T.C.
BİNGÖL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLOR DİOKSİTİN BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) BİTKİSİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER SÜREÇLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ZEYNEP SEZER

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Nevzat ESİM

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Uğur ÇAKILCIOĞLU

BİNGÖL-2021

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmalarım süresince benden yardımlarını, anlayışını ve bilgi birikimini esirgemeyen, her türlü gerekli desteği veren, sabır ile ilgilenen değerli danışman hocam Prof. Dr. Nevzat ESİM'e,

Her türlü bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Ekrem DARENDELİOĞLU'na, Doç. Dr. Adnan AYNA'ya, Dr. Öğr. Üyesi Musa TARTIK'a, Arş. Gör. Gürkan AYKUTOĞLU'na, ve diğer bölüm hocalarıma,

Tez ve labarotuvar çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Sedriye ÇATKIN'a, Dilek KORKMAZ'a, Esra MESCİ'ye, İbrahim BAYAV'a, Sıdıka AÇIKGÖZ'e, Begüm KILIÇ'a

Son olarak da her daim yanımda olan aileme ve amcam Abdullah SEZER'e teşekkür ediyorum.

Zeynep SEZER
Bingöl 2021

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ..... ii
İÇİNDEKİLER..... iii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ..... v
ŞEKİLLER LİSTESİ..... vi
TABLOLAR LİSTESİ..... ix
ÖZET..... xi
ABSTRACT..... xiii

1. GİRİŞ..... 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ..... 16

3. MATERYAL VE YÖNTEM..... 21
3.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları..... 21
3.2. Kullanılan Yöntemler..... 25
3.2.1. Bitki Çimlendirme ve ClO_2 Uygulamasının Yapılması 25
3.2.2. Lipit Peroksidasyon Aktivitesinin Belirlenmesi..... 29
3.2.3. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi..... 29
3.2.4. Süperoksit Anyon Miktarının Belirlenmesi..... 30
3.2.5. Hücresel Proteinlerin Belirlenmesi..... 31
3.2.5.1. Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi..... 31
3.2.5.2. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi..... 32
3.2.5.3. Süperoksit dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi..... 32
3.2.6. α-Amilaz Aktivitesinin Belirlenmesi..... 32
3.2.7. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi ve Protein Miktar Tayini..... 33
3.2.7.1. Protein Miktar Tayini..... 33

3.2.7.2. Protein Ekstraksiyonu ve Jel İçin Hazırlanması…… 34

5. BULGULAR VE TARTIŞMA…….. 36

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER……..... 65

KAYNAKLAR……... 66
ÖZGEÇMİŞ……...…… 77

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

GKK : Gerek 79 kontrol kök

G50K : Gerek 79 50 mg/L ClO_2 kök

G100K : Gerek 79 100 mg/L ClO_2 kök

GKG : Gerek 79 kontrol gövde

G50G : Gerek 79 50 mg/L ClO_2 gövde

G100G : Gerek 79 100 mg/L ClO_2 gövde

KKK : Kızıltan kontrol kök

K50K : Kızıltan 50 mg/L ClO_2 kök

K100K : Kızıltan 100 mg/L ClO_2 kök

KKG : Kızıltan kontrol gövde

K50G : Kızıltan 50 mg/L ClO_2 gövde

K100G : Kızıltan 100 mg/L ClO_2 gövde

µL : Mikrolitre

µM : Mikromolar

E.U. : Enzim ünitesi

CAT : Katalaz

POD : Peroksidaz

SOD : Süperoksit dismutaz

TBA : Tiobarbutirik asit

TCA : Trikloroasetik asit

Mg : Miligram

mM : Milimolar

EDTA : Etilendiamin tetra asetik asit

NBT : Nitroblue tetrazolium klorür

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Gerek 79 bitkisinin kontrol grubunun 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü…… 26

Şekil 3.2. Gerek 79 bitkisinin 50 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü…….. 26

Şekil 3.3. Gerek 79 bitkisinin 100 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü…… 27

Şekil 3.4. Kızıltan bitkisinin kontrol grubunun 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü……. 27

Şekil 3.5. Kızıltan bitkisinin 50 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü…… 28

Şekil 3.6. Kızıltan bitkisinin 100 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü……. 28

Şekil 3.7. Hidrojen peroksit standart grafiği……...…… 30

Şekil 3.8. Süperoksit anyon standart grafiği……...…… 31

Şekil 3.9. Bradford yöntemiyle proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan standart grafik…….. 33

Şekil 4.1. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının lipit peroksidasyon miktarıları…….. 39

Şekil 4.2. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının lipit peroksidasyon miktarları…… 39

Şekil 4.3. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının hidrojen peroksit miktarları……. 41

Şekil 4.4. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının hidrojen peroksit miktarları……... 42

Şekil 4.5. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit anyon miktarları…….. 43

Şekil 4.6. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 tüm gruplarının süperoksit anyon miktarları …… 44
Şekil 4.7. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit dismutaz miktarları…… 45
Şekil 4.8. Kızıltan bitkisinin kontrol ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit dismutaz miktarları……. 46
Şekil 4.9. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının peroksidaz miktarları…… 47
Şekil 4.10. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının peroksidaz miktarları……. 48
Şekil 4.11. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının katalaz miktarları…… 49
Şekil 4.12. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının katalaz miktarları…… 50
Şekil 4.13. Gerek bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları …… 51
Şekil 4.14. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları……. 52
Şekil 4.15. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının SDS-PAGE görüntüsü……. 52
Şekil 4.16. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının SDS-PAGE görüntüsü…… 53
Şekil 4.17. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının α-amilaz miktarları……. 54
Şekil 4.18. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının α-amilaz miktarları……. 55
Şekil 4.19. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının K miktarları……. 56
Şekil 4.20. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının K miktarları……..... 57

Şekil 4.21. Gerek 79 bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının Na miktarları…….. 58
Şekil 4.22. Kızıltan bitkisinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının Na miktarları…….. 59

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1. 3 farklı buğday çeşidinin genom yapıları…… 10

Tablo 1.2. 2016-2021 yılları arasında değişen buğday oranları…….... 10

Tablo 1.3. Klor dioksidin kimyasal ve fiziksel özellikleri…… 12

Tablo 1.4. Klor dioksitin bazı oksidasyon-redüksüyon oluşum tepkimeleri…… 13

Tablo 3.1. SDS-PAGE için hazırlanan %'10 ve %4'lük jeller…… 34

Tablo 4.1. Gerek 79 bitkisinin tüm ClO_2 konsantrasyonlarında ve tüm gruplarında 5 günlük çimlenme uzunlu, yaş-kuru ağırlık miktarları…….. 36

Tablo 4.2. Kızıltan bitkisinin tüm ClO_2 konsantrasyonlarında ve tüm gruplarında 5 günlük çimlenme uzunlu, yaş-kuru ağırlık miktarları…….. 37

Tablo 4.3. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının lipid peroksidasyon miktarları…….. 38

Tablo 4.4. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının hidrojen peroksit miktarları……... 41

Tablo 4.5. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit anyon miktarları……... 43

Tablo 4.6. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit dizmutaz (SOD) miktarları…….. 45

Tablo 4.7. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının peroksidaz (POD) miktarları……. 47

Tablo 4.8. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının katalaz (CAT) miktarları……... 49

Tablo 4.9. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları……... 51

Tablo 4.10. Gerek 79 ve kızıltan bitkilerinin kontrol ce ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının α-amilaz miktarları……... 54
Tablo 4.11. Gerek 79 ve kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının K miktarları……...……... 56
Tablo 4.12. Gerek 79 ve kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2uygulanmış tüm gruplarının Na miktarları……..……... 58

KLOR DİOKSİTİN BUĞDAY (*Triticum aestivum* L.) BİTKİSİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER SÜREÇLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Bu çalışmada; farklı konsantrasyonlardaki klor dioksitin ClO_2 (50, 100, 250,500 ve 1000 mg/L) Gerek 79 ve kızıltan buğday (*Triticium aestevum L.*) çeşitlerinin kök ve gövdeleri üzerine fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler etkileri araştırılmıştır. Yapılan ön çalışmalardan sonra tüm parametrelerde 50 ve 100 mg/L ClO_2 konsantrasyonları kullanılmıştır. Fizyolojik incelemeler ile bitkilerde oluşan çimlenme oranı, kök ve gövde uzunluğu ve yaş-kuru ağırlık oranları incelenmiştir. Biyokimyasal parametreler olarak lipit peroksidasyon oranı (MDA), reaktif oksijen türleri (H_2O_2, O_2^{-}), antioksidan enzim aktiviteleri, α-amilaz enzim aktivitesi, element analizi (Na^+,K^+), moleküler parametre olarak ise SDS-PAGE analizleri incelenmiştir. Kullanılan ClO_2 konsantrasyonları bitkilerin fizyolojik parametreleri üzerine herhangi bir inhibisyona neden olmamıştır. MDA miktarının her iki çeşidin köklerinde azalırken gövde de artmıştır. H_2O_2 miktarı Gerek 79 çeşidinin köklerinde değişmemiş gövde kısmında ise azalırken, kızıltan çeşidinin her iki kısmında da azalmıştır. $O_2^{-\cdot}$ miktarı ise her iki çeşidin kök ve gövde kısımlarında artış göstermiştir. Her iki bitki çeşidinde α-amilaz ve peroksidaz (POD) enzimlerinin aktivitesi azalmıştır, süperoksit dismutaz (SOD) enziminde ise artış olmuştur. Katalaz (CAT) enziminde ise çeşit ve bitki kısmına da bağlı olarak bazı konsantrasyonlarda artış bazı konsantrasyonlarda ise azalma olmuştur. Element analizleri için Na/K miktarlarına bakılmıştır ve Na/K dengesinin korunduğu anlaşılmıştır. Hücresel protein analizleri için SDS-PAGE yöntemi kullanılmıştır ve her iki çeşitte de yeni bantlar oluşmuş, kızıltan çeşidinin gövde kısmında bantlar daha da belirginleşmiştir. Tüm bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde ClO_2'nin kullanılan konsantrasyonları buğday bitkisinde önemli bir inhibisyona neden olmadığı hatta fizyolojik parametrelerde iyileştirmeler yapmıştır.

Anahtar Kelimeler: Klor dioksit, buğday, oksidatif hasar, antioksidan enzimler, reaktif oksijen türleri, SDS-PAGE.

EFFECT OF CHLORINE DIOXIDE ON PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR PROCESSES OF WHEAT (*Triticum aestivum* L.)

ABSTRACT

In this study; the physiological, biochemical and molecular effects of different concentrations (50, 100, 250, 500 and 1000 mg/L) of chlorine dioxide (ClO_2) on the roots and stems of Gerek-79 and Kızıltan varieties of wheat (*Triticium aestevum* L.) plants were investigated. After the preliminary studies, 50 and 100 mg/L ClO_2 concentrations were used in all parameters. Germination rate, root and stem length and fresh-dry weight ratios of plants were investigated as physiological examinations. Biochemical parameters such as lipid peroxidation rate (MDA), reactive oxygen species (H_2O_2, $O_2^{-\cdot}$), antioxidant enzyme activities (SOD, POD, CAT), α-amylase enzyme, elemental analysis (Na^+,K+) and SDS-PAGE as molecular parameter analyzes were examined. The ClO_2 concentrations used did not cause any inhibition on the physiological parameters of the plants. The amount of MDA decreased in the root part of both cultivars but increased in the stem. While the amount of H_2O_2 did not change in the root part of Gerek variety, it decreased in the stem, it decreased in both the root and the stem of the Kızıltan variety. The amount of $O_2^{-\cdot}$ Increased in the root and stem parts of both varieties. In both cultivars, the activity of α-amylase and POD enzymes decreased, while there was an increase in SOD enzyme. In CAT enzyme, there was an increase in some concentrations and a decrease in some concentrations. For element analysis, Na/K amounts were checked and it was understood that the Na/K balance was preserved. SDS-PAGE method was used for cellular protein analysis and new bands were formed in both plants, and the bands became more evident on the stem part of the Kızıltan variety. When all these results are evaluated together, ClO_2 did not cause a significant inhibition in wheat plant and even improved physiological parameters.

Keywords: Chlorine dioxide, wheat, oxidative damage, antioxidant enzymes, reactive oxygen species, SDS-PAGE.

1. GİRİŞ

Dünya nüfusu 2020 yılı itibari ile yaklaşık olarak 8 milyara ulaşmıştır. 2050'li yıllarda ise bu rakamın 9 milyara ulaşabileceği tahmin edilmektedir. Bu artış hızı beraberinde insanoğlunun gıda bulma sorununu getirmektedir ve kentleşmeden dolayı da tarımsal alana düşen arazi payını düşürmektedir (Mahajan, 2005). Gıda sorunun giderilmesinde birincil üretici olan bitkiler büyük önem arz etmektedir. Bitkiler ekosistemin devamlılığı için büyük ölçüde önem arz etmektedirler. Bitkiler kendileri için ve diğer canlılar için mineral (azot, fosfor, potasyum vb), karbonhidrat, yağ, protein gibi besinleri üretirler ve doğadaki oksijen-karbondioksit dengesini sağlayarak sıcaklık değerlerinin de dengeli olmasında katkıda bulunurlar (Güneş, 2017; Kaya, 2008). Ancak artan insan sayısı ve değişen olumsuz çevre şartlarından dolayı Dünya genelinde bitkisel üretim önemli derecede olumsuz etkilenmektedir. Tuzluluk, kuraklık, ağır metal, ekstrem sıcaklıklar (düşük ve yüksek sıcaklıklar) gibi faktörler tarımsal üretimi etkileyen çevresel stres kaynaklarıdır. Bu faktörler bitkilerde strese neden olurlar ve bitkinin yapısını bozarlar hatta bitkinin ölümüne neden olabilirler (Şahin, 2020; Esim, 2011).

Stres, bitkilerde olumsuzluğa neden olan her türlü etkidir. Bitkiler doğrudan bulundukları ortamın şartlarına bağımlıdırlar. Yaşam alanlarında, onları olumsuz etkileyecek koşulların meydana gelmesi durumunda stres durumu oluşur ve bu durumdan olumsuz etkilenirler. Bitkiler hayvanlar gibi aktif olarak hareket edemedikleri için bu stres faktörlerine direkt maruz kalırlar. Bu direkt etki bitkilerin verim kalitesinin düşmesine, büyümelerinin yavaşlamasına, karbodioksit (CO_2) özümlemesine olumsuz etki etmektedir. Bitkilerde stres oluşturmaya sebep olan faktörler, bitki türüne, adaptasyon düzeyine, tolerans düzeyine, bitkilerin gelişme dönemine bağlı olarak farklılık göstermektedir (Yanık, 2019; Büyük, 2012 ; Esim, 2011).

Bitkiler biyotik ve abiyotik stres faktörleri olmak üzere iki stres tipine maruz kalırlar. Biyotik strese, bakteri, mantar, virüs, parazit gibi canlılar neden olurken, abiyotik stres

faktörlerini ise yüksek sıcaklık, UV, kuraklık, aşırı su, herbisitler, tuzluluk, kimyasal ajanlar, fungisitler gibi cansız yapılar oluşturmaktadır. Bu stres faktörlerine maruz kalan bitkilerden beslenen diğer canlıların yaşam kalitesi de olumsuz şekilde etkilenmektedir. Biyotik stres faktörleri optimum koşullarda bulunan canlılar üzerinde elde edilecek ürün miktarının kaybı için ortalama %65'ten %87'ye kadar olabilmektedir. Abiyotik faktörlerde ise bu oran %51'den %82'ye kadar oluşabilmektedir (Barışık, 2020; Büyük, 2012; Yanık, 2019).

Dünya genelinde yaşam alanlarında oluşan stres faktörleri; %26 kuraklık, %20 mineral, %15 soğuk ve don oluştururken, %29'luk kısmı ise diğer stres faktörleri oluşturmaktadır, geri kalan %10 'luk kısım ise optimum ortamlar olarak değerlendirilmektedir. Bitkilerin hiçbir strese maruz kalmadan yaşadıkları durum sıfır stres olarak kabul edilir. Sıfır stresli ortam, bitkilerin yaşam ve verim kalitesini düşürmediği için en iyi gelişim gösterdikleri ortamdır (Blum, 1986; Esim, 2011).

Strese dayanıklılığın sakınma ve tolerans olmak üzere iki farklı çeşidi vardır. Sakınma, bitkilerin bir iç ortam oluşturarak çevresel streslere karşı hücre yapılarını korumasıdır. Tolerans ise bitkilerin uygunsuz ortam koşullarına karşı dayanma potansiyelidir. Bitkilerin yaşam alanlarında çeşitli stres faktörlerine maruz kaldıkları düşünüldüğünde biyokimyasal, moleküler, fizyolojik gibi stres ile ilişkili mekanizmalarının oluşturduğu tepkilerin aydınlatılması ve toleransı yüksek çeşitlerin geliştirilmesi önem arz etmektedir (Esim, 2011; Büyük, 2012).

Bitkiler stres ile karşılaştıklarında bununla baş edebilmek için farklı metabolik süreçleri devreye sokarlar. Bu metabolik süreçlerin en önemlilerinden birisi oksidatif hasar oranını azaltmaktır. Oksidatif hasar stres esnasında reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretilmesi ve bunun neticesinde hücre zarlarında meydana gelen lipid peroksidasyonun oluşmasıdır (Jaspers, 2010). ROS'lar yüksek düzeyde reaktif oksijenlenmiş ajanlar bulunduran serbest radikaller grubundadır. Serbest radikaller moleküllerin ya da atomların yörüngelerinde çiftleşmemiş elektron bulundurması şeklinde tanımlanmaktadır (Breusegem ve Dat, 2006). ROS'lar organizmalarda hem hücre içerisinde oluşan olaylardan kaynaklı olarak hem de çevresel etkenlerden kaynaklı olarak oluşmaktadır. Meydana gelen bu serbest radikallerin aşırı üretimi, hücrede bulunan yaşamsal yapılarda

(DNA, protein, karbonhidrat, nükleus, sitoplazma, mitokondri, ER, enzim ve lipit) hasar oluşmasına sebep olabilirler. ROS'lar canlılarda yaşlanma, kanser, inflamatuvar hastalıklar gibi birçok rahatsızlığa sebep olmaktadırlar (J. Dat, S. Vandenabeele, E. Vranova´, M. Van Montagu, 2000). Moleküler oksijen radikal yapısı gereği yüksek düzeyde ROS oluşturma özelliğine sahiptir. ROS; hidrojen peroksit (H_2O_2), süper oksit anyonu (O_2) ve hidroksil radikallerinin (OH^-) normal O_2 metabolizmasının gerçekleşmesi sırasında az miktarda oluşmasıdır (Corpas and Barroso, 2013)

Oksidatif stres sürecinde, ROS'lar bitki hücrelerinin çeşitli organellerinde (mitokondri, kloroplast, peroksizom ve nükleus) aşırı derecede oluşarak hücrelere zarar verebilirler (Nadarajah, 2020). ROS'lar yörüngelerinde eşleşmemiş elektronlara sahip olup çok kararsız bir yapı göstermektedirler. Farklı moleküllerle rahatlıkla etkileşime girerek yapılarını bozabilirler. ROS' lar iki grupta incelenmektedir. Bunlardan bir tanesi radikaller olup bir elektron eksikliğinden dolayı farklı moleküllerle etkileşime girerek elektronlarını tamamlamak isteyen oksidanlardır. Örnek olarak süperoksit anyonu ve hidroksil radikalleri verilebilir. Diğeri ise nonradikaller olup elektronları tam olmasına rağmen başka moleküllerle etkileşime girebilen oksidanlardır. Bunlara örnek olarak ise hidrojen peroksit verilebilir (Neill et al., 2002).

Oksijenin yüksek enerjili yapısı Singlet Oksijen olarak tanımlanmaktadır. Singlet oksijen farklı yollar ile üretilebilmektedir ve bitkilerde en çok bilinen yol kloroplast organelinde PSII sisteminin reaksiyon alanı olan P680'nin ışık ile absorbansı sonucunda oksijeni aktive etmesi sonucunda oluşur (Dogru et al. 2020; Schweitzer and Schmidt, 2003). Bitkiler birçok abiyotik stres şartları altında singlet oksijen üretiminde artış gösterirler ve programlanmış hücre ölümünün oluşumuna sebep olurlar. Singlet oksijen, eşlenmiş olarak bulunan iki elektron, orbitallerde zıt kutuplar olarak bulundukları durumlarda oluşur. Radikal özellik bulundurmaz fakat yüksek düzeyde oksidan özellik göstermektedir. Singlet oksijen kloroplastlardan difüzyon ile dışarı çıkabilmekte ve hücre duvarına kadar geçebilmektedir. Singlet oksijen bu sayede farklı moleküllerle etkileşime girdiğinde enerjisini transfer edebilir ya da kovalent tepkimeler oluşturabilir. Singlet oksijen karbon çift bağları ile oldukça yüksek düzeyde tepkime oluşturmaktadır ve organik moleküller ile reaksiyon oluşturduğunda yüksek düzeyde yıkıcı ve organizmada hasar oluşturucu özellik göstermektedir (Desikan et al. 2005; Dogru et al.

2020; Flors et al. 2006). Doymamış yağ asitleri ile tepkime oluşturarak peroksit radikallerini meydana getirir ve lipit peroksidasyonunu etkin bir şekilde başlatabilir. Hücre zarında bulunan glikolipid, fosfolipid, gliserid gibi bileşiklerle tepkime oluşturarak peroksitler, aldehitler, pentan gibi lipit peroksidasyon ürünlerini meydana getirirler (Esim, 2011; Gechev et al., 2002).

Süperoksit anyonu ($O_2^{\cdot-}$), oksijen molekülünün bir elektron alıp kararsız bir yapı sergilemesidir. $O_2^{\cdot-}$ enzimatik veya enzimatik olmayan tepkimeler ile oluşabilmektedir. Yüksek düzeyde radikal özellik gösterip birçok biyokimyasal bileşenlerin oksidasyonuna sebep olmaktadır. Bu serbest radikal lipid peroksidasyon, membran hasarı, DNA'daki tek zincir kırıkları ve hücresel toksisiteye neden olmaktadır. Ayrıca H_2O_2 ile tepkimeye girerek hidroksil radikalini ($OH^{\cdot}$) oluşturabilir. Meydana gelen OH^{-} radikali birçok makromolekülün yapısal değişmelerine sebep olur ve oksidatif stres oluşturur. $O_2^{\cdot-}$ süperoksit dizmutaz (SOD) enziminin etkisi ile dismutasyon oluşturarak konsantrasyon düzeyini azaltabilir. $O_2^{\cdot-}$ meydana geldiği yerden difüzyon ile birkaç µm uzağa gidebilir ve yarı ömrü 1-1000 µs arasındadır (Asada, 2006; Desikan et al. 2005; Dogru et al. 2020; Elstner and Heupel, 1976). Bitki hücrelerinde kloroplast ve mitokondrilerde ETS' deki elektron kaçağının olması süper oksit radikalinin meydana gelmesinin temel kaynağıdır. ETS' den çıkan elektronlar oksijen ile reaksiyon oluşturarak süper oksit radikalinin meydana gelmesinde rol alırlar (Smirnoff et al., 1993). Kloroplastlarda bulunan PSI $O_2^{\cdot-}$'' nin meydana gelmesi için en aktif bölgedir. Patojen saldırısı, tuzluluk, herbisit gibi çeşitli abiyotik stres faktörlerin etkisi ile peroksizom organelinde de $O_2^{\cdot-}$yüksek oranda oluşmaktadır (Asada, 2006; Reumann and Weber, 2006).

Hidrojen peroksit (H_2O_2); bitki hücrelerinde en stabil olan ve önemli fonksiyonel görevler üstlenen aktif oksijen türlerinden birisidir. H_2O_2' in yapısında paylaşılmamış elektron bulunmaz ve zayıf asit özelliği gösterir. Kararlı yapısı diğer radikal çeşitlerine göre daha fazladır fakat buna rağmen canlı hücrelerde H_2O_2' i parçalayan enzimlerin aktivitesinden dolayı yarı ömrü bir saniyeden azdır (Foyer, 2009; Hernandez, 2001) Süperoksit anyonuna göre daha az etkili olup, oksijenin iki elektron ile indirgenme tepkimesi ile veya süperoksitlerin dismutasyon reaksiyonları sonucunda meydana gelir. Süperoksitlerin meydana geldiği yerlerde (peroksizomlar, ETS, plazma membranı, ekstraselüler matriks) önemli oranda H_2O_2 de üretilir (Ślesak et al. 2007). H_2O_2 demir ve bakır gibi metal

iyonlarının bulunduğu durumlarda hidroksil radikalinin öncülü şeklinde davranış sergilemesi oksitleyici türler sınıfında olmasının nedenidir. Demir bu durumda yüksek düzeyde oksitleyici özellik gösterir ve hücre zarında lipit peroksidasyonu gibi radikal reaksiyonları başlatabilir. Oksitleyici özellik gösterdiğinden dolayı biyolojik sistemlerde meydana gelen hidrojen peroksidin ortamdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Katalaz ve peroksidaz gibi antioksidan enzimler su ve oksijen gibi moleküllere dönüştürerek hidrojen peroksidin ortamdan uzaklaşmasını sağlarlar. Bu enzimlerin oksidatif streslere karşı toleransı sağlamak için hücresel seviyelerini düzenlenmesi önem arz etmektedir (Grunberg and Taleisnik, 2002; Halliwell, 2009; Minibaeva and Gordon, 2003). H_2O_2' in oksitleyici özelliği düşüktür ve DNA, aminoasit ve lipitlerin kimyasal yapısında herhangi bir değişiklik oluşmasına sebep olmaz fakat sülfidril bileşikleri ile etkileşim oluşturarak hidroksil radikallerini oluşturabilecek geçiş metallerini bağlamayı hedefler (Dogru et al. 2020; Fry, 2004).

Hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$); oksijen radikalleri olarak bilinenler arasında en aktif ve toksik etki düzeyi oldukça yüksek olanıdır. Oksidatif stres ve hücre ölüm sinyali ile doğrudan ilişki bulundurur. Bitkiler stres ortamıyla karşılaştıklarında hidroksil radikalleri hemen oluşur ve potasyum kalsiyum kanallarının açılmasını sağlayarak potasyumu hücre dışına gönderilmesine kalsiyumun ise hücre içine girmesine neden olurlar. *In vivo* ortamda bulunan hidroksil radikallerinin yarı ömürleri yaklaşık olarak 1 ns ve kat edebilecekleri mesafe 1 nm'den daha azdır (Demidchik et al. 2003; Dogru et al. 2020; Kehrer, 2000). $OH^{\cdot}$ oluştuğu yerlerde birçok molekül ile tepkime oluşturur. $OH^{\cdot}$ iyonlaştırıcı radyasyonun etki gösteren su moleküllerinin kırılması ile oluştuğu aynı zamanda H_2O_2 molekülünün metallerle tepkime oluşturmasıyla da oluşabilir. $OH^{\cdot}$ reaktifi tüm moleküller ile tepkime oluşturabilir ve lipid peroksidasyonuna önemli derecede hasar veren serbest radikal zincir reaksiyonudur. $OH^{\cdot}$'ın birincil hedefi hücre zarındaki yağ asitleridir ve zar lipitlerinin peroksidasyonu zar yapısını bozarak zar geçirgenliğini artırıp hücrenin ölümüne neden olabilir (Betteridge, 2000; Lloyd et al. 1997; Nishiyama et al. 1998). Bitki hücreleri stres koşullarının bulunduğu durumlarda hidroksil radikallerini fotosistemin her iki kademesinde (PSI, PSII) de üretilebilirler ve kloroplastların fonksiyonlarının bozulmasına sebep olurlar. Canlılarda hidroksil radikallerini uzaklaştıracak ya da detoksifiye edebilecek bir enzim sistemi gelişmemiştir (Pospisil, 2009).

ROS hücrenin bileşenleri olan lipid, karbohidrat, protein ve nükleik asitler üzerinde etki gösterirler. ROS' lar, lipidlerde çift bağların bulunduğu yağ asitleri ile kolaylıkla tepkime oluşturabilirler. Lipid peroksidasyonu, membran yapısında ROT' ların etki düzeyinin en fazla araştırma yapıldığı fonksiyondur (Blokhına, 2003; Halliwell and Halliwell, 2009). LPO hücre zarındaki doymamış yağ asitlerinin yıkımı şeklinde tanımlanmaktadır. Zarda bulunan kolesterol ve yağ asitleri serbest radikaller ile rahatlıkla tepkime oluşturarak peroksidasyon ürünlerinin oluşmasını sağlarlar. LPO ile meydana gelen membran hasarı kalıcı etki göstermektedir. Biyolojik olarak LPO' nun başlamasına serbest radikallerin (süperoksit anyonu ve hidroksil radikali) sebep olduğu belirtilmektedir. Serbest radikallerin etkisiyle yağ asitlerinde bulunan hidrojen atomunun koparılması, yağ asitlerinin radikal özellik göstermesine sebep olmaktadır. Molekül içi bağların pozisyon değişikliği ile kararsız yapı gösteren lipid radikalinin oksijen ile reaksiyon oluşturması sonucunda lipid peroksit radikalleri oluşur (Esim, 2011; Güneş, 2017; Halliwell and Halliwell, 2009). Meydana gelen lipid radikali dayanıksız özellik gösteren bir bileşiktir. Lipid hidroksi peroksitlerin yıkılması sonucu meydana gelen ve reaktif özellik gösteren aldehitler hücre düzeyinde metabolize edilebilirler veya difüzyon ile hücrenin farklı bölümlerine hasar verebilirler. Malondialdehid (MDA) üç ya da daha fazla çift bağ bulunduran yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşur. MDA yağ asidi oksidasyonunun indikatörü değildir ama lipit peroksidasyonunun etki düzeyi ile iyi bir kolerasyon eğilimi göstermektedir. Bu nedenden dolayı organizmalarda meydana gelen LPO miktarını belirlemek için MDA seviyesinin ölçümünü belirlemek oldukça kullanılan bir tekniktir. MDA, tiobarbitürik asit ile etkileşiminde pembe renkli bir yapı formuna dönüşmektedir ve meydana gelen bu çözeltinin absorbans değerleri ile LPO'nun seviyesi belirlenmektedir (Cheng et al. 2006; Halliwell and Halliwell, 2009).

Bitki hücreleri stres faktörleri ile karşılaştığında artış gösteren ROS etkisinden korumak ve ROS miktarını kontrol etmek için ROS'u temizleyen belirli enzimler sentezlerler ve bu enzimler antioksidan olarak tanımlanmaktadır. Bu enzimler ROS'u aşamalı bir şekilde toksik etkisini azaltan bileşiklere dönüştürürler. Bu enzimlerden bazıları süperoksid dismutaz (SOD), peroksidaz (POX,POD) ve katalazdır (CAT) (Ahmad et al. 2008).

SOD enzimi $O_2^{-\cdot}$ radikalinin H_2O_2 ve O_2' ye dönüşmesini indükleyen metal bulunduran bir enzim türüdür (Genestra, 2007; Sarıram, and Srıavasta 200). SOD enzimleri aktif

bölgesinde 3 metal kofaktör bulundururlar. Bunlar Fe-SOD, Mn-SOD, Cu/Zn-SOD kofaktörleridir ve hücredeki SOD'lar bu metal kofaktörlere göre sınıflandırılır. Bakteri ve bitkiler bu üç izoenzim çeşidini de bulundururlar fakat mantar ve hayvanlar sadece Cu/Zn-SOD ile Mn-SOD izoenzimleri bulundururlar. Bitkiler hücrelerinde SOD izoenzimlerini farklı bölgelerinde bulundururlar. Fe-SOD kloroplastlarda, Mn-SOD peroksizom ve mitokondrilerde, Cu/Zn-SOD kloroplast ve sitoplazmada bulunur (Gill & Tuteja, 2010; Mittler, 2002). Ökaryot organizmalarda bulunan mitokondriyal SOD, aminoasit dizilişi ve karakteristik Mn^{+2} muhtevası birçok bakteri ile benzerlik göstermektedir. Sitoplazmada bulunan SOD ise Cu^{+2} ve Zn^{+2} iyonlarını ihtiva ederek süperoksidin parçalanmasını sağlar. Aynı zamanda metallerin katalizlediği Haber-Weiss tepkimeleri ile hidroksil radikalinin oluşma riskini azaltıcı yönde etki gösterir. Oksijenli solunum yapan bütün organizmalarda ve aktifleşmiş oksijen üretebilen hücre alt yapılarında olan SOD enziminin çeşitli stres faktörlerine yanıt olarak arttığı ve oluşan streslere karşı direnç geliştirmeyi sağlayan savunma sisteminin ilk hattını oluşturur (Czarnocka, 2018; Scandalios, 1983)

Katalaz (CAT) yüksek moleküler ağırlığa sahip olan bir enzim olup, yüksek düzeydeki hidrojen peroksidin 2 tane elektronunu kullanarak su ve oksijen oluşumunu sağlayan demir porfinin bulunduran tetrametrik bir enzimdir (Van Breusegem et al. 2001). CAT düşük hidrojen peroksit konsantrasyonlarında fenol, askorbat, alkol bulunduran indirgenmiş substratları kullanarak peroksidatif etki gösterebilir (Chaudiere and Ferrari 1999). Bir molekül CAT saniyede milyonlarca hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürerek en hızlı reaksiyona girebilen enzimlerden bir tanesidir. CAT enzimi bitki hücrelerinde hidrojen peroksidin arındırılmasında önemli derecede rol oynamaktadır (Patykowski and Urbanek, 2003). Solunum zincir reaksiyonlarında oksijen molekülünün eksik indirgenmesinden dolayı meydana gelen hidrojen peroksidi oksijene indirger (Chaudière and Ferrari-Iliou, 1999). CAT'ın birincil fonksiyonu, moleküler oksijen bulunduğunda metabolizmanın çeşitli basamaklarında oluşan H_2O_2 ve ROOH gibi peroksidin radikalliğini giderir ve hücre zarlarında oluşabilecek hasarları engellemektedir. H_2O_2, singlet oksijen ve hidroksil radikallerinin potansiyel kaynağıdır. CAT enzimi kararlı bir yapı göstermez ve yüksek düzeyde ışık yoğunluğuna, stres faktörlerine maruz kaldığında bitki hücrelerinde meydana gelen H_2O_2'nin yüksek konsantrasyonları ile inhibe edilebilir (Chaudière and Ferrari-Iliou, 1999; Streb et al.

1999). CAT'ın H_2O_2'ye zayıf bağlılığı ve genel olarak peroksizomlarda bulunması etkinliğini azaltmaktadır. Bitki dokularında CAT 3 sınıfa ayrılır. Birinci sınıfta bulunanlar fotoresprasyon sırasında meydana gelen H_2O_2' nin ortamdan temizlemesini sağlayan ve fotosentetik dokularda en fazla bulunanlardır. İkinci sınıflar lignifikasyonda rol oynarlar ve vasküler dokularda üretilirler. Üçüncü sınıf katalazlar ise glikozomlarda glikosat döngüsü sırasında oluşan H_2O_2' in uzaklaşmasında rol oynarlar ve genç bitkilerin yapısında ve tohumlarda oldukça fazladırlar (Willekens et al. 1994).

Perooksidaz (POX), HEM prostetik grubuna sahip bir protein olup H_2O_2 kullanarak fenol ve hidrokinon gibi pek çok sayıda bileşiklerin dehidrasyonunu katalizler. Peroksidazların metebolizmada aktif bir şekilde rol aldığı ve birçok fizyolojik olayla bağlantılı olduğu tespit edilmiştir (Bhunia et al. 2001; Cheng et al. 2006; Somtürk et al. 2014). Aynı zamanda stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde POX aktivitesi artış göstermektedir**.** POX stres faktörleri altında oluşan zararlı oksijen radikallerini düzenleyen bitki organizmalarının önem teşkil eden koruyucu enzimlerinden bir tanesidir. Moleküler ağırlığı 35-100 kDa arasında değişiklik göstermektedir. POX hidrojen verici olarak işlev görür ve substrat olarak birçok organik ve inorganik molekülleri kullanarak hidrojen peroksidi ortamdan uzaklaştırırlar. Aynı zamanda H_2O_2'yu kontrol altında tutarlar ve hücre çeperinin yapısına katılmasında etkili olurlar (Dehon et al., 2002; Jia et al., 2002). POX reaksiyonu iki basamağın birbirini izlemesiyle oluşur ve bu iki reaksiyonda da bir elektron ve bir H atomu bulunur. POX da kullanılan substrat reaksiyonun yönünü belirler ve bundan dolayı genel bir reaksiyon yönü yoktur (Çınar, 2005). POX' un mekanizması tamamen aydınlatılmamasına rağmen birçok stres faktöründen etkilenmesi bu enzimin stres enzimi grubuna girmesine neden olmuştur (Amaya et al. 1999; Rout et al. 2000).

Alfa-amilazlar, polimer yapılı olan nişasta molekülünün monomerleri olan glikoz molekülleri arasındaki α-1,4 glikozidik bağlarının yıkımını katalizleyerek maltozların oluşmasını sağlayan enzimlerdir (Gupta et al. 2003; Özdemir, 2020). Bitkiler tohumlarının, kotiledon ya da endosperm bölgelerinde karbohidrat ve protein moleküllerini depo ederler ve tohumlar çimlenme aşamasında depo ettikleri bu moleküllerden enerji ihtiyaçlarını karşılarlar. Tohum embriyoları bitkilerin depo formu olan nişastayı doğrudan kullanmazlar ve α-amilazı uyararak nişastanın parçalanmasını

sağlarlar ve aynı zamanda tohumların çimlenme hızını etkilerler (Erdal ve Taşkın 2010; Subbarao ve Datta, 1998).

Dünyada en önemli gıdalar arasında tahıllar ve tahıl ürünleri yer almaktadır. Dünya nüfusunun beslenmesi için tahıllar önemli katkılar sunmaktadır. Buğday bu tahıllar arsında yer alıp dünyada %55 oranında en fazla üretilen ve en fazla tüketim payına sahip olan, temel besin ihtiyaçları için (vitamin, mineral, karbonhidrat, besinsel lif) önemli bir bitki çeşididir. Buğday insanoğlunun var oluşundan beri temel besin gıdası olarak tüketilmiştir ve insan beslenmesinde günlük enerji ihtiyacının yaklaşık olarak yarısını tek başına karşılayabilmektedir. Buğday tek yıllık bir bitki çeşidi olup buğdaygiller (*Poaceae*) familyasında yer almaktadır (Karadayı, 2017). Temel besin olarak sayılan buğday, ekmek, makarna, bisküvi, irmik, bulgur yapımında kullanılmaktadır (Turgut, 2017). Aynı zamanda buğdayın insan sağlığı için koruyucu etkiler sağladığı ve kronik hastalıkların iyileştirici etkisi bulunmaktadır (Dinu, 2018). Buğday genetik çeşitliliğinden dolayı birçok ortam koşullarına adapte olabilen ve kolay yetiştirilebilen bir bitkidir (Ardıç, 2017). Aynı zamanda yetiştiği çevre koşullarından etkilenerek çeşitlilik göstermektedir ve kalitesi önemli derecede farklılık göstermektedir. Özellikle yetiştiği bölgedeki mevsimsel özelliklerden etkilenmektedir. Buğday çeşitlerine bakıldığında Türkiye'de 500'den fazla olduğu, dünyada ise 3000 çeşit olduğu tespit edilmiştir. Buğdayın bu kadar fazla çeşit bulundurmasına rağmen yetişme koşulları ve çevresel faktörler bu çeşitliliğin verimini düşürmektedir ve ekonomik değeri olan sadece 3 tane buğday türü bulunmaktadır. Bunlar *Triticum compactum* (bisküvilik), *Triticum aestivum* (ekmeklik) ve *Triticum durum* (makarnalık) türleridir (Şahin, 2019; Koutoua et al. 2011). Buğday çeşidi kullanım amacına göre farklılık göstermektedir. Örneğin makarnalık buğdayın gluten içeriği ekmeklik buğdaydan fazla olması istenir (Şahin et al., 2020). Günümüzde buğday üretimi dünyada yıllık olarak 750 milyon tonu geçmiş bulunmaktadır. Buğday üretimi en fazla olan ülkeler Çin, Hindistan ve Rusya şeklinde sıralanabilir. Türkiye ise coğrafik özellikleri bakımından buğday üretiminde önemli bir yer edinmektedir fakat alan başına düşen üretim miktarı diğer ülkelerden daha düşüktür (Palosuo et al. 2011)

Buğday genom yapısına göre temelde üç grupta incelenmektedir. Bunlar diploit, tetraploid ve hekzaploiddir. Diploid buğday çeşidinde 14 kromozom bulunur ve A,B,D

genomlarından A genini bulundurmaktadır. Ülkemizde Kastamonu'da siyah buğday olarak yetiştirilmektedir. Makarnalık buğday tetraploid buğday grubundadır. A ve B genomlarının ikisini bulundurmaktadır. Hekzaploid ekmek buğday çeşidinde A,B,D genomlarının üçünü de bulundurmaktadır (Briggle and Reitz, 1963; Karadayı, 2017).

Tablo 1.1. 3 Farklı buğdayın genom yapıları

Buğday ismi	Kromozom yapısı	Genom çeşidi
Dioloid	2n=2x=14	AA
Tetraploid(makarnalık buğday)	2n=4x=28	AABB
Hekzaploid(ekmeklik buğday)	2n=6x=42	AABBDD

Buğday çeşitleri içerisinde en fazla bilinen ve yetiştirilen ekmeklik (*Triticum aestivum* L.) buğday türüdür. Bu türün unlarının ekmek için kullanımı diğer türlere göre daha uygundur. Ekmeklik buğday her mevsimde yetiştirilip taneleri kırmızı ve beyaz olan bir tahıl çeşididir ve insanlar için önemli küresel gıdalar arasındadır. Buğday yetiştiriciliği toplumların refah düzeyi ile yakından ilişkilidir. Gittikçe artan dünya nüfusuyla beraber insanların besin ihtiyaçlarını karşılamak için buğday veriminin de buna paralel artması gerekmektedir. Buğday tanelerinde, mayalanma işleminde oluşan CO_2 hamurda tutunarak hamurun kabarmasını sağlayan protein yapılı olan gluten bulunmaktadır ve bu özelliğinden dolayı ekmek yapımında tercih edilmektedir. Makarnalık buğday türünün ekimi genellikle yazlıktır fakat Türkiye'de kışlık da ekilir ve kırmızı taneli olup dünya genelinde her yerde yetişmez. Ülkemizde ekmeklik ve makarnalık buğday üretiminde ilk sırada İç Anadolu Bölgesi yer almaktadır, bunu takiben Marmara ve Güneydoğu Anadolu Bölgesi bulunmaktadır (İlgün, 2019; Turgut, 2017; Şahin, 2019)

Tablo 1.2. 2016-2021 yılları arasında değişen buğday oranları (2021 Tüik verileri)

Yıllar	Artma/azalma oranı	Üretim miktarı
2016	%8,8 oranında azalmıştır	20 milyon 600 bin ton
2017	%4,4 oranında artmıştır	21 milyon 500 bin ton
2018	%7 oranında azalmıştır	20 milyon ton
2019	%5 oranında azalmıştır	19 milyon ton
2020	%7,8 oranında artmıştır	20,5 milyon ton

Teknolojik çalışmaların ve dünya nüfusunun artmasıyla beraber bitki genetik çalışmaları da buna paralel olarak artmıştır. Buğday da bu bitki çeşitlerinin başında gelmekte ve yeni yetiştirme teknikleri, tane verimi ihtiyacı ile ilgili özelliklerin moleküler olarak anlaşılması geliştirilmesi ve istihdam edilmesi gerekmektedir (Wang et al. 2020).

Besinlerin kalite veriminin istenilen değere ulaşamaması ve toksik etkili bileşenlerin meydana gelmesi bilim insanlarını bu konuda araştırma yapmalarına teşvik etmiştir. Bu etkileri göstermeyen yeni yöntemler araştırılmıştır ve klor dioksit bu yöntemlerden birisi olabilir. Yapılan araştırmalar sonucunda klor dioksit mikroorganizmaların hücre zarını ve hücre duvarının yapısını bozduğu tespit edilmiştir (Özçelik, 1984; Çölgeçen, 2014).
Klordioksit 1814 yılında Sir Humhrey Dav tarfından yapılan bir deneyde elde edilmiştir. Bu deneyi potasyum klorata sülfirik asit ekleyerek yapmıştır. Klor dioksit o dönemlerde ağartılma, koku ve dezenfeksiyon işlemlerinde kullanılmıştır. Sonraki yıllarda ise sülfirik asit değil de hipokloroz asit ve potasyum klorat değil de sodyum klorat ile karıştırılarak elde edilmeye başlamıştır ve bu yöntem giderek yaygınlaşmıştır. Bu yöntem ile elde edilme denklemi aşağıda gösterilmektedir (Vandekinderen, 2009).

$$2NaClO_3 + 4HCl \rightarrow 2ClO_2 + Cl_2 + 2NaCl + 2H_2O$$

ClO_2 uzun yıllardır suların dezenfeksiyonunda, sanayide ve gıda endüstrisinde kullanılmaktadır ve herhangi bir toksik etki göstermemektedir. Su ile çözüldüğünde hafif sarı-yeşil rengindedir. Sert bir kokusu vardır fakat gıdalarda, suda kullanıldığında herhangi bir koku özelliği göstermez. Doğada nadir olarak bulunan serbest radikaller arasındadır. Bir elektron bulundurur ve eksi yüklü değere sahiptir (Vandekinderen, 2009; Polat, 2013)

Klor dioksit kağıt ve unun ağartılması, içme sularının mikroorganizmalardan arındırılması gibi pek çok alanda kullanılmaktadır. Klor dioksit büyük oranda ABD'de üretilmektedir. 1994 yılında Niagara Şelalesinde sudan fenolü arıtmak için klor dioksitten faydalanılmıştır. ABD'de şarbon hastalıklarından korunmak için dezenfeksiyon amacıyla kullanılmıştır. Suyun renginde, kokusunda ve tadında da etkiler meydana getirmektedir. Klor dioksit klora göre daha fazla etki göstermektedir ve güneş ışınlarına maruz bırakıldığında doğal organik bileşiklerle tepkimeye girerek klorit veya klorat gibi yan

ürünler oluşturmaktadır. Amerika Çevre Ajansı klor dioksidin sınır değerini 1 mg/L, Dünya Sağlık Örgütü 0.7 mg/L olarak belirlemiştir. Türkiye'de henüz klor dioksit için bir yan ürün sınır hesaplaması yapılmamıştır. Klor dioksit alg büyümesinin kontrolünde, demir ve mangan oksidasyonunda, *Giardia, Cryptosporidium, H. pylori* bakterisi ve bazı virüsler üzerine öldürücü etki göstermektedir (Karadağ, 2011). Klor dioksit düşük sıcaklıktaki sularda iyi çözünür fakat hidroliz olamaz. Bu yönü ile yüksek dezenfektan özelliği göstermektedir. Saf toz halindeki klor dioksit sarı renklidir ve sıvı haliyle yüksek basınç altında patlayıcı özelliği göstermektedir. Klor dioksidin sıvı halinin patlayıcı özellik göstermesinin sebebi, su ısısı, buhar içeriği ve bununla birlikte kendi basıncından kaynaklanmaktadır. Klor dioksidin su ısısı çok önem arz etmektedir, kısmı basıncı 40 mm Hg' den fazla olduğu durumda patlama gerçekleşebilmektedir ve bu değerden fazla olduğu durumda yanıcı özellik gösteren organik çözücüler mantar, kükürt, lastik gibi ya da oksitleyici maddeler ile temas edildiğinde patlama gerçekleşebilmektedir. Klor dioksitin uçucu özelliği fazladır bundan dolayı üretildiği yerde hızlıca kullanılmalıdır. Klor dioksit geniş bir pH aralığına tolerans göstermektedir ve 2-10 arasındaki pH değerlerinde olan çözeltiler ile iyonlaşmamaktadır, ama daha yüksek pH değerinde olan bileşiklerle reaksiyon oluşturur ve klorit, klorat iyonlarına dönüşmektedir (Vicente, 2009; Çölgeçen, 2014). $2ClO_2+2OH^- > ClO_2^- + ClO_3^- + H_2O$

Tablo 1.3. Klor dioksitin kimyasal ve fiziksel özellikleri

ÖZELLİKLER	DEĞER
Kimyasal fomül	ClO_2
Moleküler ağırlık	67,5 gr/mol
Erime noktası	-59 ^{0}C
Kaynama noktası	11 ^{0}C
Buhar basıncı 0 ^{0}C	490 mm Hg
Sudaki çözünürlüğü	0,8 gr/100gr
Havadaki yoğunluğu	2,3
Patlama sıcaklığı	130 ^{0}C (266 ^{0}C)
Isı oluşumu	25 kcal/mol
Buharlaşma ısısı	6,25 kcal/mol
Çözünme ısısı	6,6 kcal/mol
Patlama hızı	50 m/sn

Klor dioksidin kimyasal yapısı ClO_2 şeklinde olup, yüksek seçici oksidan özelliği taşımaktadır. Eksi yüklü bir molekül olup yükseltgen özellik göstermektedir ve indirgenme özelliğine sahip moleküllerle yüksek derecede reaksiyon verir. Kararsız bir özellik gösterir bundan dolayı sıcaklığa ve oksijene maruz bırakıldığında kolaylıkla klor, klorit ve klorata ayrışabilmektedir. Klor dioksit klora göre daha fazla yükseltgenme gücüne sahiptir. pH değerine göre su ile oksitlenme gücü değişmektedir. Fakat klor dioksit normal pH değerindeki suyla reaksiyona girdiğinde bir elektron alarak indirgenmektedir ve ClO_2^- iyonu oluşmaktadır. (Hoeyn, 2010; Çölgeçen, 2014)

Tablo 1.4. Klor dioksidin bazı oksidasyon-redüksüyon oluşum tepkimeleri

$ClO_2 + e^- > ClO_2^-$	E0=0,954V
$ClO_2 - + 2H_2O + 4e^- > Cl - + 4OH^-$	E0=0,76V
$ClO_2^- + H_20 + 2e^- > ClO_2 - + 2O^-$	E0=0,33V

Klor dioksit pH:12 gibi durumlarda ClO_2^- ve ClO_3^- bileşiklerine dönüşmektedir. pH:2 gibi durumlarda ise ClO_2^-‘ e dönüşmektedir. (Aieta et al., 1980)

$2ClO_2^- + H_2O > 2H^+ + ClO_2^- + ClO_3^-$

$ClO_2^- + 4H^+ + 5e^- > Cl^- + 2H_2O$

Klor dioksit normal şartlar ortamında HOCl ile tepkimeye girdiğinde ClO_3^- formuna dönüşmektedir. (Aieta et al. 1980)

$2ClO_2 + HOCl + 2H_2O > 2ClO_3^- + HCl + 2H^+$

ClO_2^-, Cl_2’ in suda bulunduğu durumda reaksiyon oluşturmaktadır ve tekrardan ClO_2 oluşturmaktadır. Suyun pH aralığı ve reaktifin konsantrasyonu oluşan reaksiyonu değiştirebilmektedir (Werdehoff and Singer, 1987). Asidik ortamlarda ClO_2^- HOCl ile reaksiyonu sonucunda ClO_2 bileşiğine dönüşmektedir (Gordon, 1972)

$ClO_2^- + HOCl > 2ClO_2 + Cl^- + OH^-$

Nötral ortamlarda ise ClO_2 ile HOCl bileşiğinin tepkimesi sonucunda Cl^- ve ClO_3^- bileşikleri oluşmaktadır (Gordon, 1972).

$2ClO_2 + 2H_2O > 2ClO_3^- + Cl^- + 3H^+$

Klordioksit sıvı çözeltilerde gaz formunda uçucu bir yapı gösterdiğinden ve yüksek basınç altında kolayca patlayıcı özelliği gösterdiği için üretildiği yerde kullanılabildiği gibi, farklı yöntemler ile de üretimi bulunmaktadır. Klor dioksit kararsız gaz yapısından dolayı yüksek konsantrasyonlarda üretilmektedir. Klor dioksidin üretimi 3 farklı yöntem ile gerçekleşmektedir. Bunlar asitlendirme, klor çözeltisi ile ve gaz klor yöntemleridir (Korn et al. 2002; Avşar, 2017).

Asitlendirme ile ClO_2 üretimi ilk yöntemlerden biri olup $NaClO_2$ çözeltisine H_2SO_4 veya HCl eklenmesi ile oluşturulmaktadır. HCl ile oluşan verim daha fazla olduğu için H_2SO_4'e nazaran daha fazla kullanılmaktadır. Bu iki metot su arıtma işleminde kullanılmaktadır çünkü klordioksit verimi düşüktür ve klor dioksit oluşumu en fazla %80'dir. Bu iki yöntem aşağıdaki gibi gerçekleşmektedir (Korn et al. 2002).

$4NaClO_2 + 2H_2SO_4 > 2Na_2SO_4 + 2ClO_2 + HCl + HClO_3$
$5NaClO_2 + 4HCl > 4ClO_2 + 5NaCl + 2H_2O$

Klor çözeltisi ile yöntemi ile klor dioksit üretimi sulu klordan faydalanmaktadır (Hoeyn, 2010).

$2ClO_2^- + HOCl > 2ClO_2 + Cl^-$

Gaz klor yönteminde klor gazı ve sıvı sodyum kloridin vakum altında tepkime oluşturması ile klor dioksit oluşturulmaktadır. Reaksiyon ortamı nötr pH ortamında oluşmaktadır ve hızlı bir şekilde %94-99 değerinde klor dioksit üretilmektedir. Reaksiyon oluşumu aşağıdaki denklem gibi oluşmaktadır (Hoeyn, 2010).

$2NaClO_2 + Cl_2 > ClO_2 + 2NaCl$

Klor dioksit geniş spektrumlu ve oldukça etkili bir biosittir. Klor dioksit gıdaların bozulmasına sebep olan patojenik mikroorganizmaları sterilize eden en etkili yöntemlerden biridir. Klor dioksit bu mikroorganizmaların yükseltgenme özelliğinden faydalanarak etkilemektedir. Bakteriler gibi canlılarda hücre zarının yapısını bozarak, virüslerde ise yaşamsal faaliyeti gösteren RNA molekülünün yapısını etkileyerek onları inhibe etmektedir. Klor dioksit mikroorganizmaların hücre çeperini, hücre zarını olumsuz şekilde etkilemekte, protein yapılarını bozmakta ve DNA, RNA gibi moleküllerin oluşmasını engellemektedir. Ortamda bulunan tuz konsantrasyonu antimikrobiyal etkisini değiştirmemektedir fakat yağ, protein miktarlarının bulunması klordioksidi etkilemektedir. Klor dioksit uygulama sırasında Fe ve Mn oluşumu, koku ve rengin engellenmesi, mineral oluşumu gibi etkilerinden dolayı en güçlü dezenfektanlar arasındadır fakat konsantrasyonu etkinliğini oldukça etkilemektedir, yüksek konsantrasyonlarda toksik etki oluşturmaktadır. Klor dioksit yağlar ile reaksiyon oluşturmaktadır fakat sistein, triptofan ve trozin gibi aminoasitler dışındaki aminoasitler ile reaksiyon oluşturmamaktadır. Klor dioksit bitki hücre duvarında bulunan selüloz ile reaksiyona girerek glukonik asiti oluşturmaktadır, glukozun yapısındaki karboksil grupları ile reaksiyona girerek karboksilleri ve daha sonra oluşan tepkimeler ile karboksil asit türevlerini oluşturmaktadır (Barbeau et al. 2005; Çölgeçen, 2014; Gordon, 1972; Karadağ, 2011).

Yapılan bu tez çalışmasının temel amacı son yıllarda, özellikte suların dezenfeksiyonunda kullanımı giderek artan ve tarımsal sulara da karışan ClO_2'in insanların ve hayvanların temel besin kaynaklarından biri olan buğday bitkisi (*Triticium aestivum* L.) üzerine, fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler süreçlerini değerlendirerek oksidatif hasarını belirlemektir. Elde edilen tüm sonuçlar bütüncül olarak ele alınmış ve değerlendirilmiştir.

2. KAYNAK ÖZETİ

Bolat ve ark. (2013)'nin yaptıkları bir çalışmada farklı konsantrasyonlardaki ClO_2 çözeltileri ile içme suyu endüstrisinde damacanaların mikroorganizmalardan arındırılarak geri dönüşümünü sağlamayı hedeflemiştir. Çalışmada farklı bakteriler üzerinde araştırma yapılmıştır ve ClO_2'in dezenfektan etkinliği incelenmiştir. Çalışmada 0.2-2 RPM konsantrasyon aralığında ClO_2 çözeltileri kullanılmıştır ve damacanalar 10, 20 sn yıkamalara tabi tutularak dezenfekte edilmiştir. Sonuç olarak dezenfeksiyon için, 0.2-2 rpm ClO_2 konsantrasyonlarının yeterli olduğu belirtilmiştir (Bolat, 2013).

Çölgeçen 2014, tarafından yapılan bir çalışmada klor dioksidin farklı konsantrasyonları ile kirazda raf ömrünün arttırılması üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada ağırlık değişimi, suda çözünebilen kuru maddeler, su aktivitesi, renk değişimi, antosiyanin, küf gelişimi gibi parametreler +4 ^{0}C'de 5 hafta boyunca takip edilerek incelenmiştir. Çalışmada 16 ve 20 rpm klor dioksit konsantrasyonları kirazın raf ömrü üzerinde daha etkili olduğu tespit edilmiştir ve kullanılabilecek potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir (Çölgeçen, 2014).

Chumyam ve ark. (2017)'nin yaptığı bir çalışmada CIO_2'nin fümigasyonunun depolama sırasında Daw longan meyvesinde antioksidan askorbat-glutatyon döngüsünün redoks dengeleme potansiyeli üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Askorbat-glutatyon (ASA-GSH) redoks potansiyelinin değişimi, oksidatif stres ile ilişkilidir. Taze longan meyveleri 10 dk. süre ile 10 mg/L CIO_2 konsantrasyonuna tabi tutularak karton kutularda korunmuş ve 7 gün oda sıcaklığında bekletilmiştir. Yapılan parametreler, ASA/DHA, GSH/GSSG ve NADPH/NADP oranları ile belirlenen meyvenin redoks durumunun, CIO_2 ile muamele edilmemiş kontrol grubuna oranla azaldığını göstermiştir. CIO_2 muamelesi hastalık semptomlarını, hidrojen peroksit (H_2O_2) içeriğini ve meyve yaşlanma indeksini azaltmıştır. ASA-GSH kaskadının redoks statüsündeki dengesizliği ve CIO_2'nin redoks

dengesini koruyarak longan meyvesinin yaşlanmasını yavaşlatıp geciktirebileceği sonucuna varılmıştır (Chumyam, 2017).

Avşar ve ark. (2017)'nın yaptığı bir çalışmada klor dioksidin İstanbul Ömerli ham suyunda dezenfeksiyon amaçlı kullanıldığında oluşabilecek yan ürünlerin etkisi araştırmışlardır. Bu çalışmada aralık ve şubat aylarında Ömerli ham suyundan numune alınarak farklı konsantrasyonlarda klor dioksit uygulanmıştır. Uygulama işleminden sonra klorit, klorat, HAA'lar, THM'ler gibi dezenfektan yan ürünlerinin ve florür, klörür, bromür, nitrat, toplam organik karbon, sülfat gibi su kalite parametrelerinin ölçülmesi ile belirlenmiştir. Ayrıca dezenfektan yan ürünlerinin oluşmasında pH ile temas süresinin etki düzeyi incelenmiştir. Bu çalışmada optimum olarak belirlenen klor dioksit konsantrasyonu mikrobiyolojik açıdan 0,75mg/L olarak belirlenmiştir (Avşar et al. 2017).

Yapılan bir çalışmada ClO_2'nin kiraz, üzüm ve domateslerin gıda güvenliği ve kalitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. *Escherichia coli* ya da *Salmonella* ile aşılanmış kiraz ve domatesler paketlenip 20 °C' de 14 gün korunmuştur. Dört dozaj/salma oranıyla paket kapakların altına ClO_2 poşetleri yapıştırılmıştır. Bunlar tek doz yavaş salınım (S), tek doz hızlı salınım (F), hızlı/yavaş salınım kombinasyonu (FS) ve çift doz hızlı salınım (FF) olarak tasarlanmıştır. Üst boşluktaki karşılık gelen denge ClO_2 konsantrasyonları 2, 4, 6 ve 8 ppm olarak kullanılmıştır. FS ve FF salınımları F'ye göre çok az etki göstermiştir. F ve FF salınımları S popülasyonunu azaltmıştır. ClO_2'nin minimum etkili konsantrasyonu 4 ppm (F) olarak belirtilmiştir. Sonuç olarak aşılanmış kiraz, üzüm ve domateslerde ClO_2'in yüksek düzeyde antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip olduğunu ve depolama sırasında raf ömrünü uzatmak için yararlı olduğunu göstermektedir (Sun et al. 2017).

Türkay ve ark. (2017)'nın elektroaktif su adında, ekonomik ve zararsız bir dezenfektan üretmeyi amaçlamıştır. Bu amaç doğrultusunda elektroaktif su üretmek için farklı iki reaktör tasarlanmıştır ve mikroorganizmalar üzerinde etki düzeyleri araştırılmıştır. Bu sistemin çalışma mekanizması yüzey yanıt metodu ile belirlenmiştir. EAS'ın bakteriler

üzerindeki etki mekanizması sodyum hipoklorit ve klor dioksidin karşılaştırılmalı şeklinde değerlendirilmiştir. *Enterococcus faecalis* bakterisindeki değişiklikler SDS-PAGE, FITIR, protein sızıntısı gibi analiz çeşitleri ile yapılmıştır. Elektroaktif suyun serbest klor konsantrasyonu mikroorganizmaların dezenfeksiyonunda en fazla önem teşkil eden faktör olarak belirlenmiştir. Çalışmada klor dioksit, hipoklorit ve elektroaktif suyun etki düzeyleri önemli ölçüde benzerlik göstermektedir (Türkay, 2017).

Yapılan bir çalışmada yonca ve maş fasulyesine *Escherchia coli* ve *Salmonella* mikroorganizmaları aşılanmıştır. Daha sonra sıvı klordioksit ve ultrasyon karşılaştırmalı olarak antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Uygulanan ClO_2 (3 ppm) konsantrasyonu her iki bakteri popülasyonunu hem yonca hem de maş fasulyesi filizlerinde benzer seviyelerde (yaklaşık 1.5 log CFU/g' ye) azalttığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda ClO_2 tedavisi, hem yonca hem de maş fasulyesi filizlerinde *E. coli* ve *Salmonella* toplam inaktivasyonu açısından ultrason işleminden daha etkili olduğu belirtilmiştir. İncelenen gıda ürünlerinde ultrason, ClO_2 ile birleştirildiğinde hem *E. coli* hem de *Salmonella*' nın azalmasında ve toplam inaktivasyonda ilave bir etki gözlemlenmiştir (Mıllıan-Sango, 2017).

El-Naıhoum ve ark. (2018)'de yaptıkları bir çalışmada plağa bağlı olarak meydana gelen diş eti iltahaplarının önlenmesi ve tedavi edilmesi için aloe vera ve klordioksit içeren bir çözelti oluşturulmuştur. Çalışmada ALV+ ClO_2, klorheksidin glukonat ve distile su ile 4 günlük plak akümülasyonları takip edilmiştir ve karşılaştırmaları yapılmıştır. Çalışmada 33 birey seçilmiştir ve kendilerine verilen gargara çeşidini günde iki kez uygulamışlardır. 4. Günün sonunda plan indeksi, diş eti oluğu sıvısı, gingival indeks ölçülmüştür ve bireylere memnuniyet anketi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda istatiksel olarak belirli farklılıklar gözlenmiştir. Bireylerin temizlik hissi yönünden klorheksidin glukınatı, ağız kuruluğu, dişlerde yanma hissi, renkleşme gibi özellikler yönünden ALV+ ClO_2'i tercih ettikleri belirtilmiştir ve sonuç olarak ALV+ ClO_2 klorheksidin glukonata göre daha yüksek düzeyde kabul görüp tercih edilmiştir (El-Nahıoum, 2018).

Bridgesa ve ark. (2018)'nın yaptıkları çalışmada Shiga toksini üreten *Escherichia coli* (STEC)*, Salmonella enterica serovarları* ve *Listeria monocytogeneson* havuç, yaban mersini ve biftek domateslerine karşı gaz halinde klor dioksit (ClO_2) veya ozon(O_3)

tedavisinin etkinliğini incelemişlerdir. Ölçekli kapalı bir arıtma sistemi kullanarak kuru ClO_2 konsantrasyonları 2.5 saatlik bir muamele için 0,03, 0,06 ve 0,12 mg ClO_2/g ürün ve 5.0 saatlik bir muamele süresi için 0,04, 0,07 ve 0,15 mg ClO_2/g ürün yapmak için oda içinde bekletildi. Ozon, 2 kg ürünü 2,5 ve 5,0 saat süreyle bekletmek için 0,86 veya 1,71 mg O_3/g ürün konsantrasyonları kullanılmıştır. Havuç, domates ve 3,7 yaban mersini üzerinde O3'e maruz kalma, 1,2, 1,8 ve 1,6 log'luk gözlemlenen azalmalarla sonuçlandı ve aynı zamanda, havuç ve domates dokusunda da gözle görülür bir ağartma ile sonuçlandı. Burada bildirilen bu sonuçlar, depolama ortamında bakteriyel patojenleri azaltmak için doğru şekilde uygulandığında gaz halindeki ClO_2'nin uygun bir tedavi olabileceğini göstermektedir (Bridges, 2018).

Yapılan bir çalışmada klor dioksitin depolanmış tatlı patatesten izole edilen patojenlere karşı *in vitro* ve *in vivo* inhibitör etkileri incelenmiştir. Tatlı patates kuru çürüklüğünün nedeni olan diaporthe batatas SP-d1'e karşı gaz halindeki ClO_2'nin *in vitro* ve *in vivo* inhibitör etkilerini test edilmiştir. *In vitro* testlerde, asitlendirilmiş patates dekstroz agar üzerine yayılmış SP-d1 spor süspansiyonları, 0-60 dakika boyunca çeşitli ClO_2 konsantrasyonları (1-20 ppm) ile işleme tabi tutulmuştur. Mantar büyümesi, 30 dakika boyunca 1 ppm ClO2 tedavisinde önemli ölçüde inhibe edildi ve 20 ppm'de tamamen inhibe edilmiştir. Aynı zamanda maruz kalma süresinin artmasıyla lezyon çapları önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlar gaz halindeki ClO_2'nin tatlı patateste *D. batatas* büyümesini ve kuru çürüklük gelişimini önemli ölçüde engelleyebileceğini göstermiştir. Özellikle, ekin üzerinde mantar büyümesini ve hastalık gelişimini engellemek için 30 dakika boyunca 20 ppm ClO_2 gaz muamelesi uygun olabilir. Bu nedenle, tatlı patates köklerinin hasat sonrası depolanması sırasında bu mantar hastalığını kontrol etmek için gazlı ClO_2 kullanılabilir (Lee, 2019).

Wang ve ark. (2019)'nın yaptıkları bir çalışmada ClO_2'nin arpanın çimlenmesi, oksidatif metabolizması ve büyümesi üzerine etkilerini incelemiştir. Yapılan bu çalışmada arpa tohumları ayrı ayrı 0, 500, 1000 ve 2000 mg/L ile muamele edilmiştir. Uygulanan ClO_2 konsantrasyonlarında arpaların çimlenme yüzdeleri üzerine anlamlı farklılıklar gözlemlenmiştir. 1000 mg/L ve 2000 mg/L ClO_2 anlamlı bir şekilde çimlenme yüzdesini azalttığı gözlemlenmiştir. Arpaların kök ve gövde taze ağırlıkları da önemli derecede farklılık göstermiştir. Arpa köklerinde MDA konsantrasyonunda önemli bir fark olmadığı

belirlenmiştir. 1000 mg/L ve 2000 mg/L ClO_2'in arpa fidelerinde POX ve CAT aktivitelerini arttırdığı 500 mg/L ClO_2'in ise etki etmediği tespit edilmiştir. ClO_2'nin hücre zarı H + -ATPaz aktivitesini uyarıp uyaramayacağını değerlendirilmiştir ve ClO_2 ile muameleden sonra, arpa kökleri daha güçlü asitlenme göstermiştir. Bu çalışmada sonuç olarak orta derecede ClO_2 muamelesi arpa tohumlarının çimlenmesini engellemedi ve arpa yapraklarındaki klorofili deforme etmediği, aksine, arpa köklerinin büyümesini teşvik edebildiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda hücre zarının aktivitesi olan antioksidan enzimleri düzenleyerek kök sayısını artırdığı ve H + -ATPaz kök aktivitesini arttırdığı belirtilmiştir (Wang et al. 2019).

Lee ve ark. (2020)'nın yaptıkları bir çalışmada ClO_2'in kesme gül çiçeklerinin saklama koşullarında gri küf oluşmasını engellemesi üzerine araştırma yapmışlardır. Bu çalışmada, kesme gül çiçekleri (*Rosa hybrida* L.) klor dioksit ile 6 gün muamele edilerek mantar oluşumuna sebep olan *Botrytis cinere*'nın önleyici etkisi araştırılmıştır ve uygulanan daldırma, püskürtme yöntemleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada CIO_2 konsantrasyonları 5 uL ve 10 uL L/1 olacak şekilde kullanılmıştır. Sonuç olarak 5 uL L/1 CIO_2'in mantarların inhibe etkisin daha fazla olduğu ve rahatlıkla kullanılabileceği belirtilmiştir. (Lee, 2020).

3. METERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Bu tez çalışmasında kullanılan çözeltiler aşağıda belirtildiği gibi hazırlanmıştır.

1. 50mg/L CIO_2 (bitki çimlendirilmesinde kullanılmıştır) 0.005 gr CIO_2 100 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
2. 100mg/L $CI0_2$ (bitki çimlendirilmesinde kullanılmıştır) 0,01 gr CIO_2 100 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
3. 250 mg/L CIO_2 (bitki çimlendirilmesinde kullanılmıştır) 0,025 gr CIO_2 100 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
4. 500 mg/L CIO_2 (bitki çimlendirilmesinde kullanılmıştır) 0,05 gr CIO_2 100 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
5. 1000 mg/L CIO_2 (bitki çimlendirilmesinde kullanılmıştır) 0,1 gr CIO_2 100 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
6. % 5'lik TCA (LPO'nun aktivite ölçümü için hazırlanan homojenat çözeltisi) 2.5 gr TCA 50 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
7. % 0,5'lik TBA (LPO'nun aktivite reaksiyon çözeltisi) 10 gr TCA ve 0.25 gr TBA 50 mL dH_20 içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
8. 0.1 M KH_2PO_4 (pH:7.0), 0,1 M EDTA, % 1 PVP (enzim aktivitesi için hazırlanan homojenat çözeltisi) 0,68 gr KH_2PO_4 35 mL dH_20 içerisinde çözdürülerek pH: 7.0 olarak ayarlanmıştır, daha sonra içerisine 0,5 gr PVP ve 0,019 gr EDTA eklenerek çözdürülmüştür. Son hacim dH_2O ile 50 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
9. 103. 5 mM 50 mL KH_2PO_4 (pH:7.5) (katalaz aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan tampon çözeltisi) 0.7 gr KH_2PO_4 35 mL dH_2O içerisinde çözdürüldükten sonra pH 7.5 olacak şekilde ayarlanmıştır ve son hacim dH_2O ile 50 mL'e tamamlanmıştır.

10. 40 mM 50 ml H_2O_2 (katalaz aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan substrat çözeltisi) 204 µL %30'luk H_2O_2 alınmıştır ve total hacim dH_2O ile 50 mL'e olacak şekilde hazırlanmıştır.
11. 0,1 M 50 mL NaH_2PO_4 (peroksidaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan tampon çözeltisi) 0,885 gr NaH_2PO_4 35 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek pH 5.5'e ayarlanmıştır. Daha sonra içerisine 27 µL guaikol ve 22,5 µL H_2O_2 eklenerek toplam hacim dH_2O ile 50 mL olacak şekilde hazırlanmıştır.
12. 50 mM 250 mL KH_2PO_4 (pH:7.8) (SOD aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan tampon çözeltisi) 1,77 gr KH_2PO_4 175 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek pH 7.8 olacak şekilde ayarlanmıştır ve daha sonra dH_2O ile 250 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
13. 13 mM metiyonin: (SOD aktivitesinin reaksiyon çözeltisi) 0,485 gr metiyonin tampon çözeltisine eklenerek çözdürülmesi sağlanmıştır.
14. 63 µM NBT: (SOD aktivitesinin reaksiyon çözeltisi) 0,0128 gr NBT tampon çözeltisine eklenerek çözdürülmesi sağlanmıştır.
15. 0,1 µM EDTA : (SOD aktivitesinin reaksiyon çözeltisi) 0,009 gr EDTA tampon çözeltiye eklenilir ve toplam hacim dH_2O ile 250 mL olacak şekilde hazırlanmıştır.
16. 13 µM riboflavin çözeltisi (SOD aktivitesinin belirlenmesinde hazırlanan ikinci çözelti) 0,0024 gr riboflavin 500 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
17. 65 mM 50 mL KH_2PO_4 pH: 7.8 (süperoksit anyon miktar tayini için hazırlanan tampon çözeltisi) 0,566 gr KH_2PO_4 35 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek pH 7.8 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra dH_2O ile 50 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
18. 10 mM 20 mL hydroxilamine (süperoksit anyonu miktarının tayini için kullanılan reaksiyon çözeltisi) 0,0138 gr hydroxilamine 20 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
19. 17 mM 50 mL ABSA (süperoksit anyonu miktarının tayini için kullanılan reaksiyon çözeltisi) 0,1472 gr ABSA 50 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
20. 17 mM 100 mL 1-Naftilamine (süperoksit anyonu miktarının tayini için kullanılan reaksiyon çözeltisi) 0,243 gr naftilamine 10 mL aseton içerisinde çözdürülmüştür ve daha sonra dH_2O ile 100 mL olacak şekilde hazırlanmıştır.
21. %1 100 mL TCA (H_2O_2 aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan homojenat çözeltisi) 1 gr TCA 100 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.

22. 10 mM 100 mL KH_2PO_4 pH: 7.0 (H_2O_2 aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan reaksiyon çözeltisi) 0,0136 gr KH_2PO_4 70 mL dH_2O içerisinde çözüldükten sonra pH:7.0 olacak şekilde ayarlanmıştır ve dH_2O ile 100 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
23. 1 M 50 mL KI (H_2O_2 aktivitesinin belirlenmesi ve H_2O_2 standart grafiğini oluşturmak için hazırlanan çözelti) 8,3 gr KI saf su ile toplam hacim 50 mL olacak şekilde çözdürülerek hazırlanmıştır.
24. 0,01 M 100 mL KH_2PO_4 pH 7.0 (H_2O_2 ve katalaz aktivitesinin standart grafiğini oluşturmak için hazırlanan tampon çözeltisi) 0,136 gr KH_2PO_4 70 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek pH 7 olacak şekilde ayarlanmıştır ve daha sonra dH_2O ile 100 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
25. 0,1M 100 mL sodyum asetat, pH 4.8 (α-amilaz aktivitesinin belirlenmesi için hazırlanan homojenat çözeltisi) 0,8203 gr sodyum asetat 70 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek pH 4.8 olarak ayarlanmıştır ve dH_2O ile 100 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
26. 1500 mg/L çözünür nişasta (α-amilaz aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan reaksiyon çözeltisi) 0,15 gr çözünür nişasta 100 mL dH_2O içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
27. 0,05 M 100 mL HCI (α-amilaz aktivitesinin belirlenmesi için kullanılan reaksiyon durdurucu çözeltisi) 180 µL HCI alınarak dH_2O ile 100 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
28. 1000 mL runnıng buffer(pH 8,3) (SDS için yürütme tamponu olarak kullanılmıştır), 3 gr trizma, 14 gr glycine 500 mL saf su içerisinde çözüldükten sonra içerisine %20'lik SDS'ten 5 mL ilave edilerek pH 8,3'e ayarlanmıştır. Daha sonra saf su ile 1000 mL'ye tamamlanarak kullanılmıştır.
29. 100 mL 1,5 M Tris (pH: 8.8) (SDS elektroforezi için alt jel hazırlamak için kullanılmıştır) 18,17 gr trizma 70 mL saf su içerisinde çözüldükten sonra pH 8.8'e ayarlanmıştır ve saf su ile 100 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
30. 100 mL 1 M tris (pH:6,8) (SDS elektroforezi için üst jel hazırlamak için kullanılmıştır) 12, 114 gr trizma 70 mL saf su içerisinde çözdürülerek pH 6,8'e ayarlanmıştır ve saf su ile 100 mL'e tamamlanarak hazırlanmıştır.
31. 1 mL %10 luk APS(amonyum persülfat) (SDS elektroforez jelleri için hazırlanmıştır) 0,1 gr APS 1 mL saf su içerisinde çözdürülerek hazırlanmıştır.
32. 100 mL %10 luk SDS (SDS jelleri için hazırlanmıştır) 10 gr SDS toplam hacim 100 mL olacak şekilde saf su içerisinde +40 °C'de çözdürülerek hazırlanmıştır.

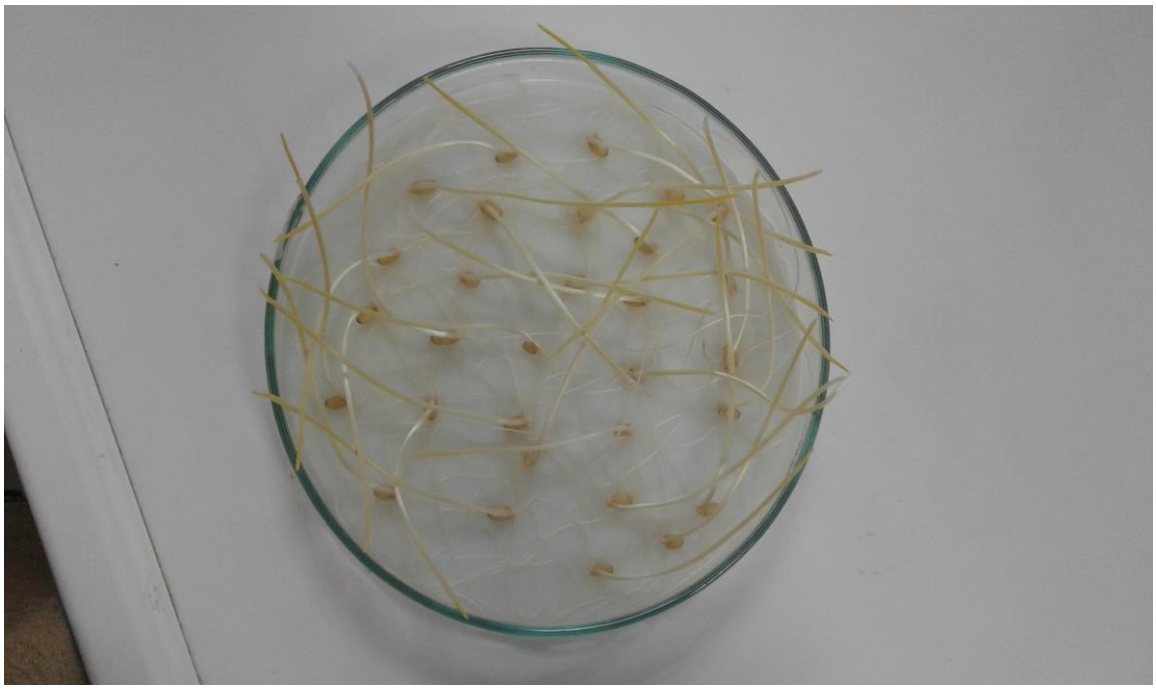
33. 100 mL %30'luk akrilamid- bisakrilamid (SDS jelleri hazırlamak için hazırlanmıştır) 29,2 akrilamid, 0,8 gr bis akrilamid toplam hacim 100 mL olacak şekilde saf su içerisinde çözdürülmüştür. Daha sonra oluşan çözelti filtre kağıdından geçirilerek hazırlanmıştır ve +4 °C'de muhafaza edilmiştir.
34. 50 mL Fiksasyon çözeltisi: (jelde yürütülen proteinlerin boyama öncesi sabitleştirmek için hazırlanmıştır) 20 mL saf su içerisinde 5 gr TCA çözdürülmüştür ve daha sonra içerisine 25 mL izopropanol eklenerek hazırlanmıştır.
35. 100 mL Jel boyama çözeltisi (jelde yürütülen proteinlerin boyanması için hazırlanmıştır) 0,1 gr R-250 Commassie Brillant Blue 50 mL metanol ve 10 mL asetik asit içerisinde çözdürülmüştür ve üzerine 40 mL saf su eklenerek hazırlanmıştır.
36. 200 mL yıkama çözeltisi (boyama sonrası bantların görünür hale gelmesi için hazırlanmıştır) 100 mL metanol, 20 mL asetik asit üzerine 80 mL saf su eklenerek hazırlanmıştır.
37. 100 mL 5X sample buffer (proteinlerin jelde görünmesi için kullanılmıştır) 12,5 mL 1M tris (pH:6,8), 25 mL %20'lik SDS, 57 mL saf su, 5 mL β-Merkaptoethanol, 10 mL glserol, 1 gr Bromohenol blue bir beher içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır.
38. 100 mL %20'lik SDS: 20 gr SDS 80 ml saf su içerisinde +40 °C'de çözdürülerek hazırlanmıştır.

3.2. Kullanılan Yöntemler

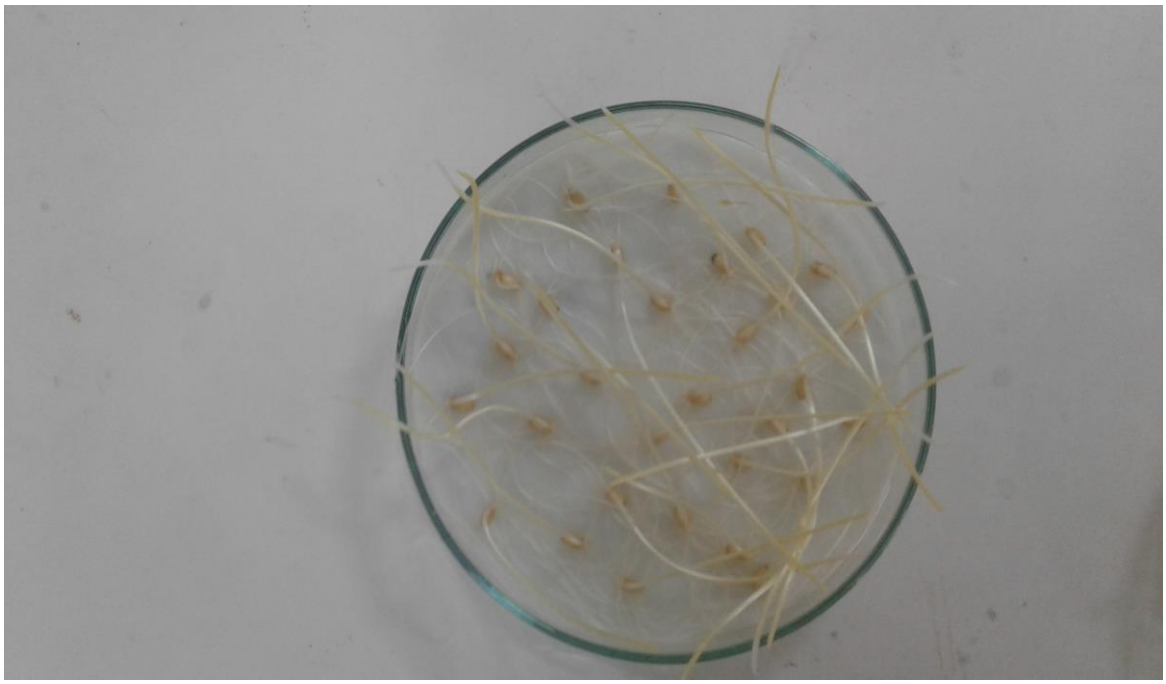
3.2.1. Bitki Çimlendirme, ClO_2 Uygulamalarının ve Fizyolojik Ölçümlerin Yapılması

Bu tez çalışmasında buğday (*Triticum aestivum* L.) bitkisinin iki farklı çeşidi olarak Gerek 79 ve Kızıltan tohumları kullanılmıştır. Kullanılacak olan bütün malzemeler bir gün öncesinde sterilize edilmiştir. Buğday tohumları öncelikle etanol (%96) ile yıkanmıştır daha sonra %2'lik NaCIO içerisinde 5 dk bekletilerek yüzey sterilizasyonu yapılmıştır. NaCIO çözeltisinden arındırılan tohumlar 5-6 kez saf su ile yıkanarak NaCIO' nun uzaklaşması sağlanmıştır. Daha sonra tohumlar, sırası ile ClO_2 çözeltisinde karanlık bir ortamda ve 24 ^{0}C'de 30 dk. bekletilerek ClO_2 emdirilmeleri yapılmıştır. Petri kaplarına 2 katlı kurutma kağıdı yerleştirilmiştir. Tohumlar çözeltiden süzülerek büyük petri kaplarına 30 tohum ve 15 mL saf su, küçük petri kaplarına 25 tohum ve 7,5 mL saf su olacak şekilde ekim işlemi gerçekleştirilmiştir. Kontrol gruplarına ait tohumlar aynı sürede saf su ile emdirilmiştir. Ekim işlemlerinden sonra petri kaplarının hava almaması için etrafı parafilm ile sarılmıştır ve 24 °C'de karanlık bir ortamda 5 gün boyunca bitkilerin çimlendirilmesi sağlanmıştır. Bitkiler 5 gün boyunca takip edilmiştir ve çimlenme oranları rapor edilmiştir.

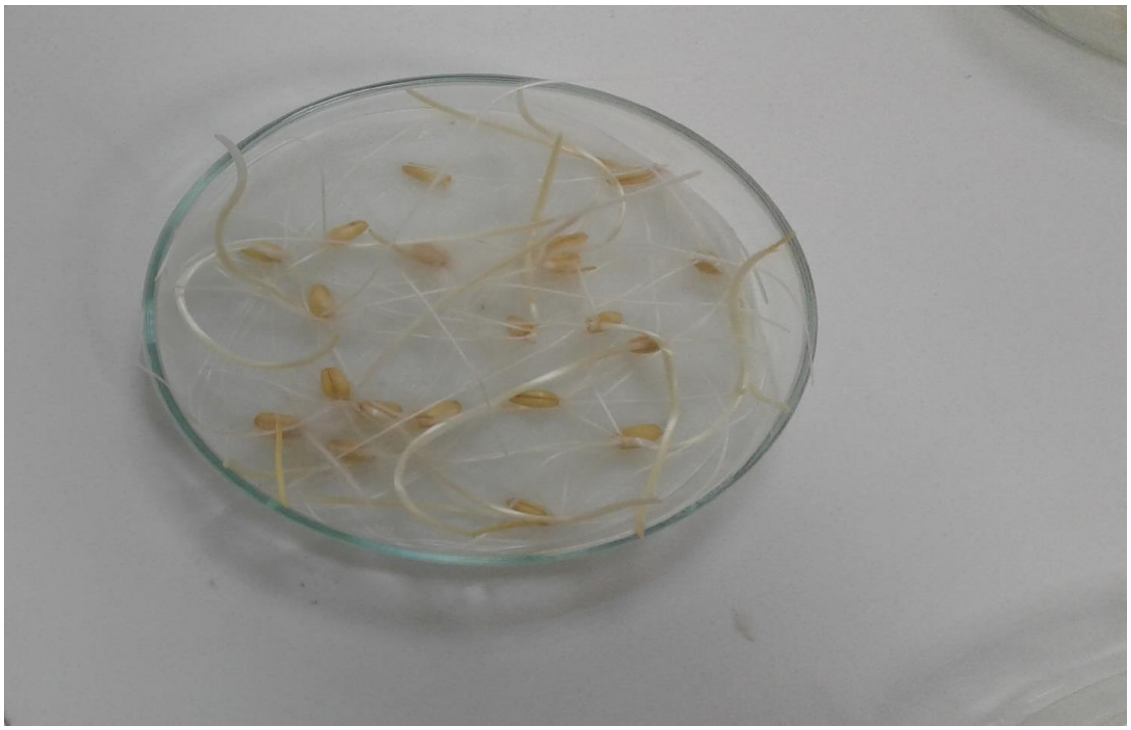
5 günlük çimlendirme sonucunda bitkilerin kök ve gövdelerinin uzunlukları bir cetvel yardımı ile ölçülmüştür. Örneklerin bir kısmı etüvde 80 °C'de kurutulmaları sağlanmıştır, geriye kalan kısmı ise paketlenip analizler için -80 °C'de korunmuştur.



Şekil 3.1. Gerek 79 bitkisinin kontrol grubunun 5 günlük çimlenmesinin görüntüsü



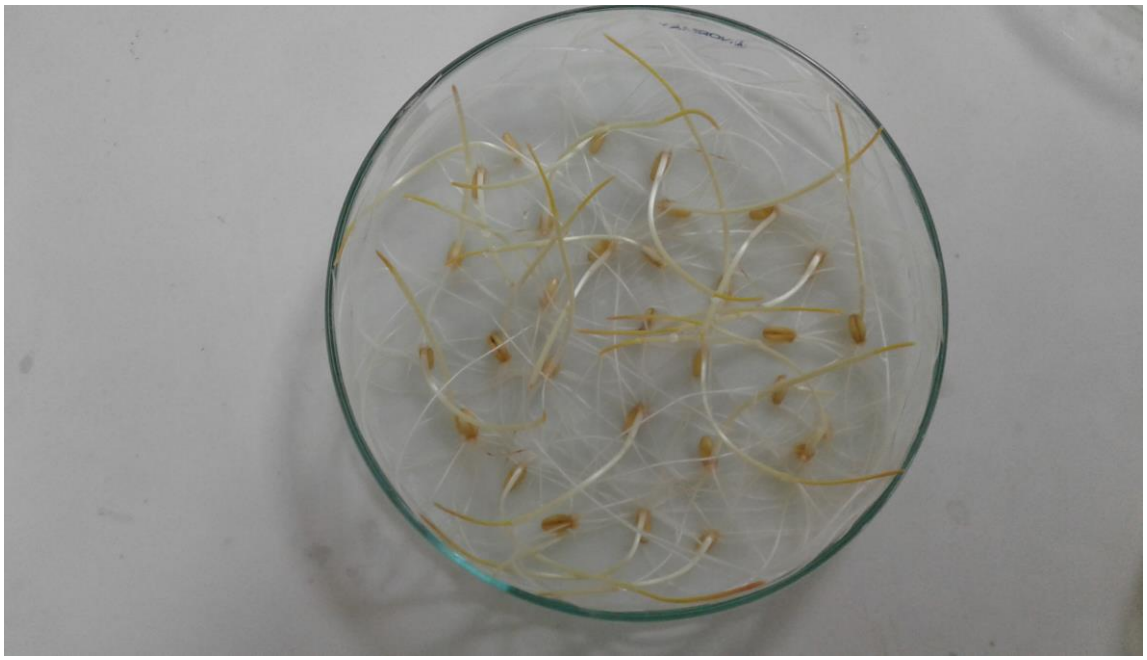
Şekil 3.2 . Gerek 79 bitkisinin 50 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü



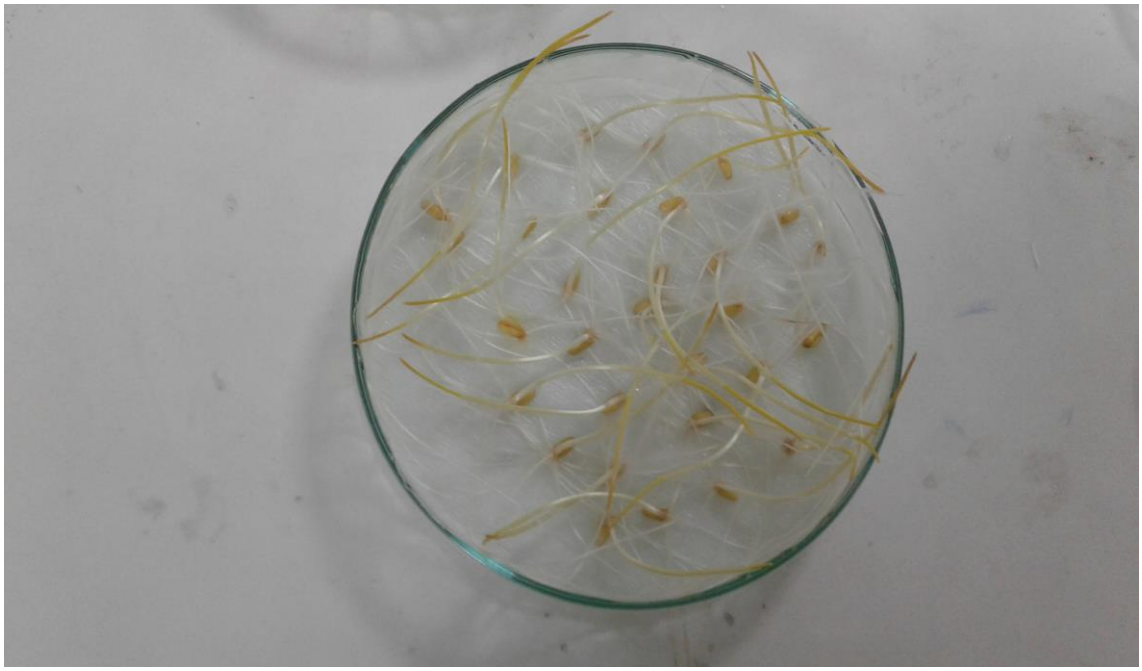
Şekil 3.3. Gerek 79 100 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü



Şekil 3.4. Kızıltan bitkisinin kontrol grubunun 5 günlük çimlendirilmesi görüntüsü



Şekil 3.5. Kızıltan bitkisinin 50 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü



Şekil 3.6. Kızıltan bitkisinin 100 mg/L ClO_2 ile 5 günlük çimlendirilmesinin görüntüsü

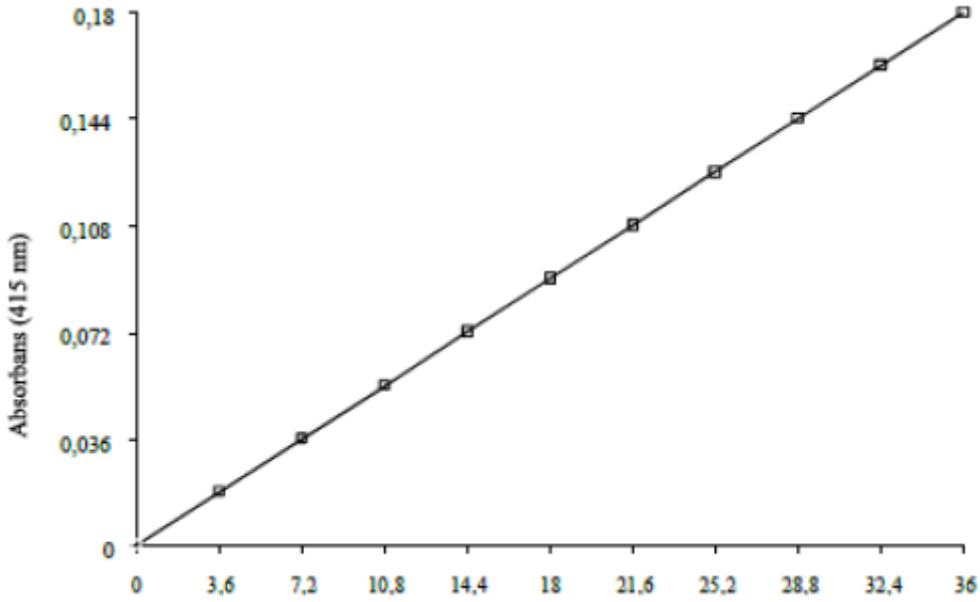
3.2.2. Lipid Peroksidasyon Aktivitesinin Belirlenmesi

0,5 gr bitki dokusu bir havan içerisinde 5 mL %5' lik TCA ile homojene edilmiştir ve 15 mL' lik falkon tüplerine alınmıştır.10000 rpm de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatant kısmından 4 mL alınmıştır ve üzerine 1 mL % 0,5 lik TBA eklenerek 30 dk boyunca 95 $^{\circ}$C'de kaynatılmıştır. Daha sonra örnekler kaynar sudan alınarak buza konulmuştur ve soğuyana kadar bekletilmiştir. Soğuyan örnekler 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi tamamlandıktan sonra örneklerden 3 mL alınarak spektrofotometre küvetlerine konulmuştur. Köre karşı 532 ve 600 nm'de okunmaları sağlanarak ölçüm alınmıştır. MDA miktarının ölçümü için 1 ml çözeltideki MDA (nmol/ml): [(A532-A600)/155000] x106 formülü kullanılarak hesaplanmıştır (Ananieva et al. 2002; Esim, 2011).

3.2.3. Hidrojen Peroksit Miktarının Belirlenmesi

H_2O_2 aktivitesinin belirlenmesi için 0,5 gr bitki dokusu örneği %1'lik 4 mL TCA içerisinde homojene edilmiştir ve 15 mL' lik falkon tüplerine alınmıştır. Daha sonra 1000 rpm de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Başka falkon tüplerine 10 mM KH_2PO_4 pH: 7.0 tamponundan 0,8 mL, 1 M KI çözeltisinden 1,6 mL eklenilmiştir ve bu karışımın üzerine elde edilen süpernatanttan 0,8 mL ilave edilmiştir. Örnekler spektrofotometrede 390 nm' de köre karşı okunmuştur ve elde edilen sonuçlar standart sonuçlar ile değerlenmiştir. Sonuçlar gr yaprak başına düşen H_2O_2 miktarı (ngram/g yaprak) olarak değerlendirilmiştir (He et al. 2005; Esim, 2011).

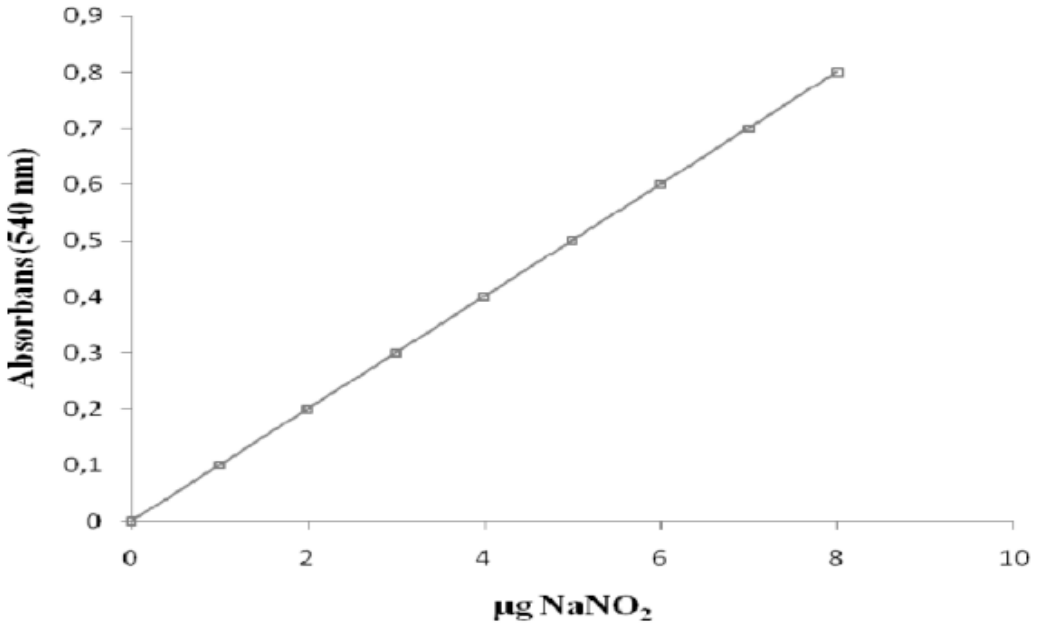
H_2O_2 miktarının belirlenmesinde kullanılan standart için, 1 mL H_2O_2 üzerine 9 mL saf su ilave edilmiştir ve oluşan karışım vortekslenmiştir. Oluşan karışımdan 1 mL alınmıştır ve üzerine 9 mL saf su eklenerek vortekslenmiştir. Bu işlem iki kez daha tekrarlanmıştır. 11 tane falkon tüpü hazırlanmıştır ve son karışımdan tüplere sırası ile 0, 100 µL, 200 µL, 300 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, 900 µL ve 1000 µL eklenmiştir. Üzerlerine 1 mL'e tamamlayacak şekilde 0,01 M KH_2PO_4 pH 7.0 tamponundan eklenmiştir. Daha sonra üzerlerine 1 M KI çözeltisinden 1 mL ilave edilmiştir ve 390 nm'de absorbans değerleri okunmuştur.



Şekil 3.7. H_2O_2 miktarını belirlemede kullanılan standart grafik (ng.g-1)

3.2.4. Süperoksit Anyonu Miktarının Belirlenmesi

0,5 gr bitki dokusu örneği havan içerisinde 2 mL 65 mM KH_2PO_4 pH: 7.8 tamponu ile homojene edilmiştir. Örnekler 15 lik falkon tüplerine alınmıştır ve 10 dk 1000 rpm de +4 °C'de santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernatant kısmından 1 mL alınmıştır ve üzerine 10 mM hydroxilamine çözeltisinden 100 µL, 65 mM KH_2PO_4 pH: 7.8 tamponundan 900 µL eklenmiştir. Örnekler 24 °C'de 20 dk. inkübe edilmesi için bekletilmiştir. Daha sonra farklı falkon tüplerine karışımdan 1 mL alınmıştır ve üzerlerine 1 mL 17 mM ABSA, 1 mL 17 mM 1-Naftilamine eklenerek tekrar 24 °C'de 20 dk. inkübasyon için bekletilmiştir. İnkübasyon işlemi bittikten sonra spektrofotometrede 530 nm'de ölçüm alınmıştır. Oluşan sonuçlar $NaNO_2$ standart grafiği ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir (Elstner and Heupel, 1976; Esim, 2011).



Şekil 3.8. $O_2^{\cdot-}$ miktarını belirlemede kullanılan standart grafik (µg.g-1)

3.2.5. Hücresel Enzim Ekstraksiyonu

0,2 gr bitki dokusu örneği bir havan içerisinde 2 mL 0.1 M KH_2PO_4 pH:7.0 çözeltisi ile homojene edilmiştir ve örnekler 15 mL'lik falkon tüplerine alınmıştır. Daha sonra 15000 x g ve de ve +4 °C'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi bittikten sonra oluşan süpernatant kısmı enzim ekstratı olarak kullanılmıştır (Angelini vd Federico 1990; Esim, 2011).

3.2.5.1. Peroksidaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivite miktarı tayini, guaikol ve H_2O_2'nin substrat olarak bulunduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşiğin oluşturduğu absorbansın 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır. Peroksidaz aktivitesinin ölçümü için 3 mL'lik spektrofotometre küvetlerine 0,1 M 50 mL NaH_2PO_4 çözeltisinden 3 ml alınmıştır ve üzerine 10 µL enzim ekstratı eklenmiştir. Örneklerin spektrofotometrede 470 nm'de köre karşı 0 ve 5. Dk ölçümler alınmıştır ve kaydedilmiştir (Ye et al. 2003; Esim, 2011).

3.2.5.2. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Katalaz aktivitesi için 3 mL'lik spektrofotometre küvetlerine 103.5 mM KH_2PO_4 (pH:7.5) tampon çözeltisinden 1,475 mL, 40 mM H_2O_2 çözeltisinden 1,5 mL ilave edildikten sonra üzerine 25 µL enzim ekstratı eklenmiştir. Örnekler pipetlendikten sonra 240 nm de 0. ve 3. dakika ölçümleri alınmıştır. Oluşan sonuçlar standart sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (Esim, 2011).

3.2.5.3. Süperoksid Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) süperoksit radikalleri ile mavi renkli formazona fotokimyasal indirgenmesi reaksiyonunun SOD enzimi tarafından engellenmesinin spektrofotometrik olarak belirleme esasına dayanır. SOD aktivitesi için 3 mL'lik spektrofotometre küvetlerine 50 mM KH_2PO_4 çözeltisinden 2,580 mL alınmıştır ve üzerine 30 µL enzim ekstratı eklenip pipetlenmiştir. Daha sonra üzerine 13 µM riboflavin çözeltisinden 390 mL eklenmiştir ve beyaz ışık karşısında 15 dk. boyunca bekletilmiştir. Örnekler 15 dk. sonra beyaz ışık karşısından alınmıştır ve 560 nm'de köre karşı okunmuştur. SOD aktivitesinin bir ünitesi, 560 nm'de oluşan NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna sebep olan enzim miktarı, 1 enzim miktarı olarak kabul edilir ve oluşan sonuçlar gr yaprak başına düşen enzim ünitesi ($U.g^{-1}$) olarak değerlendirilmiştir (Agarwal and Pandey, 2004; Esim, 2011).

3.2.6. α-amilaz Aktivitesinin Belirlenmesi

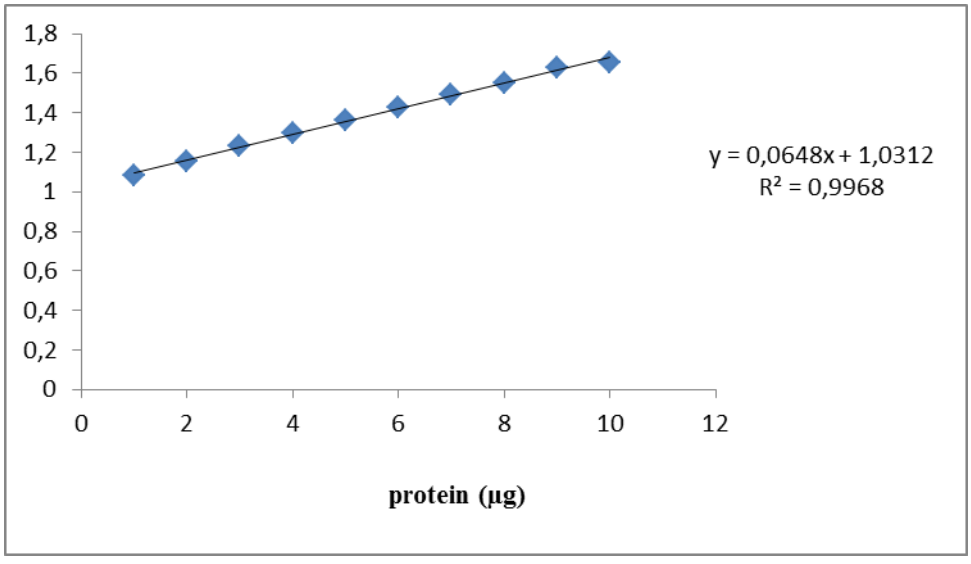
α-amilaz aktivitesi Varner'e göre yapılmıştır. Bitki doku örneğinden 0,2 gr alınarak bir havan içerisinde 2 mL 0,1 M sodyum asetat pH 4.8 tamponu ile homojene edilmiştir ve 15 mL'lik falkon tüplerine alınmıştır. +4 $^{\circ}$C'de 10 dk 1000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Oluşan süpernetant kısmı enzim ekstratı olarak kullanılmıştır. Başka falkon tüplerine 1 mL 0,1M sodyum asetat tamponundan, 1 mL enzim ekstratı ve 1 mL nişasta çözeltisinden eklenmiştir. Oluşan karışım oda sıcaklığında reaksiyon oluşturmak için 10 dk. bekletilmiştir. Daha sonra üzerine 3 mL 0,05M HCI ilave edilerek reaksiyon durdurulmuştur. Elde edilen örnekler spektrofotometrede 620 nm dalga boyunda köre

karşı okunmuştur. Elde edilen değerler amilaz aktivitesinin belirlenmesinde kullanılmıştır (Bingöl, 2020).

3.2.7. SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

3.2.7.1. Protein Miktarı Tayini

Kantitatif protein miktarı tayini Bradford yöntemi ile belirlenmiştir. Bu metotta boya maddesi olarak Commansie Brillant Blue G-250 kullanılmıştır. Commansie Brillant Blue negatif yüklüdür ve proteinler üzerinde bulunan pozitif yüklere bağlanırlar. Protein miktar tayininde standart oluşturmak için 1 mL'sinde 1 mg protein bulunduran sığır albümin çözeltisi hazırlanmıştır. 10 tane tüp hazırlanmıştır ve sığır albümin çözeltisinden tüplere sırası ile 10 µL, 20 µL, 30 µL, 40 µL, 50 µL, 60 µL, 70 µL, 80 µL, 90 µL ve 100 µL konulmuştur. Tüplere hacimleri 1000 µL' ye tamamlanacak şekilde saf su ilave edilmiştir. Daha sonra 5 mL Commansie Brillant Blue eklenmiştir ve 10 sn vortekslenerek homojen bir yapı almaları sağlanmıştır. 10 dk. inkübasyona bırakıldıktan sonra 3 mL'lik küvetlerde 595 nm dalga boyunda köre karşı absorbans değerleri okunmuştur.



Şekil 3.9. Bradford yöntemiyle proteinlerin kantitatif tayininde kullanılan standart grafik

3.2.7.2. Protein Ekstraksiyonu ve Jel İçin Hazırlanması

1 gr bitki dokusu örneği 4 mL 0.1 M KH_2PO_4 (pH:7.0) , 0,1 M EDTA, % 1 PVP tamponunda homojene edilmiştir. Daha sonra +4 ^oC' de 20 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra oluşan süpernatant kısmı protein örneği olarak kullanılmıştır.
2 mL' lik ependorf tüplerine protein örneklerinden 300 µL, üzerine 60 µL sampple buffer tamponundan eklenmiştir. Proteinlerin denatürasyonunun sağlanması için örnekler 95 $^\circ C$' de 10 dk. kaynatılmaları sağlanmıştır. Daha sonra örnekler kaynar sudan alınarak buzda soğumaları için bekletilmiştir. Soğuyan örnekler -20 $^\circ C$' de korunmuştur.

Tablo 3.1. SDS-PAGE için hazırlanan %10 ve %4' lük jeller

	%10'luk jel	%4'lük jel
H_2O	4 mL	2,45 mL
%30 ac-bis	3,3 mL	0,44 mL
1,5 M Tris (pH:8.8)	2,5 mL	
1 M Tris (pH: 6,8)		0,410 mL
%10 SDS	0,1 mL	0,03 mL
%10 APS	0,1 mL	0,03 mL
Temed	0,004	0,005 ml

Elektroforez için kullanılacak bütün malzemeler sterilize edilmiştir. 50 mL'lik falkon tüplerinde öncelikle ayırma jeli hazırlanmıştır. Ayırma jeli için bütün çözeltiler sırası ile ilave edilmiştir ve her çözelti eklendiğinde jelin homojen bir yapı kazanması için pipetleme yapılmıştır. Jel hazırlandıktan sonra elektroforez camlarına 3.5 mL eklenmiştir ve jelin düz bir yapı kazanması için üzerine 1 mL izopropanol eklenmiştir. Jelin donması için 30 dk bekletilmiştir. Jel donduktan sonra izopropanol dökülmüştür ve yığma jeli hazırlanmıştır. Yığma jeli eklenerek elektroforez tarakları camlara dikkatlice yerleştirilmiştir. Yığma jelinin donması için de 30 dk bekletilmiştir. Jel donduktan sonra elektroforez tankına running buffer eklenmiştir ve camlar tank içerisine yerleştirilmiştir. Tank içerisinde taraklar dikkatlice çıkarılmıştır ve oluşan kuyucukların belirginleşmesi için 1 mL running buffer ile yıkanmıştır. 20 µL örnek her bir kuyucuğa eklenmiştir. Örnekler eklendikten sonra tank kapatılmıştır ve elektrik akımı verilmiştir. Örneklerin 45 dk. 80 V'ta yürütülmeleri sağlanmıştır. Daha sonra örnekler yaklaşık iki saat 120 V'ta

yürütülmüştür. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra elektrik akımı kesilmiştir Jeller camlardan alınarak sabitleme çözeltisine alınmıştır ve 40 dk boyunca çalkalatıcıda sabitleme çözeltisi içerisinde bekletilmiştir. Daha sonra sabitleme çözeltisi dökülerek jeller 1-2 kez saf su ile yıkanmıştır ve üzerine boyama çözeltisi eklenmiştir. 2 saat boyama çözeltisinde çalkalanmaları sağlanmıştır. Jeller boyama çözeltisinden alındıktan sonra 2 saat boyunca yıkama çözeltisinde çalkalatılarak bekletilmiştir ve 30 dk'da bir yıkama çözeltisi değiştirilmiştir. Jellerdeki bantlar iyice göründükten sonra yıkama çözeltisinden alınarak bilgisayar görüntüleri alınmıştır.

İstatiksel analiz

Çalışma içerisinde sunulacak sonuçlar, her bir uygulamadan üç örnek (3 paralel) ve her bir örnekten 3 tekerrür yapıldıktan sonra elde edilecek 9 değerin ortalaması olacaktır. Sonuçların karsılaştırılması, SPSS 17.0 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış ve istatistik anlamlar, 0,05 hata seviyesinde Duncan"ın Çoklu Karsılastırma Testi kullanılarak belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Klor Dioksit Konsatrasyonlarının Belirlenmesi

Çalışmamızda kullanılan Gerek79 ve Kızıltan buğday çeşitlerinin tohumları 0.0, 50, 100, 250, 500 ve 100 mg/L konsantrasyonlarında petri kaplarına ekim işlemi yapılarak günlük takipleri yapılmış ve 5. günün sonunda toplam çimlenme yüzdeleri, kök ve gövde uzunlukları hesaplanmıştır. Tüm bu işlemler sonucunda tablo 4.1 ve 4.2 de ki sonuçlara bakıldığında klor dioksitin (ClO_2) farklı konsantrasyonlarının kontrole göre hem çimlenme hem de kök-gövde uzunluklarında değişikliklere neden olduğu görülmektedir. Konsantrasyonların değeri arttıkça ölçülen fizyolojik parametrelerinin inhibisyona neden olduğu belirlenmiştir. Hem literatür bilgilerine hem de yapılan bu anlizler neticesinde çalışmanın bundan sonraki aşamalarında 50 ve 100 mg/L konsantrasyonları seçilmiştir.

Tablo 4.1. Gerek 79 bitkisinin tüm CIO_2 konsantrasyonlarında ve tüm gruplarında 5 günlük çimlenme uzunlu, yaş-kuru ağırlık miktarları

Gruplar	Çimlenme oranı (%)	Uzunluğu (cm)		Yaş ağırlık (g)		Kuru ağırlık (g)	
		Kök	Gövde	Kök	Gövde	Kök	Gövde
Kontrol	99,50	12,47	9,5	0,74	0,840	0,063	0,100
50 mg/L ClO_2	100,00	12,4	9,04	0,96	0,98	0,074	0,094
100 mg/L ClO_2	99,50	13,33	10,16	1,03	1,05	0,084	0,10
250 mg/L ClO_2	99,50	7,36	8,09	0,44	0,88	0,051	0,087
500 mg/L ClO_2	99,00	10,73	9	0,70	1	0,066	0,089
1000 mg/L ClO_2	99,50	9,36	6,5	0,56	0,80	0,054	0,068

Tablo 4.2. Kızıltan bitkisinin tüm ClO_2 konsantrasyonlarında ve tüm gruplarında 5 günlük çimlenme uzunlu, yaş-kuru ağırlık miktarları

Konsantrasyonlar	Çimlenme oranı (%)	Uzunluğu (cm)		Yaş ağırlık (g)		Kuru ağırlık (g)	
		Kök	Gövde	Kök	Gövde	Kök	Gövde
Kontrol	99,16	13,66	9,18	1,01	1,09	0,096	0,11
50 mg/L ClO_2	98,33	12,86	8,72	0,85	1,04	0,084	0,098
100 mg/L ClO_2	98,33	10,42	8,66	0,63	0,89	0,067	0,087
250 mg/L ClO_2	97,5	9,86	8,12	0,73	0,92	0,086	0,093
500 mg/L ClO_2	100	9,63	8,08	0,74	0,85	0,066	0,086
1000 mg/L ClO_2	97,5	11,61	7,1	0,63	0,89	0,067	0,087

4.2. Lipid Peroksidasyon Miktarı

Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının lipid peroksidasyon üzerine etkisi Tablo 4.3 ve şekil 4.1, 4,2'de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde lipid peroksidayonun bir indikatörü olan malondialdehid (MDA) oranını azaltırken gövdelerinde ise arttırdığı tespit edilmiştir. Gerek 79' un kontrol bitkilerinin köklerinde MDA miktarı 1.39 $nmol.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 0,95 ve 0,79 $nmol.g^{-1}$'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.1). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin köklerinde MDA miktarını sırasıyla %31,65 ve %43,16 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür. Gerek 79'un gövdelerinde ise MDA oranının arttığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerin de MDA miktarı 0,84 $nmol.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2

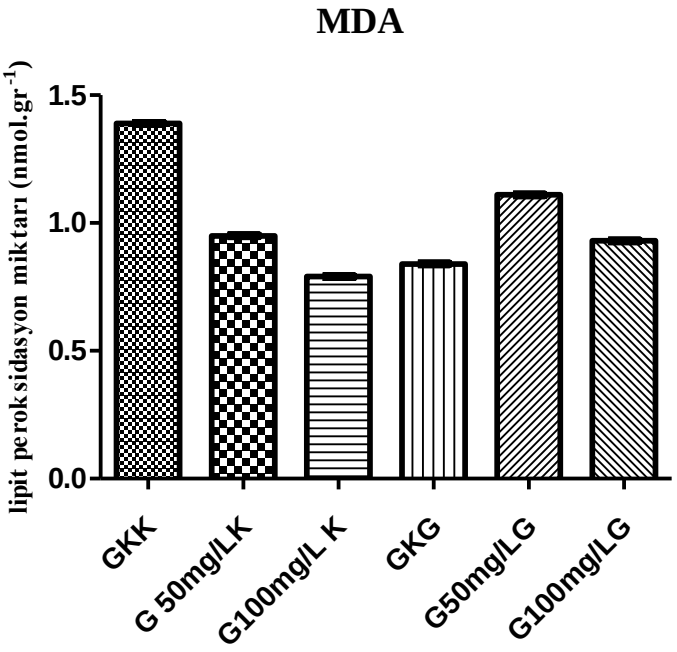
uygulamalarıyla sırasıyla 1,11 ve 0,93 nmol.g^{-1}'ye kadar artmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.1). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin köklerinde MDA miktarını sırasıyla %33,33 ve %9,67 gibi önemli (P<0,05) oranlarda arttırmıştır.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde MDA miktarı 1,57 nmol.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 1,05 ve 1,34 nmol.g^{-1}'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde MDA miktarını sırasıyla %33,12 ve %14,64 gibi önemli (P<0,05) oranlarda düşürmüştür. Kızıltan gövdelerinde ise MDA oranını arttığı tespit edilmiştir. Kızıltan'ın kontrol bitkilerin de MDA miktarı 1,44 nmol.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 1,62 ve 1,78 nmol.g^{-1}'ye kadar artmıştır (Tablo 4.3 ve Şekil 4.2). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde MDA miktarını sırasıyla %12,5 ve %23,61 gibi önemli (P<0,05) oranlarda arttırmıştır.

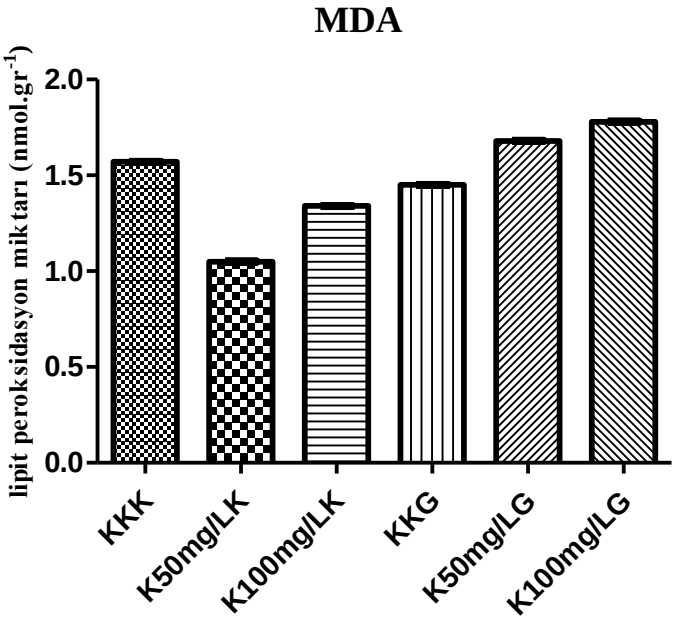
Tablo 4.3. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının lipid peroksidasyon miktarları (nmol/ml)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	1,39 ± 0,03 c	0,84 ± 0,04 a	1,57 ± 0,07 c	1,44 ± 0,02 a*
50 mg/L	0,95 ± 0,01 b	1,11 ± 0,02 c	1,05 ± 0,05 a	1,62 ± 0,03 b
100 mg/L	0,79 ± 0,02 a	0,93 ± 0,03 b	1,34 ± 0,04 b	1,78 ± 0,01 c

* Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.1. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının lipit peroksidasyon miktarları (nmol/ml)



Şekil 4.2. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının lipit peroksidasyon miktarları (nmol/ml)

4.3. Hidrojen Peroksit Miktarı

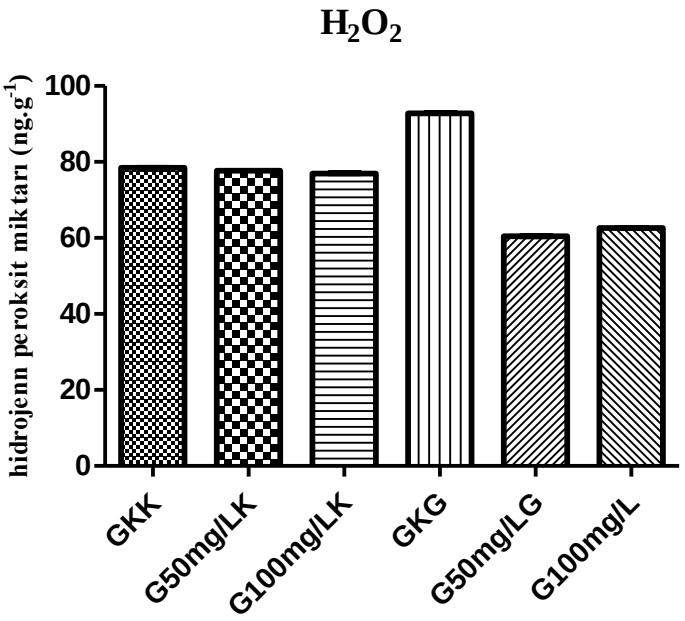
Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının H_2O_2 üzerine etkisi tablo 4,4 ve şekil 4,3, 4,4' de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde H_2O_2 oranını azaltırken gövdelerinde ise anlamlı bir fark olmamıştır. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde H_2O_2 78,42 $ng.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 77,70 ve 76,98 $ng.g^{-1}$'ye düşmektedir (Tablo 4.4 ve Şekil 4.3). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin köklerinde H_2O_2 miktarını sırasıyla %0,91 ve %1,83 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür. Gerek 79'un gövdelerinde de H_2O_2 oranının azaldığı tespit edilmiştir. Gerek 79' un gövde kontrol bitkilerin de 92,81 $ng.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 60,43 ve 62,59 $ng.g^{-1}$'ye kadar düşmektedir (Tablo 4.4 ve Şekil 4.3). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde H_2O_2 miktarını sırasıyla %34,88 ve %32,56 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde H_2O_2 miktarı 205,04 $ng.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 115,83 ve 123,44 $ng.g^{-1}$'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde H_2O_2 miktarını sırasıyla %43,50 ve %39,65 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür. Kızıltan gövdelerinde ise H_2O_2 oranını arttığı tespit edilmiştir. Kızıltan'ın kontrol bitkilerinde H_2O_2 miktarı 112,95 $ng.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 137,41 artmıştır ve 97,12 $ng.g^{-1}$'ye düşürmüştür (Tablo 4.4 ve Şekil 4.4). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde H_2O_2 miktarını sırasıyla %21,65 arttığı ve %14,01 ($P<0,05$) oranlarda azaltmıştır.

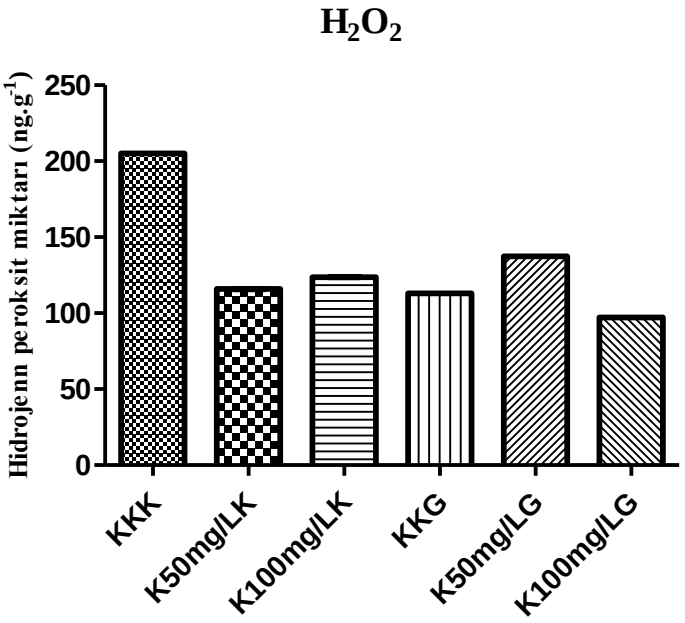
Tablo 4.4. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının hidrojen peroksit miktarları (ng/g doku)

Gruplar	Gerek-79		Kızıltan	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	78,42 ± 4 a	92,81 ± 6 b	205,04 ± 14 b	112,95 ± 10 b*
50 mg/L	77,70 ± 4 a	60,43 ± 5 a	115,83 ± 11 a	137,41 ± 15 c
100 mg/L	76,98 ± 3 a	62,59 ± 5 a	123,74 ± 11 a	97,12 ± 8 a

* Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.3. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarları (ng/g doku)



Şekil 4.4. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının hidrojen peroksit (H_2O_2) miktarları (ng/g doku)

4.4. Süperoksit Anyonu Miktarı

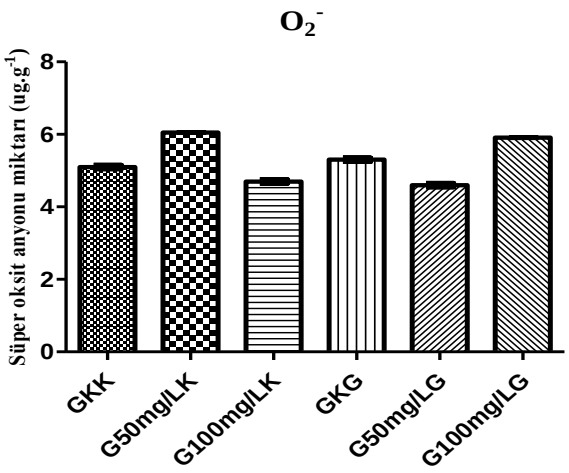
Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının $O_2^{\cdot-}$ üzerine etkisi tablo 45, ve şekil 4,5, 4,6'de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde $O_2^{\cdot-}$ oranında önemli bir değişiklik oluşturmamıştır. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde $O_2^{\cdot-}$ 5,1 $\mu g.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 6,05 ve 4,7 $\mu g..g^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin köklerinde $O_2^{\cdot-}$ miktarını sırasıyla %18,62 ve %7,84 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda değişikliğe sebep olmuştur. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 5,3 $\mu g.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 4,6 ve 5,9 $\mu g.g^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Tablo 4.5 ve Şekil 4.5). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde $O_2^{\cdot-}$ miktarını sırasıyla %13,20 oranında azaltmıştır ve %11,32 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda arttırmıştır.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde $O_2^{\cdot -}$ miktarı 5,20 µg.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 6,75 ve 5,05 µg.g^{-1} olacak şekilde ölçülmüştür (Tablo 4.5 ve Şekil 4.6). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde O_2^- miktarını 50 mg/L CIO_2 uygulamasının %29,80 arttırırken, 100 mg/L CIO_2 %2,88 önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür. Kızıltan gövdelerinde ise O_2^- oranını arttığı tespit edilmiştir. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde $O_2^{\cdot -}$ miktarı 5,05 µg.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 5,25 ve 5,3 µg.g^{-1}'ye kadar artmıştır (Tablo 4.5 ve Şekil 4.6). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde $O_2^{\cdot -}$ miktarını sırasıyla %3,96 ve %4,95 ($P<0,05$) oranlarında arttırmıştır.

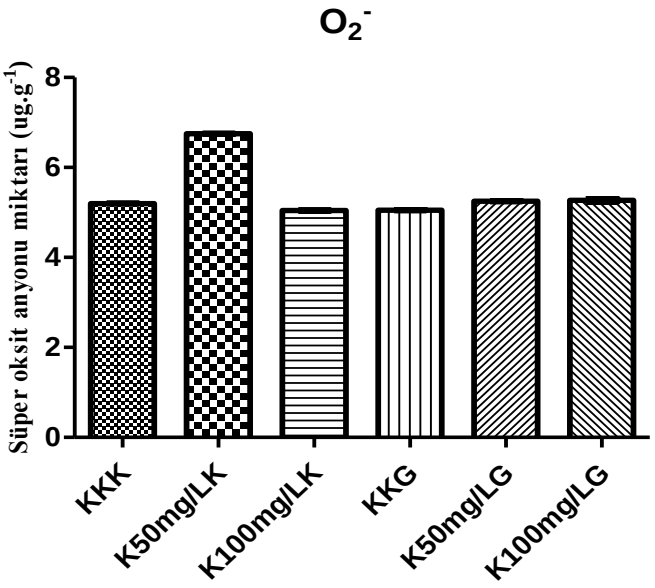
Tablo 4.5. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit anyon miktarları (µg/g doku)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	5,1 ± 0,1 b	5,3 ± 0,3 b	5,20 ± 0,2 a	5,05 ± 0,1 a*
50 mg/L	6,05 ± 0,2 c	4,6 ± 0,6 a	6,75 ± 0,5 b	5,25 ± 0,2 a
100 mg/L	4,7 ± 0,4 a	5,9 ± 0,7 c	5,05 ± 0,4 a	5,3 ± 0,1 a

* Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.5. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit anyon (O_2-) miktarları (µg/g doku)



Şekil 4.6. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit anyon (O_2-) miktarları (µg/g doku)

4.5. Antioksidan Enzim Aktiviteleri

4.5.1. Süperoksit dismutaz aktivitesi

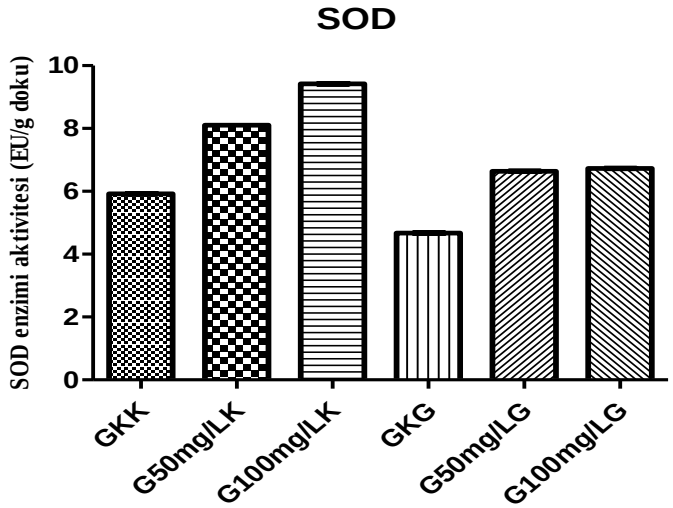
Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının SOD enzimi üzerine etkisi tablo 4,6 ve şekil 4,7, 4.8'de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde ve gövdelerinde SOD oranını arttırdığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde SOD 5,92 EU.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 8,10 ve 9,42 EU.g^{-1}'ye kadar arttırmıştır. (Tablo 4.6 ve Şekil 4.7). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin köklerinde SOD miktarını sırasıyla %36 ve %59,12 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda arttırmıştır. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 4,67 nmol.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 6,64 ve 6,73 EU.g^{-1}'ye kadar artmıştır (Tablo 4.6 ve Şekil 4.7). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde $O_2^{\cdot-}$ miktarını sırasıyla %42,18 ve %44,11 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda arttırmıştır.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde SOD miktarı 29,27 EU.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 55,66 ve 41,37 EU.g^{-1}'ye kadar arttırmıştır (Tablo 4.6 ve Şekil 4.8). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde SOD miktarını sırasıyla %90,16 ve %41,33 gibi önemli (P<0,05) oranlarda artırmıştır. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde SOD miktarı 24,35 EU.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 34,83 ve 35,36 nmol.g^{-1}'ye kadar artmıştır (Tablo 4.6 ve Şekil 4.8). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde SOD miktarını sırasıyla %43,03 ve %45,21 gibi önemli (P<0,05) oranlarda arttırmıştır.

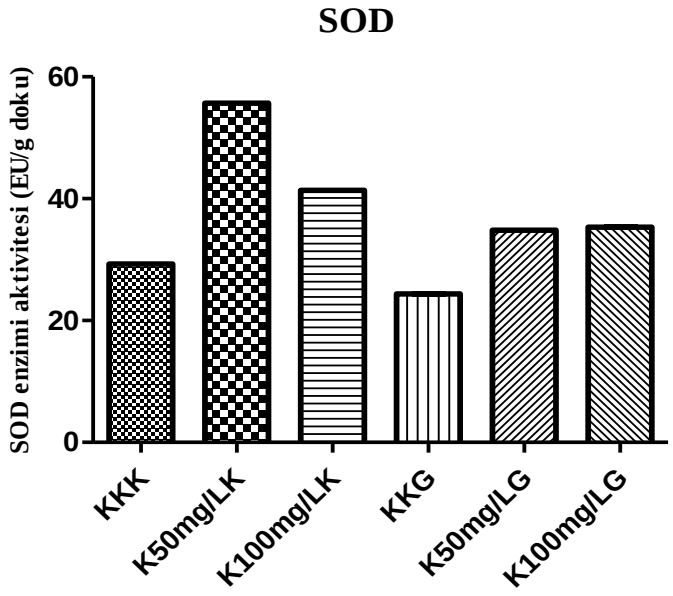
Tablo 4.6. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit dizmutaz (SOD) enzim aktivitesi (EU/g doku)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	5.92 ± 0,3 a	4.67 ± 0,7 a	29.27 ± 0,3 c	24.35 ± 0,5 b
50 mg/L	8.10 ± 0,8 b	6.64 ± 0,4 b	55.66 ± 0,6 a	34.83 ± 0,3 a
100 mg/L	9.42 ± 0,6 c	6.73 ± 0,3 b	41.37 ± 0,7 b	35.36 ± 0,6 a

*Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.7. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (EU/g doku)



Şekil 4.8. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının süperoksit dismutaz enzim aktivitesi (EU/g doku)

4.5.2. Peroksidaz Aktivitesi Miktarı

Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının POD enzimi üzerine etkisi tablo 4,7 ve şekil 4,9, 4,0'de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde ve gövdelerinde POD oranını azalttığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde POD 5832.50 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 2445 ve 2602,50 $EU.g^{-1}$'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.7 ve Şekil 4.9). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin köklerinde POD miktarını sırasıyla %58,07 ve %55,37 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür. Gerek 79'un gövdelerinde de POD oranının azaldığı tespit edilmiştir. Gerek 79' un gövde kontrol bitkilerin de 2365 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 1300 ve 1217,5 $EU.g^{-1}$'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.7 ve Şekil 4.9). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin gövdelerinde POD miktarını sırasıyla %45,03 ve %48,52 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda azaltmıştır.

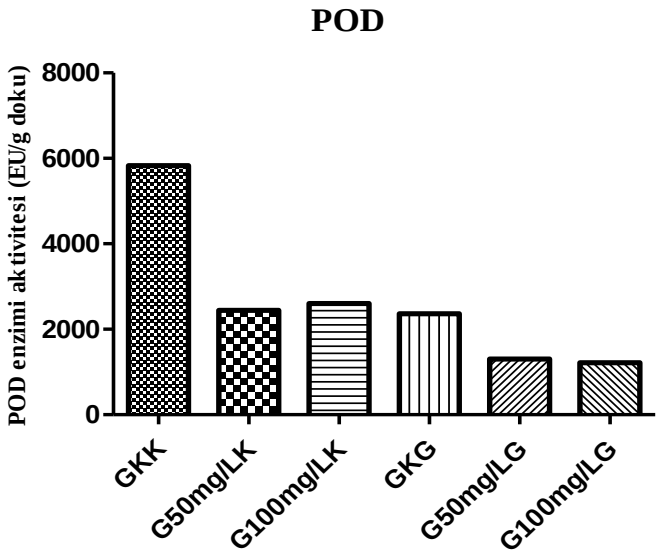
Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde POD miktarı 6637,5 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla

3555 ve 3707,5 EU.g^{-1}'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.7 ve Şekil 4.10). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde POD miktarını sırasıyla %46,44 ve %44,14 gibi önemli (P<0,05) oranlarda düşürmüştür. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde POD miktarı 1825 EU.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 982,5 ve 995 EU.g^{-1}'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.7 ve Şekil 4.10). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde POD miktarını sırasıyla %46,16 ve %45,47 gibi önemli (P<0,05) oranlarda düşürmüştür.

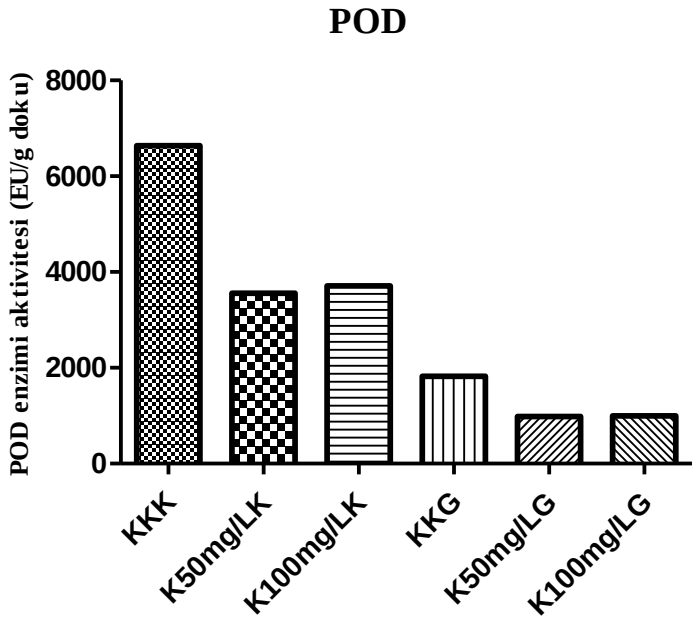
Tablo 4.7. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının peroksidaz (POD) enzim aktiviteleri (EU/g doku)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	5832.50 ± 23,4 c	2365 ± 33,2 a	6637.5 ± 44,1 a	1825 ± 19,2 a
50 mg/L	2445 ± 18,6 a	1300 ± 17,4 b	3555 ± 32,4 b	982.5 ± 27,5 b
100 mg/L	2602.50 ± 14,8 b	1217.5 ± 13,5 b	3707.5 ± 33,4 b	995 ± 11,4 b

*Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.9. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının peroksidaz enzim aktiviteleri (EU/g doku)



Şekil 4.10. Kızıltan çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının peroksidaz enzim aktiviteleri (EU/g doku)

4.5.3. Katalaz Aktivitesi Miktarı

Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının CAT enzimi üzerine etkisi tablo 4,8 ve şekil 4,11, 4,12 de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde ve gövdelerinde CAT oranını arttırdığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde CAT 0,44 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 0,46 ve 0,045 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Tablo 4.8 ve Şekil 4.11). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin köklerinde CAT miktarını sırasıyla %4,5 ve %0,89 gibi ($P<0,05$) oranlarda arttırmıştır. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 0,94 $nmol.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 0,59 ve 1,43 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Tablo 6 ve Şekil 4). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde miktarını sırasıyla %37 oranında azaldığı ve %52 gibi önemli ($P<0,05$) oranda artmıştır.

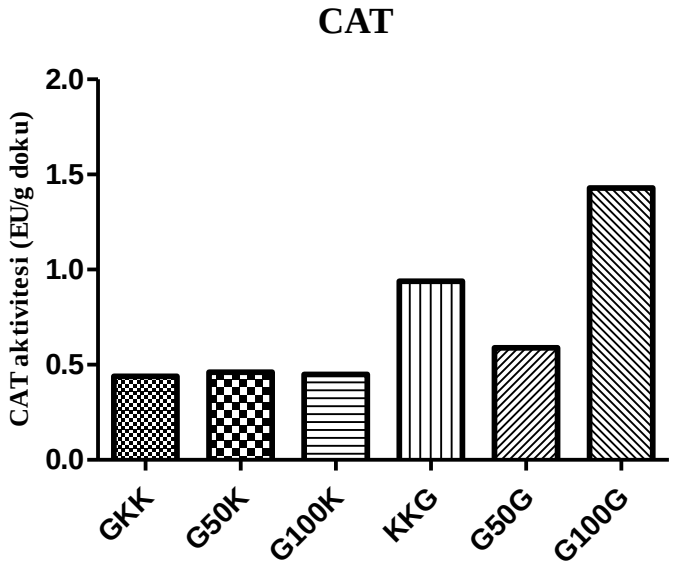
Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde CAT miktarı 0,31 $EU.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla

0,48 ve 0,18 EU.g^{-1} olarak ölçülmüştür (Tablo 6 ve Şekil 4). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde CAT miktarını sırasıyla %54 oranında artmıştır ve %41 gibi önemli (P<0,05) oranda azalmıştır. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde CAT miktarı 0,38 EU.g^{-1} olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 0,67 ve 0,24 nmol.g^{-1} olarak ölçülmüştür (Tablo 6 ve Şekil 4). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde CAT miktarını sırasıyla %76 oranında artmıştır ve %36 gibi önemli (P<005) oranda azalmıştır.

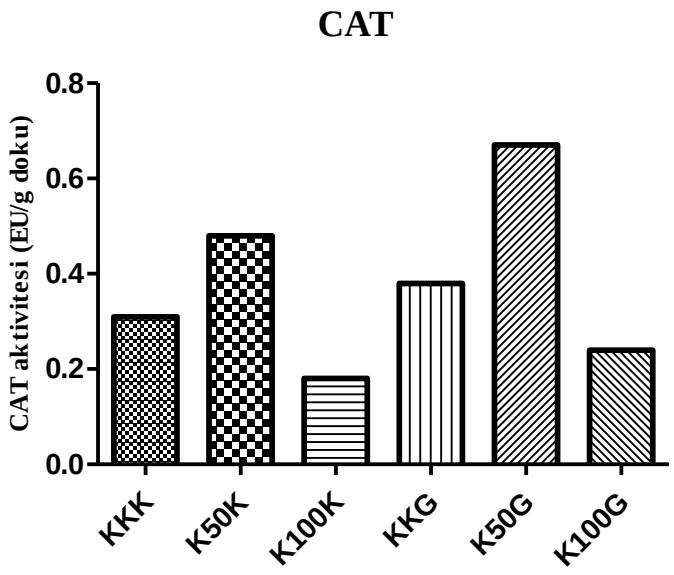
Tablo 4.8. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının katalaz (CAT) enzim aktiviteleri (EU/g doku)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	0,44 ± 0,02 a	0,94 ± 0,04 b	0,31 ± 0,01 b	0,38 ± 0,06 b
50 mg/L	0,46 ± 0,02 a	0,59 ± 0,09 c	0,48 ± 0,08 c	0,67 ± 0,09 c
100 mg/L	0,045 ± 0,02 a	1,43 ± 0,1 a	0,18 ± 0,02 a	0,24 ± 0,04 a

*Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.11. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının katalaz aktiviteleri (EU/g doku)



Şekil 4.12. Kızıltan çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının katalaz enzim aktiviteleri (EU/g doku)

4.6. Protein Miktarı

Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının protein miktarı üzerine etkisi tablo 4,9 ve şekil 4,13, 4,14'de belirtilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde protein 63,35 $mg.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 53,58 ve 60,05 $mg.g^{-1}$ ye kadar azalmıştır (Tablo 4.9 ve Şekil 4.13). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin köklerinde protein miktarını sırasıyla %15,42 ve %3,3 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda düşürmüştür. Gerek 79'un gövdelerinde de protein oranının azaldığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 68,88 $mg.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 67,63 ve 62,37 $mg.g^{-1}$' ye kadar düşmüştür (Tablo 4.9 ve Şekil 4.13). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde protein miktarını sırasıyla %1,81 ve %9,45 gibi ($P<0,05$) oranlarda azaltmıştır.

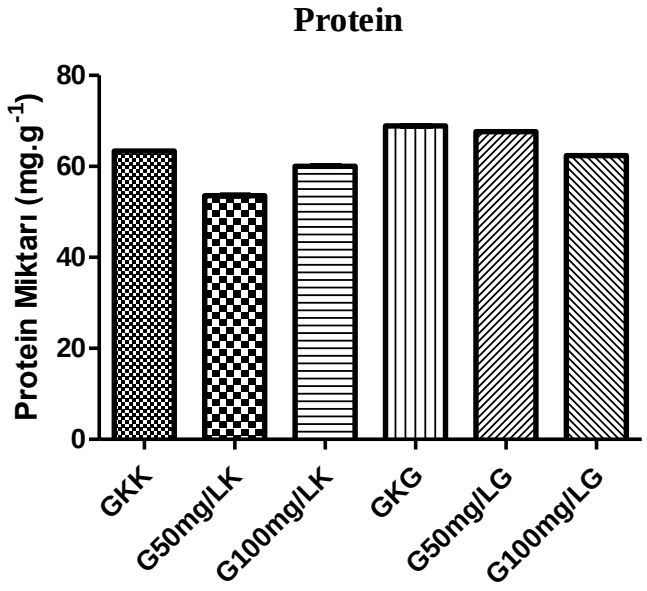
Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde protein miktarı 64,23 $mg.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 58,84 ve 69,35 $mg.g^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Tablo 4.9 ve Şekil 4.14). Buna göre her iki

ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde protein miktarını 50 mg/L CIO_2 uygulaması %8,39 azaltmıştır ve 100 mg/L CIO_2 uygulaması %7,97 ($P<0,05$) oranında arttırmıştır. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde protein miktarı 74,93 $mg.g^{-1}$ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 84,51 ve 68,42 $mg.g^{-1}$ olarak ölçülmüştür (Tablo 4.9 ve Şekil 4.14). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde protein miktarını 50 mg/L CIO_2 uygulaması %12,78 oranında arttırmıştır ve 100 mg/L CIO_2 uygulaması %8,68 ($P<0,05$) oranında azaltmıştır.

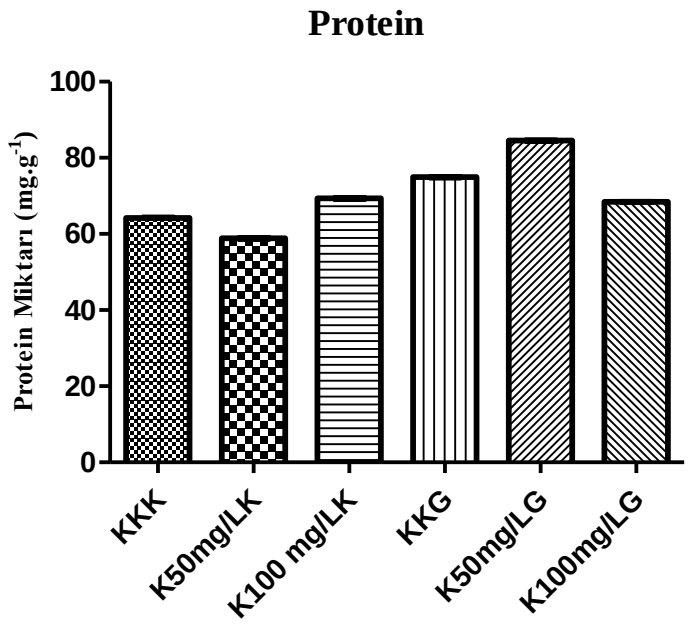
Tablo 4.9. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları (mg/g doku)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	63,35 ± 1,2 b	68,88 ± 1,8 b	64,23 ± 1,3 b	74,93 ± 1,9 b*
50 mg/L	53,58 ± 1,3 a	67,63 ± 1,6 b	58,84 ± 1,4 a	84,51 ± 1,5 a
100 mg/L	60,05 ± 1,4 b	62,37 ± 1,3 a	69,35 ± 1,3 c	68,42 ± 1,4 c

*Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.

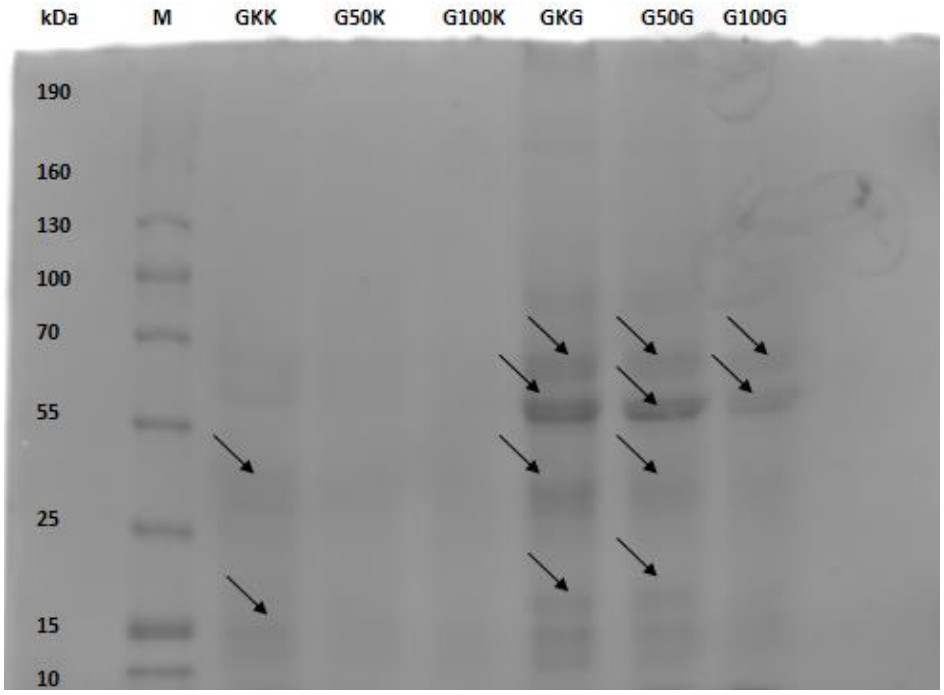


Şekil 4.13. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları (mg/g)

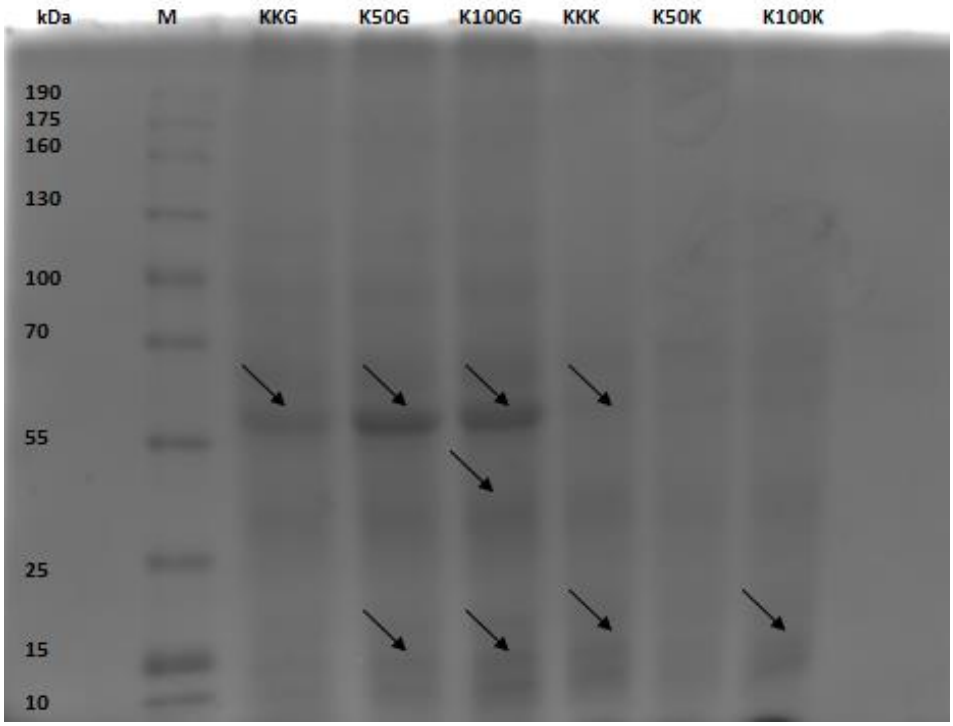


Şekil 4.14. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları (mg/g)

4.7. SDS-PAGE



Şekil 4.15**.** Gerek 79 çeşidinde oluşan hücresel proteinlerin SDS-PAGE görüntüsü



Şekil 4.16. Kızıltan bitkisinde oluşan hücresel protein SDS-PAGE görüntüsü

4.8. α-amilaz Aktivitesi Miktarı

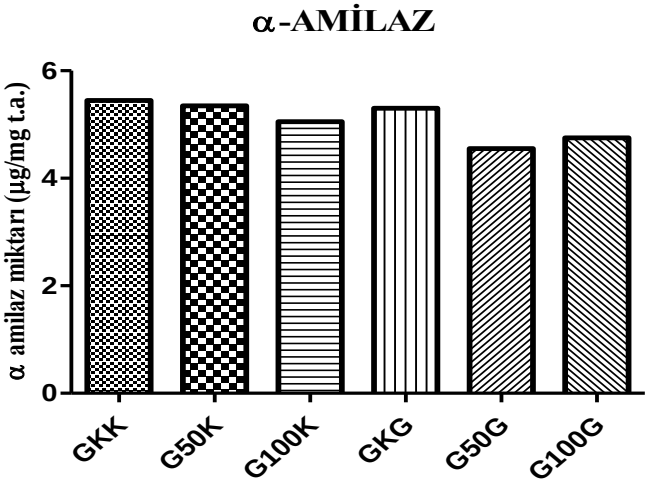
Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının α-amilaz enzimi üzerine etkisi tablo 4,10 ve şekil 4,17, 4,18 de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde ve gövdelerinde α-amilaz oranını azaldığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde α-amilaz 5,45 EU/g olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 5,35 ve 5,05 EU/g olarak ölçülmüştür (Tablo 4.10 ve Şekil 4.17). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin köklerinde α-amilaz miktarını sırasıyla %1,83 ve %7,3 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda azalmıştır. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 5,3 EU/g olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 4,55 ve 4,75 EU/g'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.10 ve Şekil 4.17). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde miktarını sırasıyla %14,15 ve %10,37 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda azalmıştır.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde α-amilaz miktarı 6,05 EU/g olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 5,15 ve 5,10 EU/g'ye kadar düşmüştür (Tablo 4.10 ve Şekil 4.18). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde α-amilaz miktarını sırasıyla %14,37 ve %15,70 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda azalmıştır. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde α-amilaz miktarı 4,6 EU/g olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 4,85 ve 5,55 EU/g' ye kadar artmıştır (Tablo 4.10 ve Şekil 4.18). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde α-amilaz miktarını sırasıyla %5,4 ve %20,65 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda arttırmıştır.

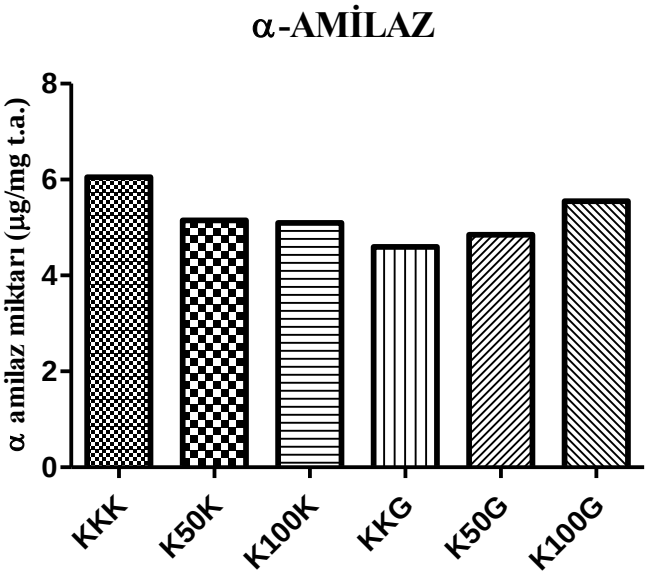
Tablo 4.10. Gerek 79 ve Kızıltan bitkilerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının α-amilaz aktivitesi (EU/g doku)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	5.45 ± 0,2 b	5.3 ± 0,2 b	6.05 ± 0,2 b	4.6 ± 0,2 a*
50 mg/L	5.35 ± 0,2 b	4.55 ± 0,2 a	5.15 ± 0,2 a	4.85 ± 0,2 a
100 mg/L	5.05 ± 0,2 a	4.75 ± 0,2 a	5.10 ± 0,2 a	5.55 ± 0,2 b

*Aynı sütundaki harflerin farklı olması gruplar arası farkın önemli olduğunu gösterir.



Şekil 4.17. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının α-amilaz miktarları (EU/g)



Şekil 4.18. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının protein miktarları α-amilaz miktarları (EU/g)

4.9. Na ve K Oranları

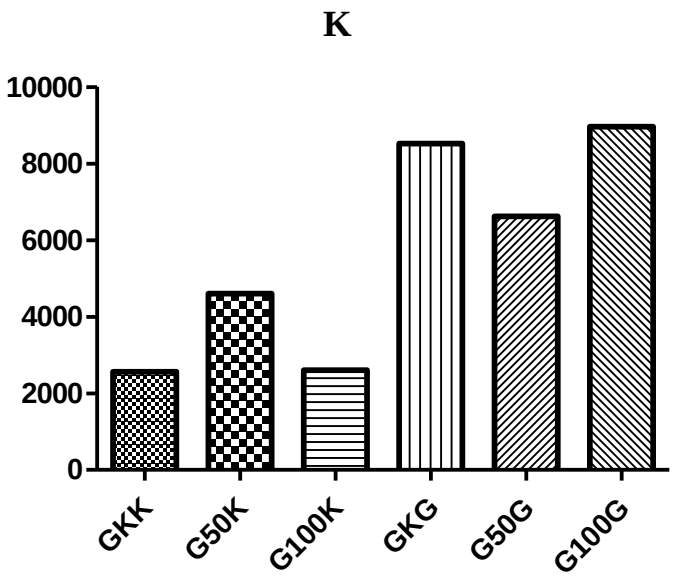
Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının K elementi üzerine etkisi tablo 4,11 ve şekil 4,19, 4,20'de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde ve gövdelerinde K oranını arttığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde K elementi 2559,01 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 4604,16 ve 2604,22 ppm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.11 ve Şekil 4.19). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin köklerinde K elementi miktarını sırasıyla %79,91 ve %1,7 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda artmıştır. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 8521,24 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 6623,82 ve 8962,47 ppm'ye kadar değişmiştir. (Tablo 4.11 ve Şekil 4.19). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde miktarını sırasıyla %22,25 ($P<0,05$) oranında azalmıştır ve %5,17 oranında ($P<0,05$) artmıştır.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde K elementi miktarı 3890,07 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla

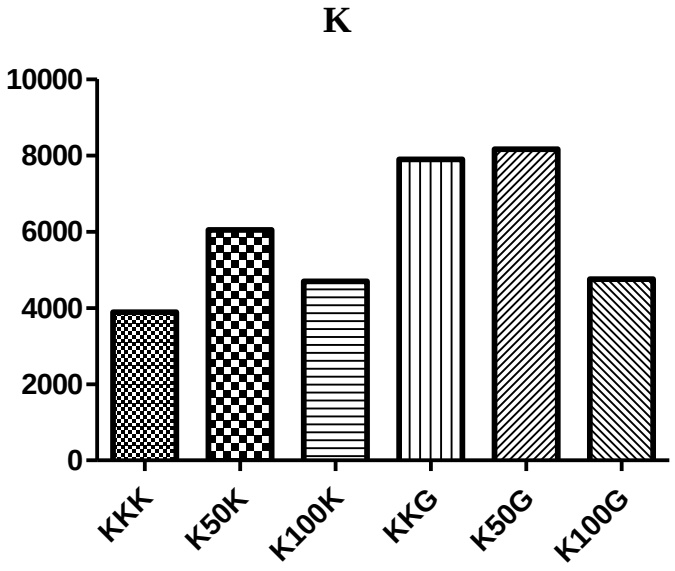
6047,51 ve 4691,94 ppm'ye kadar artmıştır (Tablo 4.11 ve Şekil 4.20). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde K elementi miktarını sırasıyla %55,46 ve %20,61 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda artmıştır. Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde K elementi miktarı 7899.10 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 8160,77 ve 4751,30 ppm'ye kadar değişmiştir (Tablo 4.11 ve Şekil 4.20). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde K elementi miktarını sırasıyla %3,31 ($P<0,05$) oranında artmıştır ve %39,85 gibi önemli ($P<0,05$) oranda azalmıştır.

Tablo 4.11. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının K miktarları (ppm)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	2559,01	8521,24	3890,07	7899,10
50 mg/L	4604,16	6623,82	6047,51	8160,77
100 mg/L	2604,22	8962,47	4691,94	4751,30



Şekil 4.19. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının K miktarları (ppm)



Şekil 4.20. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının K miktarları (ppm)

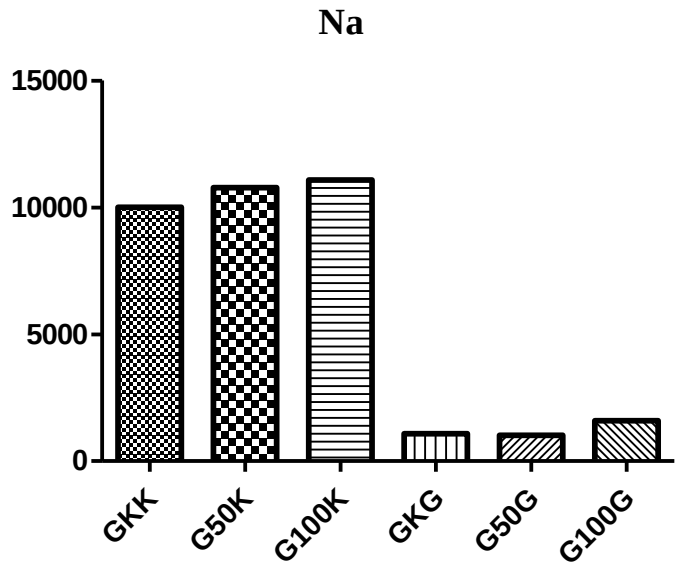
Her iki buğday çeşidinde ClO_2'nin farklı konsantrasyonlarının Na elementi üzerine etkisi tablo 4,12 ve şekil 4,21, 4,22'de belirtilmiştir. ClO_2'nin her iki konsantrasyonu çalışmada kullanılan her iki çeşidin köklerinde ve gövdelerinde Na elementi oranını arttığı tespit edilmiştir. Gerek 79'un kontrol bitkilerinin köklerinde Na elementi 10011,40 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 10781,31 ve 11077,28 ppm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.12 ve Şekil 4.21). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek79 çeşidinin köklerinde Na elementi miktarını sırasıyla %7,69 ve %10,64 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda artmıştır. Gerek 79'un gövde kontrol bitkilerin de 1075,79 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 1014,43 ve 1587,64 ppm'ye kadar değişmiştir. (Tablo 4.12 ve Şekil 4.21). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Gerek 79 çeşidinin gövdelerinde miktarını sırasıyla %5,70 ($P<0.05$) oranında azalmıştır ve %47,57 oranında ($P<0,05$) artmıştır.

Kızıltan çeşidinde, kontrol bitkilerinin köklerinde Na elementi miktarı 11081 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 9796,21 ve 8319,51 ppm'ye kadar azalmıştır (Tablo 4.12 ve Şekil 4.22). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin köklerinde Na elementi miktarını sırasıyla %11,59 ve %24,82 gibi önemli ($P<0,05$) oranlarda azalmıştır.

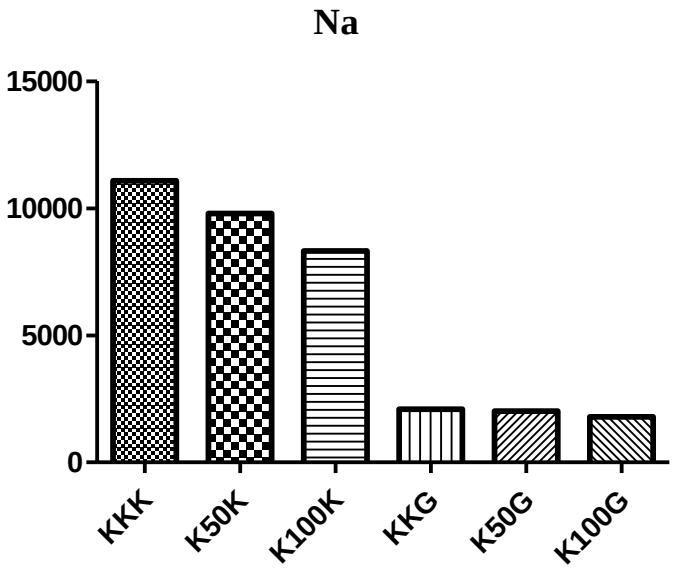
Kızıltan'ın kontrol gövde bitkilerinde Na elementi miktarı 2092,99 ppm olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO_2 ve 100 mg/L ClO_2 uygulamalarıyla sırasıyla 2018,11 ve 1797,15 ppm'ye kadar değişmiştir (Tablo 4.12 ve Şekil 4.22). Buna göre her iki ClO_2 uygulaması kontrol ile kıyaslandığında Kızıltan çeşidinin gövdelerinde Na elementi miktarını sırasıyla %3,57 ve %14,13 gibi ($P<0.05$) oranlarda azalmıştır.

Tablo 4.12. Gerek 79 ve Kızıltan çeşitlerinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının Na miktarları (ppm)

Gruplar	**Gerek-79**		**Kızıltan**	
	Kök	**Gövde**	**Kök**	**Gövde**
Kontrol	10011,40	1075,79	11081,16	2092,99
50 mg/L	10781,31	1014,43	9796,21	2018,11
100 mg/L	11077,28	1587,64	8319,51	1797,15



Şekil 4.21. Gerek 79 çeşidinin kontrol ve CIO_2 uygulanmış tüm gruplarının Na miktarları (ppm)



Şekil 4.22. Kızıltan çeşidinin kontrol ve ClO_2 uygulanmış tüm gruplarının Na miktarları (ppm)

Gittikçe artan dünya nüfusu beraberinde birçok problemi de getirmektedir. Tarım arazilerinin azalması ve bu alanların birçok stres faktörlerine maruz kalması bu problemlerin başında gelmektedir. Artan dünya nüfusu ve tarımsal arazilerin zarar görmesiyle beraber gıda tüketiminin artması da ortaya çıkmaktadır. Buğday bitkisi insanoğlunun faydalandığı en eski bitkilerden bir tanesidir. Ülkemizde makarnalık buğday ve ekmeklik buğday olarak yetiştirilen çeşitleri bulunmaktadır. Çalışmamızda ekmeklik buğday (gerek 79) ve makarnalık buğday (kızıltan) kullanılmıştır.

Klor dioksit iyi bir dezenfektan aynı zamanda güçlü bir toksik etki oluşturma potansiyeli bulundurmaktadır ve son yıllarda su dezenfeksiyonunda kullanımı gittikçe artmaktadır. Bu suların tarımsal arazilere de karışması bitkilerde çeşitli stres faktörlerini oluşturabilmektedir. Bu çalışmada iki farklı buğday çeşidinin çimlenme aşamasında ClO_2'e maruz kaldığında bitkide oluşan fizyolojik biyokimyasal ve moleküler süreçler araştırılmıştır. Uygulanan ClO_2 konsantrasyonlarında gerek 79 çeşidinin kontrol grubunda % 99.50 iken diğer gruplarda da buna paralel bir şekilde geliştiği tespit edilmiştir. Kök uzunlukları sırası ile 12,47, 12,4, 13,33, 7,36, 10.73, 9.36 cm şeklinde gelişmiştir (Tablo 4.1). Kök kısımlarının yaş ağırlıkları sırası ile 0,74, 0,96, 1,03, 0,44, 0,70, 0,56 g olarak, kuru ağırlıkları ise sırası ile 0,063, 0,074, 0,084, 0,051, 0,066 ve 0.054 g olarak ölçülmüştür (Tablo4.1). Gerek 79 bitkisinin gövde kısımlarının

uzunlukları sırası ile 9,5, 9,4, 10,16, 8,09, 9 ve 6,5 cm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.1). Gövde yaş ağırlıkları sırası ile 0,840, 0,98, 1,05, 0,88, 1 ve 0,80 g kuru ağırlıkları ise 0,100, 0,094, 0,10, 0,087, 0,089 ve 0,068 g olarak ölçülmüştür (Tablo 4.1).

Kızıltan bitkisinin kontrol grubunda %99,16 iken diğer gruplarda sırası ile 98,33, 98,33, 97,5, 100 ve 97 şekilde geliştiği tespit edilmiştir (Tablo 4.2). Kök uzunlukları sırası ile 13,66, 12,86, 10,42, 9,86, 9,63 ve 11,61 cm şeklinde gelişmiştir (Tablo 4.2). Kök kısımlarının yaş ağırlıkları sırası ile 1,01, 0,85, 0,63, 0,73, 0,74 ve 0,63 g olarak, kuru ağırlıkları ise sırası ile 0,096, 0,084, 0,067, 0,086, 0,066 ve 0,067 g olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Kızıltan bitkisinin gövde kısımlarının uzunlukları sırası ile 9,18, 8,72, 8,66 8,12, 8,08 ve 7,1 cm olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Gövde yaş ağırlıkları sırası ile 1,09, 1,04, 0,89, 0,92, 0,85 ve 0,89 g kuru ağırlıkları ise 0,11, 0,098, 0,087, 0,093, 0,086, 0,087 g olarak ölçülmüştür (Tablo 4.2). Farklı konsantrasyonlarda uygulanan ClO_2' in düşük konsantrasyonları bitkide herhangi bir inhibisyona sebep olmamıştır. ClO_2'in 250 mg/L, 500 mg/L ve 1000 mg/L konsantrasyonları buğday bitkisinin kök-gövde uzunluğunda, kuru-yaş ağırlıklarında inhibisyonuna sebep olurken 50 mg/L ve 100 mg/L konsantrasyonlarında bu parametrelerde inhibisyon oluşturmamış bilakis iyileştirmeler yapmıştır. Bu da ClO_2'in buğdayın saklama koşullarında antimikrobiyal etki oluşturabileceğini ve verim kalitesinin artırabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada iki farklı Buğday çeşidinde tohumlarına ClO_2 ön uygulamasıyla meydana gelebilecek lipit peroksidasyon (MDA), hücresel antioksidan enzimlerin (POX, CAT ve SOD) aktivitesi, ROS için H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ miktarları, α-amilaz, SDS-PAGE ile protein analizleri ve element (Na ve K) değişimleri incelenmiştir. Hücre zarı yapısında karbohidrat, yağ protein, kolesterol bulunduran ve içerisinde organelleri barındıran seçici geçirgen özellik gösteren bir bariyerdir. Bu yapısıyla hücre içi ve hücre dışı sinyallerini, madde giriş çıkışlarının denetlemesini ve hücreler arasında fiziksel bağlantıyı denetler (Wang et al. 2019). Bitkiler yaşamlarını olumsuz etkileyen faktörler ile karşılaştığında hücresel seviyede reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminde artış meydana gelir. Artan ROS seviyesi hücre zarının yapısında bulunan doymamış yağ asitlerine bağlanarak onların yapısının bozulmasına neden olur. Doymamış yağ asitlerinin yıkımı sonucu lipitlerin peroksidasyonu oluşur ve hücre zarı geçirgenliğinin bozulması ile yoğun elektron sızıntısı gerçekleşir. Artan lipid peroksidasyon ile membran bütünlüğü zarar

görür (Bor ve Özdemir, 2003; Yediyıldız, 2008). Tüm bu nedenlerden dolayı MDA içeriğinde artışın olması hücre zarının yapısında hasar oluşma oranı olarak değerlendirilir. Mevcut çalışmada her iki buğday çeşidine de uygulanan CIO_2 konsantrasyonlarında MDA miktarlarının kök kısımlarında kontrol gruplarına göre önemli miktarda azaldığı gövde kısımlarında ise arttığı tespit edilmiştir. Uygulan ClO_2'nin kök kısmında MDA miktarını artırmaması ve daha da önemlisi MDA oranını azaltması membran hasarının oluşmadığı ve hücresel bütünlüğün korunduğunu göstermektedir. Gövde kısmında MDA miktarının biraz artması ClO_2'nin düşük konsantrasyonda kullanıldığından gövdeye yeterinde transport olamamasından kaynaklanabilir. Bunun belirlenebilmesi için ClO2'in trasnport sürecinin aydınlatılması gerekmektedir. ClO_2'nin bitkiler üzerindeki biyokimyasal etkisi ile ilgili yapılan ve literatürdeki tek çalışmada da MDA sonuçları çalışmamızın sonuçları ile paralellik göstermektedir. İlgili çalışmada arpa tohumlarının çimlenmesi sırasında uygulanan CIO2'in farklı konsantrasyonlarının MDA seviyesinde artışa neden olmadığı belirtilmiştir (Wang et al. 2019).

H_2O_2 bitkilerde çeşitli organellerde üretilen (mitokondri, peroksizom, kloroplast) oksidan bir üründür. Mevcut çalışmada uygulanan CIO_2' un her iki konsantrasyonu da H_2O_2 miktarın da bir artışa neden olmamış hatta azaltmıştır (Tablo 4.4, şekil 4.3, 4.4). Sadece kızıltan buğday çeşidinin gövde kısmında uygulanan 50 mg/L CIO_2 konsantrasyonunda bir miktar artış meydana gelmiştir. Radikal olmayan ROS türlerinden olan H_2O_2 miktarı stres şartlarında hücresel ortamda genelde artış meydana gelmektedir (Liu, 2010). Stres şartlarında artan H_2O_2 miktarın hücresel yapıda hasarlara neden olur ve bu durumda bitkinin metabolik süreçleri zarar görmektedir. Mevcut çalışma da CIO_2'un H_2O_2'nun seviyesinde bir artışa neden olmaması bitki üzerinde toksik bir etki yapmadığının göstergesi olabilir.

Süperoksit anyonu stres faktörü altında bulunan bitkilerde üretimi artan ve hücresel hasar oluşturan bir oksidan türdür. Bu oksidan DNA tek zincir kırıklıklarına, hücresel membran hasarına ve hücresel toksisitenin oluşmasına sebep olmaktadır (Asada, 2006). Mevcut çalışmada süper oksit anyon miktarı konsantrasyon ve çeşide göre bazı değişimler göstermiştir. Gerek 79 çeşidinde önemli bir artışa neden olmazken kızıltan çeşidinin özellikle gövde kısmında süperoksit anyonun artığı tespit edilmiştir. Hücre membranların da hasara neden olan süperoksit anyonun etkisiyle özellikle her iki çeşidin gövdelerinde

artan MDA miktarı sonucuna da varılmıştır. $O_2^{\cdot-}$'nin artması MDA'nın gövde kısımlarının da artma sebebi olarak değerlendirilebilir. Çünkü oluşan serbest radikal ile elektron sızıntısının artışının meydana geldiğini göstermektedir. Konsatrasyona bağlı olarak kök kısmında hafif artan superoksit miktarı MDA'nın buğday kök kısımlarında artmasına neden olmaması oksidatif hasarın oluşmadığı da söylenebilir.

Stres faktörleri altında bulunan bitkiler oluşan ROS miktarını temizlemek için SOD, POX, CAT gibi antioksidan enzimlerini aktive ederek cevap mekanizması oluşturmaya çalışırlar. SOD enzimi organellerde ve sitoplazmada $O_2^{\cdot-}$'i H_2O_2'ye dönüşümünü sağlayan reaksiyonu katalizlerken, POX ise vokuollerde geniş bir yelpazeye sahip olup özellikle H_2O_2'yi temizleme etkinliği göstermektedir (Özdemir, 2019). Çalışmamızda her iki bitki türünün tüm CIO_2 konsantrasyonlarında POD miktarının azaldığı, SOD miktarının ise her iki bitkinin tüm CIO_2 konsantrasyonlarında arttığı tespit edilmiştir. POX aktivitesinin azalmış olmasının sebebi substratı olan H_2O_2 miktarının artmamış olması olabilir. SOD miktarının artış sebebine bakıldığında ise $O_2^{\cdot-}$ miktarının gövde kısımlarında artması ve oluşan ROS miktarına karşı bir savunma sistemi oluşturduğu ve oksidatif hasarın oluşmasını engellemesinin bir göstergesi olabilir. SOD enzimi süper oksit anyonu dismutasyona uğratan bir enzim olduğundan dolayı artan süper oksit anyonuna paralel olarak artış göstermiş ve bir stres savunma mekanizması göstermiş ve $O_2^{\cdot-}$ radikalini O_2'ye dönüştürmüş olabilir. Aynı zamanda SOD miktarının artması OH radikallerinin oluşmasını da engellemiş olabilir ve hücresel hasarın oluşmasını engellemiş olabilir.

Katalaz (CAT), bitki hücrelerinde H_2O_2'yi zararsız hale getirebilen ve stres savunma mekanizmasının enzim grubundadır. Bitkiler stres mekanizması ile karşılaştıklarında CAT aktivitesinde artış gösterirler (Esim, 2011). Çalışmamızda gerek 79 bitkisinin kök kısımlarında CAT aktivitesinin kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir fark oluşturmadığı ve H_2O_2'nin de benzer şekilde oluştuğu gözlemlenmiştir. Aynı şekilde POD miktarının da azalması bitkinin bu kısımlarında stres oluşmadığının göstergesidir. Gerek 79 bitkisinin gövde kısımlarında 50 mg/L CIO_2 konsantrasyonunda azaldığı, 100 mg/L CIO_2 konsantrasyonunda ise arttığı gözlemlenmiştir ve H_2O_2 miktarı da buna paralel olarak değişmiştir. CAT aktivitesinde meydana gelen artış H_2O_2'yi düşürebilmiştir. Kızıltan bitkinin kök kısımlarında 50 mg/L CIO_2 konsantrasyonunda

arttığı, 100 mg/L ClO_2 konsantrasyonunda ise azaldığı gözlemlenmiştir. Bitkinin gövde kısımlarında ise 50mg/L ClO_2 konsantrasyonunda arttığı, 100 mg/L ClO_2 konsantrasyonunda ise azaldığı gözlemlenmiştir. CAT miktarındaki bu değişim H_2O_2 ile paralellik göstermiştir ve H_2O_2 miktarını azaltmada etkili olmuştur.

α-amilazlar nişasta moleküllerini monomerlerine parçalayan enzim grubundadırlar. Bitkiler karbonhidrat ve peroteinlerini tohum bölgelerinde depo ederler ve çimlenme döneminde enerji ihtiyaçlarını bu moleküllerden karşılarlar. Tohumlar nişastayı doğrudan kullanamadıkları için α-amilazları uyarırlar ve nişastanın parçalanmasını sağlarlar. Dolayısı ile solunum reaksiyonlarını doğrudan etkilerler. Çimlenmenin devam etmesi için de nişastaların sürekli parçalanması gerekir (Subbarao and Datta, 1998). Alfa amilazlar da tohumların çimlenmesi üzerine etki göstermektedir. Çalışmamızda alfa milaz miktarı kontrol ile kıyaslandığında sadece kızıltan bitkisinin gövde kısmının 100 mg/L ClO_2 konsantrasyonunda arttığı, diğer tüm bitki kısımlarında ve konsantrasyonlarda azaldığı tespit edilmiştir.

Protein analizlerinin ve değerlendirilmesinin yapılması için SDS-PAGE yapılmıştır. Bitkiler olumsuz bir durum ile karşılaştığında savunma sistemi olarak protein değerlerinde değişimler meydana gelir. Çalışmamızda protein değerlerine bakıldığında gerek 79 buğday bitkisinin tüm kısımlarında ve tüm konsantrasyonlarında azalma gözlemlenmiştir, Kızıltan buğday bitkisinde ise kök kısmında 100 mg/L ClO_2, gövde kısmında ise 50 mg/L ClO_2 konsantrasyonlarında artış gözlemlenmiştir. Çalışmamızda ayrıca moleküler yöntem olarak SDS-PAGE elektroferezi tekniği ile protein profilleri ortaya çıkarılmıştır. SDS-PAGE sonuçlarına bakıldığında ve her iki çeşitte de tüm ClO_2 uygulamalarında yeni protein bant profillerinin oluştuğu görülmektedir. Bu yeni bant profilleri genelde 45 kDa- 60 kDa arasında oluşmuştur. Oluşan bantların şiddetlerine bakıldığında gerek 79 çeşidinin kök ve gövdelerinde bir fark oluşmamış, kızıltan bitkisinde ise gövde kısmında kontrole kıyas ile kullanılan konsantrasyonlarda bantlarının şiddetinde bir artış görülmüştür. Oluşan bu durum da kullanılan klor dioksit çalışmadaki diğer parametreler ile paralellik göstermektedir ve kullanılan konsantrasyonların gerek 79 bitkisi üzerine herhangi bir stres oluşturmadığı için yeni protein profilleri oluşmadığı, kızıltan bitkisinin ise uygulamaya bağlı olarak yeni bantlar geliştirdiği ve bu durum muhtemel bir hücresel hasarın önlenmesi için cevap mekanizması olabilir.

Bitkiler stres faktörleri ile karşılaştıklarında Na/K dengesini koruyarak tölerans gösterirler. Taşıyıcı proteinlerin yardımı ile Na elementinin dışarı atılması veya odun borularına yüklenmesinin azaltıcı yönde etkileyerek Na/K dengesi korunur. Aynı zamanda stres faktörleri altındaki bitki K elementini biriktirir (Can, 2015). Çalışmamızda gerek 79 bitkisinin kök kısımlarında K değeri kontrol grubu ile kıyaslandığında 50 mg/L ClO_2 konantrasyonunda artış göstermişken, 100 mg/L ClO_2'de anlamlı bir fark oluşturmamıştır ve Na değerleri de buna paralel bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir. Gerek 79 bitkisinin gövde kısımlarında ise kontrol grubu ile kıyaslandığında K elementi 50 mg/L ClO_2 konsantrasyonunda azalma olduğu, 100 mg/L ClO_2'de ise artış olduğu gözlemlenmiştir ve Na elementi de buna paralel olarak değişiklik göstermiştir. Oluşan bu sonuç gerek 79 bitkisinin Na/K dengesinin korunduğunu ve stres faktörlerini geliştirmediğini göstermektedir. Kızıltan bitkisinin kök kısımlarında K elementi kontrol grubu ile kıyaslandığında her iki konsantrasyonda da arttığı Na elementinin ise azaldığı gözlemlenmiştir. Kızıltan bitkisinin gövde kısımlarında K miktarının sadece 100 mg/L ClO_2 konsantrasyonunda azaldığı, 50 mg/L ClO_2 konsantrasyonunda ise anlamlı bir farklılık göstermediği ve Na miktarının ise kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı bir farklılık oluşturmadığı gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak son yıllarda kullanımı gittikçe yaygınlaşan ve tarımsal sulara da karışabilen ClO_2 (50 mg/L, 100 mg/L) konsantrasyonlarının buğday bitkilerinin kök kısımlarında herhangi bir oksidatif hasar oluşturmadığı, gövde kısımlarında ise bir savunma mekanizması geliştirdiği ve hücresel hasar oluşturmadığı söylenebilir. Fakat bunun daha net aydınlatılması için yapılan parametreler artırılarak daha spesifik çalışmalar yapılmalıdır.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlara göre kullanılan ClO_2 konsantrasyonlarının buğday bitkilerinin çimlenmeleri üzerinde bir inhibisyon oluşturmadığı anlaşılmıştır. MDA miktarına bakıldığında her iki bitkinin kök kısımlarında bir stres oluşturmadığı fakat gövde kısımlarında ise bir artış olduğu gözlemlenmiştir. Stres faktörleri altında artış gösteren H_2O_2 ve $O_2^{-\cdot}$ miktarları kontrol grupları ile kıyaslandığında anlamlı bir fark oluşturmamıştır ve bu da kullanılan ClO_2 konsantrasyonlarının oksidatif stres oluşturmadığının bir göstergesidir.

SOD miktarında artış gözlemlenmiştir, bu artış oluşan stres faktörlerini azaltmış ve hücre membranının zarar görmesini engellemiştir. POD miktarında azalma olmuştur ve substratı H_2O_2 ile paralellik göstermiştir. CAT enziminde bazı kısımlarda H_2O_2 ile paralellik gösterecek şekilde artmıştır ve H_2O_2 'nin etkinliğini azaltmıştır.

Yapılan SDS-PAGE görüntülerine bakıldığında gerek 79 ve kızıltan bitkilerinde yeni bantların oluştuğu ve kızıltan bitkisinin gövde kısmında kontrol ile kıyaslandığında bantların şiddetinde bir artış olduğu gözlemlenmiştir. α-amilaz aktivtesinde genel olarak bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Element analizleri için Na/K dengesi incelenmiştir. Tüm bitki kısımlarında ve ClO_2 konsantrasyonlarında bu dengenin korunduğu tespit edilmiştir.

Sonuç olarak güçlü bir dezenfektan olan ClO_2'nin kullanılan konsantrasyonları buğday çeşitlerinde oksidatif stres oluşturmadığı ve oluşabilecek mikrobiyal etkilere karşı koruma sağlayabileceği anlaşılmıştır. Fakat yeni olan bu çalışmanın etkinliğinin daha açık bir şekilde anlaşılabilmesi için ileriki çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

Agarwal S, Pandey V (2004) Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in Cassia angustifolia. Biologina Plantarum 48(4): 555–560

Ahmad P, Sarwat M, Sharma S (2008) Reactive Oxygen Species , Antioxidants and Signaling in Plants. Journal of Plant Biology 51: 167–173

Aieta E, Berg M, Roberts JD, Cooper PV, Aieta EM (1980) Comparison of chlorine dioxide and chlorine in wastewater disinfection. Journal Water Pollution Control Federation 52(4): 810–822

Amaya I, Botella MA, De M, Heredia A, Bressan RA, Hasegawa PM, Quesada MA, Valpuesta V (1999) Improved germination under osmotic stress of tobacco plants overexpressing a cell wall peroxidase. FEBS Lett 457: 80–84

Ananieva EA, Alexieva VS, Popova LP (2002) Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. J Plant Physiol 159: 685–693

Angelini RF, federico R (1990) Spatial and functional correlation between diamine-oxidaseand peroxidase activities and their dependence upon de-etiolation and wounding in chick-pea stems. Planta 182: 89–96

Ardıç İH (2017) Buğday (Triticum aestivum L .) olgun embriyo kültüründe tuz stresine karşı α-takoferolün etkisinin belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi Atatürk Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. 10-13

Asada K (2006) Production and Scavenging of Reactive Oxygen Species in Chloroplasts and Their Functions. Plant Physiol 141: 391–396

Avşar E, Karadağ SG, Toröz İ, Hanedar A (2017) Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi Pamukkale University Journal of Engineering Sciences. İstanbul Ömerli ham suyunda dezenfeksiyon amaçlı klor dioksit kullanımının dezenfeksiyon yan ürün (DYÜ) oluşumuna etkisinin araştırılması Investiga 23(3): 297–310

Barbeau B, Desjardins R, Mysore C, Pre M, (2005) Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters. Water Research 39: 2024–2033

Barışık G. (2020) Nitrik oksit uygulamasının biber bitkisinde (capsicum annuum L.)kimi stres faktörleri üzerine etkisi Doktora Tezi Bursa Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı. 12-14

Betteridge DJ (2000) What Is Oxidative Stress?. Metabolism 49(2): 3–8

Bhunia A, Durani S, Wangikar PP (2001) Horseradish Peroxidase Catalyzed Important Dyes. Received 5(57): 99 1-16

Blokhına O (2003) Antioxidants, Oxidative Damage and Oxgen Deprivation Stres. Arevies. ann. Bot 91: 179-194

Blum A (1986) Plant breeding for stress environments. CRC Press Boca Raton USA
Bolat M (2013) Sodyumklorit ve stabilize klordioksitin su iş letmelerinde dezenfektan olarak kullaniminin araştırılması Yüksek Lisans Tezi Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Anorganik Kimya. 15-17

Bor M, Özdemir F, Türkan I (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in lea v es of sugar beet Beta v ulgaris L . and wild beet Beta maritima L . Plant Scıence 164: 77–84

Breusegem FVJFD (2006) Reactive Oxygen Species in Plant Cell Death. Plant Physiology. 141: 384-390

Bridges DF (2018) The effectiveness of closed-circulation gaseous chlorine dioxide or ozone treatment against bacterial pathogens on produce. Enhanced Reader Food Control 91: 261–267

Briggle L, Reitz L (1963) Triticum Species and of Wheat Varieties. 2–30

Can H (2015) Farklı buğday genotiplerinin tuz stresine tepkileri ile besin elementi içeriği arasındaki ilişkilerin belirlenmesi.Yüksek Lisans Tezi Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Toprak Bilimi ve Bitki Besleme Anabilim Dalı.16-18

Chaudiere J, Ferrari-Iliou R (1999) Intracellular antioxidants: From chemical to biochemical mechanisms. Food and Chemical Toxicology 37: (9–10), 949–962

Cheng J, Yu SM, Zuo P, (2006) Horseradish peroxidase immobilized on aluminum-pillared interlayered clay for the catalytic oxidation of phenolic wastewater. Water Research 40: 283–290

Chumyam A, Shank L, Faiyue B (2017) Effects of chlorine dioxide fumigation on redox balancing potential of antioxidative ascorbate-glutathione cycle in ‘Daw’ longan fruit during storage. Enhanced Reader 222: 76–83

Çınar S, (2005) Mangan ve demir stresi uygulanmış roka (eruca sativa)bitkisinde bazı antioksidan enzim aktivitesindeki ve lipid peroksidasyon düzeylerindeki değişimlerin incelenmesi. Yüksek Lisans tezi Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 6-7

Çölgeçen İ (2014) Kirazın raf ömrünün arttırılmasında klordioksit uygulamasının etkinliği. Yüksek Lisans Tezi Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı. 14-26

Corpas FJ, Barroso JB (2013) Letters Nitro-oxidative stress vs oxidative or nitrosative stress in higher plants. Planta 199(3): 633–635

Czarnocka W (2018) Reactive oxygen species production , scavenging and signaling in plant response to environmental stresses. Free Radical Biology and Medicine Friend or foe 122: 4–20

Dehon L, Macheix JJ, Durand M (2002) Involvement of peroxidases in the formation of the brown coloration of heartwood in Juglans nigra. Journal of Experimental Botany 53(367): 303–311

Demidchik V, Shabala SN, Coutts KB, Tester MA, Davies JM (2003) Free oxygen radicals regulate plasma membrane Ca2+- and K+-permeable channels in plant root cells. Journal of Cell Science 116(1): 81–88

Desikan R, Hancock JT, Bright J, Harrison J, Weir I, Hooley R, Neill SJ (2005) A Role for ETR1 in Hydrogen Peroxide Signaling in Stomatal Guard Cells. Plant Physiol 137(March): 831–834

Dinu M, Whittaker A, Pagliai G, Benedettelli S, Sofi F (2018) Ancient wheat species and human health: Biochemical and clinical implications. The Journal of Nutritional Biochemistry 52: 1–9

Dogru A, Aktif B, Türleri O, Journal I, Doğru A (2020) Bitkilerde Aktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres. International Journal of Life Sciences and Biotechnology 3(2): 205–226

El-Nahıoum N (2018) Clinical evaluation of the plaque inhibitory effect of aloe vera - containing mouth rinse in a 4-day plaque regrowth model. Doktor Of Phılosphy Thesıs Yeditepe Üniversitesi. 9-11

Elstner EF, Heupel A (1976) Formation of hydrogen peroxide by isolated cell walls from horseradish. Planta 130: 175–180

Erdal S, Taşkın M, (2010) Çimlenen Fasülye Tohumlarında α–amilaz Enzim Aktivitesinin ve Erken Büyüme Parametreleri Üzerine Memeli Cinsiyet Hormonlarının Etkileri. FÜFBED 61–71(3–1): 10–15

Esim N. (2011) Nitrik oksitin mısırda (Zea mays) düşük sıcaklık stresi töleransı üzerine etkisi. Doktora Tezi Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. 12-13

Flors C, Fryer MJ, Waring J, Reeder B, Bechtold U, Mullineaux PM, Nonell S, Wilson MT, Baker, NR (2006) Imaging the production of singlet oxygen in vivo using a new fluorescent sensor , Singlet Oxygen Sensor Green. Journal of Experimental Botany 57(8): 1725–1734

Foyer CH, Noctor G (2009) Redox Regulation in Photosynthetic Organisms : Plant 11(4)

Fry SC (2004) Primary cell wall metabolism : tracking the careers of wall polymers in living plant cells. Tansley Review 161: 641–675

Gechev T, Gadjev I, Breusegem F, Van Inze D, Dukiandjiev S, Toneva V, Minkov I (2002) Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. CMLS 59: 708–714

Genestra M (2007) Oxyl radicals , redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. ScienceDirect, Cellular Signalling 19: 1807-1819

Gill SS, Tuteja N (2010) Plant Physiology and Biochemistry Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology et Biochemistry 48(12): 909–930

Gordon G (1972) The chemistry of chlorine dioxıde. Progress in Inornanic Chemitry 15: 200–210

Grunberg KA, Taleisnik EL (2002) Reactive Oxygen Species in the Elongation Zone of Maize Leaves Are Necessary for Leaf Extension. Plant Phsiology 129(August): 1627–1632

Güneş H (2017) Strese Maruz Bırakılan Anasonda (Pimpinella anisum) Antioksidan Mekanizma ve Biyoaktif Bileşiklerdeki Değişimin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi Bingöl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı. 7-19

Gupta R, Gigras P, Mohapatra H, Goswami VK (2003) Microbial a -amylases : a biotechnological perspective. Process Biochemıstry 38(july): 1999–1616

Halliwell B, (2009) Antioxidant defence mechanisms : From the beginning to the end (of the beginning) 5762

He Y, Liu Y, Cao W, Huai M, Xu B, Huang B (2005) Effects of Salicylic Acid on Heat Tolerance Associated with Antioxidant Metabolism. Crop Sci 45: 988–995

Hernandez JA (2001) Antioxidant Systems and O2/ H2O2 Production in the Apoplast of Pea Leaves . Its Relation with Salt-Induced Necrotic Lesions in Minor Vein. Plant Science 127: 817–831

Hoeyn R (2010) Whıte's Handbook of Chlorınatıon and Alternatıve Dsınfectants. Fıth Edıtıon

İlgün SY (2019) Orta anadolu bölgesi için geliştirilmiş makarnalık buğday ve çeşit adaylarının verim ve kalite performans tespiti. Yüksek Lisans Tezi Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Ensitüsü Tarla Bitkileri Anabilim Dalı. 17-18

J Dat S, Vandenabeele E, Vranova M, Van Montagu DI (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. CMLS 57(5): 779–795

Jaspers P (2010) Reactive oxygen species in abiotic stress signaling. Deperment of Biologial and Enviromental Sciences 138(4): 405–413

Jia J, Wang B, Wu A, Cheng G, Li Z, Dong S (2002) A method to construct a third-generation horseradish peroxidase biosensor: Self-assembling gold nanoparticles to three-dimensional sol-gel network. Analytical Chemistry 74(9): 2217–2223

Karadağ SG (2011) Klor dioksidin dezenfektan amaçlı kullanımında yan ürünün oluşumunun araştırılması; istanbul ömerli ve büyükçekmece ham suları. Yüksek Lisans Tezi Pamukkale Üniversitesi Çevre mühendisliği Anabilim Dalı

Karadayı G, (2017) Tuz stresi altındaki ekmeklik buğday genotiplerinde (triticum aestium) Ttölerans ve miRNA hedef genlerinin ifade seviyeleri. Doktora Tezi Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Bilim Dalı. 2-9

Kehrer JP (2000) The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. Toxicology 149(1): 43–50

Korn C, Andrews RC, Escobar MD (2002) Development of chlorine dioxide-related by-product models for drinking water treatment. Water Research 36: 330–342

Koutoua A, Houda EY, Rochdi A, Laurent KK, Hilaire KT, Biologie L, De Production D, Abobo-adjame U (2011) NaCl stress-induced growth , water and ions contents changes on in vitro selection of salt tolerant and salt sensitive callus of wheat (Triticum durum Desf .). Internatıonal Journal of Biosciences 1(4): 12–25

Lee YB (2020) CIO2 dipping treatment inhibitis gray mold on cut rose floewrs during storage. The Horticultural Science 89(4): 496–501

Lee YJ (2019) In Vitro and In Vivo Inhibitory Effects of Gaseous Chlorine Dioxide Againts Diaporthe batatas Isolated from Stored Sweetpotato 77–83

Liu Y (2010) Nitric oxide synthase like activity-dependent nitric oxide production protects against chilling-induced oxidative damage in Chorispora bungeana suspension cultured cell. Plant Physiology and Biochemistry 48: 936-944

Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP (1997) The Orıgın of The Hydroxyl Radical Oxygen In The. Original Contribution 22(5): 885–888

Mahajan S, Tuteja N (2005) Cold, salinity and drought stresses: an overview. Archıves of Biochemistry and Biophysics 444: 139–158

Minibaeva FV, Gordon LK (2003) Superoxide Production and the Activity of Extracellular Peroxidase in Plant Tissues under Stress Conditions. Russian Journal of Plant Physiolog 50(3): 459–464

Mittler R, (2002) Oxidative stress , antioxidants and. Trends in Plants Science 7(9): 405–410

Mıllıan-Sango D, Sammut E, Impe V, Vadramidis VP (2017) Decontamination of alfalfa and mung bean sprouts by ultrasound and aqueous chlorine dioxide. LWT Food Scıence and Technology 78: 90–96

Nadarajah KK (2020) ROS Homeostasis in Abiotic Stress Tolerance in Plants. International Journal of Molecular Scıences 21: 8-52

Neill SJ, Desikan R, Clarke A, Hurst RD, Hancock JT, Lane C, Bs B, Lane C, Bs B, (2002) Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. Journal of Experimental Botany 53(372): 1237–1247

Nishiyama Y, Ikeda H, Haramaki N, Yoshida N, Imaizumi T (1998) Oxidative stress is related to exercise intolerance in patients with heart failure. American Heart Journal.2-5

Bngöl Ö, Battal P (2020) Verbascum cheiranthifolium Boiss. var. asperulum (Boiss.) Murb Achillea filipendulina Lam. and Salvia limbata C.A.Mey. ekstratlarının Zea mays L. ve Portulaca oleraceae L. tohumlarında α-amilaz aktivitesi üzerine allelopatik etkisi. Doğu Fen Bilimleri Dergisi 3(1): 39–49

Özçelik S (1984) İçme Sularının dezenfeksiyonunda kullanılan metodlar ve uygun metodun seçimi. Selçuk üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Ürün Teknik Bölümü 9:2

Özdemir E (2019) Ekmeklik Buğdayda (Triticum aestivum L .) Tuz Süresinin Meydana Getirmiş Olduğu Moleküler ve Fizyo-Biyokimyasal Değpişiklikler üzerine 5-aminolevunilik Asidin Etkisi. Yüksek Lisans Tezi Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji Bilim Dalı. 2-15

Özdemir G, Özcan B (2020) Sıcaklığa Dirençli α-Amilaz Enzimi Üreten Mezofilik Bakteri İzolasyonu ve Enzimin Kısmi Karakterizasyonu. Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi 3(2): 75–82

Palosuo T, Christian K, Angulo C, Hlavinka P, Moriondo M, Olesen JE, Patil RH, Rumbaur C, Taka J, Bindi M, Ewert F, Ferrise R, Mirschel W, Levent S, Si B (2011) Simulation of winter wheat yield and its variability in different climates of Europe : A comparison of eight crop growth models. Europ J Agronony 35: 103–114

Patykowski J, Urbanek H (2003) Activity of enzymes related to H2O2 generation and metabolism in leaf apoplastic fraction of tomato leaves infected with Botrytis cinerea. Journal of Phytopathology 151(3): 153–161

Pospisil P (2009) Production of reactive oxygen species by photosystem II. Biochicıma et Biophysica- Bioenergetics Acta 1787: 1151–1160

Reumann S, Weber APM (2006) Plant peroxisomes respire in the light : Some gaps of the photorespiratory C2 cycle have become filled — Others remain. Biochicıma et Biophysica Acta 1763: 1496–1510

Rout GR, Samantaray S, Das P (2000) In vitro rooting of Psoralea corylifolia Linn : Peroxidase activity as a marker. Plant Growth Regulation 30: 215–219

Şahin M, Akçacik AG, Aydoğan S, Demir B, Güçbilmez ÇM, Hamzaoğlu S, Gür S, Yildirim T (2020) Ekmeklik buğday (Triticum aestivum) genotiplerinin gluten kalitesinin glutopik cihazı ile değerlendirilmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi 24 (2): 151- 164

Saıram RK, Srıvastava GC (2000) Induction of oxidative stress and antioxidant activity by hydrogen peroxide treatment in tolerant and susceptible wheat genotypes. Bıologıa Plantarum 43(3): 381–386

Scandalios JG (1983) Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. Plant Physiol 101: 7–12

Schweitzer C, Schmidt R (2003) Physical Mechanisms of Generation and Deactivation of Singlet Oxygen. Chem Rev 2: 1685–175

Ślesak I, Libik M, Karpinska B, Karpinski S, Miszalski Z (2007) The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. Acta Biochimica Polonica 54(1): 39–50

Smirnoff N, The S, Phytologist N, Sep N (1993) Tansley Review No . 52 . The Role of Active Oxygen in the Response of Plants to Water Deficit and Desiccation Published by : Wiley on behalf of the New Phytologist Trust Linked references are available on JSTOR for this article 125(52): 27–58

Somtürk B, Kal R, Özdemir N (2014) Purification of Peroxidase from Red Cabbage (Brassica oleracea var. Affinity Chromatography 1815–1828

Streb P, Shang W, Feierabend J (1999) Resistance of cold-hardened winter rye leaves (Secale cereale L.) to photo-oxidative stress. Plant Cell and Environment 22(10): 1211–1223

Subbarao KV, Datta R (1998) Amylases Synthesıs ın Scutellum and Aleurone of Maıze Seeds Pergamon 49(3)

Sun X, Zhou B, Luo Y, Ference C, Baldwin E, Harrison K, Bai J (2017) Effect of controlled-release chlorine dioxide on the quality and safety of cherry / grape tomatoes. Food Control 82: 26–30

Turgut M (2017) Buğdayın (Triticum aestivum L.) 7D kromozomu üzerinde rus buğday afidi dayanıklılık geni ile ilişkili ssr markörlerinin belirlenmesi.Yüksek Lisans Tezi.5-12

Türkay Ö (2017) Driking Water Dısınfectıon By Electro Actıvated Water ıts Inactıvatıon Mechanısm on Bacteria. Doktora Tezi Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı. 3-7

Van Breusegem F, Vranova E, Dat JF, Inze D (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science 161(3): 405–414

Vandekinderen I (2009) Effects of food composition on the inactivation of foodborne microorganisms by chlorine dioxide. International Journal of Food Microbolgy 131: 138–14

Vicente M (2009) Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation;a review, Trends in Food Science Tecnology 20: 17–26

Wang K, Gong Q, Ye X (2020) Recent developments and applications of genetic transformation and genome editing technologies in wheat. Theoretical and Applied Genetics 133(5): 1603–1622

Wang R, Chen B, Wang T, Li P, Ding F (2019) Effects of chlorine dioxide on the germination , oxidative metabolism and growth of barley seedlings (Hordeum vulgare L .). Scientific Reports March 1–8

Werdehoff KS, Singer PC (1987) Chlorine Dioxide Effects on THMFP , TOXFP , and the Formation of Inorganic By-products C 107–113

Willekens H, Villarroel R, Van Montagu M, Inze D, Van Camp W (1994) Molecular identification of catalases from Nicotiana plumbaginifolia (L.). FEBS Letters 352(1): 79–83

Yanık F (2019) Triticum aestivum L. (buğday)'da gümüş nanopartikülleri ile oluşturulmuş programlı hücre ölümünün belirlenmesi. Doktora Tezi Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.1-16

Ye Y, Tam NFY, Wong YS, Lu CY (2003) Growth and physiological responses of two mangro v e species (Bruguiera gymnorrhiza and Kandelia candel) to waterlogging. Enviromental and Experimental Botany 49: 209–221

Yediyıldız AG (2008) Kuraklık ve tuz stresi uygulanan buğday (Triticum aestivum L.) çeşitlerinde antioksidant enzim aktivitesindeki değişimlerin belirlenmesi. Yüksek lisans Tezi Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı.1-12