANTRANİLİPROLE KALINTISI ve ARILARA TOKSİK
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**ZELİHA ŞİMŞEK
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Cafer TURGUT**

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından ZRF- 18033 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2021

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimlerim boyunca bilgi, birikim ve tecrübesini esirgemeyen, gerek tez konusu seçimi gerek araştırmaların çalışmanın yürütülmesinde her zaman yol gösteren değerli danışman hocam Prof. Dr. Cafer TURGUT'a

Çalışmalarımın yürütülmesinde ve araştırılmasında desteğini esirgemeyen, sabırla ve itinayla beni dinleyen Dr. Melis Usluy Yalçın'a

Laboratuvar ve arazi çalışmalarım boyunca yardımcı olan Yük. Zir. Müh. Gülten Özşirvan'a, Zir. Müh. Fadime Civlez'e, Zir. Müh. Özlem Yetiş'e ve Zir. Müh. Neslican Aydın'a

Tez projemi destekleyen Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (ZRF- 18033) birimine teşekkürü bir borç bilirim.

Bütün hayatım boyunca eğitimime daima önem veren her koşulda, her anımda ve kararlarımda arkamda olan en büyük destekçilerim diplomamın görünmeyen kahramanları ailem; babam Ramazan ŞİMŞEK, annem Ümmügülsüm ŞİMŞEK ve kardeşim Deniz ŞİMŞEK'e ayrıca bu süreçte hayatımda olan ve desteğini esirgemeyen değerli nişanlım Mehmet Yusuf ÜNLÜ'ye teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Dünya’da ve Türkiye’de Mısır Üretimi	2
1.2. Neonicotinoid Grubu İnektisitler	4
1.3. Diamide Grubu İnektisitler	5
1.4. Gutasyon Sıvısı.....	5
1.5. Bal Arıları	6
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	8
2.1. LD ₅₀ Denemeleri ile İlgili Yapılmış Çalışmalar.....	8
2.2. Gutasyon Sıvısı ile İlgili Yapılmış Çalışmalar	9
3 . MATERYAL VE YÖNTEM.....	12
3.1. Denemelerde Kullanılan İnektisitler	13
3.1.1. Thiamethoxam	13
3.1.2. Cyantraniliprole	14
3.2. Gutasyon Sıvısının Bitkilerden Toplanması.....	15
3.3. Gutasyon Sıvısında Pestisit Kalıntılarının Tespiti.....	16
3.4. Bal Arılarında Toksikolojik Testler.....	18
3.4.1. Arılarda LD ₅₀ ve LD ₉₀ Değerlerinin Belirlenmesi.....	19
3.4.2. Gutasyon Sıvısının Arılara Toksisitesinin Laboratuvarında Belirlenmesi	20
3.5. Analizde Kullanılan Cihaz Değerleri	22
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	25
4.1 . Thiamethoxam ve Cyantraniliprole LD ₅₀ ve LD ₉₀ değerleri.....	25

4.2 . İklim Verileri	26
4.3 . Gutasyon Sıvısında Thiamethoxam Kalıntısı	27
4.4 . Gutasyon Sıvısında Tespit Edilen Thiamethoxamın Bal Arılarına Etkisi.....	28
4.5 . Gutasyon Sıvısında Cyantraniliprole Kalıntısı	30
4.6 . Gutasyon Sıvısında Tespit Edilen Cyantraniliprolenin Bal Arılarına Etkisi.....	31
5. SONUÇ.....	34
KAYNAKLAR.....	35
BİLİMSEL ETİK BEYANI	41
ÖZGEÇMİŞ.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C: Santigrat derece

ABD: Amerika Birleşik Devletleri

cm: Santimetre

dk: Dakika

EPA: United States Environmental Protection Agency

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations

FS: Flowable Concentrate for Seed Treatment

g: Gram

kg: Kilogram

L: Litre

LC- MS/MS: Liquid Chromatography-Mass Spectrometer

LD50: Populasyonun %50' sini öldüren doz

LD90: Populasyonun %90'ını öldüren doz

log P: Oktanol-su dağılım katsayısı

mg: Miligram

ml: Mililitre

MgSO4: Magnezyum Sülfat

ng: Nanogram

pH: Power of Hydrogen

ppb: Milyarda bir

ppm: Milyonda bir

PSA: Primary secondary amin

QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe

rpm: Revolutions per Minute

RyR: Ryanodin reseptörü

TÜİK: Türkiye İstatistik Kurumu

WHO: World Health Organization

µg: Mikrogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Dünya’da 2010-2019 yılları arası mısır üretim miktarları (FAO, 2020)	2
Şekil 1.2. Mısır bitkisinde gutasyon sıvısı	6
Şekil 3.1. İlaçsız ve ilaçlı tohumlar	12
Şekil 3.2. Thiamethoxam molekül şekli	14
Şekil 3.3. Cyantraniliprole molekül şekli	15
Şekil 3.4. Mısır bitkisinde gutasyon sıvısı ve pastör pipetle alımı	16
Şekil 3.5. Tarladan toplanan gutasyon örnekleri	16
Şekil 3.6. Örneklerin -20°C’de saklanması	16
Şekil 3.7. Örneklerle asetonitril eklenmesi	17
Şekil 3.8. Örneklerin vortekslenmesi	17
Şekil 3.9. Örneklerin santrifüjlenmesi	18
Şekil 3.10. Örneklerin viallere aktarılması	18
Şekil 3.11. Denemede kullanılan önü cam ve arkası delikli kafesler	19
Şekil 3.12. Enjektör ağırlıkları tartımı	20
Şekil 3.13. Kafeslerin hazırlanıp denemenin başlaması	20
Şekil 3.14. Kafeslere arı aktarımı	21
Şekil 3.15. Arıların adlibitum şekilde beslenmesi	21
Şekil 3.16. Kafeslerin inkübatöre konulması	22
Şekil 3.17. Ölü/canlı arı sayımı	22
Şekil 3.18. 8030-triple quadropole SHIMADZU LC/MS/MS cihazı	22
Şekil 4.1. Günlük ortalama sıcaklık ve ortalama nem değerleri	27
Şekil 4.2. Thiamethoxam’ın gutasyon sıvısında pestisit kalıntısı mg/L (ppm)	28
Şekil 4.3. Gutasyon sıvısındaki thiamethoxam konsantrasyonlarının bal arılarına 4, 24 ve 48 saatte toksikolojik etkisi	29
Şekil 4.4. Kafes başına ortalama 4 saat, 24 saat ve 48 saatte solüsyon tüketimleri (gr)	30
Şekil 4.5. Cyantraniliprole’nin pestisit kalıntısı gutasyon sıvısı ppb (µg/L)	31
Şekil 4.6. Gutasyon sıvısındaki cyantraniliprole konsantrasyonlarının bal arılarına 4, 24, 48 ve 72 saatteki toksikolojik etkisi	32
Şekil 4.7. Kafes başına 4 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saatte solüsyon tüketimleri (gr)	33

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Türkiye’de 2020 Yılı Mısır Üretimi Yapılan İlk 10 İl (TÜİK, 2020a)	3
Çizelge 1.2. Mısır bitkisinde görülen hastalık ve zararlılara karşı kullanılan tohum ilaçları..	4
Çizelge 3.1. Denemede kullanılan insektisitler	13
Çizelge 3.2. LC-MS/MS cihazı şartları pompa ve basınç limitleri	23
Çizelge 3.3. Kolon: C18 değerleri.....	23
Çizelge 3.4. LC/MS/MS Pompa Programı: Modül, zaman ve komut değerleri	24
Çizelge 4.1. Thimethoxam LDx denemelerinin sonuçları (ng/arı)	25
Çizelge 4.2. Cyantraniliprole LDx denemelerinin sonuçları (µg/arı)	26

ÖZET

MISIR GUTASYON SIVISINDA THIAMETHOXAM ve CYANTRANİLİPROLE KALINTISI ve ARILARA TOKSİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

Simsek Z. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bitki Koruma Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.

Amaç: Mısır, ülkemizin hemen hemen her bölgesinde yetiştiriliciliği yapılan ender bitkilerdendir. Üretiminde, karşılaşılan hastalık ve zararlılara karşı tohum ilaçları ile ilaçlanmaktadır. Kullanılan tohum ilaçları sistemik olmaları sebebiyle bitki tarafından alınarak bitkinin köklerden yapraklara taşınması oradan da gutasyon sıvısına ulaşarak, bu sıvıyı bal arıları (*Apis mellifera*)'nın su ihtiyacını gidermek için kullanmalarıyla arılarda ani ölümlere ve koloni kayıplarına sebep olmaktadır. Bu tezde gutasyon sıvısında bulunan thiamethoxam ve cyantraniliprole etkili maddelerinin kalıntıları ve bunların arılarda oluşturacağı toksik etkilerin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Yöntem: Mısır tohumları thiamethoxam ve cyantraniliprole etken maddeli tohum ilaçlarıyla ayrı ayrı kaplanarak ekimleri gerçekleştirilmiştir. Mısır bitkisi ekiminden sonra yeni çıkan yapraklarda günlük gutasyon sıvısı takibi yapılmıştır ve gutasyon sıvısı çıkış süresi boyunca toplanmıştır. Toplanan gutasyon sıvısındaki thiamethoxam ve cyantraniliprole etkili maddeleri QuEChERS metoduna göre ekstrakte edildikten sonra, analizleri LC-MS/MS cihazında yapılmış ve belirtilen etkili maddelerin arılara karşı risk durumu hesaplanmış ve LD₅₀ değerleri saptanmıştır.

Bulgular: Gutasyon sıvısı çıkış süresi boyunca thiamethoxam konsantrasyonu en yüksek 2,36 ppm en düşük 0,04 ppm değerinde, cyantraniliprole konsantrasyonu en yüksek 30,2 ppb, en düşük 0,27 ppb değerlerinde bulunmuştur. İki konsantrasyonun da zamanla hızla azaldığı saptanmıştır. İki etken maddenin arılara risk durumu incelendiğinde 24 saatte thiamethoxam LD₅₀ değeri 1,234 ng/ arı, cyantraniliprole LD₅₀ değeri ise 0,103 µg/ arı olarak tespit edilmiştir. İki etken maddeninde gutasyon sıvısındaki kalıntı konsantrasyonlarına maruz kalan arıların 4 saat, 24 saat ve 48 saatteki ölüm oranlarına etkisi etkili maddelerin içeriğindeki gutasyon kalıntısına paralel gerçekleşmiştir.

Sonuç: Denemede kullanılan sistemik tohum ilaçlarının gutasyon sıvısında tespit edildiği ve uçuşa çıkan bal arılarının gutasyon sıvısındaki insektisitlere maruz kaldığı bu nedenle de bal arıları üzerinde önemli risk oluşturduğu tespit edilmiştir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde farklı gruptan sistemik tohum ilaçlarının denenmesi ve arılara toksikolojik denemelerin arazi koşullarında artırılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: mısır, gutasyon, thiamethoxam, cyantraniliprole, LD₅₀

ABSTRACT

DETERMINATION OF THIAMETHOXAM AND CYANTRANILIPROLE IN GUTTATION DROPLETS OF CORN AND TOXIC EFFECTS ON HONEYBEE

Simsek Z. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Plant Protection Program, Master Thesis, Aydın, 2021.

Objective: Corn is a rare plant that has been grown almost every region of Turkey. During its production, it is being treated with seed coating pesticides against several diseases and pests. Since the treatments are systemic, the pesticide transported from the roots to the shoots, therefore it reaches to the guttation fluid. Honeybees (*Apis mellifera*) consumes the contaminated guttation fluid to fulfill their water demand, so that this situation causes sudden death and colony losses. In this thesis, it was aimed to investigate the relationship between residues of thiamethoxam and cyantraniliprole in guttation fluid and their toxic effects on bees.

Material and Methods: The corn seeds were coated with thiamethoxam and cyantraniliprole, separately, then planted. After corn planting guttation fluid was followed daily, on newly emerged leaves and guttation fluid was collected during emergence period. Thiamethoxam and cyantraniliprole in guttation fluid was extracted via QuEChERS method, then they were analyzed with LC-MS/MS. Risk situation of before mentioned active substances against bees were calculated and LD₅₀ values were determined.

Results: The concentration of thiamethoxam during guttation fluid emergence period was found at maximum 2,36 ppm and minimum 0,04 ppm; cyantraniliprole concentration was found at maximum 30,2 ppb while the minimum is 0,27 ppb. Each concentration was decreased rapidly over time. When the risk against bees was calculated, it was found that LD₅₀ values were 1,234 ng/bee and 0,103 µg/bee for thiamethoxam and cyantraniliprole, respectively. When the bees were exposed to the residue concentrations in the guttation fluid of the two active substances for 4 hours, 24 hours and 48 hours; the mortality rates were found parallel to the residues in guttation fluid.

Conclusion: The residues of systemic seed coated pesticides were found in guttation fluid, therefore the foraging bees are exposed to insecticides from the guttation fluid for this reason this situation poses a significant risk to honey bees. When the obtained data is evaluated, it is found necessary to investigate the effects of seed coated pesticides from different groups on bees and toxicological risk assessment trials should be improved under field conditions.

Keywords: corn, guttation, thiametoxam, cyantraniliprole, LD₅₀

1. GİRİŞ

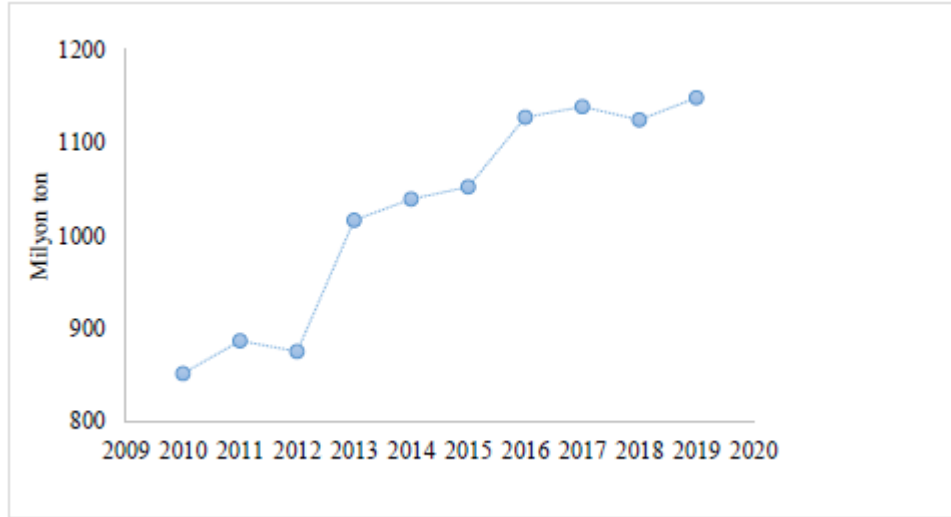
Mısır, dünyanın ve ülkemizin hemen hemen her bölgesinde yetiştirilen ve binlerce yıldan beri üretimi gerçekleştirilen ender bitkilerdendir. Anavatanının Amerika kıtası olduğu ve Dünya'ya buradan yayıldığı bilinmektedir (Kün, 1997). Gerçekleştirilen çeşitli arkeolojik çalışmalarda, Mexico City'de rastlanan mısır çiçek tozlarının yaklaşık 7000 yıllık olduğu, New Mexico eyaletinde kazılarda bulunan mısır koçan parçaları ve tanelerinin ise yaklaşık 5000 yıllık olduğu tespit edilmiştir (Babanoğlu, 2005). Ülkemize ilk olarak 1600 yıllarında "Mısır darısı" ya da "Mısır buğdayı" adıyla geldiği ve zaman içerisinde kısaltılarak mısır adını aldığı bilinmektedir (Arslan, 2017).

Mısır bitkisi, bitkiler âleminin kapalı tohumlar bölümünün tek çenekliler sınıfının buğdaygiller familyasından *Zea mays* türüne ait tek yıllık ve genellikle çok nemli iklim bölgelerinde yetiştirilebilen, doymamış yağ grubunda olan bir tarım bitkisidir. Süt mısır (*Zea mays tunicata*), Taş mısır (*Zea mays indurata*), Cin mısır (*Zea mays everta*), Atdişi mısır (*Zea mays indentata*), Tatlı mısır (*Zea mays saccharata*), Unlu mısır (*Zea mays amylaceae*), Mumlu mısır (*Zea mays ceratina*), Kavuzlu mısır (*Zea mays tunicata*), Çizgili mısır (*Zea mays japonica*) olmak üzere dokuz tane alt türü bulunmaktadır (Arslan, 2017). Mısır bitkisi taneleri insan beslenmesinde ekmek ve çerez olarak kullanıldığı gibi, sanayi sektöründe ise un, sıvı yağ, glikoz ve nişasta olarak çeşitli alanlarda değerlendirilmekte olup, gövdesi ve taneleri hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Şahin, 2001).

Dünyada üretimi gerçekleştirilen mısırlar insan beslenmesinde ve hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir ve bu mısırların yaklaşık % 70'i hayvan yemi olarak, % 20'si ise direkt olarak insanlar tarafından tüketilmekte ve kalan % 10'luk kısım ise sanayide kullanılmaktadır. Ülkemizde üretilen mısırların %78'i hayvan beslenmesinde yem olarak, % 15'i nişasta sanayinde, %5'i yerel tüketim, %3'ü ise endüstriyel alanlarında değerlendirilmektedir. (Arslan, 2017).

1.1. Dünya’da ve Türkiye’de Mısır Üretimi

Dünya’da mısır üretim ve ekim alanında en önemli ülke ABD iken sırasıyla ABD’yi Çin ve Brezilya takip etmektedir (FAO, 2021). Dünya’da mısır üretim miktarları 2010-2019 yıllarında 852,1 milyon – 1148,4 milyon ton değerleri arasında değişmekte olup Şekil 1. 1. ‘de mısır üretim miktarları verilmiştir. 2010 yılında 852,1 milyon ton, 2011 yılında 887,1 milyon ton iken 2012 yılında üretim miktarları azalış göstererek 875,6 milyon ton değerine azalmıştır. 2013-2017 yılları arası üretim miktarları zamanla artış göstermiştir. 2013 yılında 1016,8 milyon ton, 2014 yılında 1039,6 milyon ton, 2015 yılında 1052,6 milyon ton, 2016 yılında 1127,3 milyon ton, 2017 yılında ise 1138,6 milyon ton üretim miktarı ile artış görülürken,2018 yılında bu miktar azalarak 1124,7 milyon ton üretim miktarına gerilemiştir. 2019 yılında da 1148,4 milyon ton ile en yüksek üretim miktarı gerçekleştirilmiştir (FAO, 2020).



Şekil 1.1. Dünya’da 2010-2019 yılları arası mısır üretim miktarları (FAO, 2020)

Türkiye’de 2020 yılı mısır üretim alanı 6,9 milyon dekar olup, 6,5 milyon tonluk üretim bulunmaktadır. Mısırın dekara verimi ise 941 kg/dekardır (TÜİK, 2020b). En fazla mısır üretimi Çizelge 1.1.’de de gösterildiği gibi Konya ilindedir ve sırasıyla Şanlıurfa, Adana, Mardin ve Diyarbakır illeri takip etmektedir (TÜİK, 2020a).

Çizelge 1.1. Türkiye’de 2020 Yılı Mısır Üretimi Yapılan İlk 10 İl (TÜİK, 2020a).

İller	Ekilen Alan (Dekar)	Üretim Miktarı (Ton)
Şanlıurfa	1.327.487	1.049.849
Konya	1.033.998	1.070.626
Adana	701.550	819.978
Mardin	368.266	375.027
Diyarbakır	319.188	367.065
Karaman	289.671	274.589
Osmaniye	273.529	282.039
Sakarya	267.886	267.280
Kahramanmaraş	246.886	212.989
Eskişehir	211.709	204.121

Mısır bitkisi üretiminde karşılaşılan önemli hastalık ve zararlılar mevcuttur. Bu hastalıklardan çıkış öncesi veya çıkış sonrası çökertene neden olan; kök ve kökboğazı çürüklüğü (*Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Macrophomina phaseolina*) bitkinin fide devresinde görülür. Mısırın çıkış evresinde önemli zarara neden olan bozkurt (*Agrotis ipsilon*, *A. segetum*) toprakaltı zararlısı olup bitkinin kök boğazını keserek büyüme noktalarının sararıp kuruması ve ölmesine neden olurlar. Tel kurtlarının (*Agriotes* spp.) larvaları mısır bitkisinin ince köklerini keserek, kalın köklerde galeri açarak zarar verir ve bitkilerin kurumasına neden olur (Anonim, 2020b). Çizelge 1.2.’de gösterildiği gibi mısır tohumlarının hemen hemen hepsi, mısırın ekimiyle birlikte topraktan gelebilecek hastalık ve zararlı sorunları nedeniyle son yıllarda genellikle neonikotinoid ve diamide grubu sistemik tohum ilaçları ile ilaçlanmaktadır (Haire, 2014).

Çizelge 1.2. Mısır bitkisinde görülen hastalık ve zararlılara karşı kullanılan tohum ilaçları

Etkili Madde	Ruhsat Grubu	Zararlı veya Hastalık
Clothianidin	İnsektisit	Tel Kurtları (<i>Agriotes</i> spp.)
Clothianidin	İnsektisit	Bozkurt (<i>Agrotis ipsilon</i>)
Fludioxonil +Metalaxyl-M	Fungisit	Tohum ve Kök Çürüklüğü (<i>Fusarium verticilliodes</i>)
Thiamethoxam	İnsektisit	Tel Kurtları (<i>Agriotes</i> spp.)
Cyantraniliprole	İnsektisit	Bozkurt (<i>Agrotis ipsilon</i>)

1.2. Neonicotinoid Grubu İnsektisitler

Tohum ilacı olarak kullanılan insektisitler 2000' li yıllara kadar karbamatlılar grubu iken ilerleyen yıllarda bu grubun yerini yeni nesil neonicotinoid grubu insektisitler almıştır. Dünya' da neonicotinoidlerin kullanımı 2005 yılında %77 oranına ulaşmıştır ve günümüzde tohum ilaçlamasında kullanılan insektisitlerin neredeyse tamamı bu grupta yer almaktadır (Turgut, 2015).

Neonicotinoid grubunun keşfi 1970' li yıllarda Kaliforniya'da kurşun bileşikleri üzerinde yapılan bir çalışmada tesadüfen gerçekleşmiştir (Kollmeyer vd., 1999). Neonicotinoidler clothianidin, imidacloprid ve thiamethoxam gibi aktif maddeleri içeren bir gruptur. Tarımsal açıdan önemli zararlı takımları olan Heteroptera, Coleoptera ve Lepidoptera'ya karşı etkisi nedeniyle tarım için önemlidir (Yamamoto ve Casida, 1999). Thiamethoxam ilk kez 1991 yılında tarım ilaçları pazarına dahil olmuştur (Laycock vd., 2014). Thianikotinil alt grubunda bulunan ikinci nesil bir nikonitik insektisittir. Thiamethoxam'ın tarımsal zararlılara karşı

geliştirilen dünya çapında kullanılan en yararlı insektisitlerden birini oluşturduğu belirtilmektedir (Karmakar ve Kulshrestha, 2009).

Suda çözünerek bitkilerin kökleri vasıtasıyla alınıp bitki dokuları boyunca sistemik olarak taşınmakta ve zararlı mücadelesinde, bitkilerin tüm aksamalarını korumasından dolayı çiftçiler için avantaj sağlamaktadır (Goulson, 2013). Thiamethoxam aktif maddesi zararlılara hem temas hemde mide yoluyla etki etmekte ve böceklerin sinir sistemlerini bozmak suretiyle etkisini göstermektedir (Anonim, 2019a). Ayrıca sistemik olarak hareket etmelerinden gutasyon sıvısında gözlenmeside arıların bu yolla neonikotinoidlere dolaylı olarak maruz kaldığı tespit edilerek sistemik özelliğinin negatif etkisi ortaya çıkarılmıştır. (Girolami vd., 2009).

Günümüzde thiamethoxam, clothianidin ve imidacloprid gibi en önemli aktif maddeler bal arılarına olan toksisitelerinin belirlenmesiyle ciddi bir şekilde tartışılmaktadır (Laycock vd., 2014). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından üçüncü dereceden tehlikeli kimyasal olarak ifade edilmektedir (Maienfisch vd., 2001).

1.3. Diamide Grubu İsektisitler

Diamide grubu insektisitler 2008 yılında piyasaya girmiştir (EPA, 2008). Bu insektisit grubunda antranilik diamide olan clorantraniliprole ve cyantraniliprole ve bir pthalic asit diamide olan flubendiamide yer almaktadır (Lahm vd., 2009). İlk ticarileştirilmiş diamide chlorantraniliprole genellikle lepidoptera takımı zararlılarına karşı etkilidirler (Roditakis vd., 2015). İkinci antranilik diamide cyantraniliprole ise hem lepidoptera takımı hem de hemiptera takımlarına karşı oldukça etkili bir insektisittir (Selby vd., 2016).

Diamide grubu insektisitler, zararlıda ryanodin reseptörlerine etkili sistemik bir insektisittir. Zararlıyı mide yoluyla etkileyerek zararlının beslenmesini durdurarak etkisini göstermektedir (Anonim, 2019b). Cyantraniliprole geniş etki spektrumuna sahip, omurgalılar ve hedef olmayan canlılar için düşük toksisiteye sahip, düşük riskli bir insektisittir (Sattelle vd., 2008). Ama gutasyon sıvısındaki miktarının arılara etkisi gözden kaçırılmıştır.

1.4. Gutasyon Sıvısı

Gutasyon sıvısı kavramı ilk kez Abraham Munting tarafından anlatılmış olup, Burgerstein tarafından literatürde bahsedilmiştir. Bitkilerde su basıncının arttığı zamanlarda yapraklarda açılma- kapanma özelliğini kaybetmiş kısaca hidatot olarak adlandırılan stoma benzeri

yapılardan ksilem özsuynunun damlalar halinde dışarıya atılması olayıdır. Terleme yapılamayan durumlarda yani toprak neminin yüksek ve atmosferin neme doygun olduğu durumlarda genellikle geceleri ve sabahları erken saatlerde yapraklarının köşesi veya ucundan salgılanan sıvıdır (Ivanoff, 1963).



Şekil 1.2. Mısır bitkisinde gutasyon sıvısı

Bazen çiğle karıştırılabilinen gutasyon sıvısı çiğle göre kolay buharlaşabilen, akışkan olan veya yaprağa tekrar emilebilen bir özelliğe sahiptir (Chen ve Chen, 2007). Gutasyon sıvısı saf değildir içeriğinde şeker, tuz ve toksik maddeler bulundurur bu sebeple buharlaştıklarında buldukları yerde beyaz renkte lekeler bırakırlar (Anonim, 2020a). Gutasyon sıvısının doğal düşman ve arılara etkisi olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Özellikle son yıllarda gutasyon sıvısıyla beslenen bal arılarında koloni kaybı sendromu gözlemlendiği bildirilmiştir (Tapparo vd. 2011; Yalçın ve Turgut, 2014; Nikolakis vd. 2015).

1.5. Bal Arıları

Bal arısı (*Apis mellifera*) bal, polen, arı sütü, propolis ve balmumu üreten, dünya çapında ekonomik açıdan önemli bir böcektir. Tarımsal üretimde bal arılarının en önemli faydası çiçekli bitkilerin tozlaşmasını sağlamak olup, tüketilen tüm gıdaların 1/3'ünün tozlaşmasının arılar tarafından gerçekleştiği bilinmektedir. Sürekli artan nüfusla beraber insanların gıdaya olan ihtiyaçlarının karşılanması için de tarımsal üretimin artması ve sürekliliğinin devam etmesi açısından arıların önemi büyüktür (Mc Gregor, 1976). Kültür bitkilerinden 82 tanesinin tozlaşması ele alındığında 63 türünün tozlaşmasının %90 oranında arılar tarafından gerçekleştiği bilinmektedir (Delaplane ve Mayer, 2000).

Tüm canlılarda olduğu gibi, bal arıları da hayatta kalmak için suya gereksinim duyarlar. Su, ergin arılarda ozmotik dengeyi sağlamak ve aynı zamanda yavru arı için sıvı yiyecek hazırlamak için önemlidir. Ayrıca kovandaki nemi korumak için kuluçka alanı içerisindeki sıcaklığı korumak ve kalınlaşmış balı seyreltmek gibi nedenlerle de suya gereksinim duyarlar. Arılar topladıkları suyu bal midesinde taşımakla birlikte yaklaşık 40-50 ul su taşırlar (Thompson, 2010). Bal arısı kolonileri enerji tasarrufunu sağlamak için uzun mesafe uçuşlarından kaçınırlar ve bu sebeple kovanın yakınında bulunan alternatif su kaynaklarını kullanırlar (Pistorius vd., 2012). Burada gutasyon sıvısı sabahları arıların kullanabileceği en yakın su kaynağı olarak ortaya çıkmaktadır.

Neonikotinoid grubu sistemik tohum ilaçlarının yoğun ve sık şekilde kullanılmalarından dolayı tozlaştırıcılar üzerindeki etkisine dair birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. Neonicotinoid uygulamalarının arılarda ve arı ürünlerinde uygulamalarından sonra çevredeki oluşan kalıntı seviyesi ve arılarda gözlemlenen yan etkiler dikkatleri, neonikotinoid grubu insektisitlerin riski üzerine çekmiştir (Krupke ve Long, 2015). Arıların beslenme amaçlı uçuş ve yön bulma kabiliyetlerini etkileyerek gıda kaynaklarına ulaşmalarını zorlaştırdığını ayrıca düşük doz miktarlarına maruz kalma durumlarında bile arıların davranışlarını etkileyerek, kolonilerin yaşamlarını zorlaştırdığı bilinmektedir (Penelope vd., 2012).

Türkiye’de tohum ilaçlarına uygulanan thiamethoxam ve cyantroniliprole etkili maddesinin gutasyon sıvısındaki kalıntısının varlığı ve thiamethoxam ve cyantroniliprole’ün arılara olan toksik etkisi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak diğer ülkelerde gerçekleştirilen çalışmalarda da görüldüğü gibi sistemik tohum ilacı uygulanan tohumdan çimlenen bitkilerin gutasyon sıvısında tespiti, arılara ve diğer yararlı böceklere karşı riskler oluşturduğu açıkça görülmektedir. Bu çalışmadaki amaçta gutasyon sıvısında thiamethoxam ve cyantraniliprole etkili maddelerinin kalıntıları ve bunların arılarda oluşturacağı toksik etkiler araştırılmıştır. Mısır bitkisi ekiminden sonra yeni çıkan yaprakçıklarda günlük gutasyon sıvısı takibi yapılarak toplanması bunların laboratuvarında arılara toksik etkisi belirlenecek ve bu yolla bu iki ilacın ne kadar taşındığı ve günlük olarak sınıflandırılarak risk değerlendirilmesi yapılmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. LD₅₀ Denemeleri ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Suchail vd. (2009) imidacloprid'i bal arısının iki alt türü esmer arı (*Apis mellifera mellifera*) ve Kafkas arısı (*Apis mellifera caucasica*) üzerinde 24 ve 48 saatte LD₅₀ denemesi gerçekleştirmişlerdir. Sonuçta 24 saatte; esmer arı 5,4 ng/arı, Kafkas arısı 6,6 ng/arı olarak, 48 saatte ise esmer arının LD₅₀ değerini 4,8 ng/arı, Kafkas arısı için 6,5 ng/arı değerlerinde tespit etmişlerdir.

Laurino vd. (2011) yaptıkları LD₅₀ denemesinde clothianidin için Dantop, thiamethoxam için Actara ilacını kullanmışlardır. Sonuçta LD₅₀ değerlerini; thiamethoxam için 24 saat 4,67 ng/arı, 48 saat 4,41 ng/arı, 72 saat 4,31 ng/arı clothianidin için ise; 24 saatte 2,84 ng/arı, 48 saatte 2,68 ng/arı, 72 saatte 2,60 ng/arı bulmuşlardır.

Laurino vd. (2013) Clothiandin, imidacloprid ve thiamethoxam insektisitlerinde LD₅₀ denemesi gerçekleştirmişlerdir. Sonucunda thiamethoxam için 24 saatte 4,40 ng/arı, 48 saatte 4,27ng/arı değerinde, clothianidin için 24 saatte 3,53 ng/arı, 48 saatte 3,35 ng/arı olarak, imidacloprid için 24 saatte 118,74 ng/arı ve 48 saatte 90,9 ng/arı değerlerini bulmuşlardır.

Dinter ve Samel (2014) Diamide grubu insektisit olan cyantroniliprole için bal arıları üzerinde oral ve temas olarak LD₅₀ denemesi yapmışlardır ve sonuçta LD₅₀ değerini 0,39 (oral) ug/arı ve 0,63 (temas) ug/arı olarak tespit etmişlerdir.

Thompson vd. (2014) yaptıkları bir çalışmada LD₅₀ değerlerini thiacloprid için 22,59 ug/arı, imidacloprid için 0,536 ug/arı, clothianidin için 0,00739 ug/arı, thiametoxam için ise 0,0112 ug/arı değerlerini bulmuşlardır.

Li vd. (2017) İmidacloprid ve clothianidin insektisitlerini bal arısı (*Apis mellifera*) ve Doğu bal arısı (*Apis cerena*)'ya karşı akut toksisitesini (LD₅₀) araştırmışlardır. Sonuçta *Apis cerena*'nın *Apis mellifera*'ya karşı bu iki insektisite karşı daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Bal arısı için imidacloprid 8,6 ng/arı ve clothianidin 2,0 ng/arı, Doğu bal arısı için imidacloprid 2,7 ng/arı ve 0,5 ng/arı değerlerini tespit etmişlerdir.

Mundy-Heisz vd. (2020) Ortak doğu yaban arısı (*Bombus impatiens*)’de yaptıkları LD₅₀ çalışmasında 48 saatte cyantraniliprole, flupyradifurone, sulfoxaflor ve thiamethoxam insektisitlerini denemişlerdir. Sonuçta akut oral toksisitesini cyantraniliprole için (>0,54 µg/arı), flupyradifurone (>1,7 µg/arı), sulfoxaflor 0,0194 µg/arı ve thiamethoxam 0,0012 µg/arı olarak tespit etmişlerdir.

2.2. Gutasyon Sıvısı ile İlgili Yapılmış Çalışmalar

Girolami vd. (2009) yaptığı çalışmada imidocloprid (0,5 mg), clothianidin (1,25 mg), thiamethoxam (1 mg) ve fipronili (1 mg) mısır tohumlarına uygulanmış. Sabah 8 ile 9 arası 3 hafta her sabah 1-3 ml sıvı 100 bitkiden gutasyon toplanmıştır. Tohuma uygulanan ilaçların, gutasyon sıvısındaki miktarı, imidoclopridin 47 mg/L, clothianidin 23 mg/L, thiamethoxamın 11,9 mg/L konsantrasyona rastladıklarını ayrıca neonikotinoid insektistlerle kaplı tohumlardan yetişen bitkilerden toplanan gutasyon damlalarını tüketen arıların birkaç dakika içinde öldüklerini tespit etmişlerdir.

Tapparo vd. (2011) yaptıkları çalışmada thiamethoxam, clothianidin, imidacloprid ve fipronil ile kaplanmış tohumlardan elde edilen mısır bitkilerinin gutasyon sıvısında varlıkları analiz edilmiştir. Imidacloprid 346 mg/l, clothianidin 102 mg/l ve thiamethoxam 146 mg/l konsantrasyonlarda neonikotinoid insektisitlerini içeren gutasyon sıvısı tespit edilmiş ve bu konsantrasyon seviyelerinin ilk 10-15 günde azaldığını, toprak nem içeriğinin gutasyon sıvısındaki pestisit miktarını etkilediğini ve su kaynağı olarak gutasyon damlaları kullanan arılar için gutasyon sıvısındaki konsantrasyonların ölümcül dozları temsil ettiğini bildirmişlerdir.

Joachimsmeier vd. (2012) Almanya’da soğan, mısır, hububat, şeker pancarı, ayçiçeği, patates, kanola ve havuç bitkilerindeki gutasyon sıvısının tespiti ve yoğunluğu üzerine çalışma gerçekleştirmişlerdir. En uygun gutasyon sıvısı yoğunluğunun mısır bitkisinde olduğunu bunu hububat ve ayçiçeğinin takip ettiğini ayrıca mısır bitkisinde neredeyse vejetasyon süresi boyunca gutasyon sıvısı çıkış sürecinin devam ettiğini tespit etmişlerdir.

Pistorius vd. (2012) Pestisit kalıntı miktarının gutasyon sıvısında tespitinin bitki gelişme dönemine, pestisit aktif maddesinin türüne, tohuma uygulanan doza ve iklim koşullarına göre değişiklik gösterebildiğini ve bazı bitkilerde çok kısa bir periyotta gutasyon sıvısı

gözlemlenirken, bazı bitkilerin gelişme döneminde, bazı bitkilerde ise çiçeklenme döneminde gutasyon sıvısı gözlemlenebildiğini belirtmişlerdir.

Reetz vd. (2015) thiamethoxamın (3,6 g/kg) kanola (*Brassica napus*) bitkilerinin gutasyon sıvısındaki varlığını tespit etmeyi amaçlamışlardır. Sonbahar da kanola bitkisinin gutasyon sıvısından 130 µg/l pestisit kalıntısı tespit edilmiş ve bu oranın 30 µg/l'ye kadar azaldığını, kalıntıların bitkinin çiçeklenme süresine kadar azalma gösterdiğini ve bal arılarının kanola bitkisinin gutasyon sıvısını alımına kanıt, balın kalıntı analizleriyle açığa çıkmıştır. Toplamda, 204 numunedan 38'inde (% 19) 0,3 ila 0,95 µg/l arasında değişen konsantrasyonlar da thiamethoxam kalıntısı tespit etmişlerdir.

Nikolakis vd. (2015) bal arısı kolonileri için gutasyon sıvısının bir su kaynağı olarak önemini açıklığa kavuşturmak için çalışma gerçekleştirmişlerdir. Mısır, şeker pancarı, patates, kışlık arpa ve kanola gibi temel ürünlerin olduğu arazilere arı kolonilerini birkaç hafta yerleştirilerek koloninin performansı ve ölümcül etkilerin incelendiğini bildirilmiştir. Gutasyon sıvısının arpa için clothianidin değerini 8,5 mg/l, imidacloprid için 6,7 mg/l olarak kaydedilmiştir. Gutasyon damlalarının ilk başta arılar için öldürücü oranda kalıntı içerdiği ancak zamanla azaldığı, gutasyon sıvısının belirli ve sınırlı zaman aralıklarında olduğu ve bal arılarının varsa kovana yakın yerlerden su topladığını bildirmişlerdir.

Wirtz vd. (2018) neonicotinoid insektisit imidacloprid (0,3mg) ve clothianidin (0,6 mg) etken maddeli (Poncho Beta Plus), thiamethoxam (0,15 mg) Force Magna kaplı tohumlardan yetişen şeker pancarı bitkisinden 90 gün boyunca gutasyon sıvısı toplamışlardır. Gutasyon sıvısının 10°C - 14°C arasında yoğun olarak çıktığını ve gerçekleştirilen LC/MS/MS analiz değerlendirmelerinde en yüksek değer olarak imidacloprid için 0,658 mg/l, clothianidin 9,043 mg/l, thiamethoxam için ise 2,081 mg/l konsantrasyon değerlerini tespit etmişlerdir.

Mörlt vd. (2019) Sistemik insektisitler thiamethoxam ve clothianidin ile kaplanan mısır tohumlarının yakınında iki farklı yabancı ot bitkileri deve dikenini (*Cirsium arvense*) ve gelincik (*Papaver rhoeas*) yetiştirilmiş ve yabancı otlar tarafından neonicotinoid alımını tespit etmeyi amaçlamışlardır. HPLC yöntemi ile analiz yapılmıştır. Mısır bitkisinde gutasyon kalıntısını thiamethoxam için 153 mg/L, clothianidin için ise 73 mg/L tespit etmişlerdir. Ayrıca her iki yabancı otta gutasyon analizinde kalıntı ortaya çıkmıştır. Elde edilen sonuçta çapraz

kontaminasyon olduğunu ve thiamethoxam ve clothianidin aktif maddeleri ile kaplanmış tohumlardan çıkan komşu bitkilerde topraktan alınmasıyla meydana gelebileceği saptanmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Arazisinde deneme kurulumu mısır tohumlarının ekimi ve gutasyon sıvısı toplanması işlemleri gerçekleştirilmiştir. Denemeye başlanmadan önce Pioneer firmasından P2088 çeşidi ilaçsız mısır tohumlarına thiamethoxam ticari formülasyonu Cruiser 350 FS (Syngenta) 52,5 ml/ 50.000 adet tohum ve cyantraniliprole ticari formülasyonu Fortenza 600 FS (Syngenta) 30 ml/ 50.000 adet tohuma tohum ilaçları uygulanmış olup mısır tohumlarının ekimi 26 Nisan 2019 tarihinde gerçekleşmiştir. Deneme alanı iki ilaç için ayrı ayrı 600 m² olacak şekilde parsellenmiştir. Tek faktörlü tesadüf blokları deneme desenine göre 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Tohumların tarlaya ekim işlemi pnömatik mibzer ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. İlaçsız ve ilaçlı tohumlar

3.1. Denemelerde Kullanılan İsektisitler

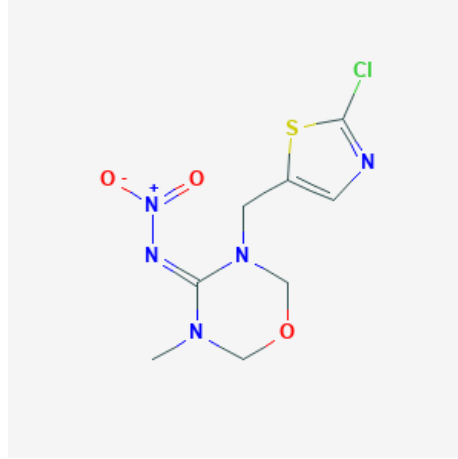
Denemede mısır bitkisinde ruhsatlı tohum ilaçlarının etkili maddelerinin bilgileri Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Denemede kullanılan insektisitler

İsektisit	Ticari Adı	Firma Adı	Uygulandığı Bitki	Grubu
Thiamethoxam	Cruiser 350 FS	Syngenta	Mısır (Tohum)	Neonicotinoid
Cyantraniliprole	Fortenza 600 FS	Syngenta	Mısır (Tohum)	Diamide

3.1.1. Thiamethoxam

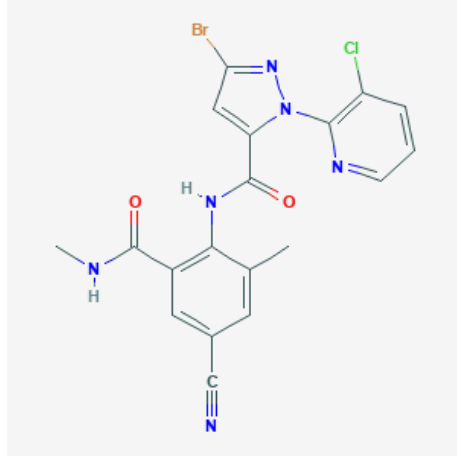
Neonikotinoid insektisitler grubunda yer alan thiamethoxam $C_8H_{10}ClN_5O_3S$ kimyasal formülüne sahip (Şekil 3.2.) ve 291,7 g/mol molekül ağırlığındadır (Pubchem, 2019a). 20 °C'de 4,1 g/l suda çözünebilen bir bileşiktir. Suda kolay çözünmesi aktif maddenin bitkinin vasküler sisteminden alınmasına ve bitki içerisinde yer değiştirmesine izin verir (Maienfisch vd., 2001b). Suda çözünürlüğü 4,1 g/L, log P : -0,13'dür (Bonmatin vd., 2015b). Bal arıları için thiamethoxam, imidacloprid ve clothianidin etken maddelerinin akut toksisite LD₅₀ değerleri 1 ng/arı - 5 ng/ arı değerleri arasında yüksek derecede toksik olarak sınıflandırılmıştır (EPA, 2021).



Şekil 3.2. Thiamethoxam molekül şekli

3.1.2. Cyantraniliprole

Diamide grubunda yer alan cyantraniliprole aktif maddesi $C_{19}H_{14}BrClN_6O_2$ molekül formülüne (Şekil 3.3.), 473,72 g/mol molekül ağırlığındadır. Suda çözünürlüğü $20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de 14,2 mg/l, pH 7 ve $20\text{ }^\circ\text{C}$ 'de Log P değeri 2,02'dir. (PubChem, 2019b). Düşük log P değerine sahip olması etken maddenin yüksek oranda suda çözünmesine ve bitkiler içerisinde oldukça hareketli olmasını sağlamaktadır. Aktif maddenin bu mükemmel sistemik özellikleri tohum ilacı olarak kullanılmasına da olanak sağlamaktadır (Barry vd., 2014). Tohum ilacı olarak kullanıldığında ksilem aracılığı ile bitki içerisinde taşınır. Genellikle zararlıya mide yoluyla etki etmekle beraber bazen kontak etki de göstermektedir. Lepidoptera, Diptera, Coleoptera, ve Hemiptera takımlarından birçok zararlıya karşı etkilidir. Uygulanması gereken doz miktarı 50.000 adet tohum için 30 ml/ünite'dir (Anonim, 2021).



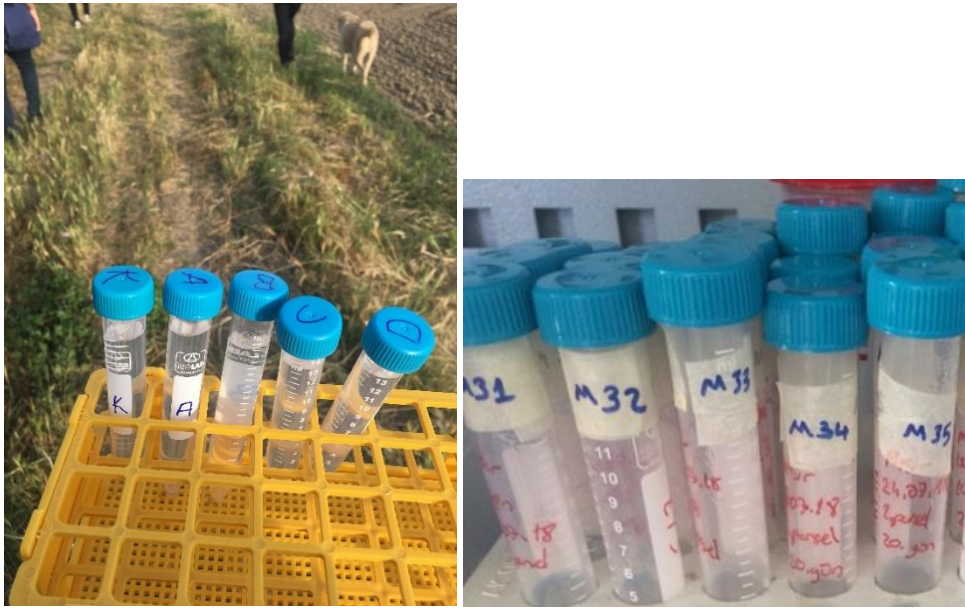
Şekil 3.3. Cyantraniliprole molekül şekli

3.2. Gutasyon Sıvısının Bitkilerden Toplanması

Tohumlar çimlendikten ve iki yaprakçık oluştuğundan yaklaşık bir hafta sonra günlük olarak gutasyon sıvısının çıkışı için sabahın erken saatlerinde saat 6-8 arasında kontrol edilmeye başlanmıştır. İlk gutasyon sıvısının görüldüğü tarihten itibaren vejetasyon süresi boyunca her gün gutasyon sıvısı örnekleri pastör pipet yardımıyla (Şekil 3.4.) her bir parselde ayrı ayrı pastör pipet kullanılarak toplanıp 15 ml'lik falkon tüplere aktarılmıştır. Örnekleme için her parselde en az 10 ml gutasyon sıvısı toplanmıştır (Şekil 3.5.). Toplanan gutasyon sıvıları direkt olarak laboratuvara getirilmiştir. Gutasyon sıvısı çıkışı toplamaya başladıktan 27 gün devam etmiş ve devam eden günlerde toplanacak kadar sıvı bulunamamıştır. Gutasyon sıvılarının yarısı pestisit ekstraksiyon ve kalıntı analizlerinde diğer yarısı ise arılarda gerçekleştirilecek olan toksisite testlerinde kullanılmak üzere -20 °C'de karanlık ortamda derin dondurucuda tekrar kullanıma kadar saklanmıştır.



Şekil 3.4. Mısır bitkisinde gutasyon sıvısı ve pastör pipetle alımı

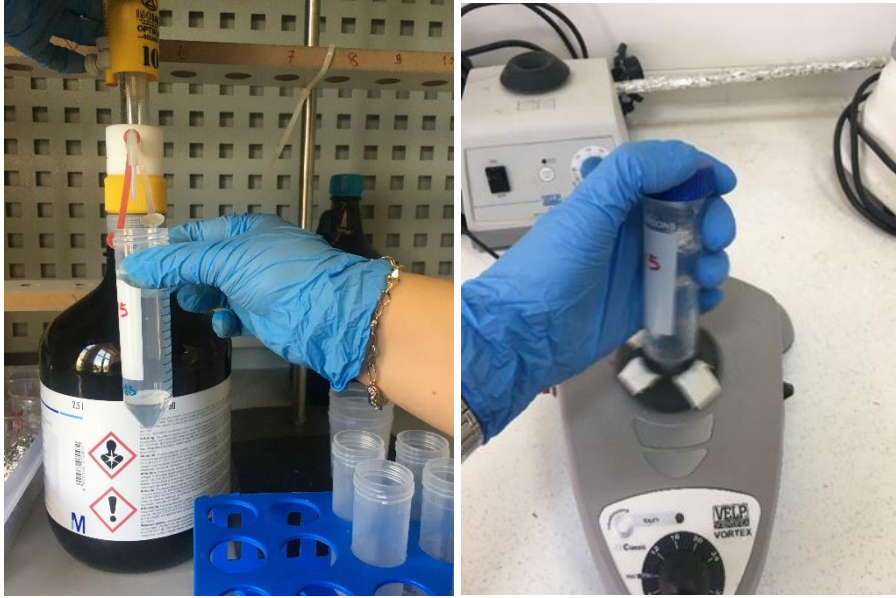


Şekil 3.5. Tarladan toplanan gutasyon örnekleri Şekil 3.6. Örneklerin -20°C’de saklanması

3.3. Gutasyon Sıvısında Pestisit Kalıntılarının Tespiti

Thiamethoxam ve cyantraniliprole etkili maddelerin gutasyon sıvısında pestisit kalıntı ekstraksiyonu işlemleri için 2003 yılında Anastassiades ve arkadaşları tarafından geliştirilen Uluslararası AOAC (Analitik Topluluklar Birliği) dergisinde yayınlanan QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) ekstraksiyon metodu kullanılmıştır (Anastassiades vd., 2003).

Analiz için -20 °C'den çıkarılan örneklerin işlem öncesi oda sıcaklığında çözünmesi beklenmiştir. Çözünen gutasyon sıvısı örneklerinden 5 ml alınarak 50 ml'lik falkon tüplere aktarılmıştır. Bu örneklerin üzerine içerisinde %1'lik asetik asit bulunan 10 ml asetonitril karışımı (Şekil 3.7.) ilave edilerek 15 saniye vorteks cihazında karıştırılmıştır (Şekil 3.8.). Daha sonra karışımın içerisinde karışım 1 (4 gram Magnezyum Sülfat ($MgSO_4$) ve 1 gram Sodyum Asetat) eklenerek, 1 dakika vortekslenip, ardından 4000 devirde 5 dakika santrifüjlenmiştir (Şekil 3.9.). Üst fazdan eppendorf pipet yardımıyla 2 ml alınıp ve 15 ml'lik falkon tüplere aktarılmıştır. Daha sonra üzerine karışım 2 (0,3 gram Magnezyum Sülfat ($MgSO_4$) ve 0,1 gram PSA (Primary secondary amin) ilave edilerek 5-10 saniye vortekslenip daha sonra 2 dakika 4000 devirde santrifüjlenmiştir. Daha sonra üst faz medikal enjektör yardımıyla çekilerek teflon membran filtreden geçirilerek 3 tekerrürlü olacak şekilde viallere aktarılmıştır (Şekil 3.10.). Analizler LC-MS/MS (Sıvı kromatografisi-kütle-kütle spektrometresi) cihazında gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.7. Örneklere asetonitril eklenmesi Şekil 3.8. Örneklerin vortekslenmesi



Şekil 3.9. Örneklerin santrifüjlenmesi Şekil 3.10. Örneklerin viallere aktarılması

3.4. Bal Arılarında Toksikolojik Testler

Denemede Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsünden temin edilen Bal Arısı (*Apis mellifera anatolica*) kullanılmıştır. Kovanlardaki aynı yaş ve özellikte aynı yaştaki genç işçi arılardan yeterli gıda stoğu bulunan, strese maruz kalmamış güçlü popülasyonlardan arılar temin edilmiştir. Deneme OECD 213 metoduna bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş olup (OECD, 1998). Şekil 3.11.'da görüldüğü gibi arı denemelerinde kullanılan, özel olarak üretilmiş paslanmaz çelik arkası delikli önü cam kafesler (8 x 6 x 4 cm) kullanılmıştır.



Şekil 3.11. Denemede kullanılan önü cam ve arkası delikli kafesler

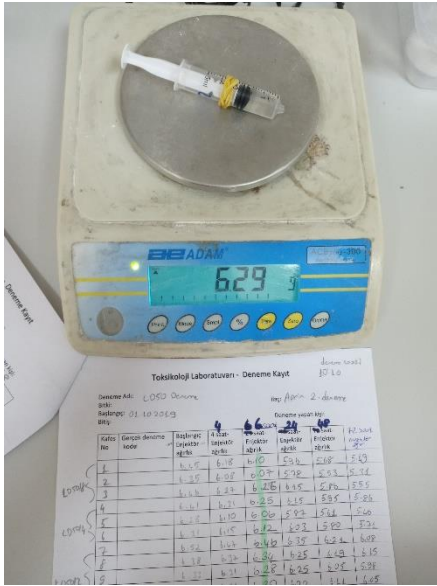
3.4.1. Arılarda LD₅₀ ve LD₉₀ Değerlerinin Belirlenmesi

Her kafese 10 adet arı yerleştirilmiş ve deneme başlayıncaya kadar 24 saat, sıcaklığı 25 °C ve % 50-70 neme ayarlanmış inkübatöre adaptasyon için yerleştirilmiştir. Kafeslere yerleştirilen arılar ilaç denemesine başlamadan önce 1 saat aç bırakılmışlardır. İlaç denemelerinde kullanılacak thiamethoxam ticari formülasyonu Cruiser 350 FS (Syngenta) ve Cyantraniliprole ticari formülasyonu Fortenza 600 FS (Syngenta) etkili maddeli tohum ilaçlarının LD₅₀ (% 50'sinin öldüğü doz) ve LD₉₀ (%90'ının öldüğü doz) değerlerini belirlemek için 7 ilaç konsantrasyonu ve 1 kontrol (ilaçsız) ve 1 kontrol ise arısız yalnızca enjektördeki besin buharlaşma kaybını belirlemek amacıyla kullanılmış olup 2 ilacın LD₅₀ denemesinde de toplam da 27 kafes arı kullanılmıştır ayrıca tüm ilaç dozları ve kontroller 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.13.).

Belirlenen thiamethoxam ve cyantraniliprole etkili maddelerinin dozları ayarlandıktan sonra her bir doz için 3 tekerrürlü olacak şekilde hazırlanan solüsyonlar enjektörlere çekilerek hazırlanmış ve denemeye başlamadan önce tüm enjektörlerin ağırlıkları belirlenmiştir (Şekil 3.12.).

Denemenin başlamasıyla birlikte kafesler 25 °C ve %50-70 neme ayarlanmış inkübatöre yerleştirilmiştir. Deneme başladıktan sonra ilaçların kafeslerde ölü/canlı sayısı 24, 48 çok az

ölüm mevcut ise 72 saatte belirlenmiş ve her sayımda enjektör ağırlıkları tartılarak arıların tüketimi de hesaplanmıştır. LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri hesaplamalarında 24 saat LD₅₀ ve LD₉₀ değeri hesaplaması amaçlanmıştır ama duruma göre bazen hepsi hesaplanabilmiş bazen ise 48, 72 saatteki LD₅₀ değerleri hesaplanmıştır. Çok zehirli olan ilaçlarda arıların tamamı erken öldüğü için denemeler 48 saatte tamamlanmıştır. LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri POLO Plus programında probit analizi ile % 95'lik güvenilirlik kat sayısı dikkate alınarak hesaplanmıştır (Software, 1994).



Şekil 3.12. Enjektör ağırlıkları tartımı Şekil 3.13. Kafeslerin hazırlanıp denemenin başlaması

3.4.2. Gutasyon Sıvısının Arılara Toksisitesinin Laboratuvarında Belirlenmesi

Her kafeste 10 adet arı olacak şekilde arılar kafeslere aktarılmıştır (Şekil 3.14.). Arılar deneme başlayıncaya kadar adaptasyon için 24 saat, sıcaklığı 25 °C nemi ise % 50-70 olan inkübatöre yerleştirilmiştir. 24 saat sonunda inkübatörden çıkarılan kafesler tekrar kontrol edilerek her bir kafeste 10 adet arı olacak şekilde düzenlenmiştir. Düzenlenen kafeslerdeki arılar deneme başlamadan önce 1 saat aç bırakılmıştır.

Günlük olarak toplanan gutasyon sıvıları 1:1 şekerli suyla karıştırılarak hazırlanmıştır. Solüsyon 5ml'lik enjektörlere her bir tekerrür için 2 ml olacak şekilde çekilmiştir. Her gün toplanan gutasyon sıvıları arı toksisite denemeleri 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol (şekerli su) ve 4 kafes buharlaşma oranı tespiti için yalnızca arı olmayan kafes

hazırlanmıştır. Ağırlık tartımları yapıldıktan sonra enjektörler, arıların beslenmesi için kafeslerin üzerindeki deliklere yerleştirilerek arıların ad libitum (sürekli besin hazır) şekilde beslenmesi sağlanmıştır (Şekil 3.15.). Denemenin başlamasıyla birlikte kafesler 25 °C ve %50-70 neme ayarlanmış inkübatöre yerleştirilmiştir (Şekil 3.16.). Daha sonra 4 saat, 24 saat ve 48 saat boyunca ölü/canlı arı sayımı ve her sayımda enjektör ağırlıkları tartılarak arıların solüsyon tüketimi de hesaplanmıştır (Şekil 3.17.).



Şekil 3.14. Kafeslere arı aktarımı Şekil 3.15. Arıların ad libitum şekilde beslenmesi



Şekil 3.16. Kafeslerin inkübatöre konulması Şekil 3.17. Ölü/canlı arı sayımı

3.5. Analizde Kullanılan Cihaz Değerleri

Gutasyon sıvısında kalıntı analizleri 8030-triple SHIMADZU quadropole marka LC-MS/MS cihazda gerçekleştirilmiş ve cihaz LC ve MS kısımlarından oluşmaktadır (Şekil 3.18.).



Şekil 3.18. 8030-triple quadropole SHIMADZU LC/MS/MS cihazı

LC-MS/MS cihazının cihazdaki pompaları, basınç limitleri ve kolonla ilgili bilgileri çizelge 3.2, çizelge3.3. ve çizelge 3.4'te yer almaktadır.

Çizelge 3.2. LC-MS/MS cihazı şartları pompa ve basınç limitleri

Pompa	
Mod	Çiftli Gradyan
Toplam Akış	0,4000 mL/dk
Pompa B Konsantrasyon	5,00 %
Pompa B Eğrisi	0
Basınç Limitleri (Pompa A,B)	
Minimum	0 bar
Maximum	250-300 bar
Hücre Fırın Sıcaklığı	40 °C
Sıcaklık Limiti (Max)	85 °C

Çizelge 3.3. Kolon: C18 değerleri

Kolon C:18	
Ara yüz Voltajı	4,5 kV
Gerçekleşme Zamanı	0,206 sn
Ara Yüz	ESI
DL Sıcaklık	250 °C
Sisleştirici Gaz Akışı	3L/dk
Kurutma Gazı	15L/dk
Isı Blok Sıcaklığı	400 °C

Çizelge 3.4. LC-MS/MS Pompa Programı: Modül, zaman ve komut değerleri

Zaman	Modül	Komut	Değer
6.50	Pompalar	Pompa B Konsantrasyon	95
7.50	Pompalar	Pompa B Konsantrasyon	95
8.00	Pompalar	Pompa B Konsantrasyon	5
12.00	Kontrolcü	Stop	

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Thiamethoxam ve Cyantraniliprole LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri

Thiamethoxam ve cyantraniliprole etken maddesinin Bal arıları (*Apis mellifera anatolica*) üzerindeki toksikolojik testleri sonucunda LD₅₀ ve LD₉₀ değerleri hesaplanmıştır. İki etken maddeninde LD₅₀ ve LD₉₀ değerlerinde 24 saat ve 48 saat sonunda yapılan hesaplamalar sonucunda değerleri çizelge 4.1. ve çizelge 4.2. de verilmiştir.

Thiamethoxam'ın LD₅₀ değerleri karşılaştırıldığında cyantraniliprole'a göre yaklaşık 100 kat daha toksik olarak belirlenmiştir. LD₉₀ değerlerinde ise bu aradaki fark 44,5 kata düşmüştür. Uzun süreli olarak incelendiğinde ise kronik etki durumlarında cyantraniliprole de 48 saatte 9,3 kat toksisite artmasına rağmen thiamethoxam da 4,9 kat artmıştır. Bu durum LD₉₀ değerlerine geldiğinde ise thiamethoxam toksisitesi 24 saatten 48 saate 10 kat artarken cyantraniliprole 246 kat artmıştır. Bu sonuçlardan dolayı çok düşük dozlarda bile cyantraniliprole etkili maddeli insektisitlerin ciddi kronik toksisite çıkarabileceği tahmin edilebilmektedir.

Çizelge 4.1. Thiamethoxam LD_x denemelerinin sonuçları (ng/arı)

	24 saat	48 saat
LD ₅₀	1,234	0,247
LD ₉₀	5,893	1,759

Thiamethoxam'ın 24 saatte hesaplanan LD₅₀ değeri 1,234 ng/arı iken 48 saatte 0,247 ng/arı'ya düşmüştür (Çizelge 4.1.). Laurino vd. (2011) ise 24 saatte LD₅₀ değerini 4,67 ng/arı olarak ilacının direncini yaklaşık 4 kat fazla, 48 saatte 4,41 ng/arı olduğunu tespit etmişlerdir. Laurino vd. (2013) yaptıkları başka bir çalışmada LD₅₀ değerini 24 saate 4,40 ng/arı değerimize göre yaklaşık 3 kat fazla değer bulmuşlardır. Helen vd. (2014) ise LD₅₀ değerini 11,2 ug/arı 9 kat fazla yani çok daha yüksek bulmuşlardır. Thompson vd. (2014) ise thiametoxam için ise 11,2

ng/arı değerlerini bulmuşlardır. Thiamethoxamın LD₉₀ değeri 24 saatte 5,893 ng/arı, 48 saatte ise 1,759 ng/arı olarak, 24 saatte LD₉₀ 5 kat daha toksik bulunmuştur.

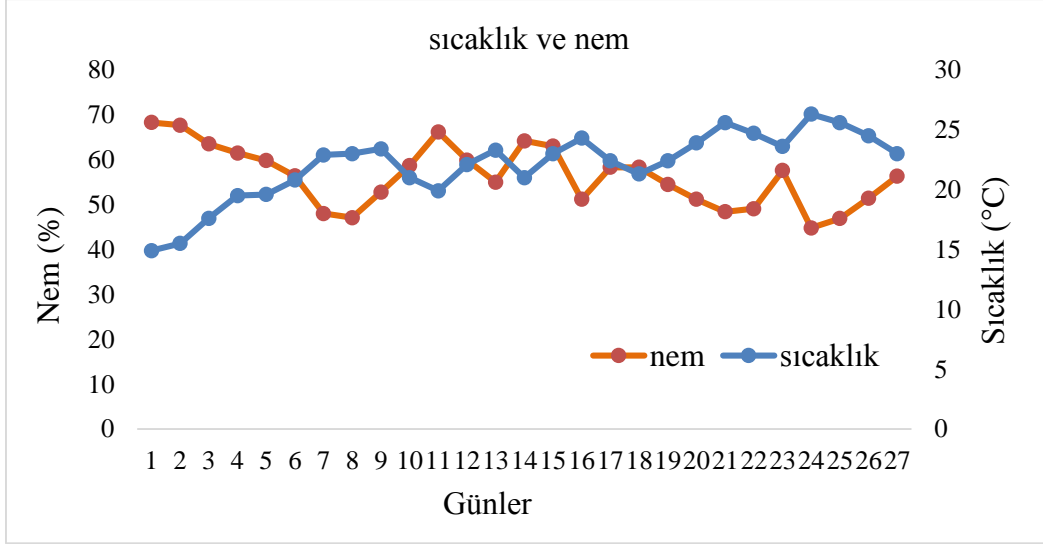
Çizelge 4.2. Cyantraniliprole LD_x denemelerinin sonuçları (µg/arı)

	24 saat	48 saat
LD ₅₀	0,103	0,011
LD ₉₀	5,919	0,024

Cyantraniliprole aktif maddesinin LD₅₀ değeri 24 saatte 0,103 µg/arı, 48 saatte ise 9 kat daha hassasiyet artmış olarak 0,011 µg/arı olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.2.). Hesaplanan LD₉₀ değerleri ise 24 saatte 5,919 µg/arı iken 48 saatte 0,024 µg/arı olduğu bekleme süresi arttıkça ilaca arının direncinin düştüğü bulunmuştur. Dinter ve Samel (2014) cyantraniliprole LD₅₀ değerini sonucumuzdan arı için daha hassas 0,39 µg/arı olarak bulmuşlardır.

4.2. İklim Verileri

Günlük ortalama sıcaklık ve ortalama nem değerleri şekil 4.1. 'de verildiği gibi gutasyon sıvısı çıkış süresince kayıt altına alınmıştır. Gutasyon sıvısı örneğinin alındığı ilk gün 08.05.2019 tarihinde ortalama sıcaklık değeri 15 °C iken ortalama nem değeri % 68 'dir. Gutasyon sıvısı çıkışının azaldığı son gün ortalama sıcaklık 23 °C ve günlük ortalama nem değeri ise % 56'dır. Wirtz vd. (2018) Gutasyon sıvısının 10°C - 14°C aralığında bitkide yoğun olarak çıktığını bildirmişlerdir. Bu çalışmadan 27 gün süresince gutasyon toplanabilecek miktarda bulunmuştur.



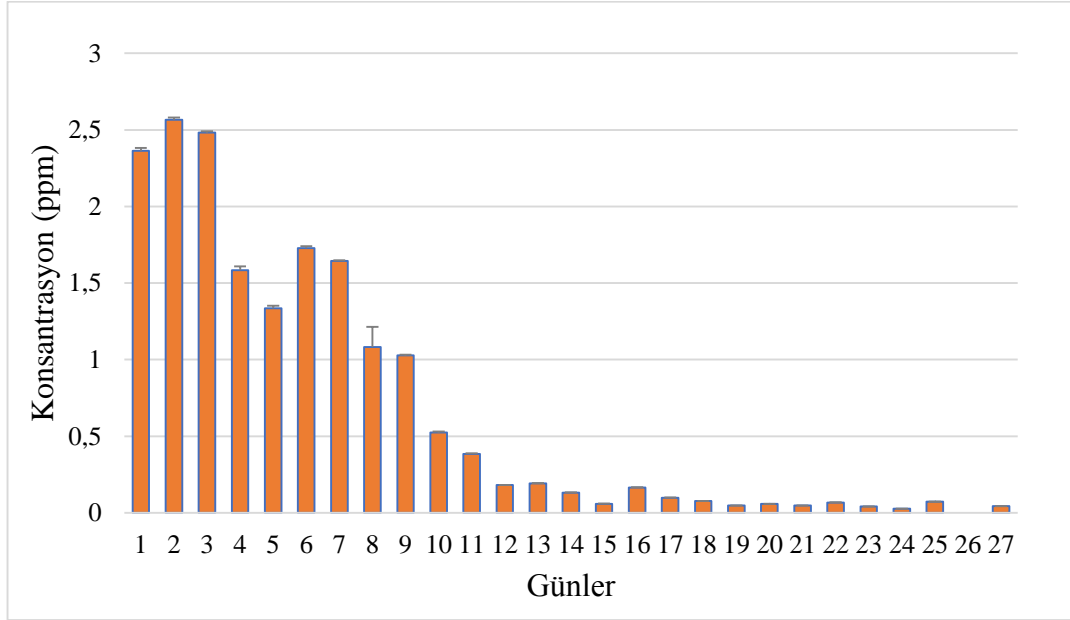
Şekil 4.1. Günlük ortalama sıcaklık ve ortalama nem değerleri

4.3. Gutasyon Sıvısında Thiamethoxam Kalıntısı

Gutasyon sıvısı vejetasyon boyunca takip edilmiş fakat 27 gün yeteri kadar toplanabilmiş ve son günlere doğru sıvı miktarında azalma ortaya çıkmıştır. Gutasyon sıvıları 2,56 ppm ile 0,02 ppm konsantrasyonları arasında tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyon 2,56 ppm ile 2. günde bulunurken en düşük değer 0,02 ppm ile 24. günde tespit edilmiştir. Gutasyon sıvısında tespit edilen thiamethoxam kalıntı miktarı ilk üç günde en yüksek konsantrasyonlar da olup 1. günde 2,36 ppm, 2. günde 2,56 ppm ve 3. günde 2,48 ppm değerlerinde bulunmuştur. 4. günde 1,58 ppm, 5. günde 1,33 ppm, 6. günde 1,72 ppm ve 7. günde 1,6 ppm konsantrasyonlarında tespit edilmiştir. Bir hafta boyunca konsantrasyon seviyeleri 2,36 ppm ile 1,08 ppm konsantrasyonları arasında bulunmuş olup, 7. ve 15. gün arasında 1,02 ppm ile 0,16 ppm arasında konsantrasyonlar da tespit edilmiştir. İkinci haftadan sonra 0 ppm değerlerinde azalarak devam etmiştir (Şekil 4.2.). Gutasyon sıvısı ilk günlerde en yüksek seviyede bulunmuş olup diğer günlerde azalarak devam etmiştir ve gutasyon sıvısında thiamethoxam taşındığı görülmektedir.

Tapparo vd. (2011) mısır bitkilerinden topladıkları gutasyon sıvısında en yüksek thiamethoxam konsantrasyonu 146 ppm olarak bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değerden çok daha yüksek konsantrasyonda tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada Girolami vd. (2009) ise mısır gutasyon sıvısında thiamethoxam konsantrasyonunu 11,9 ppm değerinde bizim değerimizden 5 kat fazla oranda bulmuşlardır. Wirtz vd. (2018) şeker pancarı bitkisinden topladıkları gutasyon

sıvısındaki thiamethoxam konsantrasyonunu 2,08 ppm değerinde tespit etmişlerdir. Farklı bitkide çalışmamıza yakın oranlarda thiamethoxam konsantrasyonu bulmuşlardır.

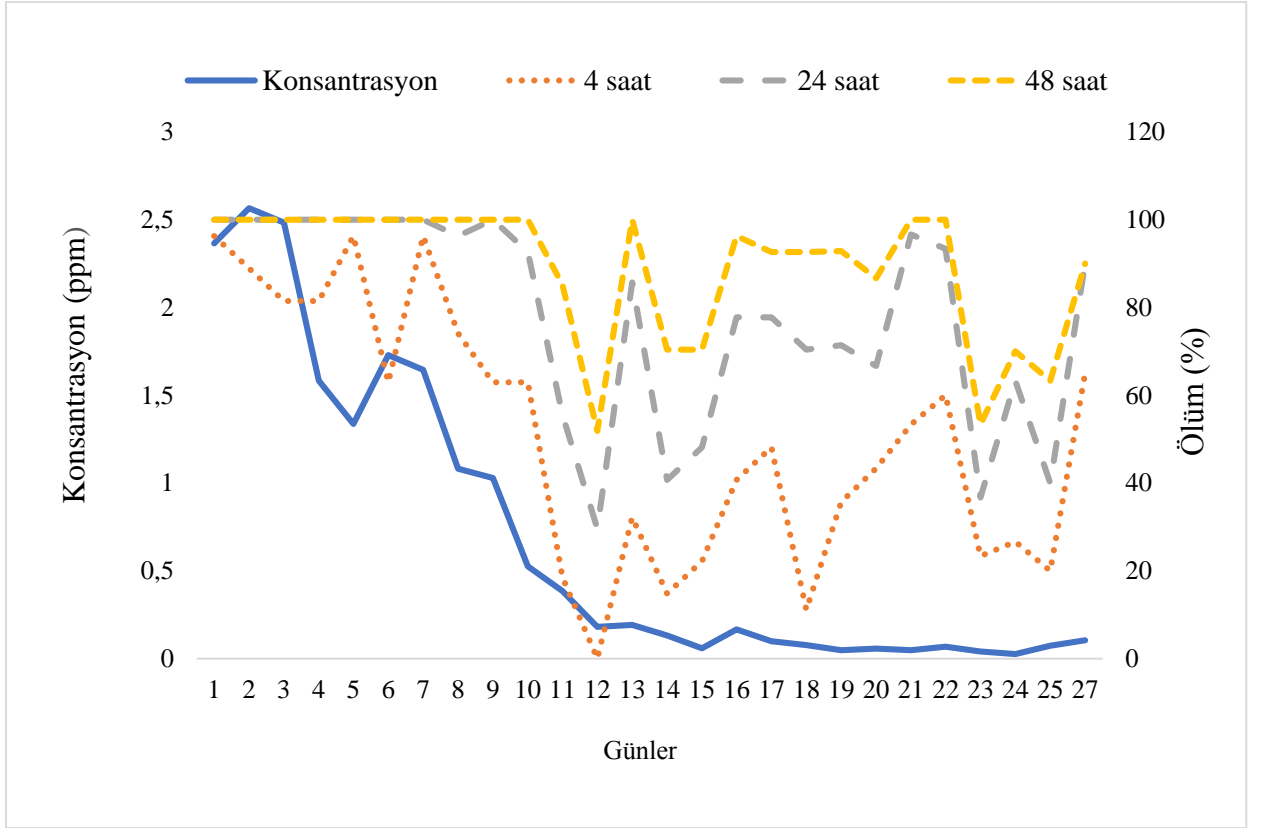


şekil 4.2. Thiamethoxam'ın gutasyon sıvısında pestisit kalıntısı mg/L (ppm)

4.4. Gutasyon Sıvısında Tespit Edilen Thiamethoxamın Bal Arılarına Etkisi

Gutasyon sıvıları kullanılarak laboratuvarında yapılan çalışmalarda thiamethoxam kalıntısına paralel olarak bal arılarındaki ölüm oranları 4 saat, 24 saat ve 48 saat denemelerinde ilk 10 günde tespit edilen yüksek kalıntı sebebiyle yüksek ölüm oranları gözlemlenmiştir (şekil 4.3.). Ölüm oranları ilk 4 saatte % 96 ve % 100 oranlarında tespit edilmiştir. En yüksek ölüm oranı % 96 ile 1. 5. ve 8. günlerde, en düşük ölüm oranı ise 12. günde tespit edilmiştir. İlk 24 saatte ölüm oranları en düşük % 30 ile en yüksek % 100 değerleri arasında tespit edilmiştir. En fazla ölüm oranları ilk 10 günde gerçekleşmiştir. En düşük ölüm oranları ise 12. günde % 30 oranlarında bulunmuştur. 48 saatte ise ölüm oranlarında en düşük % 52 ve en yüksek % 100 değerleri tespit edilmiştir. En yüksek ölümler ilk 10 günde % 100 oranlarında bulunurken, en düşük ölüm oranı 12. günde tespit edilmiştir. şekil 4.3'te 12. gün verilerinde gutasyon sıvısı arı ölümlerinde anormal değerlerde düşüş gözlemlenmesinin yağmurlu hava şartlarından kaynaklandığı tespit edilmiştir. 4 saat, 24 saat ve 48 saatte gerçekleştirilen sayımların her

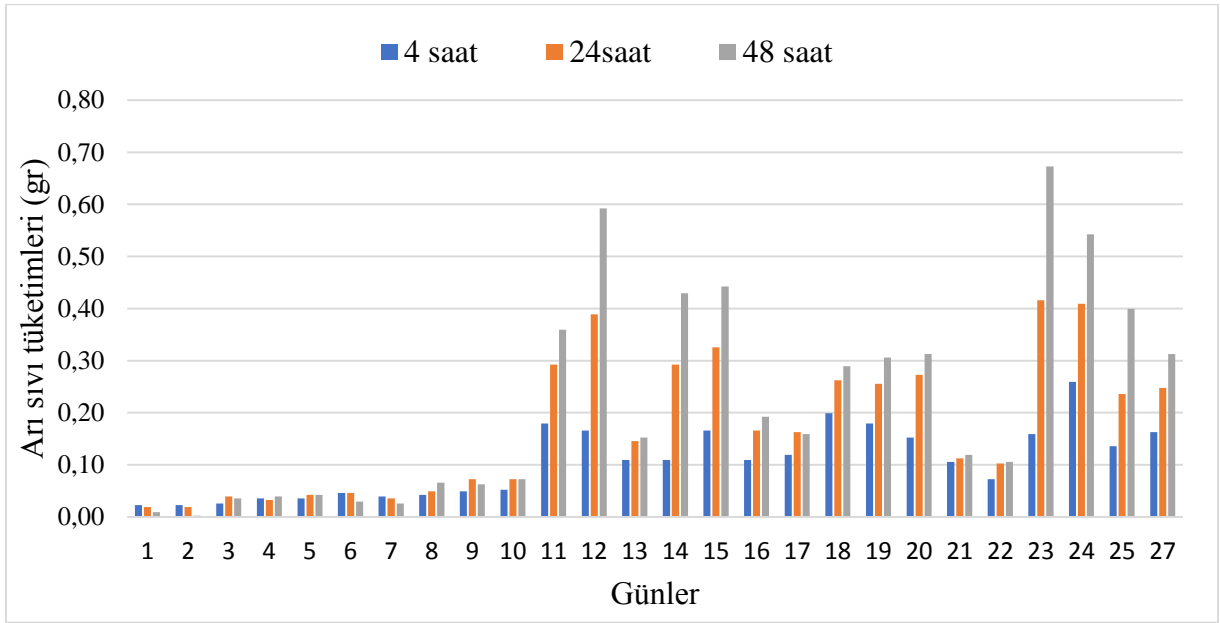
birinde; 10. günden sonra ölüm oranlarında konsantrasyon yoğunluğuna bağlı dalgalanmalar görülmüştür. Girolami vd. (2009) gutasyon sıvısındaki imidacloprid, clothianidin ve thiamethoxam'a maruz kalan bal arılarının 1-2 dakika içerisinde öldüğünü belirtmiştir. Bir diğer çalışmada ise bizim çalışmamıza benzer şekilde Nikolakis vd. (2015) gutasyon sıvısının ilk başta arılar için öldürücü oranda kalıntı içerdiği ancak zamanla azaldığını tespit etmiştir. Kontrol grubu arı denemesi ölüm oranları incelediğinde ilk 4 saatte % 10 oranlarında gözlemlenirken 24 saatte % 21 ve 48 saatte ise %30 oranlarında ölüm oranları tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. Gutasyon sıvısındaki thiamethoxam konsantrasyonlarının bal arılarına 4, 24 ve 48 saatte toksikolojik etkisi

Gutasyon sıvısıyla hazırlanan solüsyondan beslenen arıların günlük besin tüketimleri, her kafeste bulunan 10 arının tüketim miktarları şekil 4.4.'te verilmiştir. Tüketim miktarları ortalama 4 saatte 0,1 gr, 24 saatte 0,2 gr ve 48 saatte ise 0,3 değerlerinde bulunmuştur. 4 saatte arı solüsyon tüketimleri değerlendirildiğinde tüketim oranı en yüksek 0,2 gr ile 24. günde en az

tüketim oranı ise 0,02 gr ile 1. gün ve 2. günde tespit edilmiştir. 24 saat solüsyon tartımları değerlendirildiğinde en yüksek tüketim 0,4 gr ile 24. günde en az tüketim oranı ise 0,02 ile 1. gün ve 2. günde bulunmuştur. 48 saatte en yüksek tüketim 0,6 gr ile 23. günde ve en az tüketim oranı ise 0,01 gr ile 1. gün ve 2. günde tespit edilmiştir. Arıların ilk 10 günde sıvı tüketimlerinin düşük olarak bulunmasının sebebi, arıların yüksek ilaç konsantrasyonlarında daha az sıvı tüketmesi ve ölümün daha fazla olması olduğu düşünülmektedir.

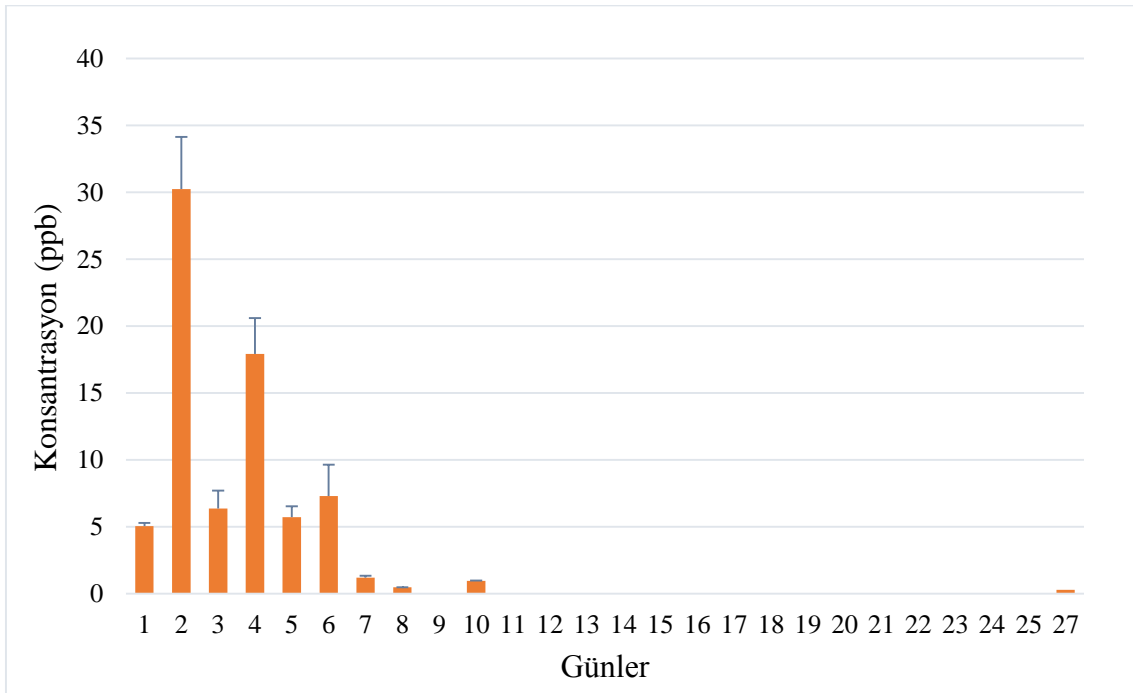


Şekil 4.4. Kafes başına ortalama 4 saat, 24 saat ve 48 saatte solüsyon tüketimleri (gr)

4.5. Gutasyon Sıvısında Cyantraniliprole Kalıntısı

Cyantraniliprole ile kaplanan tohumların ekildiği mısır parsellerinden 27 gün boyunca toplanan gutasyon sıvısında tespit edilen konsantrasyon (ppb) grafiği şekil 4.5.'te verilmiştir. Cyantraniliprole'de çok daha düşük konsantrasyonda ilaç bulunmuştur. Gutasyon sıvıları 30,2 ppb ile 0,2 ppb konsantrasyonları arasında tespit edilmiştir. En yüksek konsantrasyon 30,2 ppb ile 2. günde bulunurken en düşük değer 0,2 ppb ile 27. günde tespit edilmiştir. Gutasyon sıvısında tespit edilen cyantraniliprole kalıntı miktarı ilk üç günde 1. gün 5,0 ppb, 2. gün en yüksek konsantrasyon olan 30,2 ppb, 3. gün 6,3 ppb değerlerinde bulunmuş olup, konsantrasyon değerleri 4.gün 17,9 ppb, 5. gün 5,7 ppb, 6. gün 7,2 ppb ve 7.gün 1,1 ppb bulunmuştur (Şekil 4.5.). Daha sonra 8. gün 0,4 ppb, 9. gün kalıntı tespit edilememiş, 10. gün

0,9 µg/L olarak tespit edilmiştir. Sonuçlarda ilk 10 günün cyantraniliprole analiz verilerinde gutasyon kalıntısı saptanırken, daha sonraki günlerde herhangi bir kalıntı tespit edilememesine rağmen son gün olan 27. gün 0,2 ppb konsantrasyonun da kalıntı tespit edilmiştir. Tespit edilen bu konsantrasyon değeri 10. günden sonra gutasyon sıvısında kalıntının olduğu ve bu kalıntı miktarının tespit edilebilir limit değerinin altında olduğu 27. günde tespit edilen kalıntı verileriyle ve gutasyon sıvısının bal arılarına toksikolojik etkisi incelendiğinde şekil 4.6. ile desteklenmektedir.

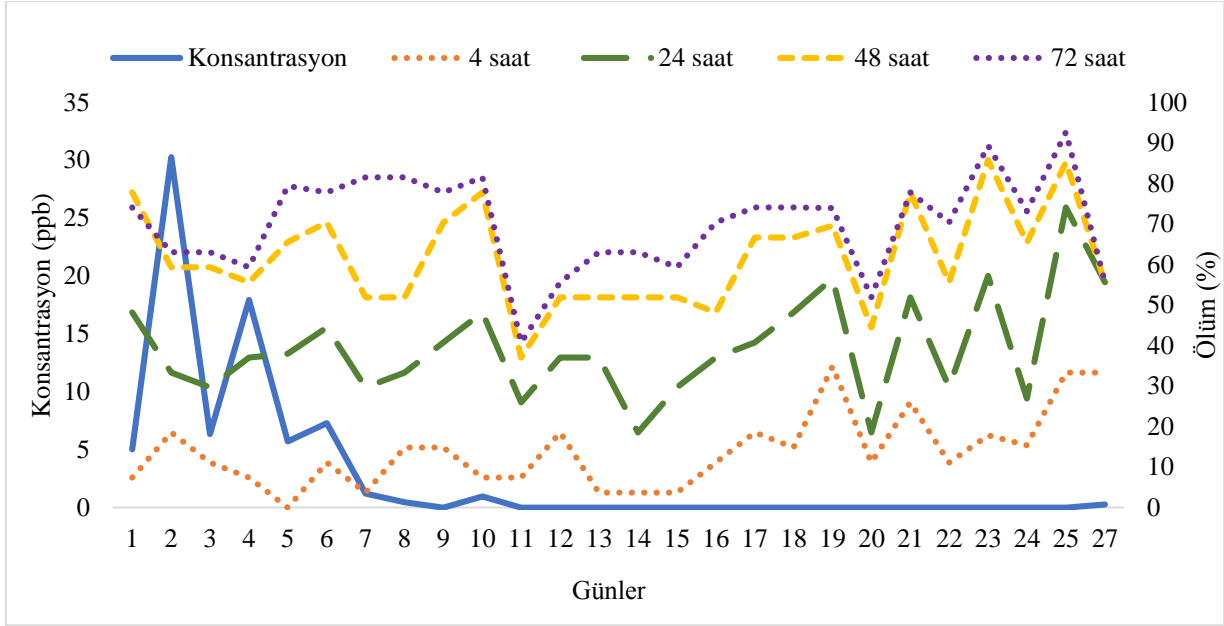


Şekil 4.5. Cyantraniliprole'nin pestisit kalıntısı gutasyon sıvısı ppb (µg/L)

4.6. Gutasyon Sıvısında Tespit Edilen Cyantraniliprolenin Bal Arılarına Etkisi

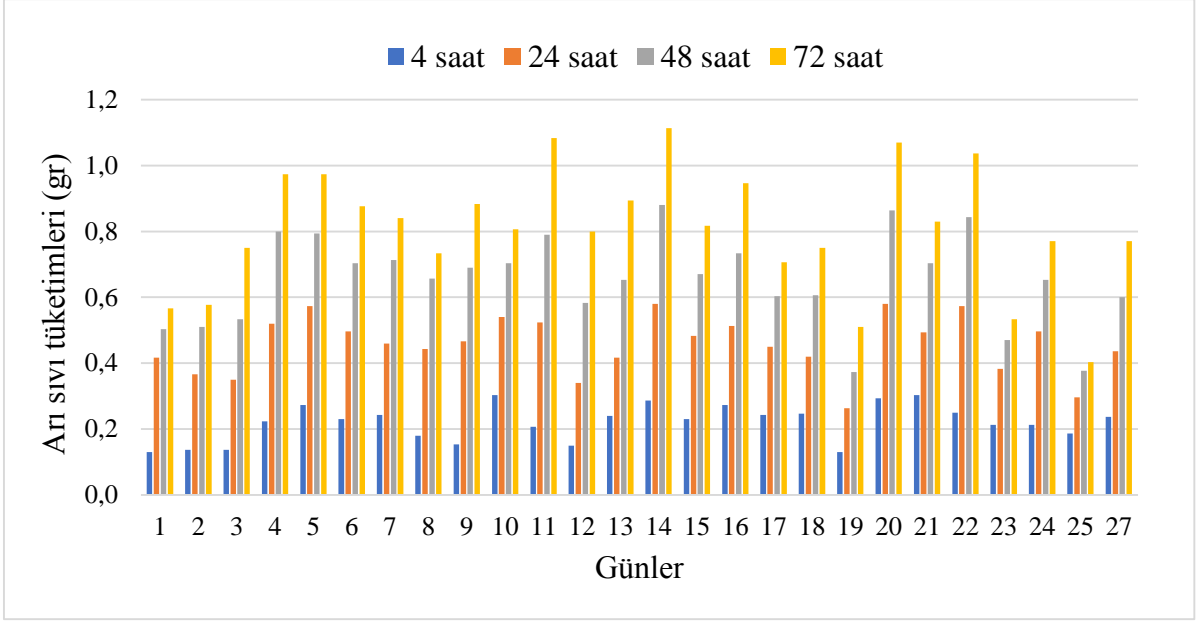
Bal arılarında gerçekleşen ölüm oranları gutasyon sıvısındaki cyantraniliprole kalıntısı sonuçlarına paralel olarak gerçekleşmiştir. Cyantraniliprole konsantrasyonunun arı ölümlerine etkisininin hesaplanmasında sayımlar şekil 4.6.'da verilmiş olup, sayımlar arı ölüm oranlarının az olmasından dolayı 72 saate kadar uzatılmıştır. İlk 4 saatte ölüm oranları % 35 ile % 0 oranlarında tespit edilmiştir. En yüksek ölüm oranı % 35 ile 19 günde, en düşük ölüm oranı ise 5. günde tespit edilmiştir. İlk 24 saatte ölüm oranları en düşük % 19 ile en yüksek % 74

değerleri arasında tespit edilmiştir. 48 saatte ise ölüm oranlarında en düşük % 37 ve en yüksek % 86 değerleri tespit edilmiştir. En yüksek ölümler ilk 23. günde % 86 oranlarında bulunurken, en düşük ölüm oranı 11. günde % 37 tespit edilmiştir. Kontrol grubu arı denemesi ölüm oranları incelediğinde ilk 4 saatte % 11 oranlarında gözlemlenirken 24 saatte % 23, 48 saatte %30 ve 72 saatte ise % 34 oranlarında ölüm oranları tespit edilmiştir.



Şekil 4.6. Gutasyon sıvısındaki cyantraniliprole konsantrasyonlarının bal arılarına 4, 24, 48 ve 72 saatteki toksikolojik etkisi

Gutasyon sıvısıyla hazırlanan solüsyondan beslenen arıların günlük besin tüketimleri, her kafeste bulunan 10 arının tüketim oranları şekil 4.7.'de verilmiştir. Tüketim oranları ortalama 4 saatte 0,2 gr, 24 saatte 0,5 gr, 48 saatte 0,6 gr ve 72 saat tartımlarında 0,8 gr değerlerinde bulunmuştur. 4 saatte arı solüsyon tüketimleri değerlendirildiğinde tüketim oranı en yüksek 0,3 gr en az tüketim oranı ise 0,1 gr ile 1. gün, 2. gün, ve 3. günde tespit edilmiştir. 24 saat solüsyon tartımları değerlendirildiğinde en yüksek tüketim 0,6 gr ve en az tüketim oranı ise 0,3 gr bulunmuştur. 48 saatte en yüksek tüketim 0,9 gr ve en az tüketim oranı ise 0,4 gr olarak hesaplanmıştır. 72 saate ise en yüksek tüketim 1,1 gr ve en az tüketim oranı ise 0,4 gr olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.7. Kafes başına 4 saat, 24 saat, 48 saat ve 72 saatte solüsyon tüketimleri (gr)

5. SONUÇ

Tohumları, thiamethoxam ve cyantraniliprole ile kaplanan mısır bitkileri iki yapraklı döneme geldiğinde, gutasyon sıvısı vejetasyon süresi boyunca örnekler alınmıştır. Sonuçta gutasyon sıvısı ilk günlerde en yüksek seviyede bulunmuş olup diğer günlerde azalarak devam etmiştir ve gutasyon sıvısında pestisitlerin taşındığı saptanmıştır. Thiamethoxam kalıntı miktarı 0,04 ppm ve 2,56 ppm değerleri aralığında, cyantraniliprole kalıntı miktarı 0,27 ppb ve 30,2 ppb değerleri arasında bulunmuştur. Gutasyon sıvısındaki kalıntıların bal arılarında risk oluşturduğu yapılan çalışmalarda saptanmıştır.

Gutasyon sıvısının bal arılarında toksikolojik testi değerlendirildiğinde thiamethoxam ve cyantraniliprole etkili maddelerinin gutasyon sıvısında tespit edilen konsantrasyonuna paralel ölümlerin gerçekleştiği saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen veriler sonucunda gutasyon sıvısında sistemik tohum ilaçlarının olduğu ve gutasyon sıvısının bitkide tespit edildiği ilk günlerde yoğun insektisit konsantrasyonlarına maruz kalan bal arılarının, gutasyon sıvısındaki insektisitlere maruz kaldığı ve arılara risk oluşturduğu tespit edilmiştir. Arıların gutasyondaki pestisit kalıntısına maruziyeti arttıkça ölüm oranlarında ciddi şekilde artmaktadır. Farklı gruplardan sistemik tohum ilaçlarının çalışmalarda kullanılması ve arılara toksikolojik denemelerin arazi koşullarında araştırılması gerekmektedir.

LD₅₀ denemelerinde thiamethoxam etken maddesine karşı arıların daha hassas olduğu ve bekleme süresi arttıkça arıların iki etkili maddeye olan hassasiyetinin arttığı sonucuna varılmıştır. Bal arıları üzerinde yapılan diğer LD₅₀ çalışmalarıyla denememiz arasındaki farklılıklarının sebepleri; iklimsel farklılıklar, arı ırk hassasiyet farklılıkları ve pestisit doz farklılıkları olarak belirlenmiştir. Bu yüzden bu çalışmalar her ülkede test edilmeli ve farklı çalışmalar ırklar üzerinde yoğun olarak yapılmalıdır. Bundan dolayı yapılan bu çalışmanın anadoluya özgü arı ırkıyla yapılması ülkedeki riski belirleme açısından ilk çalışma niteliğindedir.

KAYNAKLAR

- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Štajnbaher, D., Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86, 412-431.
- Anonim, (2019a).
https://www.syngenta.com.tr/sites/g/files/zhg251/f/cruiser_350_fs_etiket.pdf?token=1522761732,
[Erişim Tarihi: 16.09.2019]
- Anonim, (2019b).
https://www.syngenta.com.tr/sites/g/files/zhg251/f/fortenza_600_fs_etiket.pdf?token=1554961946,
[Erişim Tarihi: 02.12.2019]
- Anonim, (2020a). <https://www.biyologlar.com/bitkilerde-su-kaybi>, [Erişim Tarihi:02.02.2020]
- Anonim, (2020b).
https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/Uretici_Bilgi_Kosesi/Dokumanlar/misir.pdf
[Erişim Tarihi :15/06/2020]
- Anonim, (2021). https://www.syngenta.com.tr/sites/g/files/zhg251/f/fortenza_600_fs_etiket.pdf?token=1542951705, [Erişim tarihi: 09.08.2019]
- Arslan, Y. (2017). Mısır bitkisinin tarihi. <http://kitaptarih.com/misir-bitkisinin-tarihi.html> [Erişim Tarihi: 20/09/2019]
- Babaoğlu, M. (2005). Mısır ve tarımı. <https://docplayer.biz.tr/6279468-Trakya-tarimsal-arastirma-enstitusu-mudurlugu-edirne.html> [Erişim Tarihi: 20/09/2019]
- Barry, J. D., Portillo, H.E., Annan, I.B., Cameron, R.A., Clagg, D.G., Dietrich, R.F., ... Kaczmarczyk, R.A. (2014). Movement of cyantraniliprole in plants after foliar applications and its impact on the control of sucking and chewing insects. *Pest Management Science*, 71, 395-403.
- Chen, C. C., Chen, Y. R. (2007). Study on laminar hydathodes of *Ficus formosana* (Moraceae) III. Salt injury of guttation on hydathodes, *Botanical Studies*, 48(2), 215-226.

- Delaplane, K. S., Mayer D.F. (2000). *Crop pollination by bees*. CABI Publishing, Cambridge.
- Dinter, A., Samel, A. (2014). Cyantraniliprole: Pollinator profile of the novel insecticides under laboratory, semi-field and field conditions. Hazards of pesticides to bees. *12th International Symposium of the ICP-PR Bee Protection Group*, Ghent (Belgium).
- EPA, (2008). Pesticide fact sheet, Chlorantraniliprole. http://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-090100_01-Apr-08.pdf [Erişim Tarihi: 09/01/2020]
- EPA, (2021). <https://cfpub.epa.gov/ecotox/> [Erişim Tarihi :12/05/2021]
- FAO, (2020). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> [Erişim Tarihi: 23/10/2020]
- FAO, (2021). <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Erişim Tarihi: 9/01/2021]
- Girolami, V., Mazzon, L., Squartini, A., Mori N., Marzaro, M., Di Bernardo A., Greatti, M., Giorio, C., Tapparo, A. (2009). Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *Journal of Economic Entomolog*, 102(5),1808-1815.
- Goulson, D. (2013). Neonicotinoids and bees: What's all the buzz?. *Significance*, 10(3), 6-11.
- Haire, B. (2014). Are seed treatments worth the investment? Southeast Farm Press. <http://southeastfarmpress.com/soybeans/are-seed-treatments-worth-investment> [Erişim Tarihi: 08/09/2018]
- Ivanoff, S. (1993). Guttation injuries of plants. *The Botanical Review*, 29: 202-229.
- Joachimsmeier, I., Pistorius, J., Heimbach, U., Schenke, D., Kirchner, W., Zwerger, P. (2012). Frequency and intensity of guttation events in different crops in Germany. *11th International Symposium of the ICP-BR Bee Protection Group* (pp. 2-4). Wageningen (The Netherlands).
- Karmakar, R., Kulshrestha, G. (2009). Persistence, metabolism and safety evaluation of thiamethoxam in tomato crop. *Pest Management Science*, 65(8), 931–937.

- Kollmeyer, W.D., Flattum, R.F., Foster, J.P., Powell, J.E., Schroeder, M.E., Soloway, S.B. (1999). Discovery of the nitromethylene heterocycle insecticides. In: Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor (Yamamoto I. and Casida J. Eds.), *Springer-Verlag*, (pp.71–89), Tokyo.
- Krupke, C.H., Long, E.Y. (2015). Intersections between neonicotinoid seed treatments and honey bees. *Current Opinion in Insect Science*, 10, 1-6.
- Kün, E. (1997). *Tahıllar II (Sıcak İklim Tahılları)*. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları Ders Kitabı, Ankara.
- Lahm, G. P., Cordova, D., Barry, J. D. (2009). New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17, 4127-4133.
- Laurino, D., Manino, A., Patetta, A., Porporato, M. (2011). Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. *Bulletin of Insectology*, 64 (1), 107-113.
- Laurino, D., Manino, A., Patetta, A., Porporato, M. (2013). Toxicity of neonicotinoid insecticides on different honey bee genotypes. *Bulletin of Insectology*, 66 (1), 119-126.
- Laycock, I., Cotterell, K.C., O’Shea-Wheller, T.A., Cresswell, J.E. (2014). Effects of the neonicotinoid pesticide thiamethoxam at field-realistic levels on microcolonies of *Bombus terrestris* worker bumble bees. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 100, 153–158.
- Li, Z., Li, M., He, J., Zhao, X., Chaimanee, V., Huang, W., Nie, H., ... Su, S. (2017). Differential physiological effects of neonicotinoid insecticides on honey bees: A comparison between *Apis mellifera* and *Apis cerana*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 140, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2017.06.010>
- Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., ... Widmer, H. (2001). Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest Management Science*, 57, 906-913.

- Mc Gregor S.E. (1976). *Insect Pollination of Cultivated Crop Plants*. Agriculture Handbook 496, United States Department of Agriculture : Washington DC.
- Mörtl, M., Darvas, B., Vehovszky, A., Győri, J., Székács, A. (2019). Contamination of the guttation liquid of two common weeds with neonicotinoids from coated maize seeds planted in close proximity. *Science of the Total Environment*, 649, 1137–1143.
- Mundy-Heisz, K. A., Prosser, R. S., Raine, N. E. (2020). Acute oral toxicity and risks of exposure to the neonicotinoid thiamethoxam, and other classes of systemic insecticide, for the Common Eastern Bumblebee (*Bombus impatiens*). doi:<https://doi.org/10.1101/2020.01.27.921510>
- Nikolakis, A., Keppler, J., Miles, M., Schoening, R. (2015). Neonicotinoid seed treatment products—occurrence and relevance of guttation for honeybee colonies, *Julius-Kühn-Archiv*, 450, 160.
- OECD (1998). OECD Guidelines for Testing of chemicals Honeybees, Acute Oral Toxicity Test
- Penelope, R. W., Stephanie O., Felix L. W., Dave, G. (2012). Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 20, 336 (6079), 351-352.
- Pistorius, J., Brobyn, T., Campbell, P., Forster, R., Lortsch, J. A., Marolleau, F., Becker, R. (2012). Assessment of risks to honey bees posed by guttation. *Julius-Kühn-Archiv*, 437, 199.
- Pubchem, (2019a). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5485188> [Erişim Tarihi: 09.01.2019]
- Pubchem, (2019b). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cyantraniliprole#section=Structures> [Erişim Tarihi: 09.01.2020]
- Reetz, J. E., Schulz, W., Seitz, W., Spiteller, M., Zühlke, S., Armbruster, W., Wallner, K. (2015). Uptake of neonicotinoid insecticides by water-foraging honey bees (Hymenoptera: Apidae) through guttation fluid of winter oilseed rape. *Journal of Economic Entomology*, 109(1), 31-40.

- Roditakis, E., Vasakis, E., Grispou, M., Stavrakaki, M., Nauen, R., Gravouil, M., Bassi, A. (2015). First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *Journal of Pest Science*, 88, 9–16.
- Sattelle D. B., Cordova, D., Cheek, T. R. (2008). Insect Ryanodine Receptors: Molecular Targets For Novel Control Chemicals. *Invert Neurosci*, 8, 107– 119.
- Selby, T. P., Lahm, G. P., Stevenson, T. M. (2016). A retrospective look at anthranilic diamide insecticides: discovery and lead optimization to chlorantraniliprole and cyantraniliprole. *Pest Management Science*, 73(4), 658-665. doi: 10.1002/ps.4308
- Software, L. 1994 POLO-PC : A User’s Guide to Probit or Logit analysis LeOra Software, Berkeley, CA.
- Suchail, S., Guez, D., Belzunces L. P. (2009). Characteristics of imidacloprid toxicity in two *apis mellifera* subspecies. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19(7), 1901-1905. <https://doi.org/10.1002/etc.5620190726>
- Şahin, S. (2001). Türkiye’de mısır ekim alanlarının dağılışı ve mısır üretimi. *G.Ü. Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 21(1), 73-90.
- Tapparo, A., Giorio, C., Marzaro, M., Marton, D., Soldà, L., Girolami, V. (2011). Rapid analysis of neonicotinoid insecticides in guttation drops of corn seedlings obtained from coated seeds. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(6), 1564-1568.
- Thompson, H. M. (2010). Risk assessment for honey bees and pesticides—recent developments and ‘new issues’. *Pest Management Science*, 66, 1157-1162.
- Thompson, H.M., Fryday, S.L., Harkin, S., Milner, S. (2014). Potential impacts of synergism in honeybees (*Apis mellifera*) of exposure to neonicotinoids and sprayed fungicides in crops. *Apidologie*, 45, 545–553.
- Turgut, C. 2015. Adnan Menderes Üniversitesi Ders Notları.
- Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK]. (2020a). <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?locale=tr> [Erişim Tarihi:23/10/2020]

Türkiye İstatistik Kurumu [TÜİK]. (2020b).

<https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=tarim-111&dil=1> [Erişim Tarihi: 23/10/2020]

Wirtz, I. P., Hauer-Jákli, M., Schenke, D., Ladewig, E., Märländer, B., Heimbach, U., Pistorius, J. (2018). Investigations on neonicotinoids in guttation fluid of seed treated sugar beet: Frequency, residue levels and discussion of the potential risk to honey bees. *Crop Prot*, 105, 28–34.

Yalçın, M. ve Turgut, C. (2014). Bal Arılarında Koloni Kaybı. *Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi*, 13(1), 151 – 157.

Yamamoto, I. Casida, J. E. (1999). *Nicotinoid Insecticides and the Nicotinic Acetylcholine Receptor*. Springer : Tokyo.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“MISIR GUTASYON SIVISINDA THIAMETHOXAM ve CYANTRANİLİPROLE KALINTISI ve ARILARA TOKSİK ETKİSİNİN BELİRLENMESİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Zeliha ŞİMŞEK

24/08/2021