

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fe(0) NANOPARTİKÜLÜNÜN AYÇİÇEĞİ
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÜBRE OLARAK KULLANIM
POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

KEVSER ÖZKURT
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

GEBZE
2020

T.C.
GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fe(0) NANOPARTİKÜLÜNÜN AYÇİÇEĞİ
YETİŞTİRİCİLİĞİNDE GÜBRE OLARAK
KULLANIM POTANSİYELİNİN
ARAŞTIRILMASI

KEVSER ÖZKURT
YÜKSEK LİSANS TEZİ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMANI
PROF. DR. YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ
II. DANIŞMANI
PROF. DR. AHU ALTINKUT UNCUOĞLU

GEBZE
2020

T.R.
GEBZE TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

**SEARCH FOR THE USE OF Fe(0)
NANOPARTICLE AS POTENTIAL
FERTILIZER IN SUNFLOWERS**

KEVSER ÖZKURT
**A THESIS SUBMITTED FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE**
DEPARTMENT OF MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC

THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. YELDA ÖZDEN ÇİFTÇİ
II. THESIS SUPERVISOR
PROF. DR. AHU ALTINKUT UNCÜOĞLU

GEBZE

2020



YÜKSEK LİSANS JÜRİ ONAY FORMU

GTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 10/07/2020 tarih ve 2020/33 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından 14/07/2020 tarihinde tez savunma sınavı yapılan Kevser ÖZKURT'un tez çalışması Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Prof. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ

ÜYE

: Prof. Dr. Yıldız AYDİN

ÜYE

: Dr. Öğr. Üyesi Mine GÜL ŞEKER

ONAY

Gebze Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
...../...../..... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

Prof. Dr. Ümit DEMİR
Gebze Teknik Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

Ayçiçeği, içerdiği yüksek orandaki yağ miktarı nedeniyle ülkemizde ve dünyada önemli bir tarım ürünüdür. Ayçiçeği başta olmak üzere yem ve yağ sanayi için gerekli hammadde önemli ölçüde ithal edilmektedir. Bu stratejik ürünlerin kaliteli bir şekilde yurt içinde üretimi ve ihracatı ülke ekonomisini rahatlatacaktır. Bu nedenle ayçiçeğinde verimin artırılması gereklidir. Ürün verimini arttırmak için gübre ve pestisit olarak kullanılan kimyasallar çevre kirliliğine neden olarak canlılara zarar vermektedir. Nanoteknoloji, ayçiçeği yetiştiriciliğinde verimi arttırmaya yönelik çevre kirliliği riskini minimize eden alternatif yöntemler sunmaktadır. Nanomalzemeler, boyutlarının küçük ve yüzey alanının geniş olmasından dolayı daha iyi reaktivite, iletkenlik ve dayanım gibi özelliklere sahiptir. Birçok farklı nanomalzemenin gübre olarak kullanıldığında çeşitli bitkilerde olumlu sonuçları literatürde mevcuttur. Bu nedenle tez çalışmasında, yeşil sentez yolu ile bitkisel kaynaklardan sentezlenmiş olan sıfır değerlikli demir nanopartiküllerin [Fe(0) NP] hidroponik, kum ve toprak ortamlarında ayçiçeğine verilerek nanopartiküllerin bitki gelişimi üzerine organ (gövde-kök boyları, yaprak sayısı ve yüzey alanı, taze ve kuru ağırlıklar), hücre [antioksidan enzim seviyeleri, malondialdehid (MDA), hidrojen peroksit], ve organel (klorofil ve karotenoid miktarları) düzeyinde etkisini araştırmak ve nanopartiküllerin tarımda gübre olarak kullanım potansiyelinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Çalışmada, ayçiçeğinde Fe(0) NP etkisini karşılaştırmalı bir şekilde görmek üzere demirsiz kontrol grubu, ticari gübre olarak kullanılan Fe-EDTA grubu ve farklı konsantrasyonlarda (1.5, 2.5, 5, 10 ve 20 ppm) Fe(0) NP uygulamaları oluşturulmuştur. Hidroponik ortamda 2.5 ve 5 ppm Fe(0) NP uygulamaları, kum ve toprak ortamlarında ise 5 – 20 ppm arasındaki Fe(0) NP uygulamaları ayçiçeği gelişimi açısından olumlu sonuç vermiştir ve antioksidan seviyelerindeki değişimlere bakılarak bu uygulamaların bitkide Fe-EDTA uygulamasına göre daha az oksidatif strese neden olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ayçiçeği, Nanoteknoloji, Yeşil Sentez, Sıfır Değerlikli Demir Nanopartikülü [Fe(0) NP].

SUMMARY

Due to its high level oil content, sunflower is an important crop for both our country and the world. A significant amount of raw materials, especially sunflowers that are used for feed and oil industries have being imported by our country. However, high quality production and exportation of these strategic crops would contribute to national economy. Therefore, increase in sunflower yield is needed. The chemicals used as fertilizer and pesticides in order to increase the crop yield, damage the living beings by leading to environmental pollution. Nanotechnology offers alternative approaches in order to increase the efficiency in sunflower growth while it minimize the risk of environmental pollution at the same time. Nanomaterials have properties such as high reactivity, conductivity and strength due to their small size and large surface area. The positive results of many different nanomaterials in various plants when used as fertilizer are available in the literature. Thus in this study, it was aimed to investigate the effect of green synthesized nano zero valent irons [Fe(0) NP] on plant development at organ (stem-root lengths, leaf number and surface area, fresh and dry weights), cell [antioxidant enzyme levels, malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide], and organelle (chlorophyll and caretenoid amounts) levels by giving the nanoparticles to sunflower in the hydroponic, sand and soil environments to demonstrate the potential of the use of nanoparticles as fertilizer in agriculture. For that purpose, the experimental groups without iron, with Fe-EDTA which is used as commercial fertilizer, and with Fe(0) NP at different concentrations (1.5, 2.5, 5, 10 and 20 ppm) have been set up. In the hidroponic environment, application of 2.5 and 5 ppm Fe(0) NP, in the sand and soil environments and application between 5-20 ppm Fe(0) NP showed a positive effect on sunflower growth. In addition, considering the changes in antioxidant levels, it was observed that nanoparticle applications caused less oxidative stress in plants than the group with Fe-EDTA.

Key Words: Sunflower, Nanotechnology, Green Synthesis, Nano Zero Valent Iron [Fe(0) NP].

TEŞEKKÜR

Başta, yüksek lisans eğitimimde ve akademik hayatımda desteğini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyip bilgisi ile bu çalışmanın oluşmasının yolunu açan danışmanım Prof. Dr. Yelda ÖZDEN ÇİFTÇİ ve Marmara Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü'nden eş danışmanım Prof. Dr. Ahu ALTINKUT UNCUOĞLU'na; maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ortak çalıştığımız değerli hocalarım Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Yıldız AYDIN ve Çevre Mühendisliği Bölümü'nden Dr. Öğr. Üyesi Esra ERDİM'e, çalışmam boyunca cömertçe bilgi ve malzeme paylaşımı yapan Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Filiz VARDAR'a, bana desteklerini hissettiren Gebze Teknik Üniversitesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü'nden değerli hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Mine GÜL ŞEKER ve Dr. Özlem AKKAYA'ya, zaman zaman laboratuvar ve malzeme imkanlarını bizimle paylaşan Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Doç. Dr. N. Cenk SESAL, Prof. Dr. Şener AKINCI, Dr. Öğr. Üyesi Özal MUTLU, Kimya Bölümü'nden Doç. Dr. Emrah ÇAKMAKÇI'ya,

Bütün çalışmam boyunca yanımda olan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Marmara Üniversitesi'nden değerli hocam Dr. Ezgi ÇABUK ŞAHİN, ve değerli arkadaşlarım Tuğba ÖZGÖREN CAN, Elif ATUKEREN, Zeyneb Nur ŞAHİN, Deniz Yeliz AKBAŞ, Yağmur Zeynep USLU, Buse DURSUN, Yunus Emre AKTAŞ, Elif Gökçe TAŞKARA, Muhammed BİLALOĞLU, Dr. Fatma YANIK, Dr. Aslıhan ÇETİNBAŞ GENÇ, Orçun TOKSÖZ, Gamze KURTULUŞ, Irmak BİLGİSEVEN, Hasan Can KÜÇÜKALİ, Asude TAN,'a, Pelin, Ceren, Anahita, Çağla, Nihal ve Pınar başta olmak üzere tüm stajyer arkadaşlara, Gebze Teknik Üniversitesi'nden Dr. Hamit EKİNCİ, İrem BAKŞAN İLTER, Merve ALBAYRAK, Nil TÜRKÖLMEZ, Selin Gül ÜNSAL, Nida ARSLAN, Burcu UZAN EKEN, Çiğdem BOZKURT, Ebru YIKILMAZ, İlkay ÜNAL, Serap SAKARYA, Nicat CİBRAİLOĞLU, Ömer İLTAŞ, Rıfat ÜNGÖR'e, ve göstermiş oldukları desteklerinden dolayı değerli aileme ve sevgili eşim Ahmet ÖZKURT'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Öncelikli Alanlara Yönelik Lisansüstü Burs Programı'ndan destek almıştır.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği	2
2. AYÇİÇEĞİNİN ÖNEMİ	3
3. BİTKİLERDE STRES VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ	5
4. NANOTEKNOLOJİ	8
4.1. Nanomalzemeler	9
4.2. Nanoteknolojinin Tarımda Kullanımı	12
5. MATERYAL VE YÖNTEM	20
5.1. Bitki Materyali ve Demir Nanopartikülü	20
5.2. Bitki Materyalinin Sterilizasyonu ve Çimlendirilmesi	20
5.3. Bitkilerin Büyütülmesi	20
5.3.1. Farklı Koşullarda Nanopartikül Denemeleri	20
5.3.1.1. Toprak Ortamı	21
5.3.1.2. Hidroponik (Sıvı) Ortam	22
5.3.2. Optimum NP Konsantrasyonu ve Uygulama Ortamının Belirlenmesi	23
5.3.2.1. Hidroponik (Sıvı) Ortam	24
5.3.2.2. Kum Ortamı	24
5.4. Morfolojik Analizler	25
5.4.1. Gövde ve Kök Uzunluğu	25
5.4.2. Taze ve Kuru Ağırlıklar	25
5.4.3. Yaprak Sayısı ve Yaprak Yüzey Alanı	26

5.5. Biyokimyasal Analizler	26
5.5.1. Antioksidan Enzim Aktivitesi	26
5.5.1.1. Bradford assay	27
5.5.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi	28
5.5.1.3. Peroksidaz (POD) aktivitesi	29
5.5.2. Toplam Klorofil ve Karotenoid Miktarı	30
5.5.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂) Miktarı	30
5.5.4. Lipit Peroksidasyonu Miktarı	31
5.6. İstatiksel Analizler	32
6. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
6.1. Farklı Koşullarda Nanopartikül Deneme Sonuçları	33
6.1.1. Toprak Ortamında Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar	33
6.1.2. Toprak Ortamında Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar	38
6.1.3. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar	41
6.1.4. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar	46
6.2. Optimum NP Konsantrasyonu ve Uygulama Ortamı Belirlemeye Yönelik Çalışmaların Sonuçları	49
6.2.1. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar	49
6.2.2. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar	53
6.2.3. Kum Ortamında Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar	58
6.2.4. Kum Ortamında Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar	63
7. SONUÇLAR	68
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	79

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler ve Kısaltmalar</u>	<u>Açıklamalar</u>
Δ	: Delta
%	: Yüzde
$^{\circ}\text{C}$: Santigrat derece
E^0	: Standart indirgenme potansiyeli
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
L	: Litre
M	: Molar
mM	: Milimolar
μM	: Mikromolar
μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
nmol	: Nanomol
nm	: Nanometre
mg/l	: Milyonda bir (mg/l)
ppm	: Milyonda bir (mg/l, mg/kg vs...)
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
U	: Birim
W	: Watt
w/v	: Ağırlık / Hacim
v/v	: Hacim / Hacim
Ag	: Altın
Au	: Gümüş
AuCl_4	: Gümüş klorür

Al_2O_3	:	Alüminyum oksit
C	:	Karbon
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$:	Kalsiyum nitrat
Cd	:	Kadmiyum
CeO_2	:	Seryum(IV) oksit
CO_2	:	Karbon dioksit
Cu	:	Bakır
CuCl	:	Bakır klorür
dH_2O	:	Distile su
Fe	:	Demir elementi
$\text{Fe}^0 / \text{Fe}(0)$:	Sıfır değerlikli demir
FeO	:	Demir oksit
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$:	Hematit
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$:	Magemit
Fe_2O_3	:	Demir(III) oksit
Fe_3O_4	:	Demir(II) oksit
H^+	:	Hidrojen iyonu
H_2	:	Hidrojen molekülü
H_3BO_3	:	Borik asit
HClO_4	:	Perklorik asit
HNO_3	:	Nitrik asit
H_2O	:	Su molekülü
H_2O_2	:	Hidrojen peroksit
$\text{HO}_2^{\cdot-}$:	Hidroperoksil
KH_2PO_4	:	Monopotasyum fosfat
KI	:	Potasyum iyodür
KNO_3	:	Potasyum nitrat
MgSO_4	:	Magnezyum sülfat
Mn	:	Mangan
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$:	Manganaz(II) klorit tetrahidrat
Na	:	Sodyum
NaCl	:	Sodyum klorit
NaClO	:	Sodyum hipoklorit
Na_2CO_3	:	Sodyum karbonat
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:	Sodyum molibdat dihidrat

$^1\text{O}_2$: Tekli oksijen
O_2	: Oksijen molekülü
$\text{O}_2^{\cdot-}$: Süperoksit radikali
OH^{\cdot}	: Hidroksil radikali
Pd	: Paladyum
SiO_2	: Silisyum oksit
TiO_2	: Titanyum oksit
w/v	: Weight/volume (Ağırlık/hacim)
v/v	: Volume/volume (Hacim/hacim)
Zn	: Çinko
ZnCl_2	: Çinko klorür
ZnO	: Çinko oksit
Abs	: Absorbsiyon
AAS	: Atomik Absorbsiyon Spektroskopisi
AFM	: Atomik Kuvvet Mikroskopisi
BSA	: Sığır Serum Albümini
CAT	: Katalaz
cDNA	: Komplementer DNA
DLS	: Dinamik Işık Saçılımı
DNA	: Deoksiribonükleikasit
EC	: Elektrik İletkenliği
EDTA	: Etilendiamintetraasetik Asit
EPA	: Çevre Koruma Ajansı
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
Fm	: Maksimum Fluoresan
Fv	: Değişken Fluoresan
GPOX	: Gayakol Peroksidaz
ICP	: İndüktif Eşleşmiş Plazma
Kt	: Toplam Klorofil
Kb	: Klorofil b
Ka	: Klorofil a
MDA	: Malondialdehit
MW	: Moleküler Ağırlık

NADPH	:	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NBT	:	Nitro Mavi Tetrazolyum
NP	:	Nanopartikül
OD	:	Optik Yoğunluk
POX	:	Peroksidaz
PUFA	:	Poliansatüre Yağ Asidi
PVP	:	Polivinilprolidon
QD	:	Kuantum Dot
RCF	:	Göreceli Santrifüj Kuvveti
RNA	:	Ribonükleikasit
ROT	:	Reaktif Oksijen Türleri
SEM	:	Taramalı Elektron Mikroskopisi
SOD	:	Süperoksit Dismutaz
TBA	:	Tiyobarbitürik Asit
TCA	:	Triklorasetik Asit
TEM	:	Transmisyon Elektron Mikroskopisi
TÜİK	:	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	:	Ultraviyole Işın
UV-VIS	:	Ultraviyole ve Görünür Işık

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No:</u>	<u>Sayfa</u>
1.1: Demir korozyonu.	2
2.1: Ayçiçeği (<i>Helianthus annuus</i> L.).	3
2.2: Ayçiçeği üretiminde ilk on ülke.	4
2.3: Ayçiçeği yağı üretiminde ilk on ülke.	4
3.1: Oksidatif denge.	5
3.2: Antioksidan savunma sisteminde enzimlerin rolü.	6
3.3: Lipit peroksidasyon aşamaları.	7
4.1: Nanomalzemelerin biyolojik bileşenlerle kıyaslandığı logaritmik uzunluk ölçeği.	8
4.2: Boyutlarına göre nanomalzemeler.	9
4.3: Şekillerine göre nanomalzemeler.	10
4.4: Metal nanopartiküllerin yeşil sentez metodu ile eldesinin gösterimi.	12
4.5: Nanomalzemelerin tarımda kullanım alanları.	13
5.1: Uygulama gruplarının şematik gösterimi.	21
5.2: Toprak ortamı.	22
5.3: Hidroponik ortam.	23
5.4: Uygulama gruplarının şematik gösterimi.	23
5.5: Kum ortamı.	25
5.6: Image J programıyla yaprak yüzey alanı hesaplama.	26
5.7: a) Bilyalı öğütücü, b) Protein ekstraksiyonunda üst fazın alınma aşaması, c) Nanofotometre.	27
5.8: Bradford standart eğri grafiği.	28
5.9: SOD aktivitesi için örneklerin beyaz ışık altında renk değişimlerinin gözlenmesi.	29
5.10: H ₂ O ₂ Standart eğri grafiği.	31
6.1: Toprak ortamında 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP grupları, e) 20 ppm Fe(0) NP.	33

6.2:	Toprak ortamında 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP, e) 20 ppm Fe(0) NP.	34
6.3:	Toprak ortamı gövde boyu ($p \leq 0,05$).	35
6.4:	Toprak ortamı yaprak sayısı.	36
6.5:	Toprak ortamı yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).	36
6.6:	Toprak ortamı taze ağırlık ($p \leq 0,05$).	36
6.7:	Toprak ortamı kuru ağırlık.	37
6.8:	Shahrekizad ve ekibinin nanopartikül çalışmasından farklı uygulamalarda büyüme parametreleri grafikleri.	37
6.9:	Toprak ortamı yaprak toplam protein.	38
6.10:	Toprak ortamı kök toplam protein ($p \leq 0,05$).	39
6.11:	Toprak ortamı yaprak SOD enzim aktivitesi.	39
6.12:	Toprak ortamı kök SOD enzim aktivitesi.	39
6.13:	Toprak ortamı yaprak POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).	40
6.14:	Toprak ortamı kök POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).	40
6.15:	Hidroponik ortam 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP, e) 20 ppm Fe(0) NP.	42
6.16:	Hidroponik ortam 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP, e) 20 ppm Fe(0) NP.	43
6.17:	Hidroponik ortam gövde boyu.	44
6.18:	Hidroponik ortam kök boyu ($p \leq 0,05$).	45
6.19:	Hidroponik ortam yaprak sayısı.	45
6.20:	Hidroponik ortam yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).	45
6.21:	Hidroponik ortam taze ağırlık.	46
6.22:	Hidroponik ortam kuru ağırlık.	46
6.23:	Hidroponik ortam yaprak toplam protein miktarı.	47
6.24:	Hidroponik ortam kök toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).	47
6.25:	Hidroponik ortam yaprak SOD enzim aktivitesi.	48
6.26:	Hidroponik ortam kök SOD enzim aktivitesi.	48
6.27:	Hidroponik ortam yaprak POD enzim aktivitesi.	48

6.28:	Hidroponik ortam kök POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).	49
6.29:	Hidroponik ortam 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) (-) Fe-EDTA, b) (+) Fe-EDTA, c) 1,5 ppm Fe(0) NP, d) 2,5 ppm Fe(0) NP, e) 5 ppm Fe(0) NP, f) 10 ppm Fe(0) NP, g) 20 ppm Fe(0) NP.	50
6.30:	Hidroponik ortam gövde boyu ($p \leq 0,05$).	51
6.31:	Hidroponik ortam kök boyu ($p \leq 0,05$).	51
6.32:	Hidroponik ortam yaprak sayısı.	52
6.33:	Hidroponik ortam yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).	52
6.34:	Hidroponik ortam taze ağırlık ($p \leq 0,05$).	52
6.35:	Hidroponik ortam yaprak toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).	54
6.36:	Hidroponik ortam kök toplam protein miktarı.	55
6.37:	Hidroponik ortam yaprak SOD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).	55
6.38:	Hidroponik ortam kök SOD enzim aktivitesi.	55
6.39:	Hidroponik ortam yaprak POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).	56
6.40:	Hidroponik ortam kök POD enzim aktivitesi.	56
6.41:	Hidroponik ortam H ₂ O ₂ içeriği (kök $p \leq 0,05$).	56
6.42:	Hidroponik ortam MDA içeriği.	57
6.43:	Hidroponik ortam klorofil içeriği (Kt ve Kb $p \leq 0,05$).	57
6.44:	Kum ortamı 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 1,5 ppm Fe(0) NP.	58
6.45:	Kum ortamı 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) 2,5 ppm, b) 5 ppm, c) 10 ppm, d) 20 ppm Fe(0) NP.	59
6.46:	Kum ortamı gövde boyu ($p \leq 0,05$).	61
6.47:	Kum ortamı kök boyu ($p \leq 0,05$).	61
6.48:	Kum ortamı yaprak sayısı.	61
6.49:	Kum ortamı yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).	62
6.50:	Kum ortamı taze ağırlık ($p \leq 0,05$).	62
6.51:	Li ve ekibinin (2015) nanopartikül çalışmasından farklı uygulamalarda büyüme parametreleri grafikleri.	62
6.52:	Kum ortamı yaprak toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).	64
6.53:	Kum ortamı kök toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).	64
6.54:	Kum ortamı yaprak SOD enzim aktivitesi.	65
6.55:	Kum ortamı kök SOD enzim aktivitesi.	65

6.56:	Kum ortamı yaprak POD enzim aktivitesi.	65
6.57:	Kum ortamı kök POD enzim aktivitesi.	66
6.58:	Kum ortamı H ₂ O ₂ içeriği (p≤0,05).	66
6.59:	Kum ortamı MDA içeriği.	66
6.60:	Kum ortamı klorofil içeriği (p≤0,05).	67

TABLULAR DİZİNİ

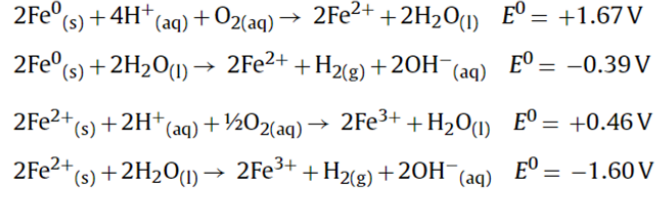
<u>Tablo No:</u>	<u>Sayfa</u>
4.1: Nanopartiküllerin Çeşitli Bitkilerde Uygulaması.	14
5.1: Mikroelement İçeriği.	22
5.2: Hoagland Besiyeri İçeriği.	23
5.3: Ekstraksiyon Tamponun Hazırlanması.	27
5.4: Bradford Belirtecinin Hazırlanması.	28
5.5: SOD Substrat Tampon Hazırlığı.	29
5.6: POD için Ölçüm Tamponunun Hazırlanması.	30
5.7: Hidrojen Peroksit Miktarı Ölçüm Yöntem Bileşenleri.	31

1. GİRİŞ

Tarım sektörünün ülke kalkınmasında rolü büyüktür. Gıda sanayinin hammaddesi de çoğunlukla tarım ürünleridir. Birçok alanda kullanılan ve temel yağ kaynağı olan ayçiçeği çok önemli bir tarım ürünüdür. Ayçiçeği başta olmak üzere yem ve yağ sanayi için gerekli hammadde önemli ölçüde ithal edilmektedir. Bu stratejik ürünlerin kaliteli ve yüksek verimde, yerli üretim materyalleri ile yurt içinde üretilmesi ve ihracatı ülke ekonomisini rahatlatacaktır.

Klasik gübrelerin birçok dezavantajı bulunmaktadır. Bitkilerin etkin kullanımının düşük olmasından dolayı yüksek miktarda gübre kullanımı gerekmektedir. Gübreler, zamanla kimyasal yapılarının değişmesiyle zararlı sera gazlarının ve toprak ve suda fosfat-nitrojen oranının artmasına neden olarak çevreye zarar vermektedir. Bitkiler daha kolay yararlanabildiği için nanogübrelerin düşük miktarlarda kullanımıyla tarımda bu tip olumsuzlukların önüne geçileceği düşünülmektedir [Nalci vd., 2018]. Bitkiler için temel elementlerin nano boyutta doğrudan uygulama çalışmalarının yanında gerekli besin veya zirai ilacı taşımak veya hedef odaklı taşıma yapmak için karbon temelli nanopartiküller, metal içeren inorganik nanopartiküller, dendrimerler ve kompozitler gibi “Tasarlanmış Nano Yapıların (TNY)” kullanımı ile ilgili çalışmalar da mevcuttur [Verma vd., 2018].

Literatürde kimyasal olarak sentezlenen nanomalzemelerin tarımda kullanımıyla ilgili birçok çalışma olmasına karşın, bitkilerin fitokimyasalları kullanılarak (yeşil sentez) sentezlenen sıfır değerlikli demir nanopartikülünün [Fe(0) NP] ayçiçeğinde verime etkisi üzerine herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Demir, toprakta bitkinin kullanmakta zorlandığı Fe(III) formuna dönüşme eğilimindedir. Fe(0), toprakta zamanla bitkinin kolaylıkla faydalanabildiği Fe(II) formuna dönüşür [Şekil 1.1], [Crane ve Scott, 2012]. Bu süreçte Fe(0) NP’leri kullanılarak, bitkinin demirden daha etkili şekilde faydalanabilmesinin sağlanacağı düşünülmektedir. Ayrıca, kimyasal sentezde kullanılan zararlı maddelere ihtiyaç olmadan yeşil sentez sonucu nanopartiküllerin çevresini kaplayan polifenolik bileşikler sayesinde nanopartiküllerin agregasyonu da önlenmiş olacaktır [Mohammadinejad vd., 2016].



Şekil 1.1: Demir korozyonu.

1.1. Tezin Amacı, Katkısı ve İçeriği

Tezin amacı; yeşil sentez ile elde edilmiş Fe(0) NP'lerin ülkemizde tarımı en çok yapılan yağlı bitkilerden biri olan ayçiçeğinde (*Helianthus annuus* L.) bitki gelişimi üzerine organ, hücre ve organel düzeyinde etkisini araştırmak ve nanopartiküllerin tarımda gübre olarak kullanım potansiyelini ortaya koymaktır. Çalışma başarıyla tamamlandığında, Fe(0) NP'ler, stratejik bir tarım ürünü olan ayçiçeği yetiştiriciliğinde verimi arttırmaya yönelik olarak gübre şeklinde kullanılabilir. Ayrıca, tez çıktıları tarımsal alandaki buna benzer çalışmalara yön verip hız kazandıracaktır.

Bu çalışma ile birlikte metal temelli olan Fe(0) NP'lerin ülkemizde tarımı yapılan ayçiçeği hatlarındaki etkisi ortaya konacaktır. Nanopartiküllerin ayçiçeği gelişimine olumlu etkileri gözlemlendiği takdirde bu çalışmanın çıktıları, tarlada ayçiçeği ve benzer tarla bitkilerinde verimi arttırmak üzere nano-gübre araştırmalarına ve nano-gübre kullanımına zemin hazırlayacaktır. Bu şekilde, ayçiçeği verimi artırılarak gıda endüstrisinin içinde bulunan yağ, yem ve çerez sanayiye katkı sağlanacaktır. Böylece uzun vadede, ayçiçeği ve ürünleri bakımından ülke olarak kendimize yetebilir hale gelerek ithalat oranlarının düşürülmesi ve ihracat oranlarının artırılarak ülke ekonomisine katkı sağlanması hedeflenmektedir.

2. AYÇİÇEĞİNİN ÖNEMİ

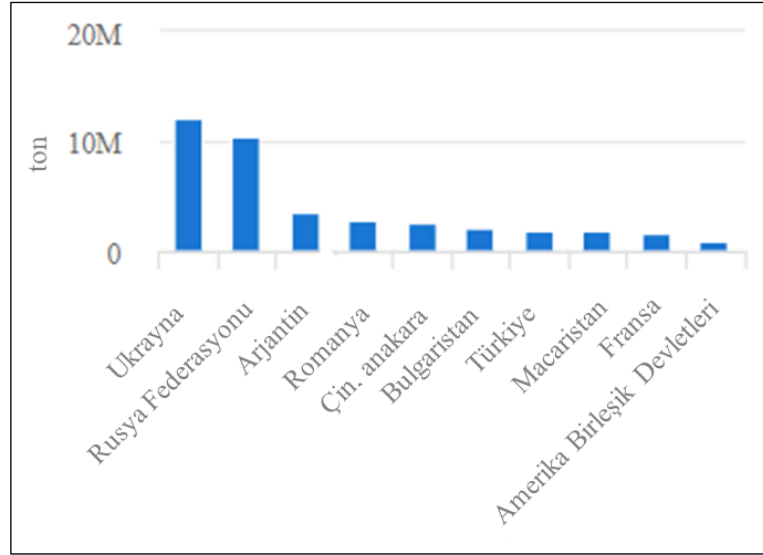
Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), ülkemizde ve dünyada tarımı en çok yapılan yağlı tohum bitkisidir [Şekil 2.1], [T. C. Ticaret Bakanlığı, 2019]. Yağlık ve çerezlik çeşitleri olduğu gibi süs bitkisi olarak da yetiştirilebilmektedir. Adaptasyonu kolay olması ve fazla iş gücü gerektirmemesinden dolayı nadasa bırakılan tarım alanlarında nöbet bitki olarak da kullanılmaktadır. Yağlık ayçiçeği, içerdiği %40-55 gibi yüksek yağ oranı ve %30-40 gibi yüksek protein oranı ile değerli bir besin maddesidir. Ayçiçeği yağı, gıda, yağlı boya, sabun, kozmetik, plastik ve biyodizel yakıt üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayçiçeği çekirdekleri kuruyemiş sanayide; küspesi yem sanayide; sap ve artıkları selüloz endüstrisi, mobilya sektörü ve inşaat sektöründe yalıtım levhası yapımında kullanılmaktadır [TÜİK, 2019]. *Helianthus annuus* L., *Helianthus* cinsine bağlı bilinen 67 tür arasında en yaygın türdür [Heiser, 1978]. *H. annuus* L., 17 kromozoma sahip diploid bir bitkidir [Bock et al., 2014].



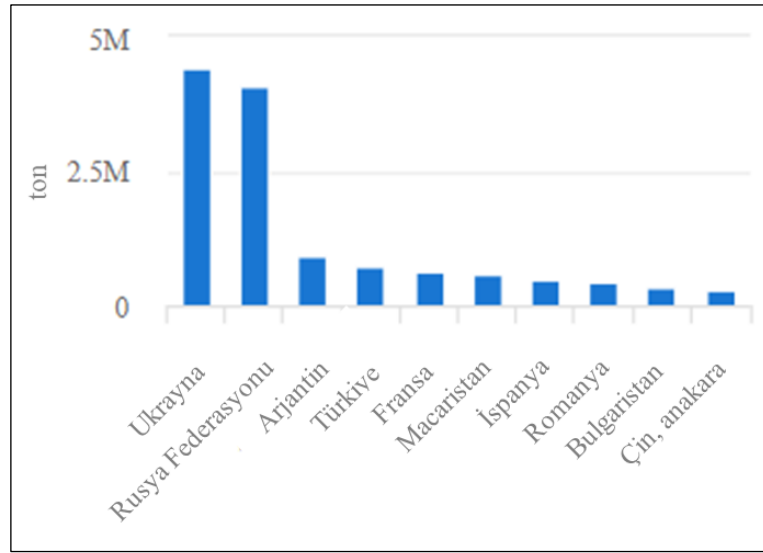
Şekil 2.1: Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.).

Ülkemizde bitkisel yağ üretiminin %70'i, toplam sıvı yağ tüketiminin yaklaşık %80-90'ı ve toplam yağ kullanımının da 1/3'ü ayçiçeğinden karşılanmaktadır [TÜİK, 2019]. 1,964,385 ton ayçiçeği üretimi ve 779,439 hektar ekim alanı ile ayçiçeği yetiştiriciliğinde ilk on ülke arasında yer alan ülkemizde [Şekil 2.2] yağlık ayçiçeği tarımı, genelde Trakya-Marmara bölgesinde yoğunlaşmıştır [FAO, 2017]. Türkiye, ayçiçeği yağı üretiminde ise ilk beş ülke arasındadır [Şekil 2.3], [FAO, 2014].

Ülkemizde ayçiçeği tohumu ithalatı yaklaşık 640 ton iken ihracat yaklaşık 57 tondur. Ayçiçeği yağı ithalatı yaklaşık 660 ton iken ihracat yaklaşık 537 tondur [FAO, 2017].



Şekil 2.2: Ayçiçeği üretiminde ilk on ülke.

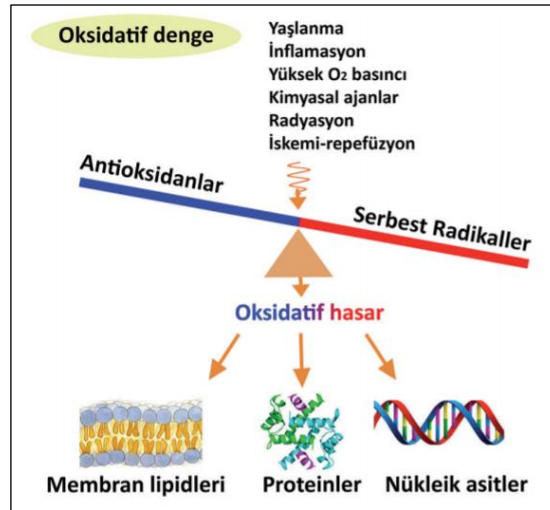


Şekil 2.3: Ayçiçeği yağı üretiminde ilk on ülke.

Ayçiçeğini etkileyen birçok yabancı ot, böcekler gibi biyotik ve kuraklık, tuzluluk gibi abiyotik stres koşulları bulunmaktadır. Stres koşullarından korunmak ve ürün verimini arttırmak için gübre ve pestisit olarak büyük ölçekte kullanılan kimyasallar çevre kirliliğine neden olarak canlılara zarar vermektedir. Doğadaki kimyasallar arttıkça patojen ve zararlı böcek direnci artmakta, toprak mikroflorası ve nitrojen fiksasyonu azalmaktadır [Tilman vd., 2002]. Bundan dolayı, ayçiçeği yetiştiriciliğinde verimi arttırmaya yönelik çevre kirliliği riskini minimize eden alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır.

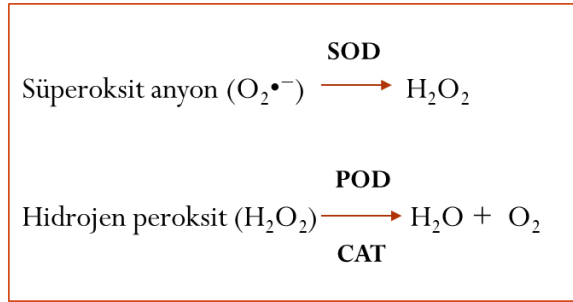
3. BİTKİLERDE STRES VE ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMİ

Bitkiler, herhangi bir strese maruz kaldıklarında yanıt olarak kloroplastlardaki fotosentez reaksiyonlarında, plastit ve peroksizomlarda, mitokondrilerdeki sitrik asit döngüsünde; NADPH oksidaz, hücre duvarı peroksidazları ve amino oksidazlar gibi enzimlerin etkisiyle reaktif oksijen türleri (ROT) üretir. Serbest radikallerin eksik indirgenmesi ve moleküler oksijenin uyarılması sonucu ROT'lar oluşur. Diğer moleküllere elektron verebildiklerinden ya da elektron alabildiklerinden dolayı organizmada indirgeyici veya yükseltgeyici olarak görev alırlar. Bitkiler stres etmenine karşı direnç gösterebilirse ROT'lar antioksidan savunma sistemi tarafından yok edilir. Ancak, bitkinin direnç gösteremediği durumlarda yani serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki denge bozulduğunda, hücreler arasındaki ROT miktarı aniden artar ve hücre yapısında hasar oluşturarak bitkide oksidatif strese neden olur (Şekil 3.1), [Özcan vd., 2015]. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), tekli oksijen (1O_2), hidroperoksil ($HO_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali (OH^{\cdot}) gibi serbest radikaller reaktif oksijen türlerine örnek olarak verilebilir. Genelde reaktif ve toksik yapıda olmalarına rağmen konsantrasyona, buldukları yere, bulunma süresine ve stres türüne bağlı olarak bazı durumlarda sinyal etmeni olarak da görev almaktadırlar [Yanık, 2019].



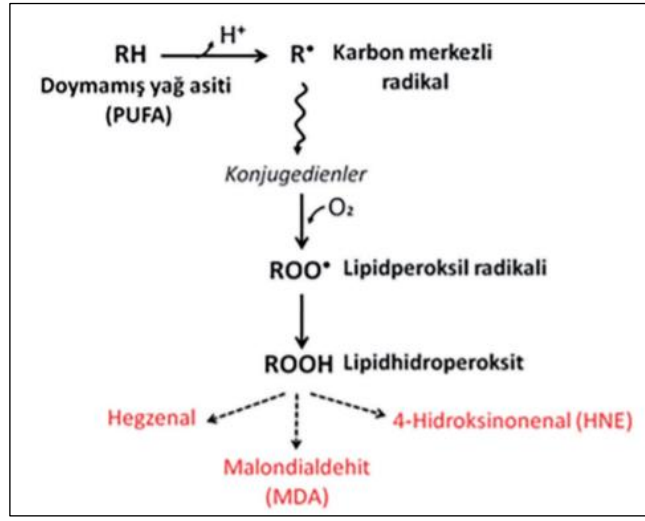
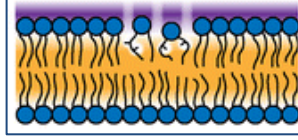
Şekil 3.1: Oksidatif denge.

Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve peroksidaz (POX) en önemli antioksidan enzimler arasındadır. ROT miktarı arttığında, bu enzimler de artarak hücreye zarar vermeden ROT'ları engellemeye çalışır. SOD enzimi, $O_2^{\cdot-}$ 'nin dismutasyonunu katalizler ve H_2O_2 oluşur [Şekil 3.2]. SOD enziminin metal kofaktörlerine göre Cu/Zn SOD, MnSOD ve FeSOD gibi farklı izoformları vardır. MnSOD mitokondrilerde, FeSOD kloroplastlarda ve Cu/Zn SOD sitozol, kloroplast, peroksizom ve mitokondrilerde bulunur [Bowler vd., 1992]. CAT enzimi, 2 mol H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye katalize olmasında görev alır [Şekil 3.2]. CAT enzimi, peroksizom, kloroplast, mitokondri ve sitozolde bulunur [Mhamdi vd., 2010]. Gayakol peroksidaz (GPOX), H_2O_2 'yi suya indirger [Şekil 3.2]. GPOX'ın birçok izoenzimi, hücre duvarında, vakuollerde ve sitozolde bulunur [Asada, 1992]. Enzimatik olmayan lipofilik antioksidanlardan olan karotenoidler, farklı ROT'lar üzerinde etki gösterebilmektedir. Karotenoidler, oksidatif hasarı engellemek için 1O_2 'ni detoksifiye eder [Li vd., 2008], [Sharma vd., 2012], [Yanık, 2019].



Şekil 3.2: Antioksidan savunma sisteminde enzimlerin rolü.

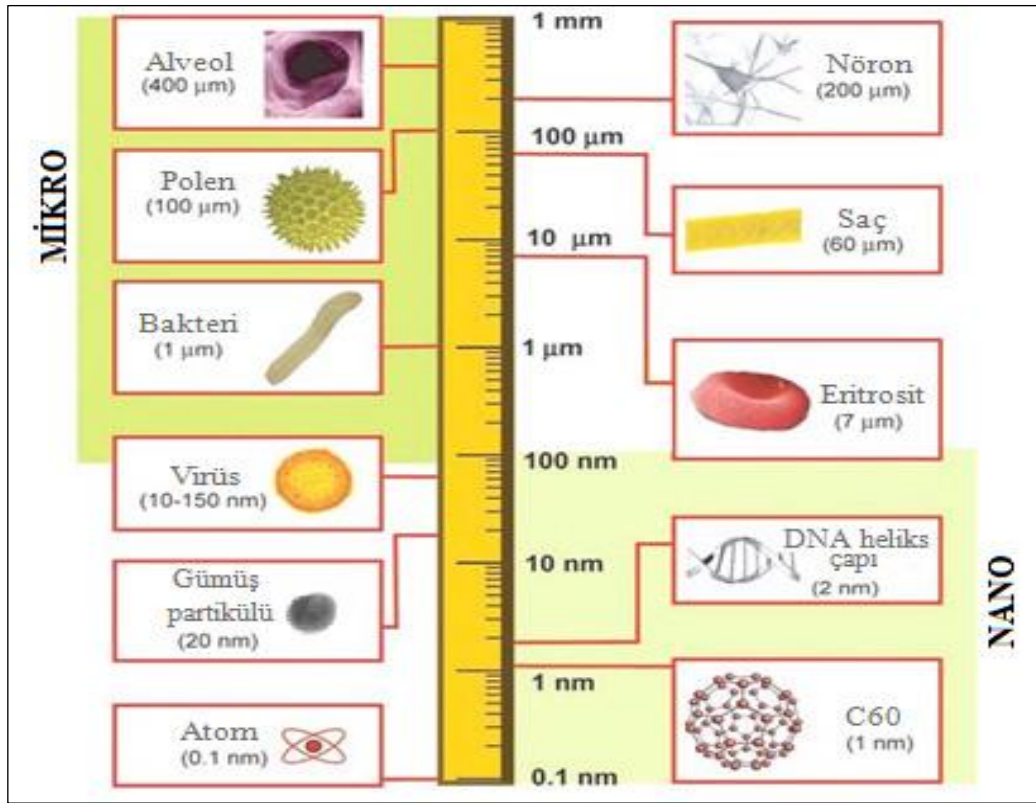
Bitkide oksidatif stres oluştuğunda hücrede lipitler, proteinler ve DNA gibi biyomoleküller zarar görebilir. Yüksek seviyelerdeki ROT miktarı, hücre ve organel membranlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinde (PUFA) oksidasyona yol açarak lipit peroksidasyonuna sebep olur ve bu olayın bir ürünü olarak malondialdehit (MDA) oluşur [Şekil 3.3]. Lipit peroksidasyon seviyesi spektrofotometrik ve florometrik olarak MDA üzerinden ölçülebilmektedir [Özcan vd., 2015].



Şekil 3.3: Lipit peroksidasyon aşamaları.

4. NANOTEKNOLOJİ

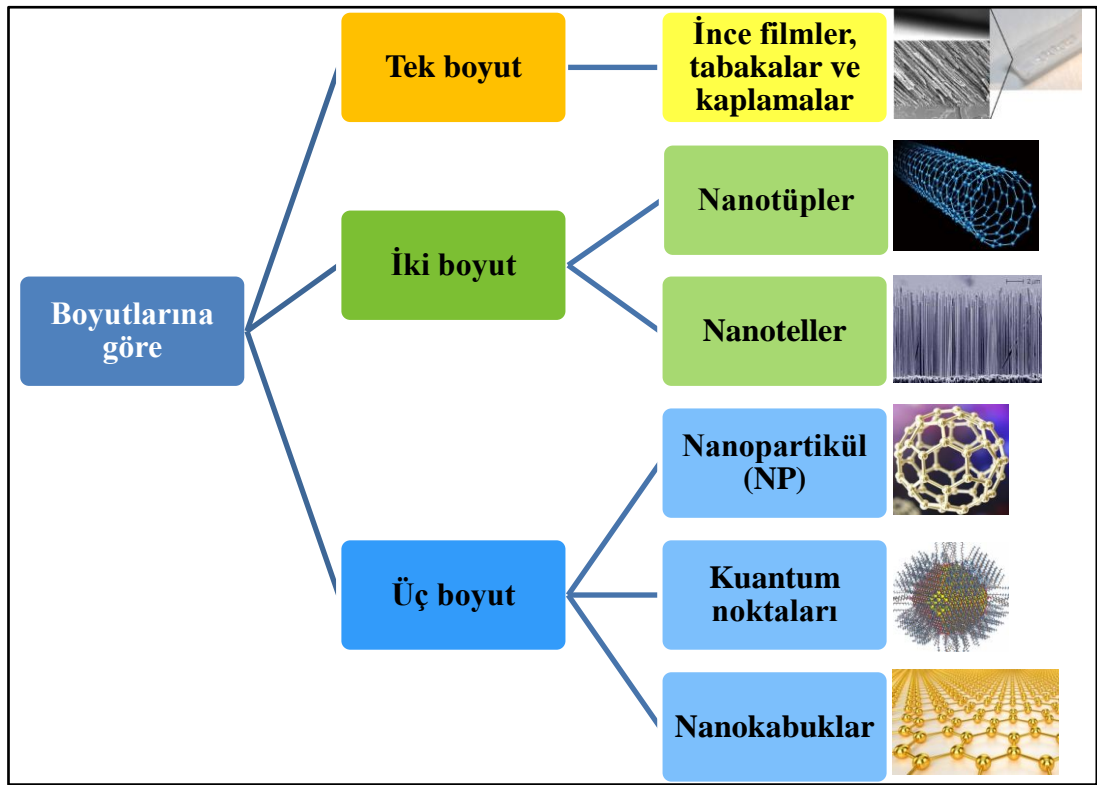
Metrik sistemde metrenin milyarda birini ifade etmek için kullanılan “nano” kelimesi Latince’de cüce anlamına gelmektedir. Nanoteknoloji, nanomalzeme olarak adlandırılan 1-100 nm boyutlardaki maddelerin görüntülenmesini, kontrol edilmesini ve üretimini inceleyen bir bilim dalıdır. Nanomalzemeler, deniz serpintisi ve erozyon gibi süreçler sonucu doğada oluşabildiği gibi sentetik olarak üretilebilmekte veya mikroorganizmalardan ve bitkilerden de sentezlenebilmektedir [Raghuvanshi vd., 2017]. Nanomalzemelerin diğer ölçeklere göre boyutlarının küçük ve yüzey alanının geniş olmasından dolayı reaktivite, iletkenlik, dayanım, optik gibi özellikler açısından daha üstündür [Erdim vd., 2019]. Şekil 4.1’de nanomalzemelerin ve biyolojik bileşenlerin boyutlarının kıyaslaması verilmiştir.



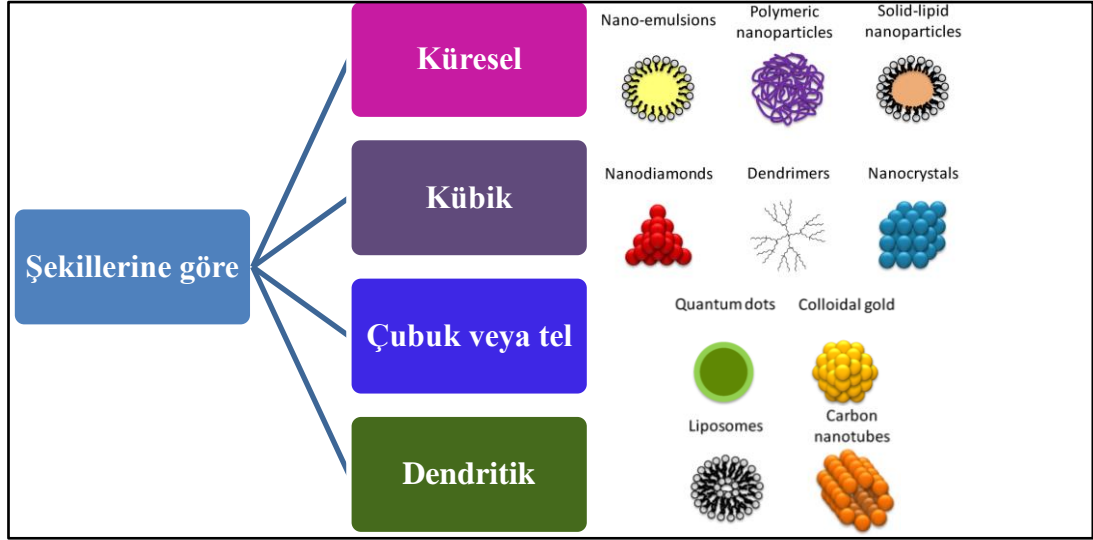
Şekil 4.1: Nanomalzemelerin biyolojik bileşenlerle kıyaslandığı logaritmik uzunluk ölçeği.

4.1. Nanomalzemeler

İlaç, kozmetik, gıda, biyomedikal, çevre, endüstri ve tarım gibi birçok uygulama alanı bulunan nanomalzemeler, kaynaklarına ve kimyasal bileşenlerine göre farklılık göstermekle birlikte boyut ve şekillerine göre farklı çeşitlere ayrılır. Şekil 4.2’de boyutlarına göre sınıflandırılmış nanomalzeme çeşitleri gösterilmiştir [Erdim vd., 2019], [Web 1], [Web 2], [Web 3], [Web 4], [Web 5]. Şekil 4.3’te şekillerine göre sınıflandırılmış nanomalzemeler gösterilmiştir [Erdim vd., 2019], [Web 6].



Şekil 4.2: Boyutlarına göre nanomalzemeler.



Şekil 4.3: Şekillerine göre nanomalzemeler.

Nanomalzemelerin karakterizasyonu, Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR), X-Işını Difraksiyonu, Transmisyon Elektron Mikroskopisi (TEM), Dinamik Işık Saçılımı (DLS), Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM), UV-VIS absorpsiyon spektroskopisi gibi çeşitli teknikler kullanılarak gerçekleştirilmektedir [Moghadam ve Motalleb, 2015], [Erdim vd., 2019].

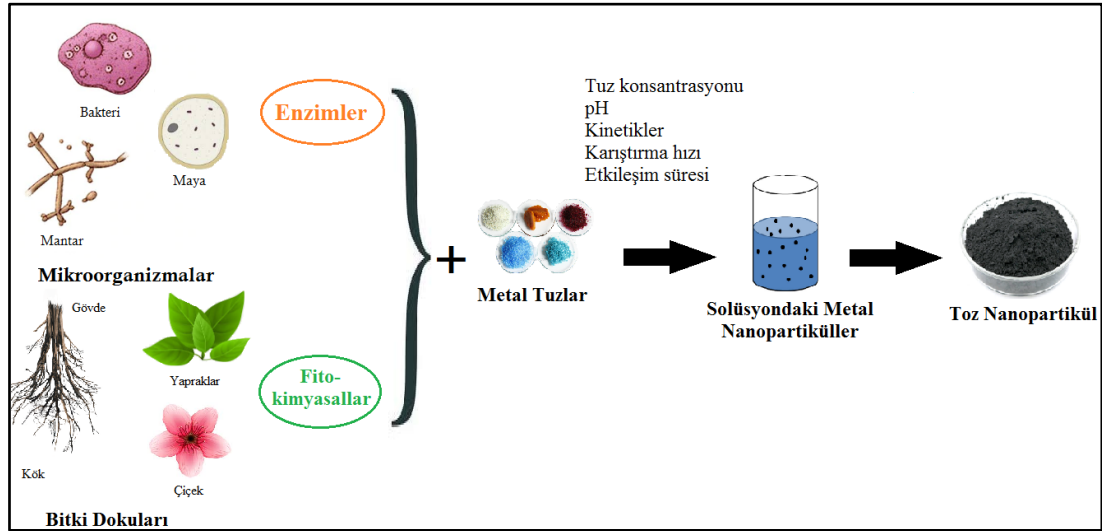
Nanomalzemeler, kimyasal olarak sentezlenebildiği gibi biyolojik olarak da sentezlenebilmektedir. Biyolojik sentez, enzim veya fitokimyasal kullanımı ve bitki, bakteri, mantar, deniz yosunu, mikroalg gibi canlılar kullanılarak da gerçekleştirilebilmektedir [LewisOscar vd., 2016]. Kimyasal sentezde sodyum borohidrid, poli-N-vinil pirolidon (PVP) ve hidroksilamin gibi indirgeyici ve kaplayıcı kimyasal maddeler kullanılır [Cheng vd., 2017]. Biyolojik sentez ise bitki, bitki özütü ve fitokimyasallar kullanıldığından “yeşil sentez” olarak adlandırılmaktadır. Yeşil sentezde kullanılan bitkilere örnek olarak *Aloe vera*, *Azadirachta indica* (ıhlamur), *Camellia sinensis* (çay), *Jatropha curcas* (hint fıstığı), *Acalypha indica* (hint ısırganı) verilebilir [Beykaya ve Çağlar, 2016]. Yeşil sentezin prensibi fitoremediasyona yani bitkilerin çeşitli minarelleri alma, biriktirme, kullanma ve geri dönüştürebilme yeteneklerine dayalıdır. Bitkiler alkaloidler, flavonoidler, saponinler, steroidler, tanenler gibi çeşitli sekonder metabolitler içerir. Bu doğal ürünler, yapraklar, gövdeler, kök sürgünleri, çiçekler, kabuklar ve tohumlar gibi bitkinin çeşitli kısımlarından elde edilebilmektedir. Sekonder metabolitler, metalik nanopartiküllerin sentezinde biyo-indirgeme reaksiyonu için, indirgeyici ve stabilize edici maddeler gibi davranırlar. Bitki özütü ile sentezde birçok fitokimyasal birlikte kullanıldığından sentez

mekanizması henüz doğru ve net bir şekilde belirlenememiştir. Literatürde polifenol ve flavonoidlerin sentezdeki rolünü inceleyen çalışmalar mevcut olmakla beraber son zamanlarda araştırmalar spesifik fitobileşenlerin etkilerini belirleme yönünde ilerlemektedir [Gottimukkala vd., 2017].

Altın ve gümüş nanopartiküllerinin sardunya, nim, limon otu, demirhindi ve nohut bitkileriyle sentez mekanizmasını anlamak için yapılan bir çalışmada, FTIR kullanılarak sekonder metabolitlerin varlığı bildirilmiş ve terpenoidlerin gümüş iyonlarının azalmasına ve karbonil grubuna (C=O) oksitlenmesine katkıda bulunduğu öne sürülmüştür [Shankar vd., 2003a]. Diğer bir çalışmada, sardunya yaprak özütünden sentezlenen altın nanopartiküllerin yüzeyinin proteinle kaplı olduğu bulunmuştur [Shankar vd., 2003b]. Saf nanopartikül sentezleme çalışmaları boyunca nim yaprağı kullanılarak, metal iyonlarının indirgenmesinde ve nanopartiküllerin oluşumunda ortamdaki indirgen şekerin sorumlu olabileceği kaydedilmekle beraber nim yaprağındaki flavanoid ve terpenoidlerin, nanopartiküllerin stabilitesini sağlayan yüzey aktif maddeler olarak rol aldığı kaydedilmiştir [Shankar vd., 2004]. Limon otu (*Cymbopogon flexuosus*) özütü ile altın nanopartikül oluşumunda, AuCl₄ indirgenmesinin indirgen şekerler (aldozlar) tarafından yapıldığı kaydedilmekle birlikte indirgmeden sonra, aldehitler/ketonların nanopartiküllere bağlandığı bulunmuştur [Shankar vd., 2004b]. Demirhindi yaprak özütü ile yapılan çalışmada, tartarik asidin yüzey kaplayıcı ajan olarak etki ederek altın nanopartiküllerin stabilitesini sağlama olasılığı araştırılmıştır [Ankamwar vd., 2005]. Kahve ve çay özütleri kullanılarak gümüş ve paladyum nanopartiküllerin sentezlendiği bir çalışmada, bitki özütleri Ag ve Pd metal tuzları ile karıştırıldığında, oksitlenmiş kafein/polifenoller ile kaplanıp nanopartiküle indirgendiği kaydedilmiştir [Nadagouda ve Varma, 2008]. *Psidium guajava* bitkisinden elde edilen guavanoik asit ile 4-24 nm boyut aralığında altın nanopartikülleri elde edilmiştir [Moteriya vd., 2014]. *Pelargonium graveolens* bitkisinde bulunan geraniol fitobileşeni ile 1-10 nm çapında küresel gümüş nanopartiküller sentezlenebildiği kaydedilmiştir [Safaepour vd., 2009]. Limon suyu ile sentezlenen gümüş nanopartiküllerin oluşumunda limon suyu içindeki sitrik asidin indirgeyici molekül olarak rol aldığı tespit edilmiştir [Prathna vd., 2011].

Yeşil sentezin avantajları arasında; solvent olarak su kullanımı, reaksiyon kaynaklarına kolay erişim, bitki özütlerinin biyoyumlu olması, sentezin normal sıcaklık ve basınç koşulları altında gerçekleştirilebilmesi, fitobileşenlerin hem indirgeyici madde hem de stabilizatör olarak kullanılabilmesi ve büyük ölçekli üretime

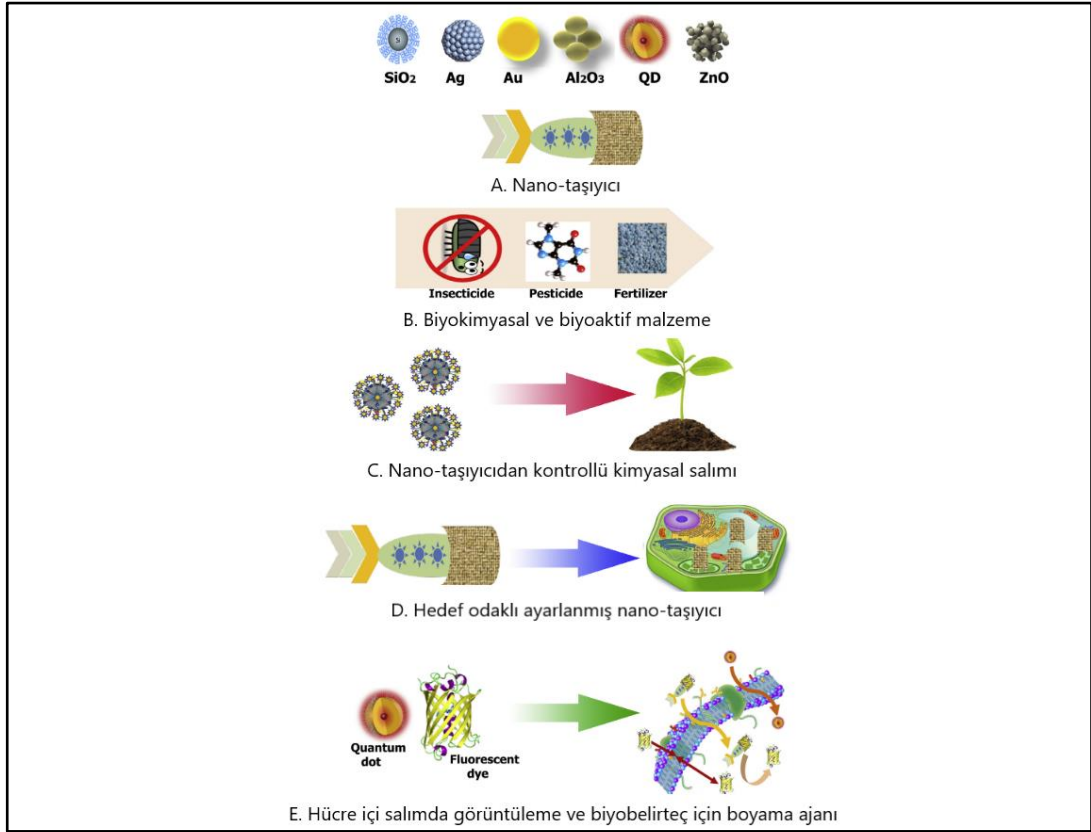
uygun olması sıralanabilir. Zirai atık olarak görülen ve ekonomik değeri bulunmayan doğal ürünlerin de nanopartikül sentezinde girdi olarak kullanımı mümkün olması da yeşil sentezin avantajları arasında sıralanabilir [Machado vd., 2014]. Şekil 4.4'te metal nanopartiküllerin yeşil sentez yolu ile elde edilmesi gösterilmiştir [Web 7].



Şekil 4.4: Metal nanopartiküllerin yeşil sentez metodu ile eldesinin gösterimi.

4.2. Nanoteknolojinin Tarımda Kullanımı

Tarımda kullanılan kimyasal ilaçlar çevreye zarar vermektedir ve kullanılan gübrelerin ölçekleri nedeniyle bitkiye alımı zaman alabilmektedir. Nanoteknoloji bunun gibi problemlere alternatif çözüm sunmaktadır [Şekil 4.5], [Verma vd., 2018]. Nanopartiküller arasında temel olarak yer alan karbon nanopartiküller ve metal bazlı nanopartiküllerin dışında polimerik ve lipit nanopartiküllerin de tarım alanında potansiyeli olduğu düşünülmektedir [Mattiello ve Luca, 2017]. Ek olarak, yeni bir yaklaşım olan nanozimlerin de tarımda kullanım potansiyeli görülmektedir [Yan, 2018].



Şekil 4.5: Nanomalzemelerin tarımda kullanım alanları.

Nanopartiküllerin bitkilerle etkileşimiyle ilgili yapılan araştırmaların genelinde partiküle ve bitkiye göre değişmekle birlikte nanopartiküllerin yüksek dozlarda olumsuz etkilerinin olduğu gözlenirken [Rico vd., 2011], düşük dozlarda olumlu etkilerinin olduğu ortaya konmuştur [Li vd., 2016]. Literatürdeki çalışmalarda, TiO₂, ZnO, SiO₂, CeO₂, Fe₂O₃, Fe₃O₄ ve Fe(0) gibi birçok farklı nanomalzemenin çeşitli bitkilerde ve ayçiçeğinde bitki büyümesine olumlu etkisinin olduğu gözlemlenmiştir [Tablo 4.1].

Tablo 4.1: Nanopartiküllerin Çeşitli Bitkilerde Uygulaması.

NP	Boyut (nm)	Bitki	Uygulama Koşulları	Sonuç	Kaynak
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	17.7+-3.9	Mısır	Hidroponik 20 mg/l	Kök uzamasını, çimlenme ve canlılık indeksini arttırması	<i>Li vd., 2016</i>
Fe_2O_3	10	Domates	Hidroponik 50-800 mg/l	Bitki gelişimine olumlu etki etmesi	<i>Shankramma vd., 2016</i>
Fe_2O_3	10+-3.2	Pirinç	Hidroponik 20 mg/l	Gövde kuru ağırlığını arttırması	<i>Gui vd., 2015</i>
Fe_3O_4		Mısır	Hidroponik 1,5 ve 3 mg/l	Bitki gelişimine ve metabolizmasına olumlu etki etmesi	<i>Elanchezhian vd., 2017</i>
$\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$	16	Göbek	Hidroponik 5,54 $\mu\text{g/l}$	Kök büyümesini arttırması	<i>Palchoudhury vd., 2018</i>
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$		Ayçiçeği	Toprak %1 NP	%25 Daha iyi büyüme görülmesi ve kuraklıkta stresi azaltması	<i>Martinez-Fernandez vd., 2015</i>
Fe_3O_4		Ayçiçeği	Toprak 1 g NP/1 kg toprak	Fe alımının bitkide artması	<i>Shahrekizad vd., 2015</i>
SiO_2 TiO_2		Ayçiçeği	2 mM sprey Kök uzama ve çiçeklenme aşamasında	Aken miktarında ve yağ içeriğinde artış görülmesi	<i>Janmohammadi vd., 2017</i>
CeO_2		Ayçiçeği	Toprak 0-800mg NP/1 kg toprak	Bor toksisitesinin azalması	<i>Tassi vd., 2016</i>

Tablo 4.1: Devam

NP	Boyut (nm)	Bitki	Uygulama Koşulları	Sonuç	Kaynak
$\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$	1-10	Kanola	Toprak Günlük sulama: 40 ml 2 mg/l NP	Yaprakların büyüme hızı ve klorofil miktarının artması	<i>Palmqvist vd., 2017</i>
TiO_2	27+-4	Salatalık	Toprak 0-750 mg/kg	Klorofil miktarının artması	<i>Servin vd., 2013</i>
TiO_2	5	Ispanak	Toprak Sulama ve sprej 300 mg/l	%60 bitki ağırlığını arttırması	<i>Gao vd., 2008</i>
TiO_2	10-20	Buğday	Toprak 20, 40, 60 mg/kg	Kök ve gövde uzunluğunu arttırması	<i>Rafique vd., 2014</i>
CeO_2 (sitrik asit kaplanmış)	8	Domates	Toprak 250, 500 mg/kg	Klorofil miktarlarının ve %13 boy uzunluğunun artması	<i>Barrios vd., 2016</i>
Fe_2O_3	20	Yer fıstığı	0-1000 mg NP/kg toprak	Kuru biyokütle ve klorofil miktarının artması	<i>Rui vd., 2016</i>
Fe_3O_4	NP1: 6-10 NP2: 65-160	Meşe	Toprak 0,75 mg/l NP	NP1'in NP2'ye göre çimlenme ve bitki büyümesine daha iyi etki etmesi	<i>Pariona vd., 2017</i>
Fe_3O_4	21-23	Soya	0, 100, 200 mg/kg toprak	Biyokütleyi arttırması	<i>Burke vd., 2015</i>
nZnO ve nCeO_2	10 ve 8	Soya	Toprak 0-1 g/kg nCeO_2 0-0.5 g/kg nZnO	Bitkideki besin değerlerini arttırması	<i>Peralta-Videa vd., 2014</i>

TiO₂ nanopartiküllerinin ayçiçeğinde *in vivo* çalışmasında 2 mM oranında spreylenerek nTiO₂'nin önemli ölçüde bitki gelişimine ve yağ içeriğine katkıda bulunduğu kaydedilmiştir [Janmohammadi vd., 2017]. nTiO₂'nin buğday [Rafique vd., 2015; Du vd., 2011]; arpa [Mattiello ve Marchiol, 2017]; soya [Rezaei vd., 2015]; domates [Qi vd., 2013]; salatalık [Servin vd., 2013]; maydanoz [Dehkourdi ve Mosavi, 2013]; adaçayı [Feizi vd., 2013] gibi çeşitli bitkilerde gelişimi arttırdığı kaydedilmiştir. nTiO₂'nin ıspanakta [Gao vd., 2008], [Yang vd., 2007], [Lei vd., 2007], [Mingyu vd., 2007], [Hong vd., 2005], [Zheng vd., 2005] ve *Arabidopsis thaliana* L. bitkisinde [Ze vd., 2011] ışık absorpsiyonunu artırarak fotosenteze katkı sağladığı kaydedilmiştir. nTiO₂'nin *Arabidopsis thaliana* L. bitkisinde [Szymanska vd., 2016], [Lyu vd., 2017]; kabakta, mısırdaki, marulda (*Lactuca sativa* L.), yulafta (*Avena sativa* L.) [Andersen vd., 2016], [Lyu vd., 2017]; ve ketende (*Linum usitatissimum* L.) [Aghdam vd., 2016], [Lyu vd., 2017] tohum çimlenmesinde, kök-gövde uzunluğunun artmasında ve fide büyümesinin ilerlemesinde faydalı bir rol oynadığı ortaya konmuştur. Başka bir *in vivo* çalışmada da 2 mM nTiO₂ ayçiçeklerine spreysel uygulamasında verimi arttırdığı, ısı ve kuraklık stresinde büyüme ve fizyolojik gelişimi olumlu etkilediği kaydedilmiştir [Sabaghnia vd., 2017].

ZnO NP'lerinin (nZnO) 0 ve 100 mM NaCl varlığında ayçiçeğinde 2 g/l nZnO (20 nm) *in vivo* çalışmalarda gövde kuru ağırlığını (%13), yaprak yüzeyini, fotosentez parametrelerini, net CO₂ özümleme hızını, alt stoma CO₂ konsantrasyonunu, klorofil içeriğini, Fv/Fm (fotosistem II maksimum kuantum verimi) oranını ve Zn içeriğini arttırdığı ve yapraklardaki Na içeriğini düşürdüğü kaydedilmiştir [Torabian vd., 2016]. Kuraklık koşullarında nZnO (0, 0,5, 1 g/l) uygulamasında soyada çimlenme hızı, yüzdesi, kök boyu, kök taze ve kuru ağırlıklarında artış kaydedilmiştir [Sedghi vd., 2013]. 25 nm boyutundaki ZnO 1 g/l konsantrasyonda yer fıstığında *in vivo* çalışmada tohum çimlenmesini, bitki gelişimini, çiçeklenmesini, klorofil içeriğini, verimini (%29,5) ve kök gelişimini arttırdığı kaydedilmiştir [Prasad vd., 2012]. Havuçla ilgili bir *in vivo* çalışmaya göre, 100 mg/l nZnO ile 50 mg/l nFeO karışımının verimi arttırdığı kaydedilmiştir [Elizabeth vd., 2017]. Salatalıkla yapılan hidroponik bir çalışmada 8 nm boyutundaki ZnO 400 ve 1600 mg/l konsantrasyonlarda çimlenme yüzdesinin önemli oranda arttığı, 200 mg/l konsantrasyonda köklerin %170 genişlediği kaydedilmiştir [de la Rosa vd., 2013]. 18 nm boyutundaki ZnO 20 ve 30 mg/l konsantrasyonlarında soğanda *in vivo* çalışmalarda bitki büyümesini arttırdığı ve çiçeklenmeyi hızlandırdığı (12-14 gün) kaydedilmiştir [Laware ve Raskar, 2014].

Ortalama 3,8 nm boyutundaki ZnO nanopartiküllerinin, 10 kg toprağa 25 ml ZnO gelecek şekilde *in vivo* çalışmada guar fasulyesi (*Cyamopsis tetragonoloba* L.)'nde gövde-kök gelişiminde, klorofil miktarında, toplam çözünebilir yaprak protein miktarında, rizosferik mikrobiyal popülasyonda ve P besin-taşıma enzimlerinde (fitaz, asit ve alkalik fosfataz) artış kaydedilmiştir [Raliya ve Tarafdar, 2013]. Muzda bakteriyel ve fungal kontaminasyonu engellemek için yapılan *in vitro* çalışmada, en yüksek somatik embriyogenez 100 mg/l nZn ve nZnO verilen bitkide kaydedilmiştir [Helaly vd., 2014]. 10 mg/l nZnO içeren hidroponik sistemde mısırın çimlenme hızının arttığı ve 10 ve 100 mg/l nZnO'nun kök uzamasını arttırdığı kaydedilmiştir [Zhang vd., 2015]. Mısırdaki yapılan başka bir *in vivo* çalışmada 10 nm boyutundaki ZnO'nun 400 mg/l konsantrasyonunda aljinat bulunan ortamda klorofil miktarının arttığı kaydedilmiştir [Zhao vd., 2013]. Bezelyede (*Pisum sativum* L.) yapılan bir *in vivo* çalışmada konsantrasyonları 0, 125, 250, 500 mg/kg olacak şekilde 10 nm boyutunda ZnO uygulanan bitkilerde önemli ölçüde kök uzaması görülmüştür [Mukherjee vd., 2014]. Buğday, turp ve bakla ile yapılan bir *in vivo* çalışmada 1000 mg/l nZnO'in uygulanan turp ve baklada önemli ölçüde yaprak biyokütlesini arttırdığı kaydedilmiştir [Garcia-Gomez vd., 2015].

Demir (Fe) bitkilerde eksikliği en yaygın görülen mikro elementtir. Özellikle, kireçli ve alkali topraklarda demir çok iyi çözünmemektedir [Li vd., 2018]. Demir elementinin diğer metallere göre çevresel riskinin daha az olduğu belirtilmiştir [Liu ve Lal, 2015]. Ayrıca demir, bitkide solunum, fotosentez, nitrat sentezi, nitrojen fiksasyonu, DNA sentezi ve hormon üretimi gibi önemli hücresel faaliyetlerde görev alan temel bir mikroelementtir. Fe, redoks reaksiyonlarında yer almakla birlikte kloroplast içerisindeki kloroplast-protein komplekslerinin sentezinde görev almaktadır. Fe eksikliğinde bitkide damar içi sarılık ve yapraklarda beyazlama görülür [Solanki vd., 2015]. Bitkilerdeki demir eksikliğini azaltmak için yeni bir yaklaşım olan nano-gübrelerin kullanımı araştırılmaktadır [Li vd., 2018].

Saksıda toprak ortamında yapılan bir çalışmada EDTA kaplı Fe₃O₄ nanopartikülünün klorofil miktarlarını ve biyokütleyi artırarak ayçiçeği gelişimine olumlu etki ettiği kaydedilmiştir [Shahrekizad vd., 2015]. Soyada yapılan bir çalışmada saksılardaki toprak ortamında 6 nm boyutundaki Fe₂O₃'ün 500 ve 1000 mg/l konsantrasyonlarda bitkilere uygulandığında bitkiye olumlu etkilerinin olduğu kaydedilmiştir [Alidoust ve Isoda, 2013]. Soyada yapılan bir *in vivo* çalışmada 0,75 g/l konsantrasyondaki nFe₂O₃'ün yaprak ve kuru ağırlığı arttırdığı ve 0,5 g/l

konsantrasyondakinde verimin %48 arttığı kaydedilmiştir [Sheykhbaglou vd., 2010]. Toprakta 5 gün boyunca günlük 2 mg/l sulama ile Fe₂O₃ nanopartiküllerinin nanozim gibi davranarak yani hem peroksidaz taklit yeteneği olması (düşük pH'ta) hem de katalaz taklit yeteneği olması (nötr pH'ta) ile 10 günlük *Brassica napus* bitkisinde gelişimi ve abiyotik stress toleransını arttırdığı gözlemlenmiştir [Palmqvist vd., 2017]. Hekzavalent krom karıştırılmış toprakta yapılan bir çalışmada sıfır değerlikli demir nanopartikülüne maruz bırakılan ayçiçeği bitkisinin fizyolojik ve antioksidatif özelliklerini geliştirdiği gösterilmiştir [Mohammadi vd., 2019]. Toprakta yapılan bir çalışmada kadmiyum (Cd) stresi altında buğdaya 5, 10, 15 ve 20 mg/l konsantrasyonlarda Fe₃O₄ nanopartikül uygulamaları yapılmış ve nanopartiküllerin bitki gelişimini, klorofil içeriklerini arttırdığı, oksidatif stresi azalttığı kaydedilmiştir [Rizwan vd., 2019].

Domateste yapılan hidroponik bir çalışmada 10 nm boyutundaki nFe₂O₃'ün 50, 100, 200, 400 ve 800 mg/l konsantrasyonlar uygulandığında çimlenmeyi, kök ve gövde uzunluğunu arttırdığı kaydedilmiştir [Shankamma vd., 2016]. Mısırdaki yapılan hidroponik sistemde 20 mg/l konsantrasyondaki nFe₂O₃'ün kök uzamasını (%11,5), çimlenme ve canlılık indeksini (%27,2 ve %39,6) önemli ölçüde arttırdığı gözlenmiştir [Li vd., 2016]. Hidroponik ortamda pirinç üzerinde yapılan başka bir çalışmada, 2 ve 20 mg/l Fe₂O₃ NP uygulamalarının köklerde kontrole göre SOD ve POD aktivitelerini ve MDA miktarını arttırdığı kaydedilmiştir [Gui vd., 2015]. Hidroponik ortamda mısır üzerinde yapılan bir çalışmada, 1,5 ve 3 mg/l konsantrasyonlarda Fe₃O₄ nanopartikül uygulamaları denenmiştir ve 3 mg/l konsantrasyonun antioksidan enzim aktivitelerini düşürdüğü ve klorofil miktarlarını arttırdığı kaydedilmiştir [Elanchezhian vd., 2017].

Hoagland solüsyonu ile sulanan kum ortamındaki bir çalışmada, düşük konsantrasyondaki sıfır değerlikli demir nanopartiküllerinin yer fıstığının çimlenmesi ve gelişimi üzerindeki olumlu etkisi olduğu ve nano formda olmayan EDTA'ya bağlı demire göre daha etkili sonuç verdiği ortaya konmuştur [Li vd., 2015]. 9 nm (2 mg/l, 20 mg/l ve 50 mg/l) ya da 18 nm (2 mg/l, 20 mg/l ve 50 mg/l) boyutundaki nFe₂O₃'lere 2 saat maruz bırakılan karpuz tohumlarında tüm konsantrasyonların tohum çimlenmesini arttırdığı ve filizler aynı konsantrasyonlarda nFe₂O₃ içeren ½ Hoagland solüsyonu ile sulanan kum ortamında büyütüldükten sonra, nFe₂O₃'ün fide büyümesine, bitkinin fizyolojik fonksiyonlarının artmasına ve CAT, SOD, POD aktivitelerinin artmasına yönelik olumlu bir rol oynadığı gözlenmiştir. Ayrıca, yapılan

Çalışmada kök aktivitesini en çok arttıranın 20 mg/l konsantrasyona maruz bırakılan bitki olduğu kaydedilmiştir [Li vd., 2013].

In vitro yapılan bir doku kültürü çalışmasında, sıfır değerlikli demir nanopartikülüne maruz bırakılan *Arabidopsis thaliana* bitkisinde hücre duvarı kaybı tetiklenerek kök uzaması araştırılmıştır [Kim vd., 2014].

5. MATERYAL VE YÖNTEM

5.1. Bitki Materyali ve Demir Nanopartikülü

Bu çalışmada kullanılmış olan ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) 2453-A hattına ait tohumlar Trakya Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir.

Ön çalışmalarda kullanılan stok 280 ppm ve diğer çalışmalarda kullanılan stok 2800 ppm'lik yeşil sentezle elde edilmiş 20-100 nm boyutlarında sıfır değerlikli demir nanopartikülleri [Fe(0) NP], Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, Dr. Öğr. Üyesi Esra ERDİM yürütücülüğündeki araştırma laboratuvarından temin edilmiştir [Ozkan vd., 2018]. Hidroponik, toprak ve kum ortamlarında bu nanopartiküller ile muamele edilen bitkiler morfolojik ve biyokimyasal düzeyde incelenmiştir.

5.2. Bitki Materyalinin Sterilizasyonu ve Çimlendirilmesi

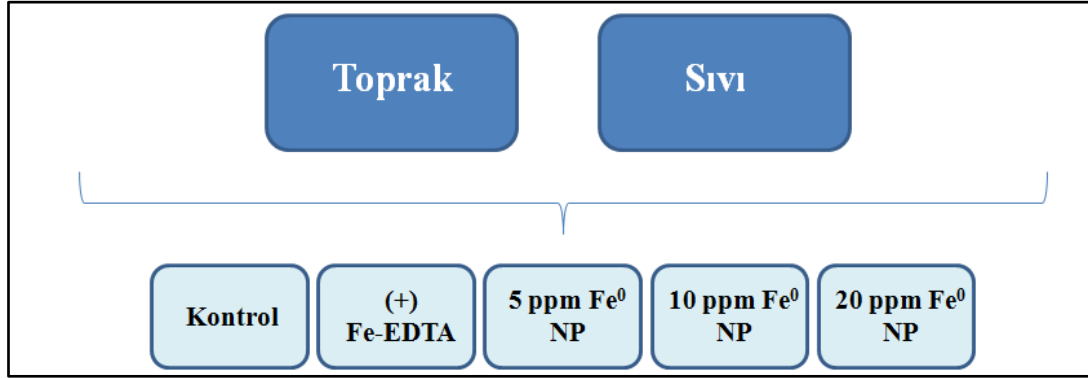
Ayçiçeği tohumları, %70 etanol ile 3 dk muamele edildikten sonra %15 NaClO ile 20 dk çalkalanıp 3 kere distile su ile yıkanmıştır. 14 cm çapındaki steril cam petride, her bir petride 10 adet olacak şekilde, filtre kağıtları arasında 1 hafta boyunca çimlendirilmiştir.

5.3. Bitkilerin Büyütülmesi

5.3.1. Farklı Koşullarda Nanopartikül Denemeleri

Hidroponik ve toprak ortamlarında birkaç Fe(0) NP konsantrasyonu denenerek bazı analizler ön çalışma olarak yapılmıştır. Literatürde, 20 mg/l konsantrasyondaki Fe₂O₃ nanopartiküllerinin farklı bitkilerde kök uzamasına ve biyokütle artışına katkı sağladığı [Li vd., 2013], [Gui vd., 2015], [Li vd., 2016], 5-20 mg/l konsantrasyon aralığındaki Fe₃O₄ nanopartiküllerinin bitki gelişimini arttırdığı [Rizwan vd., 2019] ve 1,5-3 mg/l konsantrasyon aralığında Fe₃O₄ nanopartiküllerinin de bitki gelişiminde olumlu sonuç verdiği rapor edilmiştir [Elanchezhian vd., 2017]. Literatürdeki

çalışmalar değerlendirilerek konsantrasyonlar belirlenmiştir. Ayçiçekleri üzerinde 5, 10 ve 20 ppm konsantrasyonlarda Fe(0) NP denenmiştir ve nanopartikül farkını görebilmek için eş zamanlı olarak içerisinde 5 ppm demir olan Fe-EDTA ortamı da denenmiştir. Şekil 5.1’de uygulama grupları gösterilmiştir.



Şekil 5.1. Uygulama gruplarının şematik gösterimi.

5.3.1.1. Toprak Ortamı

Toprak ortamı için torf (pH:5,5-6,0, EC:1-1,2 mm hos/cm) kullanılmıştır. Kullanım öncesi toprak otoklav ile steril hale getirilip kurutulmuştur. Toprak tartılarak saksılara yerleştirilmiştir. Toprak miktarına göre nanopartikül ihtiyacı belirlenmiştir. 5, 10 ve 20 ppm konsantrasyonlarda Fe(0) NP içecek şekilde nanopartiküller sıvı bir şekilde sulandırılıp toprağa karıştırılmıştır ve toprak bir gün bekletilmiştir. Ek bir grup olarak, ortam 5 ppm demir içecek şekilde Fe-EDTA'lı toprak da aynı şekilde hazırlanmıştır. Kontrol olarak sade toprak kullanılmıştır. 1 hafta boyunca distile su (dH₂O) ile sulanan cam petrideki filizler, Fe-EDTA ve farklı konsantrasyonlarda Fe(0) NP (5, 10 ve 20 ppm) içeren toprağa ve kontrol olarak kullanılan toprağa aktarılmıştır. Bitkiler, kontrollü bitki yetiştirme odası şartlarında (16/8 6000 lux, 23±2°C, %45-50 nem) 2 hafta boyunca iki günde bir sulanarak yetiştirilmiştir [Şekil 5.2]. Uygulama sonunda bitkilerin morfolojik (gövde-kök boyu, taze-kuru ağırlık, yaprak sayısı ve yüzey alanı) ve biyokimyasal analizleri (toplam protein miktarı, SOD ve POD antioksidan enzim seviyeleri) yapılmıştır. Sonuçların ortalamaları alınarak grafikler oluşturulmuş ve standart sapmaları hesaplanarak hata çubukları eklenmiştir.



Şekil 5.2: Toprak ortamı.

5.3.1.2. Hidroponik (Sıvı) Ortam

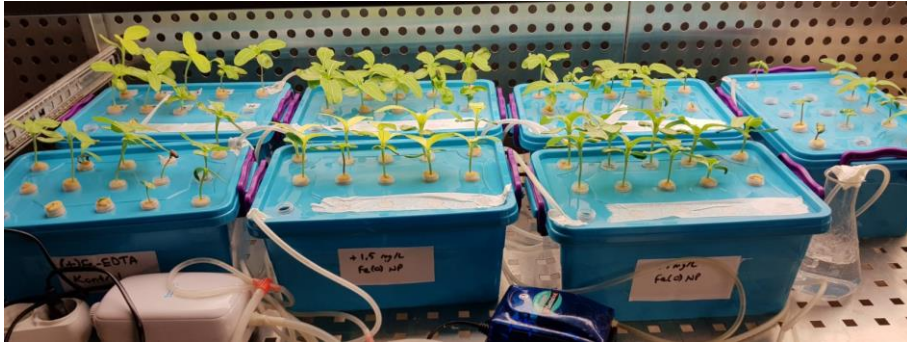
Hidroponik ortam olarak Hoagland besiyortamı [Tablo 5.1 ve Tablo 5.2] kullanılmıştır [Hoagland ve Arnon, 1950]. 1 hafta boyunca Hoagland ile sulanan cam petrideki filizler, kökleri sıvıda olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda Fe(0) NP (1,5, 2,5, 5, 10 ve 20 ppm) içeren Hoagland ortamlarına alınmıştır. Kontrol grubu olarak da Tablo 5.2'deki gibi hazırlanmış olan Hoagland besin ortamı kullanılmıştır. Tüm uygulama gruplarında Fe-EDTA içeren Hoagland besiyerine ilave olarak nanopartiküller eklenmiştir. (+) Fe-EDTA grubunda ilave olarak 5 ppm demir olacak şekilde Fe-EDTA eklenmiştir. Ortama sürekli hava verilerek bitkiler, kontrollü bitki yetiştirme odası şartlarında (16/8 6000 lux, 23±2°C, %45-50 nem) 2 hafta boyunca yetiştirilmiştir [Şekil 5.3]. 2 hafta boyunca büyütülen bitkilerin morfolojik (gövde ve kök boyu, taze ve kuru ağırlık, yaprak sayısı ve yüzey alanı) ve biyokimyasal analizleri (toplam protein miktarı, SOD ve POD antioksidan enzim seviyeleri) yapılmıştır. Sonuçların ortalamaları alınarak grafikler oluşturulmuştur ve standart sapmaları hesaplanarak hata çubukları eklenmiştir.

Tablo 5.1: Mikroelement İçeriği.

Mikroelement Stok hazırlığı (100 ml)
0,286 g H ₃ BO ₃
0,181 g MnCl ₂ .4H ₂ O
0,11 g ZnCl ₂
0,004 g CuCl
0,003 g Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O
dH ₂ O (distile su) ile çözüldü.

Tablo 5.2: Hoagland Besiyeri İçeriği.

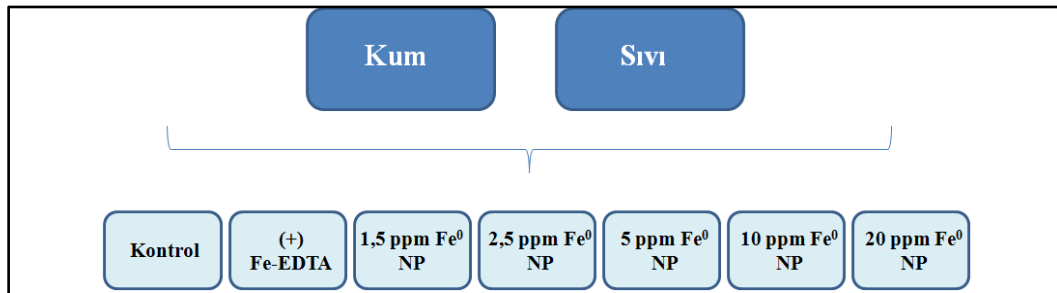
Hoagland Solüsyonu (1 L)
5 ml 1 M Ca(NO ₃) ₂
5 ml 1 M KNO ₃
2 ml 1 M MgSO ₄
1 ml 1 M KH ₂ PO ₄
1 ml Mikroelement
0,01 g Fe-EDTA
dH ₂ O ile çözüldü.



Şekil 5.3: Hidroponik ortam.

5.3.2. Optimum NP Konsantrasyonu ve Uygulama Ortamının Belirlenmesi

Literatürdeki bilgilerden [Elanchezhian vd., 2017] ve ön çalışma sonuçlarından yola çıkarak daha fazla konsantrasyon denenmiş ve demir eksikliğinin etkisini de görebilmek için Fe-EDTA'sız Hoagland ortamı da kullanılmıştır. Hidroponik ortamda ve kum ortamında 1,5, 2,5, 5, 10 ve 20 ppm konsantrasyonlarda Fe(0) NP denenmiştir [Şekil 5.4]. (+) Fe-EDTA grubunda, Hoagland içerisinde bulunan demir konsantrasyonu (1,5 ppm demir) sağlayacak şekilde kum çalışmasında da 1,5 ppm demir olacak şekilde Fe-EDTA eklenmiştir.



Şekil 5.4: Uygulama gruplarının şematik gösterimi.

5.3.2.1. Hidroponik (Sıvı) Ortam

Hidroponik ortam olarak Hoagland [Tablo 5.2] besin ortamı Fe-EDTA olmadan kullanılmıştır. Kontrol grupları olarak Tablo 5.2'deki gibi hazırlanmış olan Hoagland besin ortamı ve Fe-EDTA'sız Hoagland kullanılmıştır. 2 hafta boyunca büyütülen bitkilerin morfolojik (gövde-kök boyu, taze-kuru ağırlık, yaprak sayısı ve yüzey alanı) ve biyokimyasal analizleri (toplam protein miktarı, SOD ve POD antioksidan enzim seviyeleri, H₂O₂, MDA seviyeleri ve klorofil içerikleri) yapılmıştır. Sonuçların ortalamaları alınarak grafikler oluşturulmuş ve standart sapmaları hesaplanarak hata çubukları eklenmiştir.

5.3.2.2. Kum Ortamı

Kum kültürü için boyutları 0,5-1 mm olan beyaz akvaryum kumu kullanılmıştır. Kullanım öncesi kum distile su ile yıkanarak temizlenmiş ve kuruması için etüvde 80 °C'de bir gece bekletilmiştir. Daha sonra kum otoklavda sterilize edilip (121°C, 15 dk) tekrar kurutulmuştur. Bitki viyollerinde her bir bölüme 250 g kum eklenmiş ve uygulama öncesi kum 10 ml su ile nemlendirilmiştir. 1 hafta boyunca distile su ile sulanan cam petrideki filizler, her bir bölmede 1 tane olacak şekilde ekildikten sonra 1 defaya mahsus olmak üzere 1.5, 2.5, 5, 10 ve 20 ppm konsantrasyonlarında Fe(0) NP eklenmiştir. Bu deney gruplarına ek olarak, demir konsantrasyonu 1.5 ppm olan Fe-EDTA çözeltisinden kullanılarak bir deney grubu daha oluşturulmuştur. Kontrol grubuna ise sadece distile su verilmiştir. Daha sonra kontrol ve deney grupları haftada 2 gün 10 ml distile su ile sulanmıştır. Bitkiler, kontrollü bitki yetiştirme odası şartlarında (16/8 6000 lux, 23±2°C, %45-50 nem) 2 hafta boyunca yetiştirilmiştir [Şekil 5.5]. 2 hafta boyunca büyütülen bitkilerin morfolojik (gövde-kök boyu, taze ağırlık, yaprak sayısı ve yüzey alanı) ve biyokimyasal analizleri (toplam protein miktarı, SOD ve POD antioksidan enzim seviyeleri, H₂O₂, MDA, karetenoid seviyeleri ve klorofil içerikleri) yapılmıştır. Sonuçların ortalamaları alınarak grafikler oluşturulmuş ve standart sapmaları hesaplanarak hata çubukları eklenmiştir.



Şekil 5.5: Kum ortamı.

5.4. Morfolojik Analizler

5.4.1. Gövde ve Kök Uzunluğu

İki hafta nanopartikül uygulaması sonucunda ölçülen gövde ve kök uzunluklarının, 1 haftalık bitkilerden alınan ölçümlerden farkı alınarak uygulama boyunca bitki gövde ve köklerinin ne kadar uzadığı hesap edilmiştir. Kontrol ve uygulama gruplarına ait kök ve gövde uzunluklarının ortalaması alınarak, aşağıdaki formüllerle % karşılaştırmaları yapılmıştır (5.1), (5.2), (5.3), (5.4).

$$\text{Kök uzunluğu \% formülü} = ((\text{KÖ}-\text{KK})/\text{KK})\times 100 \quad (5.1)$$

$$(\text{KK: Kontrol kök uzunluğu, KÖ: Örnek kök uzunluğu}) \quad (5.2)$$

$$\text{Gövde uzunluğu \% formülü} = ((\text{GÖ}-\text{GK})/\text{GK})\times 100 \quad (5.3)$$

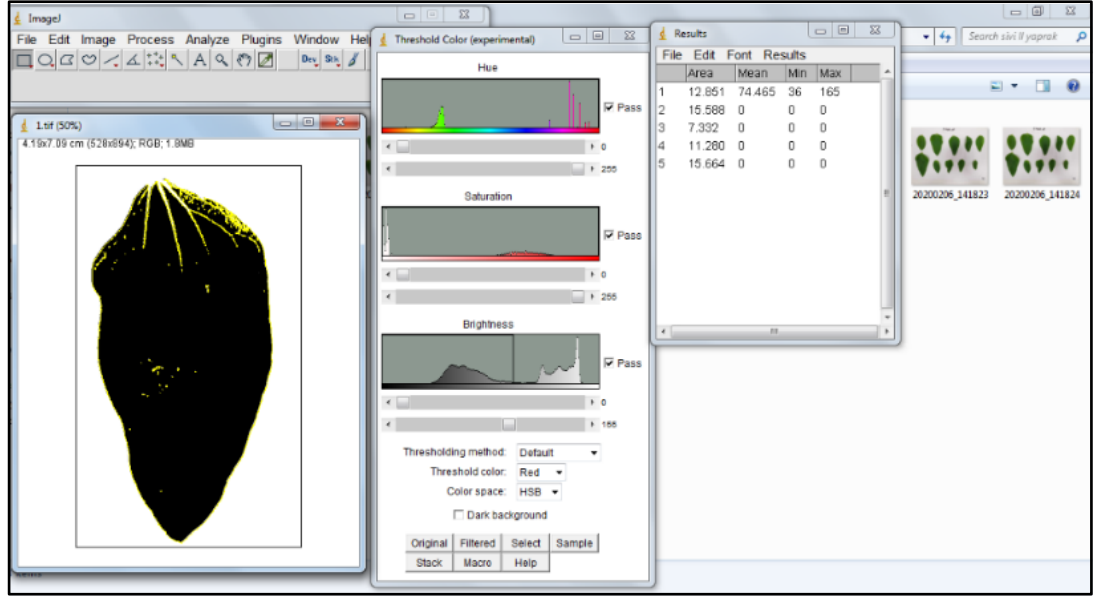
$$(\text{GK:Kontrol gövde uzunluğu, GÖ:Örnek gövde uzunluğu}) \quad (5.4)$$

5.4.2. Taze ve Kuru Ağırlıklar

2 haftalık Fe(0) NP uygulamalarından sonra bitkilerin taze ağırlıkları kaydedilmiş ve etüvde 40°C'de 2 gün boyunca kurutulup kuru ağırlıkları da kaydedilmiştir.

5.4.3. Yaprak Sayısı ve Yaprak Yüzey Alanı

Deney sonunda bitkilerin yaprak sayıları kaydedilmiştir. Her bitkinin aynı seviyedeki birer yaprağının fotoğrafı çekilerek IMAGEJ programında yaprak yüzey alanları kaydedilmiştir [Şekil 5.6].



Şekil 5.6: ImageJ programıyla yaprak yüzey alanı hesaplama.

5.5. Biyokimyasal Analizler

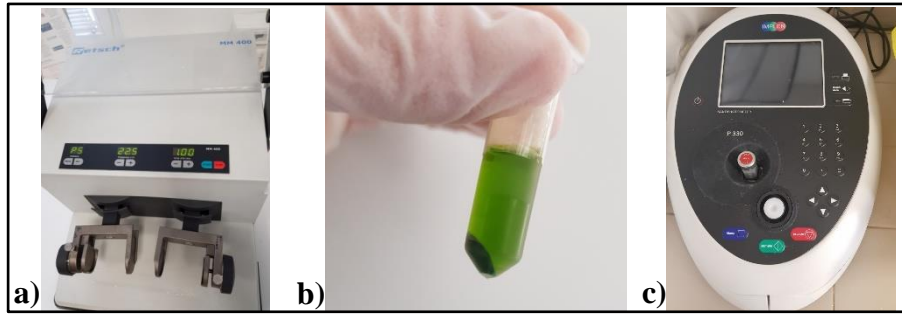
5.5.1. Antioksidan Enzim Aktivitesi

Antioksidan enzim aktivitesi ölçmek için protein ekstraksiyonu Lee ve Lee (2000) yöntemine göre yapılmıştır. Deney sonunda bitkilerin aynı seviyedeki yapraklarından ve köklerden her gruptan toplam 0,1 g (x3 tekrar) olacak şekilde doku örneği alınıp sıvı azotta şoklandıktan sonra bilyalı öğütücü (Retsch MM 400) kullanılarak homojenize edilmiş ve analiz edilmek üzere -80°C’de saklanmıştır. Analiz edileceği zaman, örneklerin üstüne 1 ml ekstraksiyon tamponu [Tablo 5.3] eklenmiştir. Homojenat 18.000 RCF’de +4 °C’de 20 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak, peroksidaz (POD) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayini için kullanılmıştır. Ek olarak, antioksidan enzim analizleri yapılmadan önce ön çalışmalarda toplam protein miktarı belirlemek için Bradford Assay [Bradford, 1976]

uygulanmış ve sonraki çalışmalarda protein miktarı süpernatanttan 2 μ L örnek kullanılarak Lid10 derecesinde Nanofotometre (Implen NanoPhotometer P-360) ile bakılmıştır [Şekil 5.7].

Tablo 5.3: Ekstraksiyon Tamponu İçeriği.

Bileşen Adı	Konsantrasyon
Fosfat tamponu (pH 7,8)	100 mM
EDTA	0,1 mM
Polivinilprolidon (PVP) MW:10,000	% 1 (w/v)
Triton X-100	%0,5 (v/v)



Şekil 5.7: a) Bilyalı öğütücü, b) Protein ekstraksiyonunda üst fazın alınma aşaması, c) Nanofotometre.

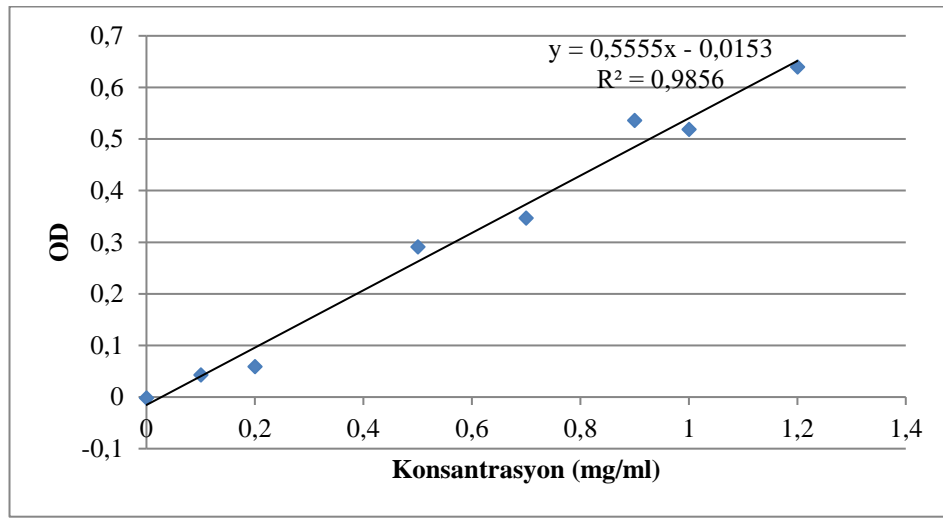
5.5.1.1. Bradford assay

Toplam protein içeriği Bradford metoduna göre tayin edilmiştir [Bradford, 1976]. Bradford belirteci Tablo 5.4'te gösterildiği gibi hazırlanmıştır. Standart eğri BSA (Bovine Serum Albumin) kullanılarak hazırlanmıştır. BSA'nın farklı dilüsyonları (0,1, 0,2, 0,4, 0,8 ppm) hazırlanmıştır. 5 ml Bradford belirteci test tüplere eklenip üstlerine farklı konsantrasyonlardaki BSA'dan 100 μ l eklenmiştir. Karışım vortekslenip karanlıkta 5 dk bekletildikten sonra 595 nm'de spektrofotometre ile ölçüm yapılmıştır. Değerlere göre standart eğri oluşturulmuştur [Şekil 5.8]. Örneksiz Bradford belirteci blank olarak kullanılmıştır. Işıktan etkilenmemesi için test tüpleri alüminyum folyo ile sarılmıştır. 100 μ l örnek 5 ml Bradford belirteciye eklenerek vortekslenip tüpler 5 dk karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra 595 nm'de

spektrofotometre ile ölçümler yapılmıştır. Elde edilen absorbans değerleri standart eğrideki denkleme göre hesaplanarak toplam protein konsantrasyonları bulunmuştur.

Tablo 5.4: Bradford Belirtecini Hazırlanması.

Solüsyon Adı	Hazırlanışı
Bradford belirteci	50 mg Comessie Blue G-250, 25 ml %95 etanol içinde çözündürülür. Üstüne 50 ml orto fosforik asit ve 500 ml distile su eklenir. Hazırlanan solüsyon filtre kağıdından filtrelenir ve karanlıkta muhafaza edilir.



Şekil 5.8: Bradford standart eğri grafiği.

5.5.1.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi

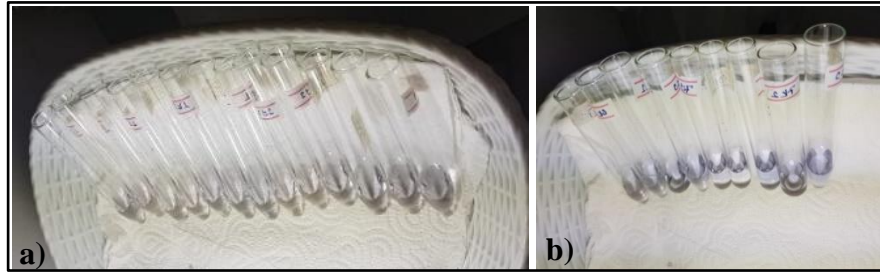
Süper oksit dismutaz (SOD) aktivitesi Giannopolitis ve Ries (1977)'in yöntemine göre yapılmıştır. Substrat tamponu Tablo 5.5'te gösterildiği gibi hazırlanmıştır. Bu metoda göre 2 µl süpernatant, 2 ml substrat tamponu ile karıştırılmış ve son konsantrasyon 2 µM olana kadar 20 µl riboflavin (0,2 mM) eklenmiştir. Pozitif kontrol için, süpernatant yerine 2 µl 200 mM fosfat tamponu (pH 7) eklenmiştir. Pozitif kontrol örneklerle birlikte ışıktaki bekletilmiştir. Negatif kontrol için, süpernatant yerine fosfat tamponu (pH 7) eklenmiştir. Negatif kontrol tüpü alüminyum folyo ile karanlıkta saklanmıştır. Negatif kontrol blank olarak kullanılmıştır. 15 W floresan ışık altında tüplerdeki renk değişimlerinin gözlemlendiği süre kaydedilmiştir [Şekil 5.9]. Renk değişiminden sonra alüminyum folyo çıkarılıp 560 nm'de spektrofotometre ile

ölçülmüştür. SOD enzim aktivitesi denklem (5.5)'e göre hesaplandı ve U/mg protein olarak ifade edilmiştir.

$$(\text{Abs}(560\text{nm}) \times 100) / (\text{Pozitif kontrol Abs}560 \times \text{dakika} \times \text{mg protein}) \quad (5.5)$$

Tablo 5.5: SOD Substrat Tampon Hazırlığı.

Bileşen Adı	Hacim (µl)	Son konsantrasyon
Fosfat tamponu (100 mM) (pH: 7)	1000	50 mM
Na ₂ CO ₃ (2 M)	50	50 mM
EDTA (0,5 M)	0,4	100 µM
L-methionine	86,6	13 mM
NBT (7,5 mM)	20	75 µM
dH ₂ O	843	
Toplam	2000	



Şekil 5.9: SOD aktivitesi için örneklerin beyaz ışık altında renk değişimlerinin gözlenmesi; Beyaz ışık a) öncesi, b) sonrası.

5.5.1.3. Peroksidaz (POD) aktivitesi

Peroksidaz enzim aktivitesi Birecka vd. (1973)'nın yöntemine göre ölçülmüştür. Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesinde 300 µl %30 H₂O₂ ve 600 µl %98 gayakol içeren 100 mM (pH 5,8) potasyum fosfat tamponu ölçüm tamponu olarak kullanılmıştır [Tablo 5.6]. 1,5 ml'lik küvetlere alınan ölçüm tamponuna, 10 µl süpernatant eklenmiştir. Ağızı alüminyum folyo ile tutularak hızlıca ters yüz edilen küvetler spektrofotometrede 2 dk boyunca her 10 saniyede bir 470 nm'de ölçüm alınmıştır. Blank olarak ölçüm tamponu kullanılmıştır. Artarak değişim gösteren absorbans değerleri dikkate alınmıştır. POD aktivitesi denklem (5.6)'e göre belirlendi ve U/mg protein olarak ifade edilmiştir.

$$\Delta \text{Abs}(470\text{nm}) / (\text{dakika} \times \text{mg protein}) \quad (5.6)$$

Tablo 5.6: POD için Ölçüm Tamponunun Hazırlanması.

Bileşen Adı	Konsantrasyon	Miktar
Fosfat tamponu (pH 5,8)	0,1 M	100 ml
H ₂ O ₂	%30	300 µl
Gayakol	%98	600 µl

5.5.2. Toplam Klorofil ve Karotenoid Miktarı

Toplam klorofil ve karotenoid miktarı, Arnon (1949) tarafından belirtilen protokol üzerinde bazı modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Klorofil ve karotenoid miktarını ölçmek için bitkilerin aynı seviyedeki yapraklarından her gruptan toplam 0,1 g (x3 tekrar) olacak şekilde yaprak örneği alınıp sıvı azotta şoklanarak bilyalı öğütücü (Retsch MM400) ile homojenize edilmiş ve analiz edilmek üzere -80°C'de saklanmıştır. Analiz edileceği zaman, örneklerin üstüne 1,5 ml %80 aseton eklenmiştir. Homojenat 3000 RCF'de +4°C'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınmış ve hacmi ölçülmüştür. Total klorofil ve karotenoid miktarının belirlenebilmesi için 470, 645 ve 663 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansları ölçülmüştür. Klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid miktarları mg/ml olarak aşağıdaki (5.7), (5.8), (5.9) ve (5.10) formüllere göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam klorofil (C)} = [20.2 \times \Delta_{645} + 8.02 \times \Delta_{663}] \times \text{ml}/1000 \quad (5.7)$$

$$\text{Klorofil a (C}_a\text{)} = [12.7 \times \Delta_{663} - 2.69 \times \Delta_{645}] \times \text{ml}/1000 \quad (5.8)$$

$$\text{Klorofil b (C}_b\text{)} = [22.9 \times \Delta_{645} - 4.68 \times \Delta_{663}] \times \text{ml}/1000 \quad (5.9)$$

$$\text{Toplam karotenoid} = [(1000 \times \Delta_{470} - 1.90 \times C_a - 63.14 \times C_b)/214] \times \text{ml}/1000 \quad (5.10)$$

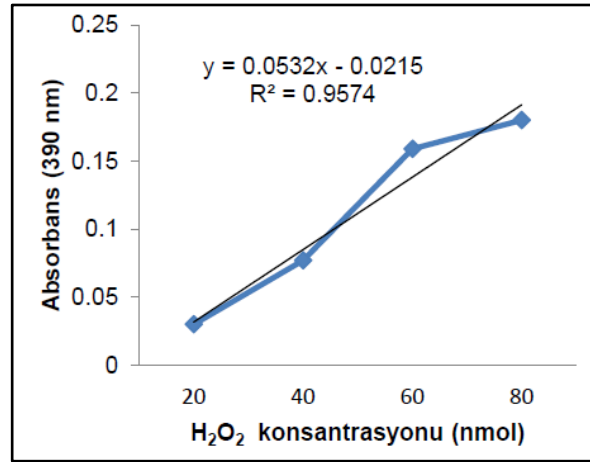
5.5.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂) Miktarı

Hidrojen peroksit miktarı, bazı modifikasyonlar yapılarak Junglee vd. (2014)'nın yöntemine göre belirlenmiştir. Hidrojen peroksit miktarını ölçmek için bitkilerin aynı seviyedeki yapraklarından ve köklerden her gruptan toplam 0,1 g (x3 tekrar) olacak şekilde doku örneği alınıp sıvı azotta şoklanarak bilyalı öğütücü (Retsch

MM400) ile homojenize edilmiş ve analiz edilmek üzere -80°C’de saklanmıştır. Analiz edileceği zaman, örnekler üzerine 1 ml Tablo 5.7’ye göre hazırlanan tampon eklenmiştir. Homojenat 12.000 RCF’de +4 °C’de 15 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar alınmış ve oda sıcaklığında 20 dk karanlıkta bekletilmiştir. Örneklerin absorbansı 390 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Hidrojen peroksit miktarı standart eğri grafiğindeki $y = 0,053x - 0,021$ formülüne göre nmol/g olarak belirlenmiştir [Şekil 5.10].

Tablo 5.7: Hidrojen Peroksit Miktarı Ölçüm Tamponu Bileşenleri.

Bileşenler	Kontrol Grupları	Uygulama
Fosfat tamponu pH 7 (10 mM)	250 µl	250 µl
Trikloroasetik asit (% 0,1)	250 µl	250 µl
KI (1 M)	-	500 µl
dH ₂ O	500 µl	-
Toplam	1000 µl	1000 µl



Şekil 5.10: H₂O₂ Standart eğri grafiği.

5.5.4. Lipit Peroksidasyonu Miktarı

Lipit peroksidasyonu miktarı, bazı modifikasyonlar yapılarak Çakmak ve Horst (1991)’a göre belirlenmiştir. Lipit peroksidasyonu miktarını ölçmek için bitkilerin aynı seviyedeki yapraklarından ve köklerden her gruptan toplam 0,1 g (x3 tekrar) olacak şekilde doku örneği alınıp sıvı azotta şoklanarak bilyalı öğütücü (Retsch MM400) kullanılarak homojenize edilmiş ve analiz edilmek üzere -80°C’de

saklanmıştır. Analiz edileceği zaman, örneklerin üstüne 1 ml %0,1 TCA (Triklorasetik asit) eklenmiştir. Homojenat 12.000 RCF'de 20 dk santrifüj edilmiş ve süpernatant alınmıştır. 1 ml %0,6 TBA (Tiyobarbitürik asit) içeren %20 TCA 'a 250 µl süpernatant eklenmiş ve 30 dk 95 °C'de tutulmuştur. Süre sonunda hızlı bir şekilde buza alınmıştır. 10 dk 12.000 RCF'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant alınarak, 532 ve 600 nm'deki absorbanları ölçülmüştür. Blank olarak %0,1 TCA kullanılmıştır. Lipit peroksidasyonu miktarı (5.11)'deki formüle göre nmol/L olarak hesaplanmıştır.

$$\Delta(532-600)/1.56*105 \quad (5.11)$$

5.6. İstatiksel Analizler

Tüm parametreler için SPSS programı kullanılarak One-Way ANOVA testi uygulanmıştır. Anlamlı ($p \leq 0,05$) sonuç veren parametrelere Post Hoc Testi uygulanmıştır. Homojen varyans gösteren parametreler için Tukey testi, heterojen varyans gösteren parametreler için Tamhane testi uygulanmıştır.

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

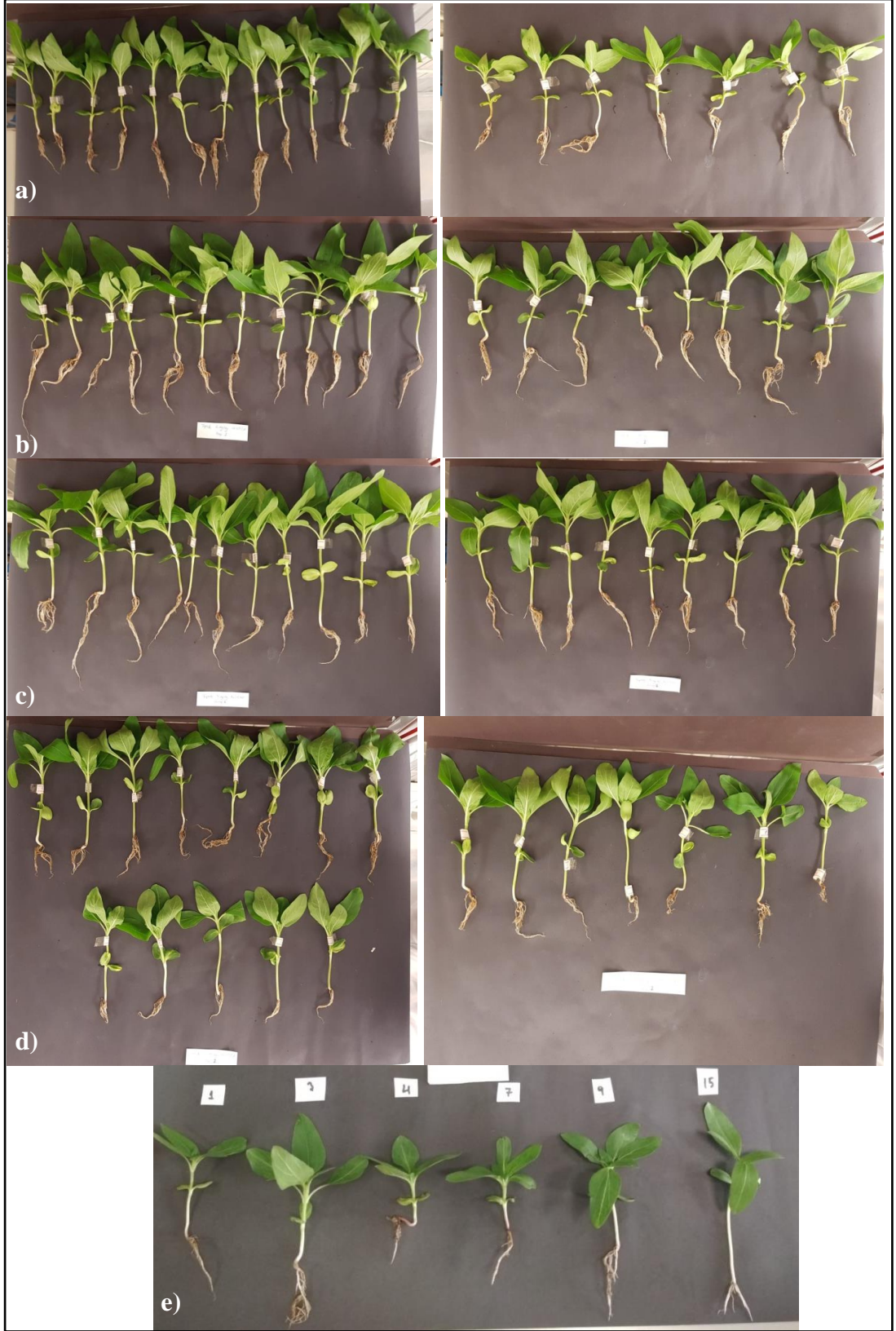
6.1. Farklı Koşullarda Nanopartikül Deneme Sonuçları

6.1.1. Toprak Ortamında Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar

İki hafta boyunca demir uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinin görüntüleri Şekil 6.1 ve Şekil 6.2’de verilmiştir. Bitkilerin gövde boyu, yaprak sayısı, yaprak yüzey alanı, taze ve kuru ağırlıkların ortalama grafikleri oluşturulmuştur. (+) Fe-EDTA grubu toprağın içinde 5 ppm demir olacak şekilde ayarlanmıştır.



Şekil 6.1: Toprak ortamında 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP grupları, e) 20 ppm Fe(0) NP.



Şekil 6.2: Toprak ortamında 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP, e) 20 ppm Fe(0) NP.

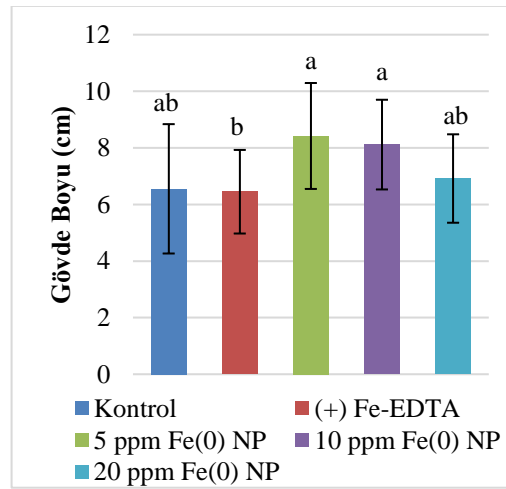
Toprak ortamında yapılan 5 ppm Fe(0) NP ve 10 ppm Fe(0) NP uygulamalarının kontrol ve Fe-EDTA'lı gruba göre gövde boyunda anlamlı bir artış görülmüştür. En uzun gövde boyu 5 ppm Fe(0) NP grubunda gözlenmiştir [Şekil 6.3]. 5 ppm Fe(0) NP, kontrole göre %28,5 gövde boyunu arttırmıştır. Buğday üzerinde yapılan bir çalışmada, tohumların 5-20 ppm arası konsantrasyonda Fe₃O₄ NP ile 20 saat muamelesi sonucu, en çok gövde boyunu (%35) arttıran 20 ppm konsantrasyonu olmuştur [Rizwan vd., 2019].

Kökler topraktan tamamen temizlenemediğinden, bitkiler çıkarılırken kökler zarar gördüğünden sağlıklı sonuçlar elde edilemeyeceği için kök boyu ölçümü alınmamıştır.

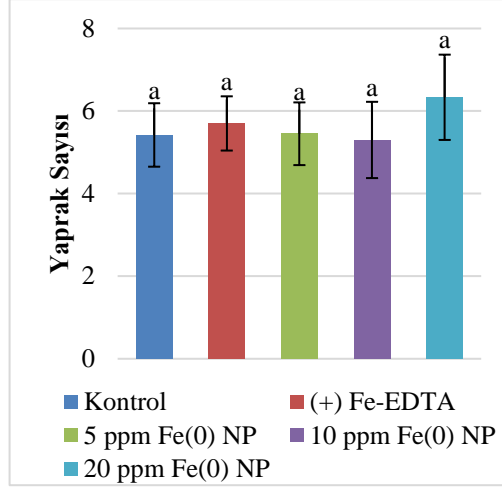
Yaprak yüzey alanında 5 ppm Fe(0) NP uygulaması, 20 ppm Fe(0) NP uygulamasına göre anlamlı bir şekilde artış göstermiştir [Şekil 6.5].

Taze ağırlıkta en yüksek değeri 5 ppm Fe(0) NP uygulaması vermesine rağmen kuru ağırlıkta Fe-EDTA'lı grup daha yüksek değer vermiştir [Şekil 6.6], [Şekil 6.7]. Bu durum, nanopartiküllerin bitkideki su tutma kapasitesini arttırdığı şeklinde yorumlanabilir. Yer fıstığı üzerinde yapılan bir çalışmada 1,12-4,48 mg/l arasındaki Fe(0) NP uygulamalarında tohumların su tutma kapasitelerinin arttığı belirlenmiştir [Li vd., 2015]. İstatiksel olarak, yaprak sayısı [Şekil 6.4] ve kuru ağırlıkta [Şekil 6.7] gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır.

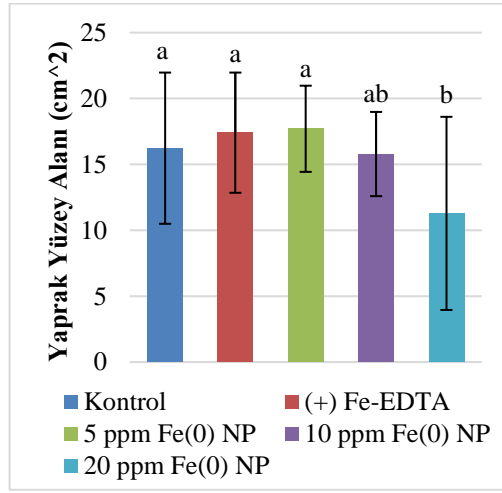
Morfolojik parametreler açısından toprak çalışması için en çok parametrede 5 ppm Fe(0) NP grubu daha iyi sonuç vermiştir.



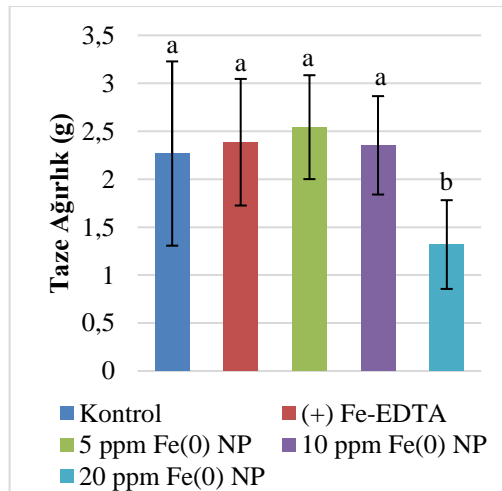
Şekil 6.3: Toprak ortamı gövde boyu ($p \leq 0,05$).



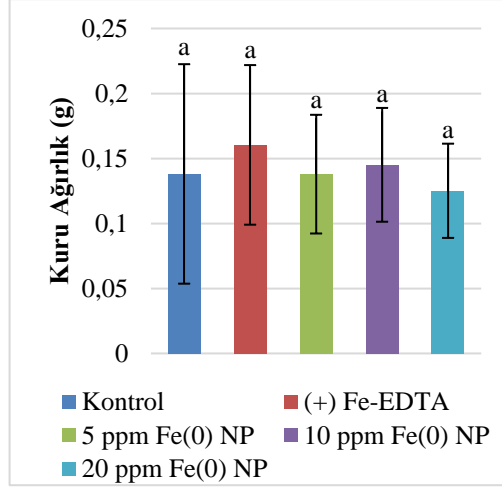
Şekil 6.4: Toprak ortamı yaprak sayısı.



Şekil 6.5: Toprak ortamı yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).

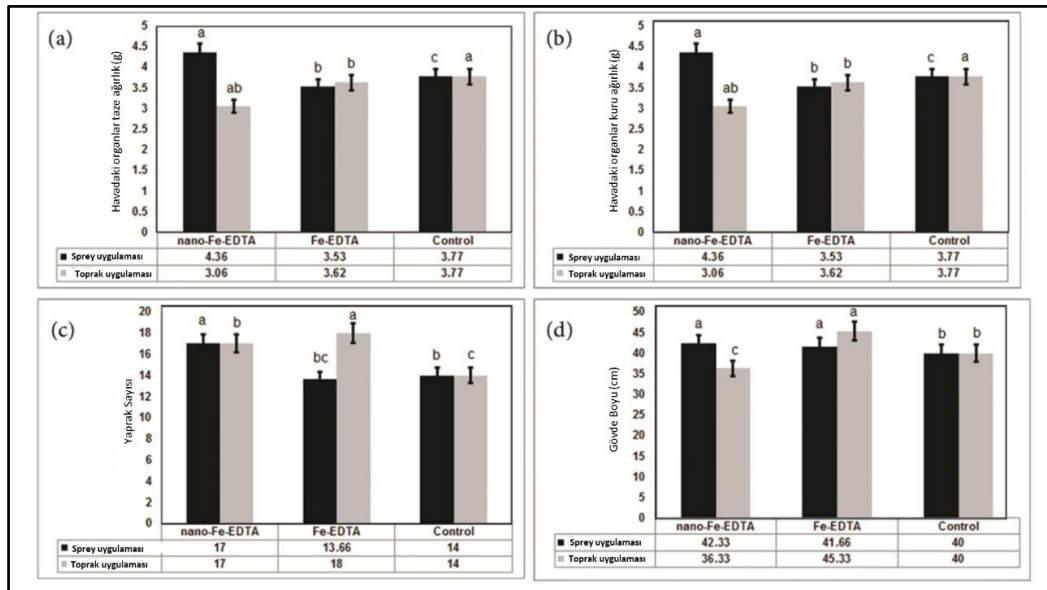


Şekil 6.6: Toprak ortamı taze ağırlık ($p \leq 0,05$).



Şekil 6.7: Toprak ortamı kuru ağırlık.

Ayçiçeği üzerinde yapılan bir çalışmada, kimyasal sentezlenen EDTA bağlı Fe_3O_4 nanopartikülleri 1 mg/l konsantrasyonda yapraktan spreyle ve 1 kilogram toprakta 1 g NP olacak şekilde topraktan iki farklı şekilde 15 gün boyunca bitkiye uygulanmıştır. İki ay boyunca bitkiler büyütülmeye devam edilmiştir. Deney sonucunda, taze ve kuru ağırlık, yaprak sayısı ve gövde boyu gibi morfolojik parametreler bakımından spreyle uygulamasının toprak uygulamasına göre daha iyi sonuç verdiği gözlenmiştir [Şekil 6.8] [Shahrekizad vd., 2015]. Nanopartiküllerin toprakta iyi sonuç vermemesinin nedeni olarak topraktaki konsantrasyonun fazla gelmiş olabileceği söylenebilir.

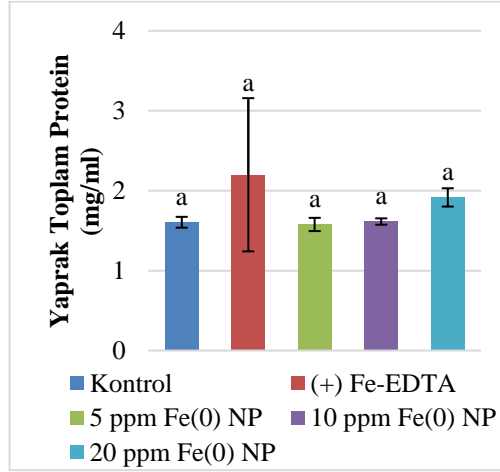


Şekil 6.8: Shahrekizad ve ekibinin nanopartikül çalışmasından farklı uygulamalarda büyüme parametreleri grafikleri.

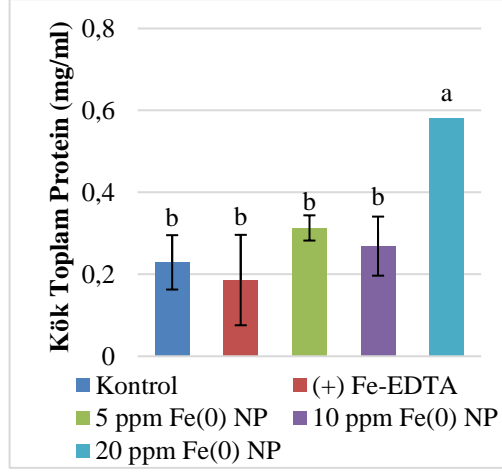
6.1.2. Toprak Ortamında Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar

İki hafta boyunca Fe(0) NP uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinden alınan taze yaprak ve kök dokuları sıvı azot ile şoklanarak manyetik boncuk ile homojenizatörde ezildikten sonra, toplam protein, SOD ve POD enzim aktivitelerine bakmak üzere ekstraksiyon yapılmıştır ve sonuçlar kaydedilmiştir.

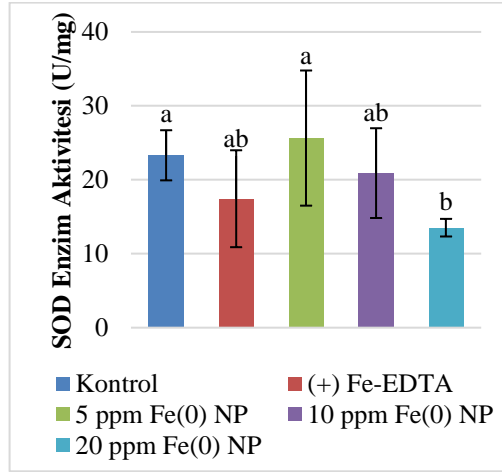
Yaprak dokularında toplam protein miktarı için uygulamalar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.9]. Kök dokularında anlamlı bir farkla 20 ppm Fe(0) NP gurubu en çok protein miktarını vermiştir [Şekil 6.10]. Antioksidan enzim seviyelerine bakıldığında, yaprakta ve kökte 20 ppm Fe(0) NP uygulamasında SOD enzim aktivitesinin düştüğü görülmektedir [Şekil 6.11], [Şekil 6.12]. Diğer gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır. POD içeriğinde de benzer şekilde 20 ppm Fe(0) NP uygulaması düşük sonuç vermiştir [Şekil 6.13], [Şekil 6.14]. Köklerde 5 ppm Fe(0) NP uygulamasının da Fe-EDTA'lı gruba göre düşük sonuç vermesi, ticari gübre olarak kullanılan Fe'EDTA'ya göre bitkide daha az oksidatif strese neden olmuştur şeklinde yorumlanabilir. 20 ppm Fe(0) NP uygulamasında morfolojik değerlerin düşük çıkıp antioksidanların da düşük çıkması, bitkinin savunma sisteminin çalışmadığı şeklinde yorumlanabilir.



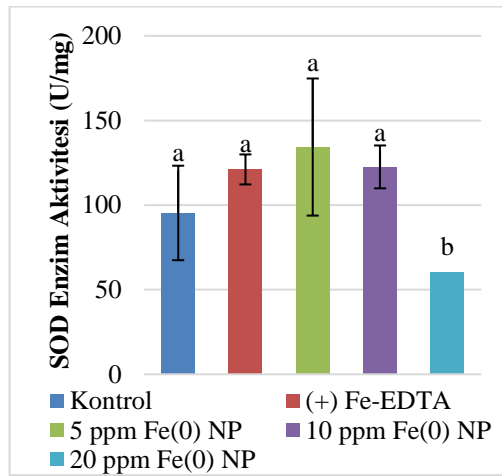
Şekil 6.9: Toprak ortamı yaprak toplam protein.



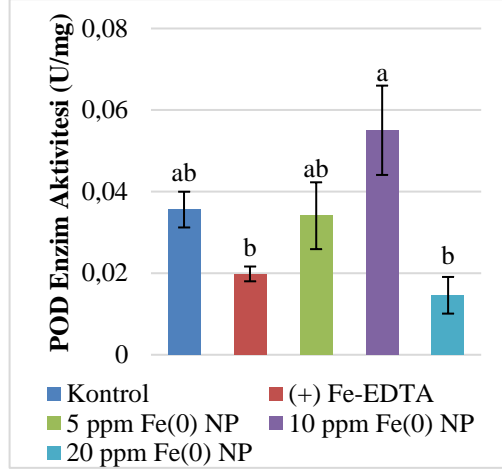
Şekil 6.10: Toprak ortamı kök toplam protein ($p \leq 0,05$).



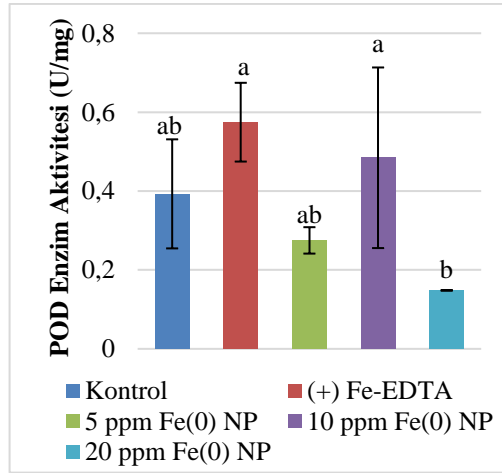
Şekil 6.11: Toprak ortamı yaprak SOD enzim aktivitesi.



Şekil 6.12: Toprak ortamı kök SOD enzim aktivitesi.



Şekil 6.13: Toprak ortamı yaprak POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).



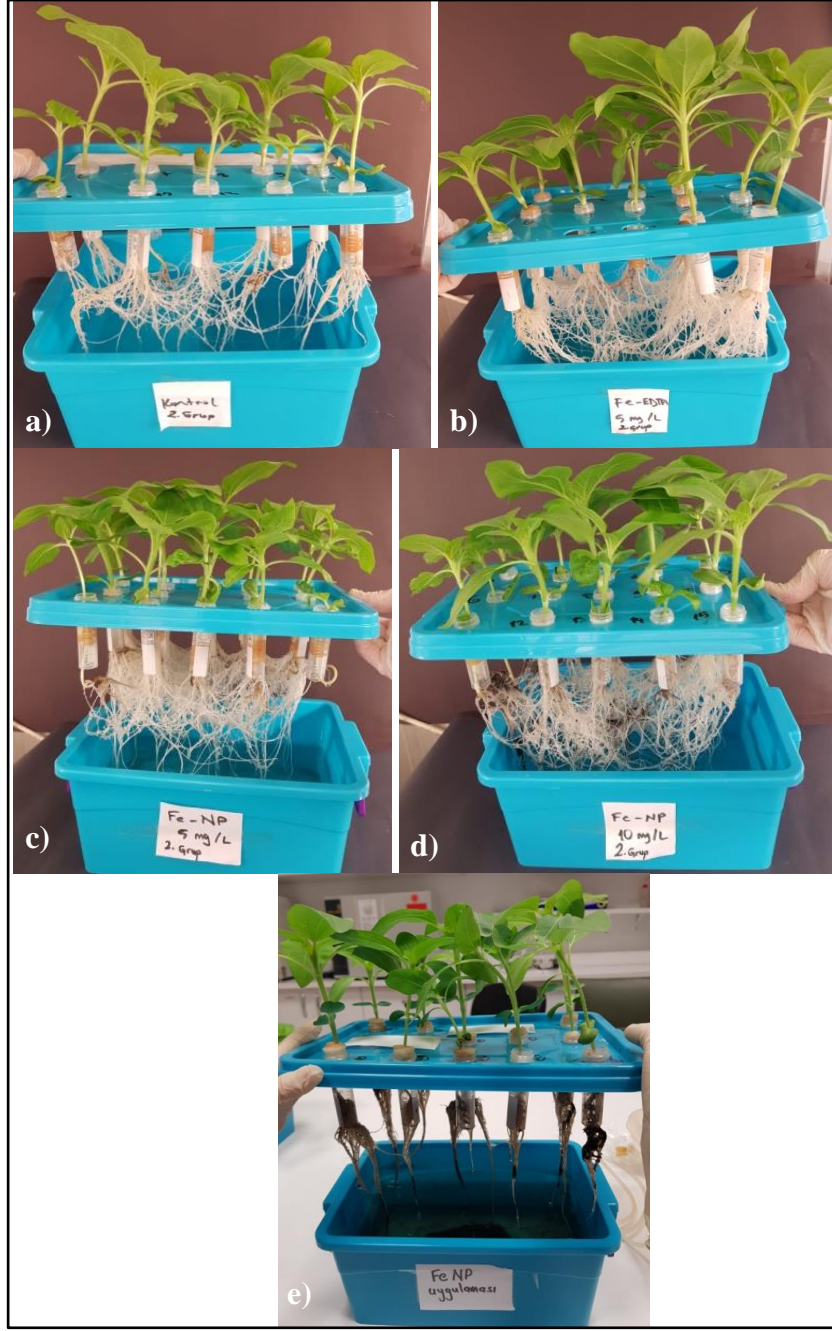
Şekil 6.14: Toprak ortamı kök POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).

ROT miktarı çok yükseldiğinden, proteinlere de zarar vermiş olabileceği ve bundan dolayı da protein miktarlarının düşük çıkmış olabileceği söylenebilir. Yapraklarda 5 ppm Fe(0) NP uygulaması SOD enzim aktivitesini kontrole göre %10 arttırmıştır. Düşük konsantrasyonlardaki H_2O_2 'yi ortamdan uzaklaştıran POD enziminin yapraklarda 5 ve 10 ppm Fe(0) NP uygulamalarında Fe-EDTA uygulamasına göre arttığı gözlenmiştir. Bu durum, Fe-EDTA uygulamasının yapraklarda daha fazla oksidatif strese neden olup yüksek H_2O_2 konsantrasyonuna yol açması durumunda bitkide cevap olarak POD enziminin artmaması, yüksek konsantrasyonlardaki H_2O_2 'yi ortamdan uzaklaştırmakla görevli katalaz (CAT) enziminin görev almasıyla yorumlanabilir. Toprak ortamında buğday üzerinde yapılan bir çalışmada tohumlara 5-20 ppm arası konsantrasyonda Fe_3O_4 NP uygulanmış ve

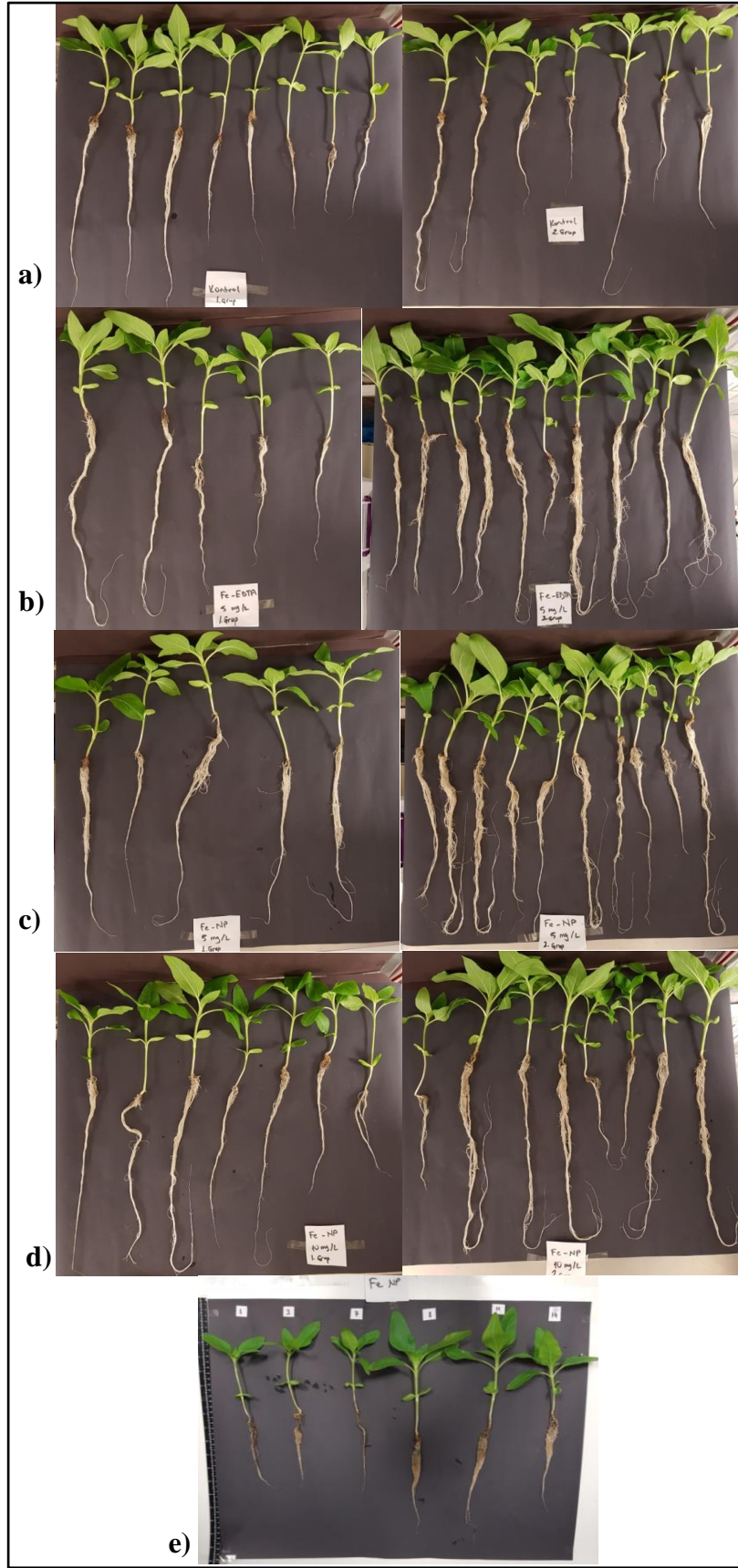
yapraklarda nanopartikül uygulamalarının SOD ve POD aktivitelerini arttırdığı kaydedilmiştir. Ayrıca çalışmada, 5 ppm uygulamanın buğday yapraklarında SOD enzim aktivitesini %14 arttırdığı kaydedilmiştir [Rizwan vd., 2019]. Antioksidan enzim aktivitelerinin artması, bitkideki oksidatif strese cevap verilerek etkisinin düşürülmeye çalışıldığı şeklinde yorumlanabilir.

6.1.3. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar

İki hafta boyunca Fe(0) NP uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinin görüntüleri Şekil 6.15 ve Şekil 6.16'da verilmiştir. Bitkilerin gövde boyu, kök boyu, yaprak sayısı, yaprak yüzey alanı, taze ve kuru ağırlıkların ortalama grafikleri oluşturulmuştur. Şekil 6.16.e'ye bakıldığında, 20 ppm Fe(0) NP uygulamasında kökler diğer gruplardaki gibi sıvı ortama doğru uzama gösterip birbirleriyle etkileşime geçmemişlerdir. Daha çok buldukları falkonun içerisinde uzama göstermişlerdir. Bu durum, 20 ppm konsantrasyondaki uygulamanın bitkilerde kemotaksise yol açmış olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Bitkilerin gövde boyu, kök boyu, yaprak sayısı, yaprak yüzey alanı, taze ve kuru ağırlıkları ortalama grafikleri oluşturulmuştur.



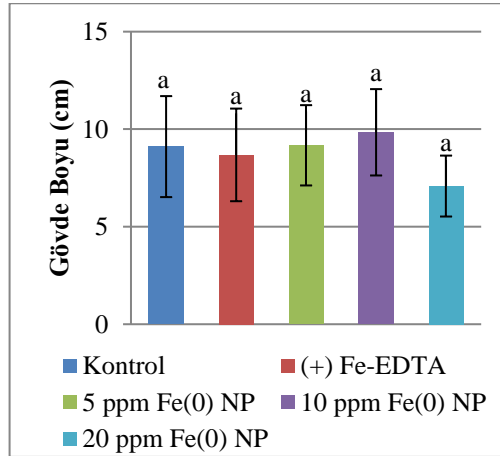
Şekil 6.15: Hidroponik ortam 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP, e) 20 ppm Fe(0) NP.



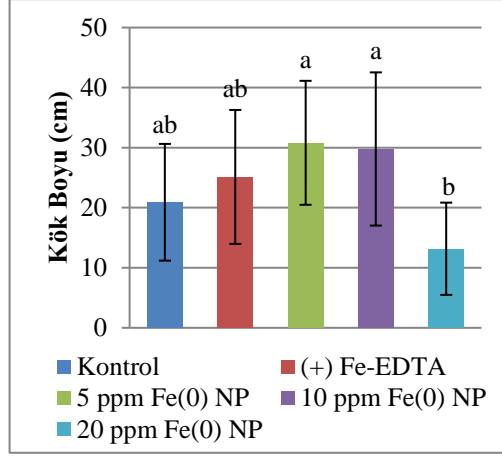
Şekil 6.16: Hidroponik ortam 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 5 ppm Fe(0) NP, d) 10 ppm Fe(0) NP, e) 20 ppm Fe(0) NP.

Hidroponik ortamda yapılan deneyde gövde boyunda uygulamalar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.17]. Kök boyu değerlendirildiğinde, 5 ve 10 ppm Fe(0) NP uygulamalarında, kontrol ve Fe-EDTA'lı gruba göre anlamlı bir artış görülmüştür. En uzun kök boyu kontrole göre %47 artışla, Fe-EDTA'lı gruba göre %22,6 artışla 5 ppm Fe(0) NP grubunda gözlenmiştir [Şekil 6.18]. İstatiksel olarak, 5 ve 10 ppm Fe(0) NP uygulamalarında kök boyu, 20 ppm Fe(0) NP uygulamasına göre anlamlı bir farkla yüksek çıkmıştır. Hidroponik ortamda mısır üzerinde yapılan bir çalışmada, tohumların 20 mg/l Fe₂O₃ NP ortamında 3 saat bekletilmesi ve bitkilerin aynı konsantrasyonda NP içeren hidroponik ortamda büyütülmesi sonucu, %11,5 oranında kök uzamasının arttığı kaydedilmiştir [Li vd., 2016]. Yaprak yüzey alanında en yüksek değeri 5 ppm Fe(0) NP uygulaması vermiştir [Şekil 6.20]. İstatiksel olarak, 5 ve 10 ppm Fe(0) NP uygulamalarında yaprak yüzey alanı, kontrole ve 20 ppm Fe(0) NP uygulamasına göre anlamlı bir farkla yüksek sonuç vermiştir. Yaprak sayısı, taze ve kuru ağırlıkta uygulamalar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.19], [Şekil 6.21], [Şekil 6.22].

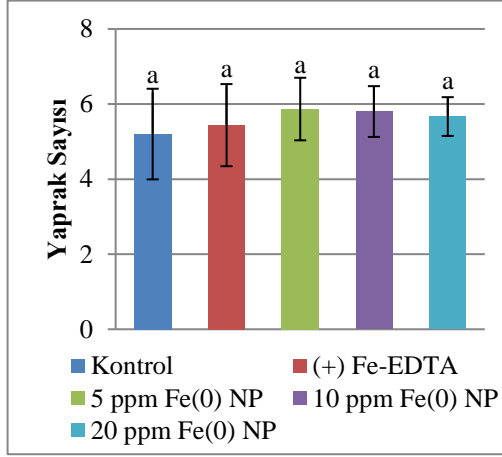
Morfolojik parametreler değerlendirildiğinde, sıvı çalışma için bitkinin gelişimine işaret eden kök boyu ve yaprak yüzey alanı gibi çoğu parametrede 5 ppm Fe(0) NP grubu daha iyi sonuç vermiştir.



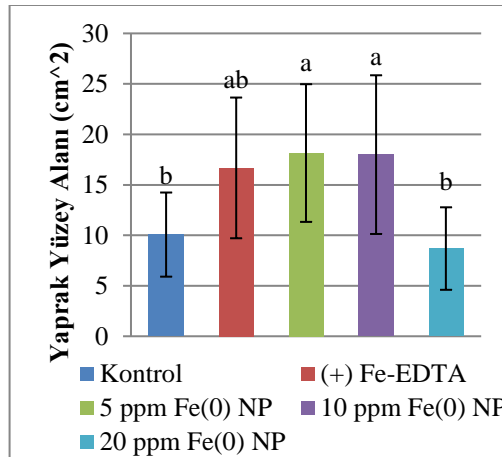
Şekil 6.17: Hidroponik ortam gövde boyu.



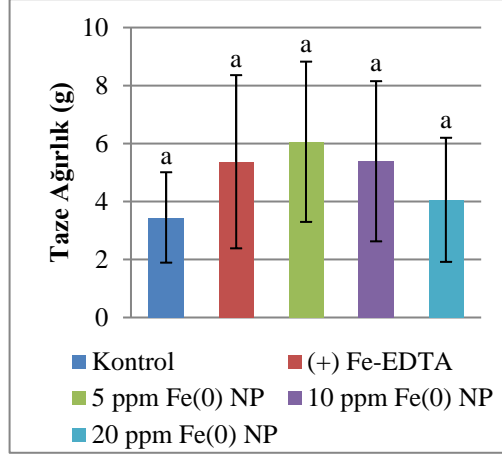
Şekil 6.18: Hidroponik ortam kök boyu ($p \leq 0,05$).



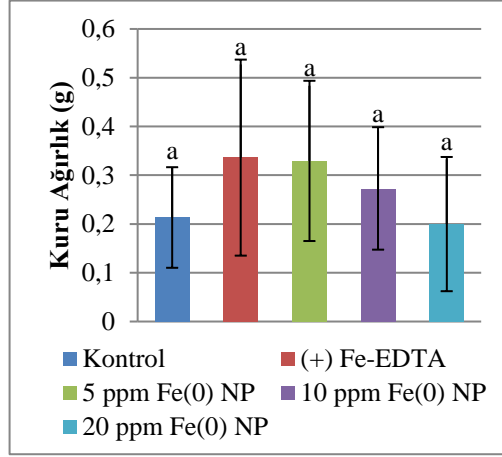
Şekil 6.19: Hidroponik ortam yaprak sayısı.



Şekil 6.20: Hidroponik ortam yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).



Şekil 6.21: Hidroponik ortam taze ağırlık.



Şekil 6.22: Hidroponik ortam kuru ağırlık.

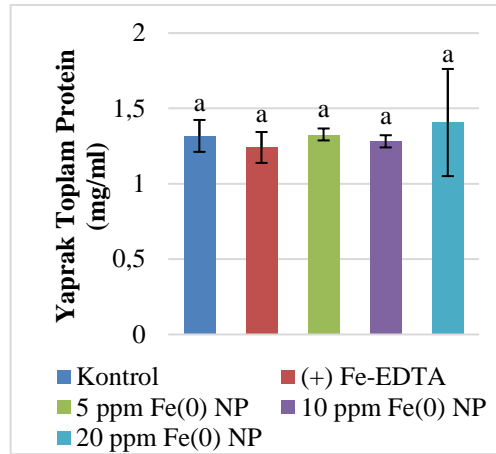
6.1.4. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar

İki hafta boyunca Fe(0) NP uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinden alınan taze yaprak ve kök dokuları sıvı azot ile şoklanarak manyetik boncuk ile homojenizatörde ezildikten sonra, toplam protein, SOD ve POD enzim aktivitelerine bakmak üzere ekstraksiyon yapılmıştır ve sonuçlar kaydedilmiştir.

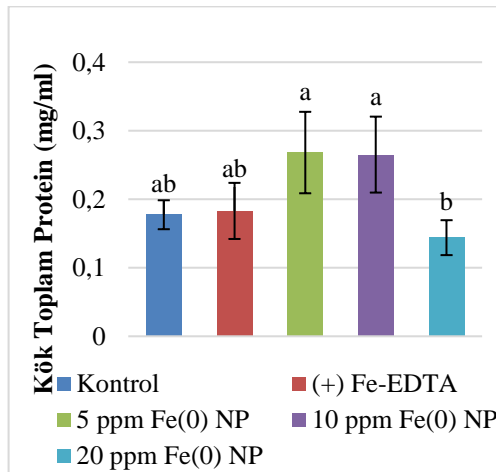
Yaprak dokuları toplam protein miktarında deney grupları arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.23]. Kök dokularında 5 ve 10 ppm Fe(0) NP grupları, 20 ppm Fe(0) NP grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir. Ayrıca, 5 ppm Fe(0) NP grubu kontrol grubuna göre %51 ve Fe-EDTA'lı gruba göre %46,5 artış göstermiştir. [Şekil 6.24].

Antioksidan enzim seviyelerine bakıldığında hem yaprak hem de kök dokularında bakılan SOD enzim aktivitesi için gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.25], [Şekil 6.26]. Yaprak dokularında bakılan POD enzim aktivitesinde de anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.27].

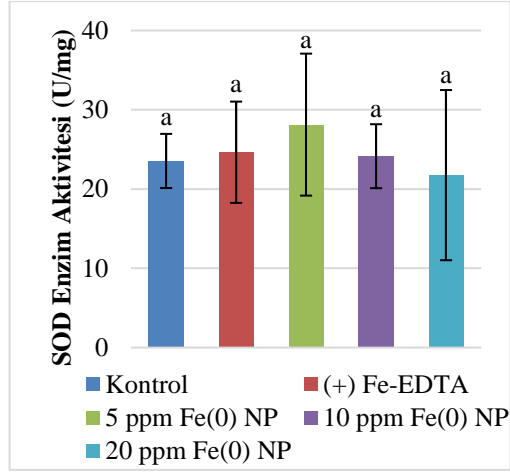
Kökte POD enzim aktivitesi, 5 ve 20 ppm Fe(0) NP uygulamalarında Fe-EDTA'lı uygulamaya göre anlamlı bir farkla düşüş göstermiştir [Şekil 6.28]. Bu verilerden yola çıkarak, nanopartikül uygulamalarının Fe-EDTA'ya göre bitkilerde daha az oksidatif strese neden olduğu söylenebilir. Ek olarak, 20 ppm Fe(0) NP uygulamasındaki bitkilerde oksidatif stresin daha az olduğu söylenebilir. Hidroponik ortamda mısır üzerinde yapılan bir çalışmada, tohumların 3 saat boyunca 20 mg/l Fe₂O₃ NP'ye maruz bırakıldığında kökteki SOD aktivitesinin ciddi oranda değişmediği ve POD aktivitesinin de azaldığı kaydedilmiştir [Li vd., 2016].



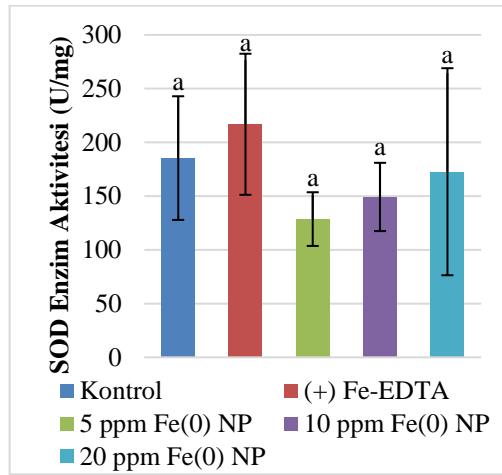
Şekil 6.23: Hidroponik ortam yaprak toplam protein miktarı.



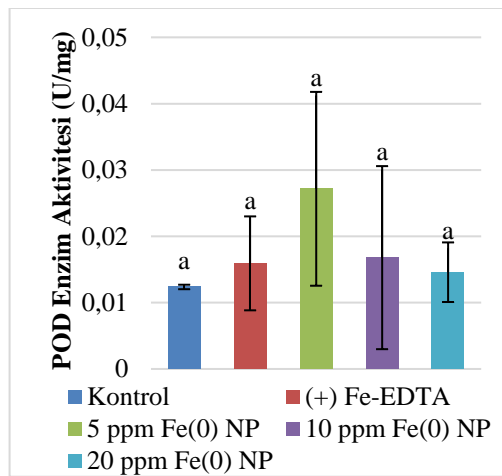
Şekil 6.24: Hidroponik ortam kök toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).



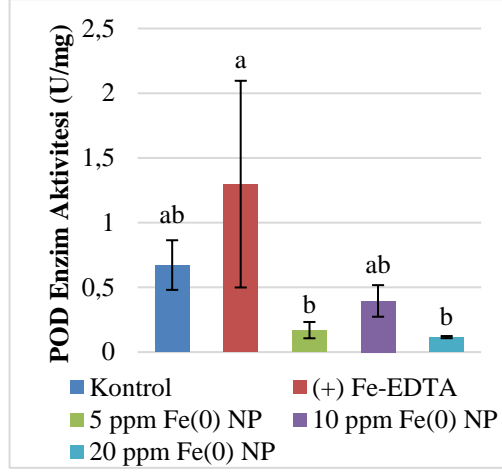
Şekil 6.25: Hidroponik ortam yaprak SOD enzim aktivitesi.



Şekil 6.26: Hidroponik ortam kök SOD enzim aktivitesi.



Şekil 6.27: Hidroponik ortam yaprak POD enzim aktivitesi.

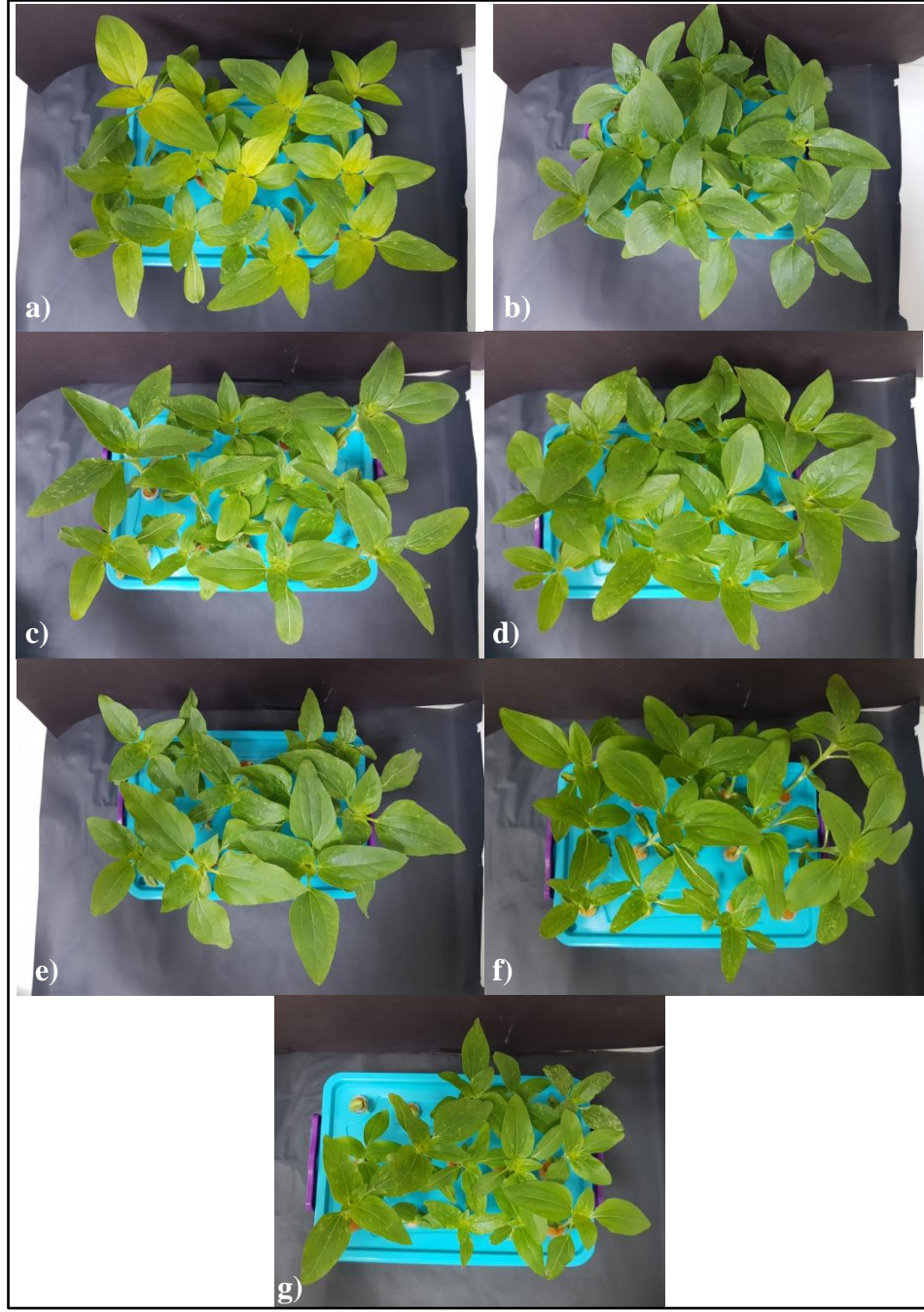


Şekil 6.28: Hidroponik ortam kök POD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).

6.2. Optimum NP Konsantrasyonu ve Uygulama Ortamı Belirlemeye Yönelik Çalışmaların Sonuçları

6.2.1. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar

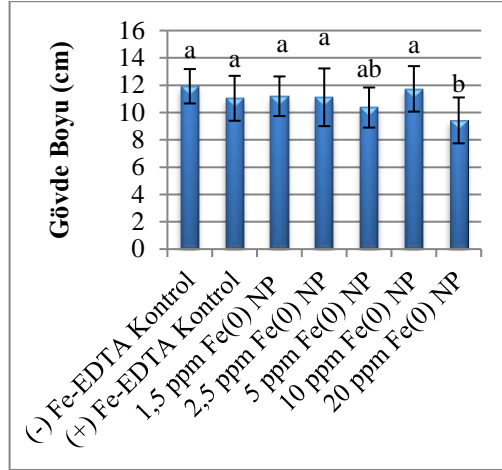
Bir hafta boyunca petride çimlenme sonrasında iki hafta boyunca demir uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinin görüntüleri solda (+) Fe-EDTA grubuyla kıyaslamalı olarak Şekil 6.29'da verilmiştir. Bitkilerin gövde boyu, kök boyu, yaprak sayısı, yaprak yüzey alanı, taze ağırlık ortalama grafikleri oluşturulmuştur. Şekil 6.29.a'ya bakıldığında, demirsiz ((-)Fe-EDTA) grubun yapraklarının sarardığı görülmektedir. Şekil 6.29'da tüm bitkiler değerlendirildiğinde 2,5 ppm Fe(0) NP grubundaki bitkilerin daha sağlıklı ve gelişmiş oldukları görülmektedir.



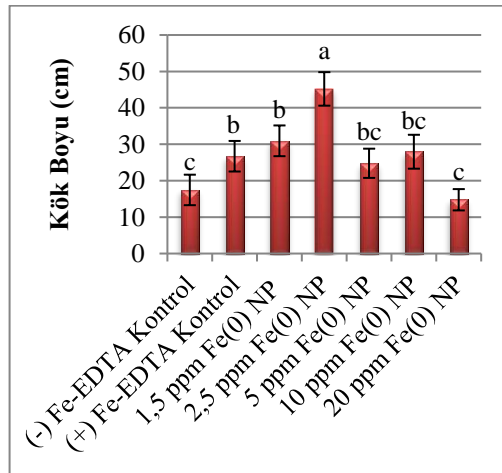
Şekil 6.29: Hidroponik ortam 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) (-) Fe-EDTA, b) (+) Fe-EDTA, c) 1,5 ppm Fe(0) NP, d) 2,5 ppm Fe(0) NP, e) 5 ppm Fe(0) NP, f) 10 ppm Fe(0) NP, g) 20 ppm Fe(0) NP.

Hidroponik ortamda yapılan deneyde gövde boyu grafiğine bakıldığında 20 ppm uygulamasının diğer uygulamalardan daha düşük sonuç verdiği görülmektedir. Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.30]. Şekil 6.31'e kök boylarına bakıldığında, 2,5 ppm grubu kontrole göre 2,5 kat ve Fe-EDTA'lı gruba göre 1,7 kat yüksek sonuç verdiği görülmektedir. Yaprak yüzey alanında da benzer şekilde 2,5 ppm uygulaması, kontrole 1,6 kat, Fe-EDTA'lı gruba da 1,3 kat fark atarak en

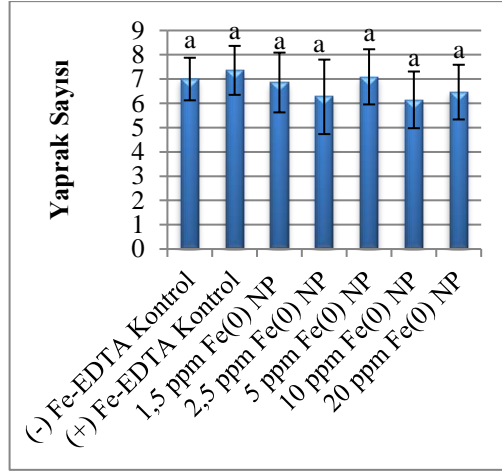
yüksek değere ulaşmıştır [Şekil 6.33]. Taze ağırlıklara bakıldığında, (+) Fe-EDTA grubu ile 2,5 ve 5 ppm uygulamaları diğer gruplara göre yüksek sonuç vermiştir [Şekil 6.34]. İstatiksel olarak, yaprak sayısında gruplar arası anlamlı bir fark görülmemiştir [Şekil 6.32].



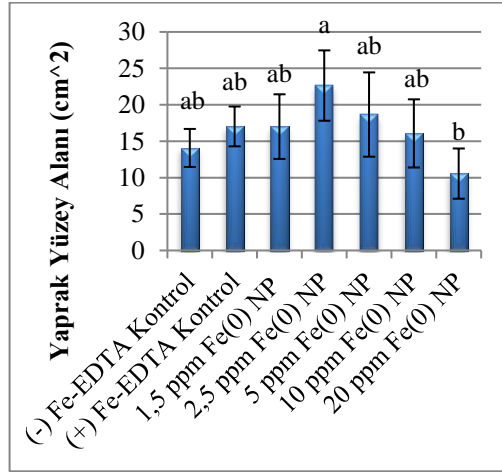
Şekil 6.30: Hidroponik ortam gövde boyu ($p \leq 0,05$).



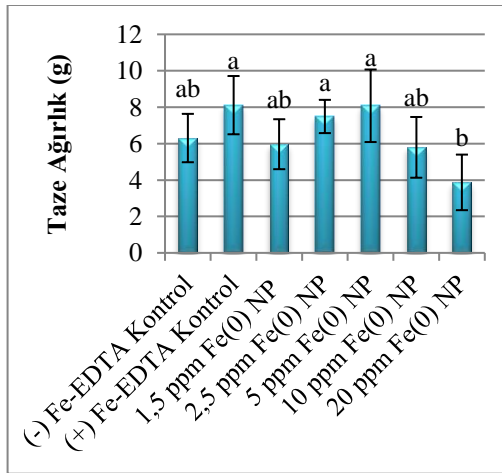
Şekil 6.31: Hidroponik ortam kök boyu ($p \leq 0,05$).



Şekil 6.32: Hidroponik ortam yaprak sayısı.



Şekil 6.33: Hidroponik ortam yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).



Şekil 6.34: Hidroponik ortam taze ağırlık ($p \leq 0,05$).

Morfolojik parametreler açısından bu çalışma için, diğer nanopartikül uygulamalarına göre en çok parametrede 2,5 ppm Fe(0) NP grubu daha iyi sonuç vermiştir ve 20 ppm grubunda da düşük sonuçlar gözlenmiştir. Kumda çimlendirilip hidroponik ortama alınan mısırlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 1,5 ve 3 mg/l konsantrasyonlarda Fe₃O₄ nanopartikül uygulamaları denenmiştir ve 3 mg/l konsantrasyon gövde boyu, ağırlık, yaprak yüzey alanı gibi morfolojik parametreler açısından en iyi sonucu vermiştir [Elanchezhian vd., 2017]. Mısırdaki yapılan hidroponik bir çalışmada 20 mg/l konsantrasyondaki nFe₂O₃'ün kök uzamasını (%11,5) arttırdığı kaydedilmiştir [Li vd., 2016].

6.2.2. Hidroponik (Sıvı) Ortamda Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar

İki hafta boyunca Fe(0) NP uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinden alınan taze yaprak ve kök dokuları sıvı azot ile şoklanarak manyetik boncuk ile homojenizatörde ezildikten sonra, toplam protein miktarıyla, SOD ve POD enzim aktivitelerine bakmak üzere ekstraksiyon yapılmıştır ve sonuçlar kaydedilmiştir. Aynı zamanda H₂O₂, MDA, klorofil ve karetenoid analizleri de yapılmıştır.

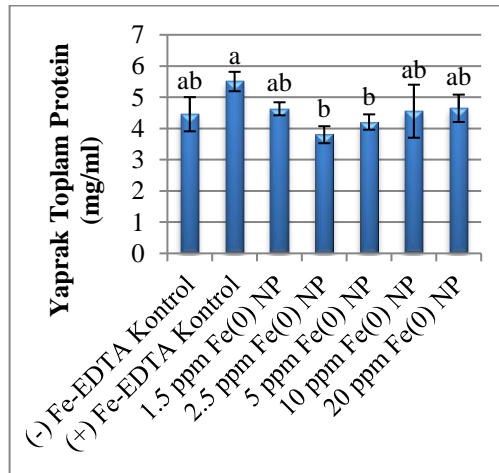
Yaprak dokularında (+) Fe-EDTA grubundan sonra 20 ppm Fe(0) NP grubu en çok protein miktarını vermiştir [Şekil 6.35]. Kök dokuları toplam protein miktarında gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.36]. Antioksidan enzim seviyelerine bakıldığında, yaprakta 1,5 ppm Fe(0) NP uygulaması anlamlı bir farkla SOD içeriğini düşürmüştür ve 5 ve 20 ppm Fe(0) NP uygulamaları da anlamlı bir farkla SOD içeriğini yükseltmiştir [Şekil 6.37]. Kök dokularında bakılan SOD enzim aktivitesinde gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.38]. En az POD içeriğine sahip grup yaprakta 10 ppm Fe(0) NP grubudur [Şekil 6.39]. Kök dokularında bakılan POD enzim aktivitesinde gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.40]. Yaprak dokularında Fe-EDTA'lı grup ve 20 ppm grubunda H₂O₂ birikimi görülmektedir. Yapraklarda 10 ppm grubunda anlamlı bir farkla H₂O₂ düşüşü görülmektedir. Kök dokularında H₂O₂ içerikleri Fe-EDTA'lı grup ve 1,5-2,5 ppm Fe(0) NP uygulamalarında kontrolden düşük olmakla birlikte, NP konsantrasyonu arttıkça köklerde H₂O₂ içeriği de artmıştır [Şekil 6.41]. Düşük H₂O₂

konsantrasyonlarda POD enzim aktivitesinin arttığı da görülmektedir. Yüksek H₂O₂ konsantrasyonlarda CAT enzimi devreye girmiş olabilir.

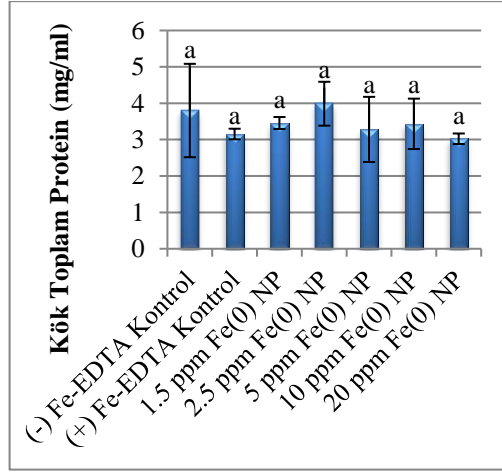
MDA içeriklerine bakıldığında, yapraklarda en çok lipit peroksidasyonunun Fe-EDTA'lı grupta gerçekleştiği görülmektedir [Şekil 6.42]. 1,5 ppm grubunun lipit peroksidasyonu düşürdüğü görülmektedir. Köklerde ise en az lipit peroksidasyonu NP uygulamaları arasından 1,5 ppm grubunda görülmüştür. Kökte en yüksek değer kök boyunda en yüksek değeri veren 2,5 ppm Fe(0) NP uygulamasında görülmüştür. Lipit peroksidasyonu ile hücre duvarı kaybı gerçekleşerek kök uzaması tetiklenmiş olabilir. Doku kültüründe *Arabidopsis thaliana* üzerinde yapılan bir çalışmada 0,5 g/l Fe(0) NP uygulamasının OH radikallerine bağlı olarak hücre duvarı kaybı gerçekleştirerek kök uzamasına olumlu etki ettiği kaydedilmiştir [Kim vd., 2014].

H₂O₂ ve lipit peroksidasyonu Fe-EDTA'lı grubun yaprak dokusunda dikkate değer biçimde artış göstermiştir yani bitki yapraklarında oksidatif stres gerçekleştiği söylenebilir [Şekil 6.41], [Şekil 6.42].

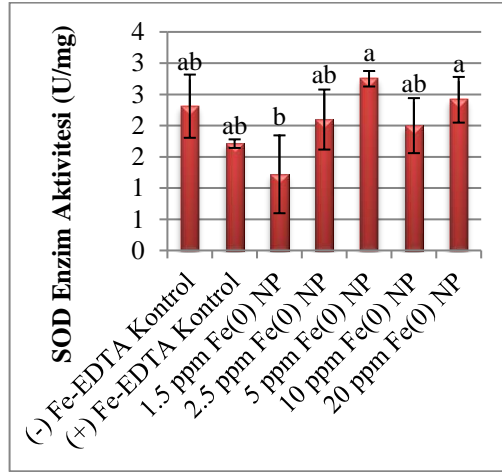
Toplam klorofil miktarlarına bakıldığında, kontrole göre anlamlı bir farkla en yüksek değeri 20 ppm Fe(0) NP grubu vermiştir ve NP dozu arttıkça klorofil oranında da düzenli bir artış olduğu gözlenmiştir [Şekil 6.43]. Klorofil a, klorofil b ve karotenoid içerikleri de toplam klorofil sonuçları ile paralellik göstermektedir. [Şekil 6.43].



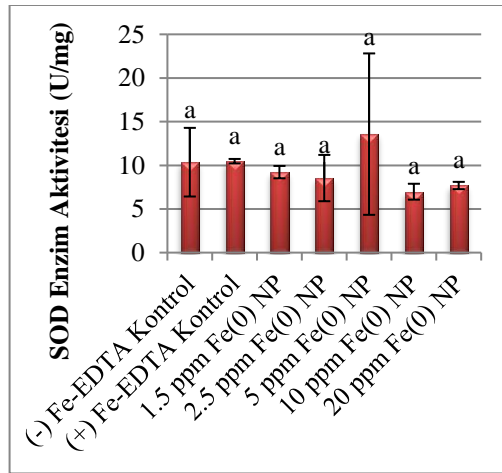
Şekil 6.35: Hidroponik ortam yaprak toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).



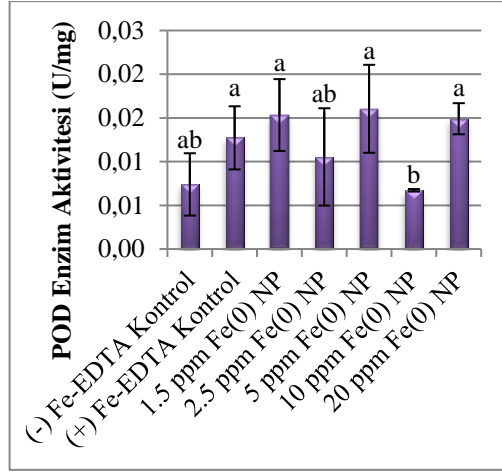
Şekil 6.36: Hidroponik ortam kök toplam protein miktarı.



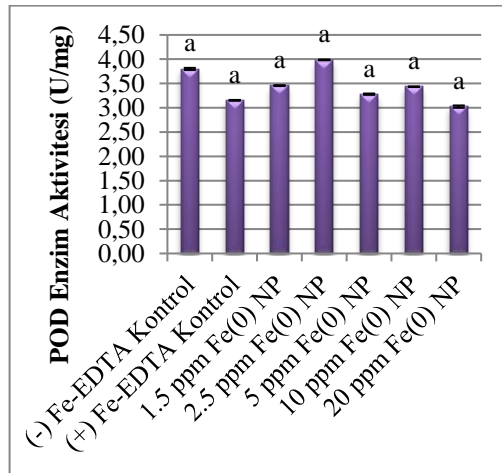
Şekil 6.37: Hidroponik ortam yaprak SOD enzim aktivitesi ($p \leq 0,05$).



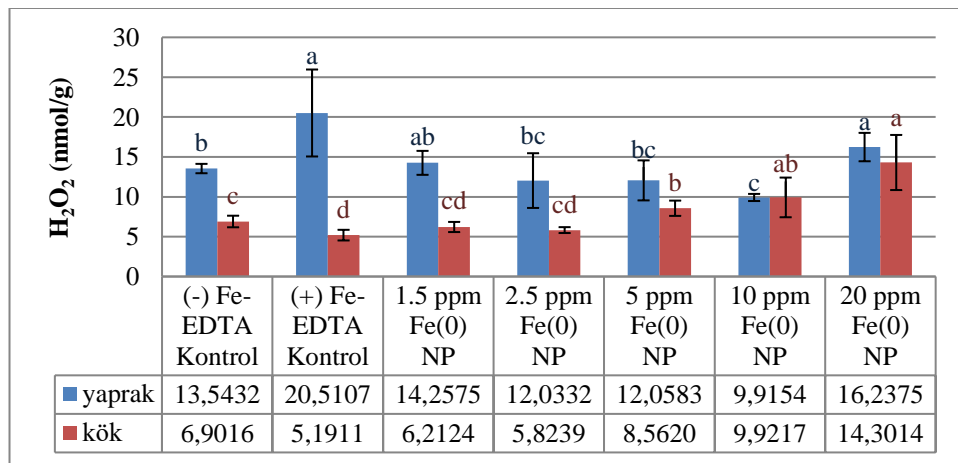
Şekil 6.38: Hidroponik ortam kök SOD enzim aktivitesi.



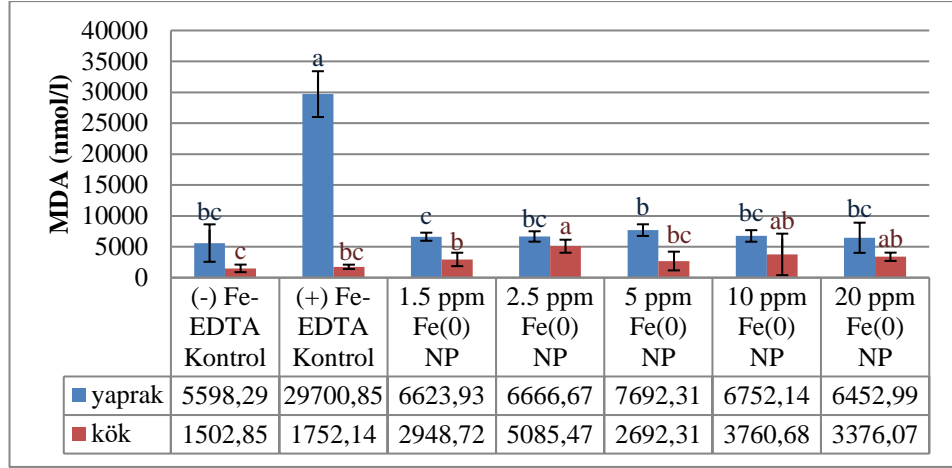
Şekil 6.39: Hidroponik ortam yaprak POD enzim aktivitesi (p≤0,05).



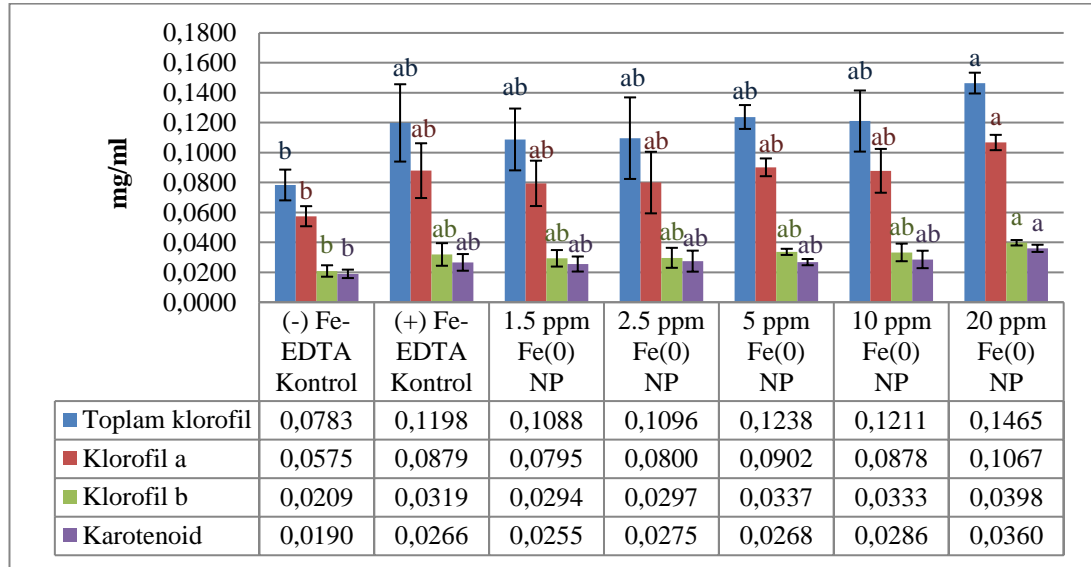
Şekil 6.40: Hidroponik ortam kök POD enzim aktivitesi.



Şekil 6.41: Hidroponik ortam H₂O₂ içeriği (kök p≤0,05).



Şekil 6.42: Hidroponik ortam MDA içeriği.

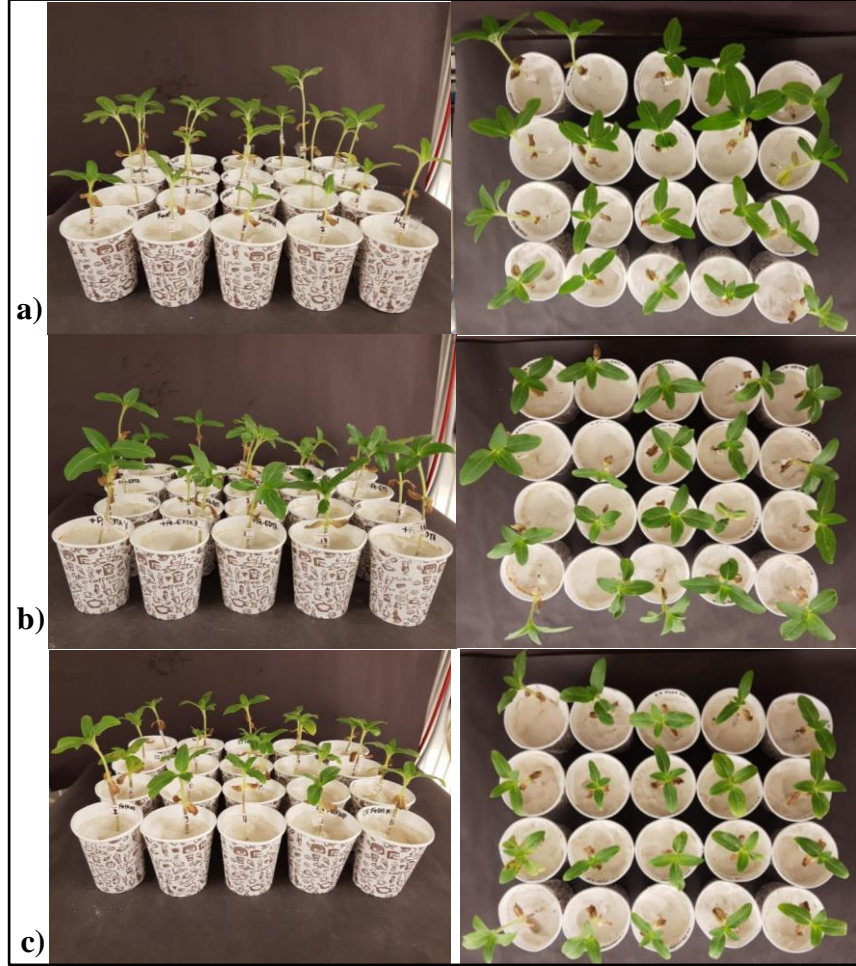


Şekil 6.43: Hidroponik ortam klorofil içeriği (Kt ve Kb p≤0,05).

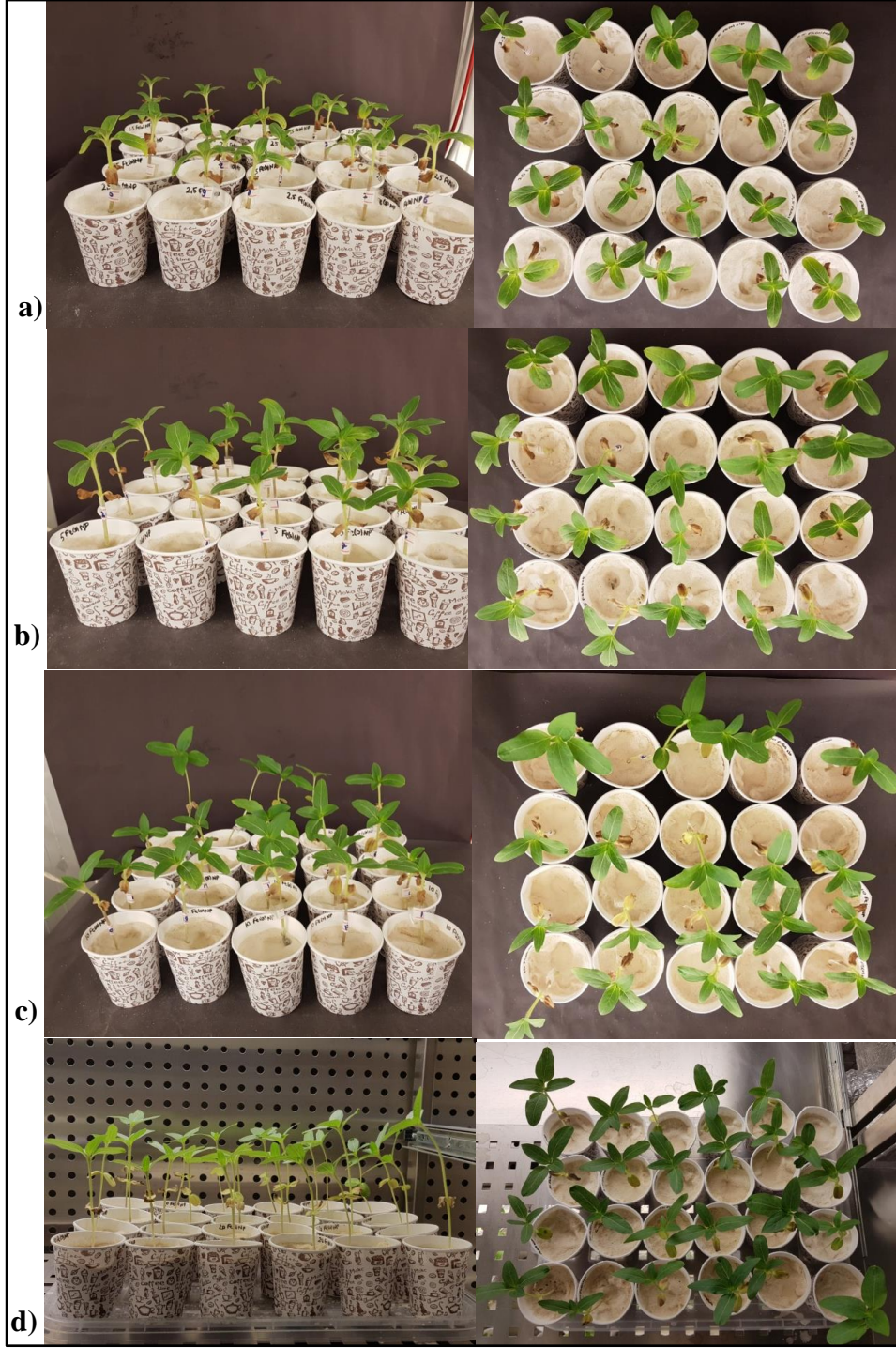
Kum ortamında çimlendirilip hidroponik ortama alınan mısırlar üzerinde yapılan bir çalışmada, 1,5 ve 3 mg/l konsantrasyonlarda Fe₃O₄ nanopartikül uygulamaları denenmiştir ve 3 mg/l konsantrasyonun antioksidan enzim aktivitelerini düşürdüğü ve klorofil miktarlarını arttırdığı kaydedilmiştir [Elanchezhian vd., 2017]. Hidroponik ortamda pirinç üzerinde yapılan başka bir çalışmada, 1 hafta boyunca 2 ve 20 mg/l Fe₂O₃ NP uygulamalarının köklerde kontrole göre SOD ve POD aktivitelerini ve MDA miktarını yani lipid peroksidasyonu arttırdığı kaydedilmiştir [Gui vd., 2015].

6.2.3. Kum Ortamında Elde Edilen Morfolojik Sonuçlar

İki hafta boyunca uygulamaya maruz kalan  haftalık ayçiçeklerinin görüntüleri Şekil 6.44 ve Şekil 6.45'te verilmiştir. Bitkilerin gövde boyu, kök boyu, yaprak sayısı, yaprak yüzey alanı, taze ağırlık ortalama grafikleri oluşturulmuştur.



Şekil 6.44: Kum ortamı 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) Kontrol, b) (+) Fe-EDTA, c) 1,5 ppm Fe(0) NP.



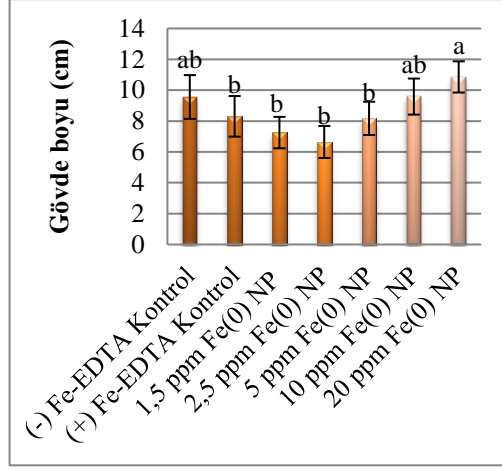
Şekil 6.45: Kum ortamı 3 haftalık bitkilerin görüntüleri: a) 2,5 ppm, b) 5 ppm, c) 10 ppm, d) 20 ppm Fe(0) NP.

Kum ortamında yapılan uygulamalarda gövde boyu kontrole göre %13 artışla Fe-EDTA'lı gruba göre ise %30 artışla en yüksek 20 ppm Fe(0) NP grubunda çıkmıştır [Şekil 6.46]. Nanopartikül konsntrasyonu arttıkça gövde boyu artmıştır. İstatiksel olarak gövde boyu, 20 ppm Fe(0) NP uygulamasında Fe-EDTA'lı uygulamaya göre anlamlı bir artış göstermiştir. Ayrıca, gövde boyunda 10 ve 20 ppm Fe(0) NP

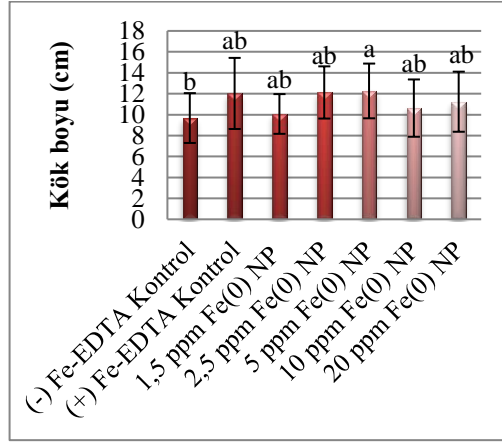
uygulamaları diğer nanopartikül uygulamalarına göre anlamlı derecede artmıştır. Şekil 6.47'ye bakıldığında, kontrole göre istatistiksel olarak da anlamlı bulunan %26,8 artışla en yüksek kök boyu 5 ppm Fe(0) NP uygulamasında görülmüştür. İstatiksel olarak, yaprak sayısında gruplar arası anlamlı bir fark bulunamamıştır [Şekil 6.48]. Yaprak yüzey alanında daha düşük konsantrasyondaki NP uygulamalarına göre anlamlı bir artışla en yüksek değeri 10 ppm Fe(0) NP uygulaması vermiştir. Ancak, Fe-EDTA'lı grup ile aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir. 1,5-2,5 ppm konsantrasyonlarda yaprak yüzey alanının düştüğü görülmektedir [Şekil 6.49]. Taze ağırlık, en yüksek 2,5 ve 5 ppm Fe(0) NP grubunda görülmekle birlikte, 20 ppm Fe(0) NP uygulaması diğer uygulamalara göre anlamlı bir farkla düşüş göstermiştir [Şekil 6.50].

Kum ortamında yer fıstığı üzerinde yapılan bir çalışmada, kum ortamının 2,24 ve 4,48 ppm Fe(0) NP içeren Hoagland solüsyonu ile sulanması ile başlatılan ve 18 gün boyunca her üç günde bir demirsiz Hoagland solüsyonu ile sulanması ile tamamlanan deney sonucunda uygulamanın bitki büyümesini ve kök gelişimini arttırdığı kaydedilmiştir [Li vd., 2015]. Benzer olarak bu çalışmada da kök boyu en çok 2,5 ve 5 ppm konsantrasyonlarda görülmüştür. Ayrıca Şekil 6.51'de de görüldüğü gibi Li ve ekibinin çalışmasında, 2,24 ve 4,48 ppm NP uygulamalarında bu çalışmadan farklı olarak gövde boyunda kayda değer bir artış görülmektedir. Aynı çalışmada ağırlıklar incelendiğinde bu çalışmada olduğu gibi 2,24 ppm NP uygulamasında artış görülmektedir [Li vd., 2015].

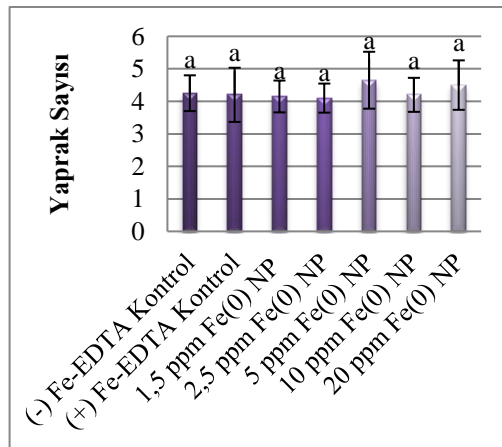
Morfolojik parametreler değerlendirildiğinde, kum çalışması için gövde boyu, kök boyu, yaprak yüzey alanı ve taze ağırlık gibi çoğu parametrede 5 ve 10 ppm Fe(0) NP grupları daha iyi sonuç vermiştir.



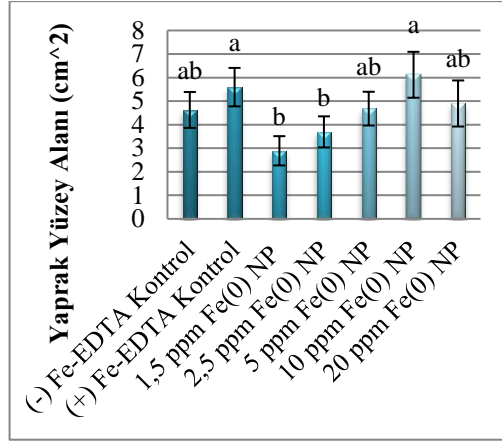
Şekil 6.46: Kum ortamı gövde boyu ($p \leq 0,05$).



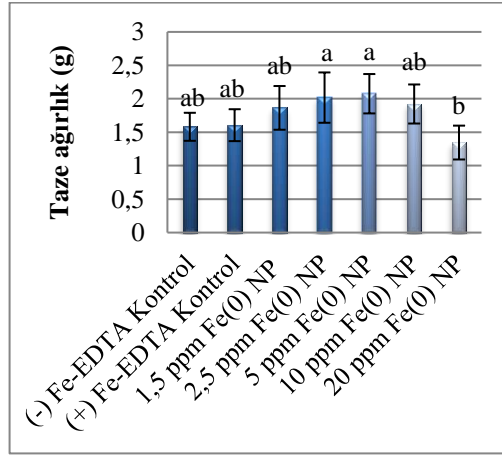
Şekil 6.47: Kum ortamı kök boyu ($p \leq 0,05$).



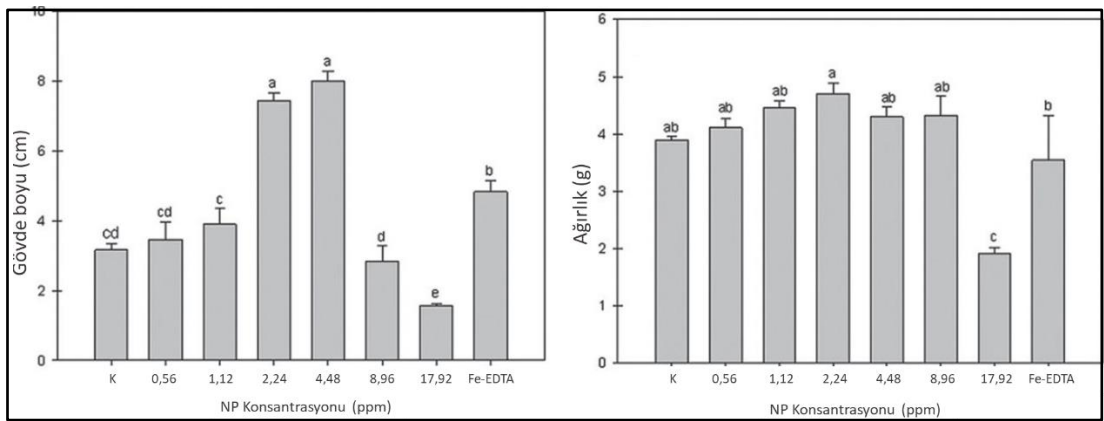
Şekil 6.48: Kum ortamı yaprak sayısı.



Şekil 6.49: Kum ortamı yaprak yüzey alanı ($p \leq 0,05$).



Şekil 6.50: Kum ortamı taze ağırlık ($p \leq 0,05$).



Şekil 6.51: Li ve ekibinin (2015) nanopartikül çalışmasından farklı uygulamalarda büyüme parametreleri grafikleri.

6.2.4. Kum Ortamında Elde Edilen Biyokimyasal Sonuçlar

İki hafta boyunca Fe(0) NP uygulamasına maruz kalan üç haftalık ayçiçeklerinden alınan taze yaprak ve kök dokuları sıvı azot ile Şoklanarak manyetik boncuk ile homojenizatörde ezildikten sonra, toplam protein, SOD ve POD enzim aktivitesini incelemek üzere ekstraksiyon yapılmıştır ve sonuçlar kaydedilmiştir. Aynı zamanda H₂O₂, MDA, klorofil ve karetenoid analizleri de yapılmıştır.

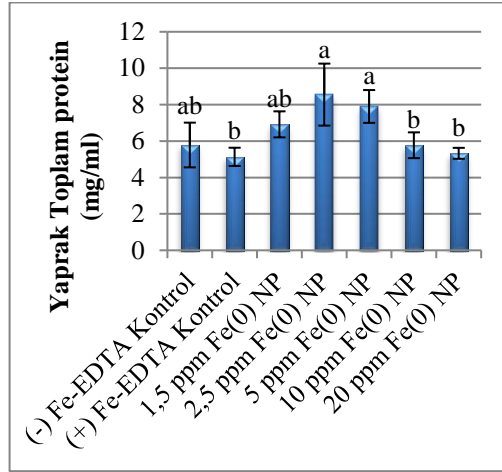
Yaprak dokularında 2,5 ve 5 ppm Fe(0) NP grupları, kök dokularında 20 ppm Fe(0) NP gurubu kontrol ve (+) Fe-EDTA grubuna göre anlamlı bir artışla en yüksek protein miktarını vermiştir [Şekil 6.52], [Şekil 6.53]. Yapraklarda SOD enzim aktivitesi, Fe-EDTA'lı grupta ve 10 ppm Fe(0) NP grubunda yüksek çıkmıştır. Kontrol, 1,5 ve 20 ppm Fe(0) NP gruplarında ise düŐmüŐtür [Şekil 6.54]. Yapraklarda POD enzim aktivitesine bakıldığında da 20 ppm grubunda düşüş görülmektedir [Şekil 6.56]. Köklerde SOD enzim aktivitesinde 2,5 ve 5 ppm Fe(0) NP grubunun yüksek sonuç verdiği ve 20 ppm Fe(0) NP grubunda yine bir düşüş olduğu gözlenmiştir [Şekil 6.55]. Köklerde POD enzim aktivitesine bakıldığında, 2,5 ppm Fe(0) NP grubunun yüksek olduğu, 10 ppm Fe(0) NP grubunun ise düşük olduğu görülmüştür [Şekil 6.57]. Kum ortamında ½ Hoagland solüsyonu ile sulanan karpuz bitkisine 2 ve 20 ppm Fe₂O₃ nanopartikülleri uygulandığında bitkinin fizyolojik fonksiyonlarının arttığı ve bu uygulamanın bitkide SOD ve POD enzim aktivitesinin artmasına yönelik olumlu bir rol oynadığı gözlenmiştir [Li vd., 2013].

En düşük H₂O₂ miktarı, yapraklarda anlamlı bir farkla 20 ppm Fe(0) NP grubu, köklerde 10 ppm Fe(0) NP grubunda gözlenmiştir [Şekil 6.58]. Genel olarak köklere bakıldığında nanopartikül uygulamalarındaki bitkilerde H₂O₂ birikimi kontrole ve Fe-EDTA grubuna göre düŐmüŐtür.

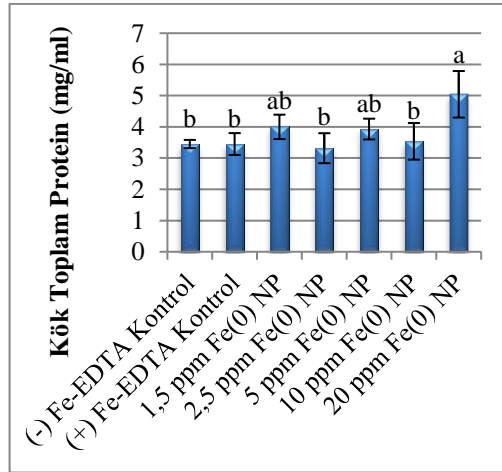
Yapraklarda 5 ve 10 ppm Fe(0) NP grubunda lipit peroksidasyonu daha fazla görülmüştür. Köklerde ise 20 ppm Fe(0) NP grubunda lipit peroksidasyonunda düşüş görülmüştür [Şekil 6.59].

Toplam klorofil miktarlarına bakıldığında, en yüksek değeri anlamlı bir farkla 20 ppm Fe(0) NP grubu vermiştir [Şekil 6.60]. Klorofil a ve klorofil b içerikleri de toplam protein sonuçlarıyla paralellik göstermektedir. Karetenoid içeriklerine bakıldığında, en yüksek değer kontrole göre anlamlı bir farkla 20 ppm Fe(0) NP grubunda, en düşük değer de 1,5 ppm Fe(0) NP grubunda görülmüştür [Şekil 6.60].

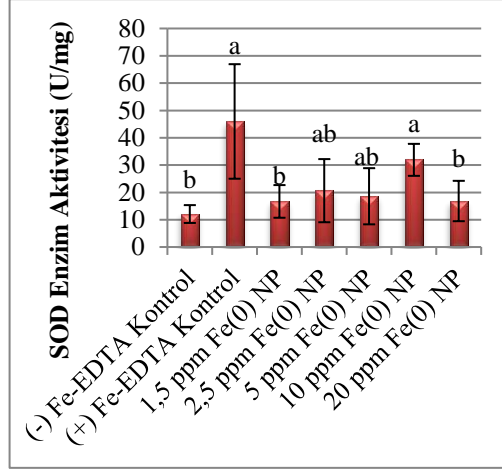
Bu verilerden yola çıkarak, kum ortamında 10 ve 20 ppm gibi yüksek konsantrasyonlardaki uygulamalar bitkiye daha iyi geldiği ve nanopartikül uygulamalarının kök dokularında Fe-EDTA'ya göre bitkilerde daha az oksidatif strese neden olduğu söylenebilir. Kum ortamında karpuzda yapılan çalışmada, 20 ppm Fe₂O₃ nanopartikülleri uygulamasında klorofil miktarının artışı gözlenmiştir [Li vd., 2013].



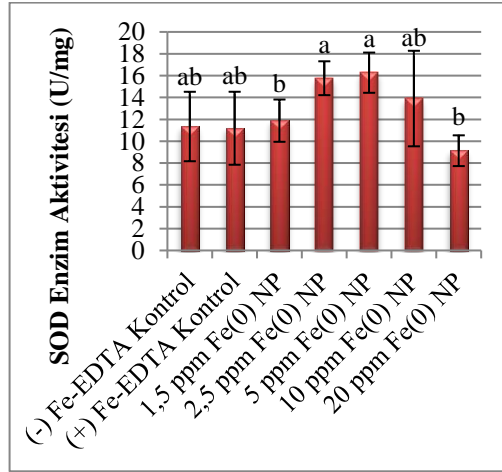
Şekil 6.52: Kum ortamı yaprak toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).



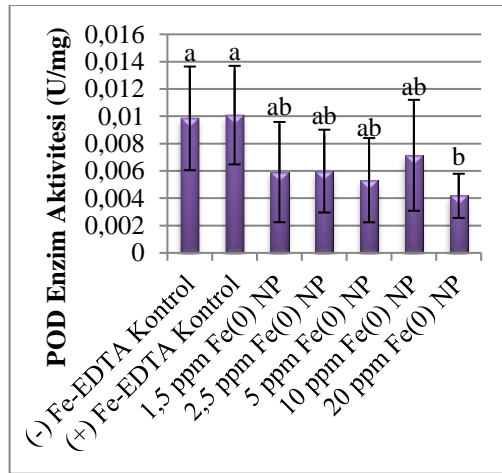
Şekil 6.53: Kum ortamı kök toplam protein miktarı ($p \leq 0,05$).



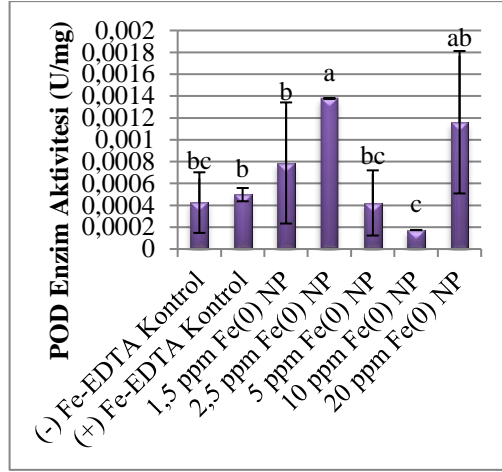
Şekil 6.54: Kum ortamı yaprak SOD enzim aktivitesi.



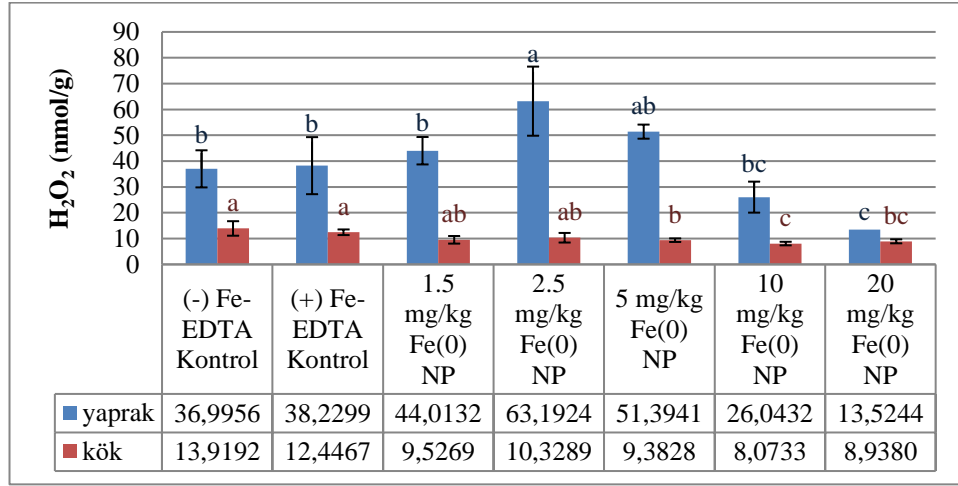
Şekil 6.55: Kum ortamı kök SOD enzim aktivitesi.



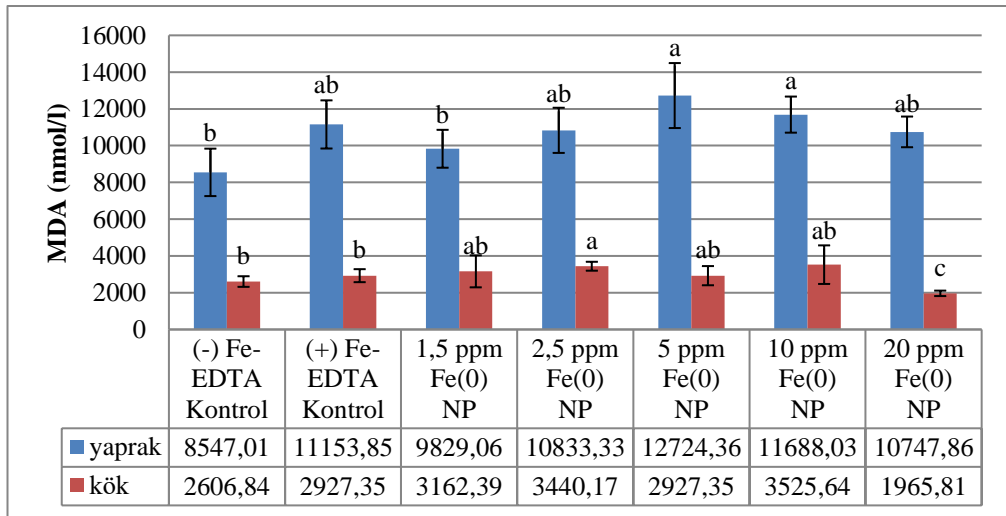
Şekil 6.56: Kum ortamı yaprak POD enzim aktivitesi.



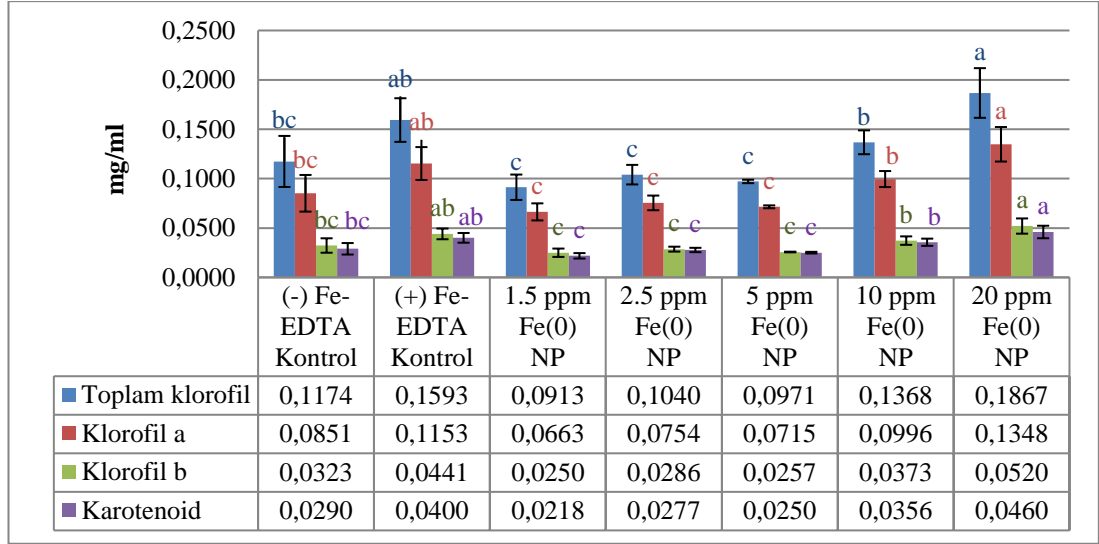
Şekil 6.57: Kum ortamı kök POD enzim aktivitesi.



Şekil 6.58: Kum ortamı H₂O₂ içeriği (p≤0,05).



Şekil 6.59: Kum ortamı MDA içeriği.



Şekil 6.60: Kum ortamı klorofil içeriği ($p \leq 0,05$).

7. SONUÇLAR

Tarımda verimi arttırmak için nanoteknoloji alternatif çözümler sunmaktadır. Sıfır değerlikli demir nanopartikülü [Fe(0) NP], çevresel riskinin az olması ve bitkiler için temel bir element olmasından dolayı araştırmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [Liu ve Lal, 2015]. Nanopartiküllerin bitkilere etkisi, partikül boyutuna, partikül sentez yöntemine, konsantrasyona, uygulama şekline, süresine ve bitkiye göre değişmektedir. Araştırılan malzeme, tarımda kullanılacak nano-gübreler olarak kullanılması hedeflendiği için kimyasallardan kaçınmak için yeşil sentez metodu tercih edilmiştir. Bu çalışmada, çimlenmiş bir haftalık ayçiçeği filizleri toprak, hidroponik ve kum ortamlarında iki hafta boyunca yeşil sentez ile elde edilmiş farklı konsantrasyonlarda (1,5, 2,5, 5, 10 ve 20 ppm) Fe(0) NP'ye maruz bırakılmıştır. Bir grup bitkiye de günümüzde ticari gübre olarak kullanılan Fe-EDTA uygulanmıştır. Deney sonunda, bitkiler, organ (gövde-kök boyu, yaprak sayısı-yüzey alanı, taze-kuru ağırlık), hücre (SOD ve POD enzim aktiviteleri, H₂O₂, MDA) ve organel (klorofiller ve karetenoid) düzeyinde incelenmiştir.

Sonuç olarak, hidroponik ortamda 2,5 ve 5 ppm Fe(0) NP uygulamaları, kum ve toprak ortamlarında ise 5 – 20 ppm arasındaki Fe(0) NP uygulamaları ayçiçeği gelişimi açısından olumlu sonuç vermiştir. Ticari gübrelerde yüksek miktarda kullanılan EDTA gibi kimyasal bir maddenin bağlı olduğu demire göre, bitkisel yol ile sentezlenen Fe(0) NP'nin düşük konsantrasyonlarda kullanımının ayçiçeği gelişiminde daha etkili sonuç verdiği ortaya konulmuştur. Bu çalışma, farklı miktarlarda kullanılan yeşil sentez sonucu elde edilmiş Fe(0) NP'lerin ayçiçeklerinde gelişime etkisini ortaya koyarak farklı bitkilerde de benzer nanogübrelerin kullanılabilceğini göstermiştir. Çalışma, gelecek çalışmalar için nanopartiküllerin hangi dozlarda bitki gelişimini arttırdığı, hangi dozlarda gelişimi olumsuz etkilediği ve su, kum, toprak gibi ortam yoğunluğunun nanopartiküllerin bitkiye ulaşmasını nasıl etkilediği gibi sorulara cevap vermiştir. Nanogübre-bitki etkileşiminde bitkideki morfolojik ve fizyolojik değişimleri ortaya koyarak, nanogübre uygulanmış bitkideki miRNA profilinin çıkarılması gibi yapılacak moleküler düzeydeki çalışmalar için zemin hazırlamıştır.

KAYNAKLAR

Aghdam M. T. B., Mohammadi H., Ghorbanpour M., (2016), "Effects of nanoparticulate anatase titanium dioxide on physiological and biochemical performance of *Linum usitatissimum* (Linaceae) under well-watered and drought stress conditions", *Brazilian Journal of Botany*, 39 (1), 139-146.

Alidoust D., Isoda A., (2013), "Effect of $\gamma\text{Fe}_2\text{O}_3$ nanoparticles on photosynthetic characteristic of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.): foliar spray versus soil amendment", *Acta Physiologiae Plantarum*, 35 (12), 3365-3375.

Ankamwar B., Chaudhary M., Sastry M., (2005), "Gold nanotriangles biologically synthesized using tamarind leaf extract and potential application in vapor sensing", *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry*, 35 (1), 19-26.

Andersen C. P., King G., Plocher M., Storm M., Pokhrel L. R., Johnson M. G., Rygielwicz P. T., (2016), "Germination and early plant development of ten plant species exposed to titanium dioxide and cerium oxide nanoparticles", *Environmental Toxicology and Chemistry*, 35 (9), 2223-2229.

Arnon D. I., (1949), "Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in *Beta vulgaris*", *Plant Physiology*, 24, 1-15.

Asada K., (1992), "Ascorbate peroxidase -a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants", *Physiologia Plantarum*, 85 (2), 235-241.

Auffan M., Rose J., Bottero J. Y., Lowry G. V., Jolivet J. P., Wiesner M. R., (2009), "Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective", *Nature Nanotechnology*, 4 (10), 634.

Barrios A. C., (2016), "Effects of citric acid coated and uncoated cerium oxide nanoparticles in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants", *Yüksek Lisans Tezi*, University of Texas at El Paso.

Beykaya M., Çağlar A., (2016), "Bitkisel özütler kullanılarak gümüş-nanopartikül (AgNP) sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkinlikleri üzerine bir araştırma", *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 16(3), 631-641.

Birecka H., Briber K. A., Catalfamo J. L., (1973), "Comparative studies on tobacco pith and sweet potato root isoperoxidases in relation to injury, indoleacetic acid, and ethylene effects", *Plant Physiology*, 52 (1), 43-49.

Bock D. G., Kane N. C., Ebert D. P., Rieseberg L. H., (2014), "Genome Skimming Reveals The Origin Of The Jerusalem Artichoke Tuber Crop Species: Neither From Jerusalem Nor An Artichoke", *New Phytologist*, 201 (3), 1021-1030.

Bowler C., Montagu M. V., Inze D., (1992), "Superoxide Dismutase and Stress Tolerance", *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 43 (1), 83-116.

Bradford M. M., (1976), "A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding", *Anal. Biochem.*, 72, 248-254.

Burke D. J., Pietrasiak N., Situ S. F., Abenojar E. C., Porche M., Kraj P., Lakliang Y., Samia A. C. S., (2015), "Iron oxide and titanium dioxide nanoparticle effects on plant performance and root associated microbes", *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (10), 23630-23650.

Cheng Z.-P., Chu X.-Z., Wu X.-Q., Xu J.-M., Zhong H., Yin J.-Z., (2017), "Controlled synthesis of silver nanoplates and nanoparticles by reducing silver nitrate with hydroxylamine hydrochloride. *Rare Metals*", 36 (10), 799-805.

Chinnamuthu C. R., Boopati P. M., (2009), "Nanotechnology and agroecosystem", *Madras Agric J*, 96, 17-31.

Crane R. A., Scott T. B., (2012), "Nanoscale zero-valent iron: future prospects for an emerging water treatment technology", *Journal of Hazardous Materials*, 211, 112-125.

Çakmak I., Horst J. H., (1991), "Effects of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*)", *Physiologia Plantarum*, 83, 463-468.

Dehkourdi E. H., Mosavi M., (2013), "Effect of anatase nanoparticles (TiO_2) on parsley seed germination (*Petroselinum crispum*) in vitro", *Biological Trace Element Research*, 155 (2), 283-286.

de la Rosa G., López-Moreno M. L., de Haro D., Botez C. E., Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L., (2013), "Effects of ZnO nanoparticles in alfalfa, tomato, and cucumber at the germination stage: root development and X-ray absorption spectroscopy studies", *Pure and Applied Chemistry*, 85 (12), 2161-2174.

Du W., Sun Y., Ji R., Zhu J., Wu J., Guo H., (2011), " TiO_2 and ZnO nanoparticles negatively affect wheat growth and soil enzyme activities in agricultural soil", *Journal of Environmental Monitoring*, 13 (4), 822-828.

Elanchezhian R., Kumar D., Ramesh K., Biswas A. K., Guhey A., Patra A. K., (2017), "Morpho-physiological and biochemical response of maize (*Zea mays* L.) plants fertilized with nano-iron (Fe_3O_4) micronutrient", *Journal of Plant Nutrition*, 40 (14), 1969-1977.

Elizabeth A., Bahadur V., Misra P., Prasad V. M., Thomas T., (2017), “Effect of different concentrations of iron oxide and zinc oxide nanoparticles on growth and yield of carrot (*Daucus carota* L.)”, *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6 (4), 1266-1269.

Erdim E., Aydın Y., Altınkut Uncuoğlu A., Vardar F., (2019), “Bitkisel Sistemlerde Nanoteknolojik Uygulamalar”. In: Altınkut Uncuoğlu A., Özden Çiftçi Y., Editörler, “Bitki Biyoteknolojisinde Güncel Yaklaşımlar”, Palme Yayınevi.

FAO, (2014), Görsel Veri: Dünyada Ayçiçeği Yağı Üretimi, Gıda ve Tarım Örgütü.

FAO, (2017), Görsel Veri: Ayçiçeği Üretim ve Ekim Alanları, Gıda ve Tarım Örgütü.

FAO, (2017), Ayçiçeği Yağı İthalatı ve İhracatı, Gıda ve Tarım Örgütü.

Feizi H., Amirmoradi S., Abdollahi F., Pour S. J., (2013), “Comparative Effects of Nanosized and Bulk Titanium Dioxide Concentrations on Medicinal Plant *Salvia officinalis* L.”, *Annual Research & Review in Biology*, 814-824.

Gao F., Liu C., Qu C., Zheng L., Yang F., Su M., Hong F., (2008), “Was improvement of spinach growth by nano-TiO₂ treatment related to the changes of Rubisco activase?”, *Biometals*, 21 (2), 211-217.

Gao J., Xu G., Qian H., Liu P., Zhao P., Hu Y., (2013), “Effects of nano-TiO₂ on photosynthetic characteristics of *Ulmus elongata* seedlings”, *Environmental Pollution*, 176, 63-70.

García-Gómez C., Babin M., Obrador A., Álvarez J. M., Fernández M. D., (2015), “Integrating ecotoxicity and chemical approaches to compare the effects of ZnO nanoparticles, ZnO bulk, and ZnCl₂ on plants and microorganisms in a natural soil”, *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (21), 16803-16813.

Giannopolitis C. N., Ries S. K., (1977), “Superoxide Dismutase, I. Occurrence in higher plants”, *Plant Physiol.* 59, 309-314.

Gottimukkala K. S. V., Harika R. P., Zamare D., (2017), “Green synthesis of iron nanoparticles using green tea leaves extract”, *J. Nanomed. Biother. Discovery*, 7 (151.10), 4172.

Gui X., Deng Y., Rui Y., Gao B., Luo W., Chen S., Nhan L. V., Li X., Liu S., Han Y., Liu L., Xing B., (2015), “Response difference of transgenic and conventional rice (*Oryza sativa*) to nanoparticles (γ Fe₂O₃)”, *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (22), 17716-17723.

Heiser C. B., Jr., (1978), “Taxonomy of *Helianthus* and Origin of Domesticated Sunflower”, In: *Sunflower Science and Technology*. Agron. 19. pp. 31-53.

Helaly M. N., El-Metwally M. A., El-Hoseiny H., Omar S. A., El-Sheery N. I., (2014), "Effect of nanoparticles on biological contamination of in vitro cultures and organogenic regeneration of banana", *Australian Journal of Crop Science*, 8 (4), 612.

Hoagland D. R., Arnon D. I., (1950), "The water-culture method for growing plants without soil", Circular. California Agricultural Experiment Station, 347(2nd edit).

Hong F., Zhou J., Liu C., Yang F., Wu C., Zheng L., Yang P., (2005), "Effect of nano-TiO₂ on photochemical reaction of chloroplasts of spinach", *Biological Trace Element Research*, 105 (1-3), 269-279.

Janmohammadi M., Yousefzadeh S., Dashti S., Sabaghnia N., (2017), "Effects of exogenous application of nano particles and compatible organic solutes on sunflower (*Helianthus annuus* L.)", *Botanica Serbica*, 41 (1).

Junglee S., Urban L., Sallanon H., Lopez-Lauri F., (2014), "Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide", *American Journal of Analytical Chemistry*, 5, 730-736.

Kim J. H., Lee Y., Kim E. J., Gu S., Sohn E. J., Seo Y. S., An H. J., Chang Y. S., (2014), "Exposure of iron nanoparticles to *Arabidopsis thaliana* enhances root elongation by triggering cell wall loosening", *Environmental Science & Technology*, 48 (6), 3477-3485.

Laware S. L., Raskar S., (2014), "Influence of zinc oxide nanoparticles on growth, flowering and seed productivity in onion", *International Journal of Current Microbiology Science*, 3 (7), 874-881.

Lee D. H., Lee C. B., (2000), "Chilling stress-induced changes of antioxidant enzymes in the leaves of cucumber: in gel enzyme activity assays", *Plant Science*, 159 (1), 75-85.

Lei Z., Mingyu S., Chao L., Liang C., Hao H., Xiao W., Xiaoqing L., Fan Y., Fengqing G., Fashui H., (2007), "Effects of nanoanatase TiO₂ on photosynthesis of spinach chloroplasts under different light illumination", *Biological trace element research*, 119 (1), 68-76.

LewisOscar F., Vismaya S., Arunkumar M., Thajuddin N., Dhanasekaran D., Nithya C., (2016), "Algal Nanoparticles: Synthesis and Biotechnological Potentials", *Algae - Organisms for Imminent Biotechnology*, 7, 157-182.

Li F., Vallabhaneni R., Yu J., Rocheford T., Wurtzel E.T., (2008), "The maize phytoene synthase gene family: overlapping roles for carotenogenesis in endosperm, photomorphogenesis, and thermal stress tolerance", *Plant Physiology*, 147 (3), 1334-1346.

Li J., Chang P. R., Huang J., Wang Y., Yuan H., Ren H., (2013), "Physiological effects of magnetic iron oxide nanoparticles towards watermelon", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 13 (8), 5561-5567.

Li J., Hu J., Ma C., Wang Y., Wu C., Huang J., Xing B., (2016), “Uptake, translocation and physiological effects of magnetic iron oxide (γ -Fe₂O₃) nanoparticles in corn (*Zea mays* L.)”, *Chemosphere*, 159, 326-334.

Li J., Hu J., Xiao L., Wang Y., Wang X., (2018), “Interaction mechanisms between α -Fe₂O₃, γ -Fe₂O₃ and Fe₃O₄ nanoparticles and *Citrus maxima* seedlings”, *Science of The Total Environment*, 625, 677-685.

Li X., Yang Y., Gao B., Zhang M., (2015), “Stimulation of peanut seedling development and growth by zero-valent iron nanoparticles at low concentrations”, *PloS One*, 10 (4), e0122884.

Liu R., Lal R., (2015), “Potentials of engineered nanoparticles as fertilizers for increasing agronomic productions”, *Science of The Total Environment*, 514, 131-139.

Lyu H., Ma C., Chen G., White J. C., Wang Z., Xing B., Dhankher O. P., (2017), “Titanium dioxide nanoparticles alleviate tetracycline toxicity to *Arabidopsis thaliana* (L.)”, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5 (4), 3204-3213.

Machado S., Grosso J. P., Nouws H. P. A., Albergaria J. T., Delerue-Matos C. (2014), “Utilization of food industry wastes for the production of zero-valent iron nanoparticles”, *Science of the Total Environment*, 496, 233-240.

Martínez-Fernández D., Vítková M., Bernal M. P., Komárek M., (2015), “Effects of nano-maghemite on trace element accumulation and drought response of *Helianthus annuus* L. in a contaminated mine soil”, *Water, Air, & Soil Pollution*, 226 (4), 101.

Mattiello A., Marchiol L., (2017), “Application of Nanotechnology in Agriculture: Assessment of TiO₂ Nanoparticle Effects on Barley”. In: Janus, M., Editor, “Application of Titanium Dioxide”, InTech: London, UK, 23-39.

Mhamdi A., Queval G., Chaouch S., Vanderauwera S., Van Breusegem F., Noctor G., (2010), “Catalase function in plants: a focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models”, *Journal of Experimental Botany*, 61 (15), 4197–4220.

Mingyu S., Xiao W., Chao L., Chunxiang Q., Xiaoqing L., Liang C., Hao H., Fashui H., (2007), “Promotion of energy transfer and oxygen evolution in spinach photosystem II by nano-anatase TiO₂”, *Biological Trace Element Research*, 119 (2), 183-192.

Moghadam M., Motalleb G., Fakhri B. A., (2015), “Nanoparticles and plant Biotechnology”, *Research in Biotechnology*, 6 (5), 01-15.

Mohammadi H., Amani-Ghadim A. R., Matin A. A., Ghorbanpour M., (2020), “Fe⁰ nanoparticles improve physiological and antioxidative attributes of sunflower

(*Helianthus annuus*) plants grown in soil spiked with hexavalent chromium”, 3 Biotech, 10 (1), 19.

Mohammadinejad R., Karimi S., Irvani S., Varma R. S., (2016), “Plant-derived nanostructures: types and applications”, Green Chemistry, 18 (1), 20-52.

Moteriya P., Padalia H., Chanda S., (2014), “Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Psidium guajava* L. Leaf Extract and Antibacterial Activity against Some Pathogenic Microorganisms”, Journal of Pharmaceutical Research, 8, 1579-1585.

Mukherjee A., Peralta-Videa J. R., Bandyopadhyay S., Rico C. M., Zhao L., Gardea-Torresdey J. L., (2014), “Physiological effects of nanoparticulate ZnO in green peas (*Pisum sativum* L.) cultivated in soil”, Metallomics, 6 (1), 132-138.

Nadagouda M. N., Varma R. S., (2008), “Green synthesis of Ag and Pd nanospheres, nanowires, and nanorods using vitamin: catalytic polymerisation of aniline and pyrrole”, Journal of Nanomaterials, 2008.

Nalci O. B., Nadaroglu H., Pour A. H., Gungor A. A., Haliloglu K., (2019), “Effects of ZnO, CuO and γ -Fe₃O₄ nanoparticles on mature embryo culture of wheat (*Triticum aestivum* L.)”, Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 136 (2), 269-277.

Ozkan Z. Y., Cakirgoz M., Kaymak E. S., Erdim E., (2018), “Rapid decolorization of textile wastewater by green synthesized iron nanoparticles”, Water Science and Technology, 77(2), 511-517.

Özcan O., Erdal H., Çakırca G., Yönden Z., (2015), “Oksidatif stres ve hücre içi lipid, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri”, Journal of Clinical and Experimental Investigations, 6 (3), 331-336.

Palchoudhury S., Jungjohann K. L., Weerasena L., Arabshahi A., Gharge U., Albattah A., Miller J., Patel K., Holler R. A., (2018), “Enhanced legume root growth with pre-soaking in α -Fe₂O₃ nanoparticle fertilizer”, RSC Advances, 8 (43), 24075-24083.

Palmqvist N. M., Seisenbaeva G. A., Svedlindh P., Kessler V. G., (2017), “Maghemite nanoparticles acts as nanozymes, improving growth and abiotic stress tolerance in *Brassica napus*”, Nanoscale Research Letters, 12 (1), 631.

Pariona N., Martínez A. I., Hernandez-Flores H., Clark-Tapia R., (2017), “Effect of magnetite nanoparticles on the germination and early growth of *Quercus macdougalii*”, Science of the Total Environment, 575, 869-875.

Peralta-Videa J. R., Hernandez-Viezcas J. A., Zhao L., Diaz B. C., Ge Y., Priester J. H., Holden P. A., Gardea-Torresdey J. L., (2014), “Cerium dioxide and zinc oxide nanoparticles alter the nutritional value of soil cultivated soybean plants”, Plant Physiology and Biochemistry, 80, 128-135.

Prasad T. N. V. K. V., Sudhakar P., Sreenivasulu Y., Latha P., Munaswamy V., Reddy K. R., Sreepasad T. S., Sajanlal P. R., Pradeep T., (2012), "Effect of nanoscale zinc oxide particles on the germination, growth and yield of peanut", *Journal of Plant Nutrition*, 35 (6), 905-927.

Prathna T. C., Chandrasekaran N., Raichur A. M., Mukherjee A., (2011), "Biomimetic synthesis of silver nanoparticles by Citrus limon (lemon) aqueous extract and theoretical prediction of particle size", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 82 (1), 152-159.

Qi M., Liu Y., Li T., (2013), "Nano-TiO₂ improve the photosynthesis of tomato leaves under mild heat stress", *Biological Trace Element Research*, 156 (1-3), 323-328.

Rafique R., Arshad M., Khokhar M. F., Qazi I. A., Hamza A., Virk N., (2015), "Growth response of wheat to titania nanoparticles application", *NUST Journal of Engineering Sciences*, 7 (1), 42-46.

Raghuvanshi P., Sharma A., Sharma H., Sharma S., Devi A., Shirkot P., Chauhan A., (2017), "Biosynthesis and characterization of gold nanoparticles from plant growth promoting rhizobacteria", *International Journal of Chemical Studies*, 5 (5), 525-532.

Raliya R., Tarafdar J. C., (2013), "ZnO nanoparticle biosynthesis and its effect on phosphorous-mobilizing enzyme secretion and gum contents in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.)", *Agricultural Research*, 2 (1), 48-57.

Rezaei F., Moaveni P., Mozafari H., (2015), "Effect of different concentrations and time of nano TiO₂ spraying on quantitative and qualitative yield of soybean (*Glycine max* L.) at Shahr-e-Qods, Iran", *In Biological Forum, Research Trend*, 7 (1), 957.

Rico C. M., Majumdar S., Duarte-Gardea M., Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L., (2011), "Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain", *J Agric Food Chem*, 59, 3485–3498.

Rizwan M., Ali S., Ali B., Adrees M., Arshad M., Hussain A., Rehman M. Z., Waris A. A., (2019), "Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat", *Chemosphere*, 214, 269-277.

Rui M., Ma C., Hao Y., Guo J., Rui Y., Tang X., Zhao Q., Fan X., Zhang Z., Hou T., Zhu S., (2016), "Iron oxide nanoparticles as a potential iron fertilizer for peanut (*Arachis hypogaea*)", *Frontiers in Plant Science*, 7, 815.

Sabaghnia N., Janmohammadi M., (2017), "Effect nano-TiO₂ and nano-silica on some traits of sunflower", *In VIII International Scientific Agriculture Symposium, Agrosym 2017, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, October 2017. Book of Proceedings* (pp. 319-325). Faculty of Agriculture, University of East Sarajevo.

Safaepour M., Shahverdi A. R., Shahverdi H. R., Khorramizadeh M. R., Gohari A. R., (2009), "Green synthesis of small silver nanoparticles using geraniol and its cytotoxicity against fibrosarcoma-wehi 164", *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 1 (2), 111.

Sedghi M., Hadi M., Toluie S. G., (2013), "Effect of nano zinc oxide on the germination parameters of soybean seeds under drought stress", *Annales of West University of Timisoara, Series of Biology*, 16 (2), 73.

Servin A. D., Castillo-Michel H., Hernandez-Viezcas J. A., Diaz B. C., Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L., (2012), "Synchrotron micro-XRF and micro-XANES confirmation of the uptake and translocation of TiO₂ nanoparticles in cucumber (*Cucumis sativus*) plants", *Environmental Science & Technology*, 46 (14), 7637-7643.

Servin A. D., Morales M. I., Castillo-Michel H., Hernandez-Viezcas J. A., Munoz B., Zhao L., Nunez J. E., Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L., (2013), "Synchrotron verification of TiO₂ accumulation in cucumber fruit: a possible pathway of TiO₂ nanoparticle transfer from soil into the food chain", *Environmental Science & Technology*, 47 (20), 11592-11598.

Shahrekizad M., Gholamalizadeh Ahangar A., Mir N., (2015), "EDTA-Coated Fe₃O₄ Nanoparticles: a Novel Biocompatible Fertilizer for Improving Agronomic Traits of Sunflower (*Helianthus annuus*)", *Journal of Nanostructures*, 5 (2), 117-127.

Shankar S. S., Ahmad A., Pasricha R., Sastry M., (2003a), "Bioreduction of chloroaurate ions by geranium leaves and its endophytic fungus yields gold nanoparticles of different shapes", *Journal of Materials Chemistry*, 13 (7), 1822-1826.

Shankar S. S., Ahmad A., Sastry M., (2003b), "Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles", *Biotechnology Progress*, 19 (6), 1627-1631.

Shankar S. S., Rai A., Ahmad A., Sastry M., (2004a), "Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth", *Journal of Colloid and Interface Science*, 275 (2), 496-502.

Shankar S. S., Rai A., Ankamwar B., Singh A., Ahmad A., Sastry M., (2004b), "Biological synthesis of triangular gold nanoprisms", *Nature Materials*, 3 (7), 482-488.

Shankamma K., Yallappa S., Shivanna M. B., Manjanna J., (2016), "Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization", *Applied Nanoscience*, 6 (7), 983-990.

Sharma D., Kanchi S., Bisetty K., (2015), "Biogenic synthesis of nanoparticles: A review", *Arabian Journal of Chemistry*, 25.

Sheykhbaglou R., Sedghi M., Shishevan M. T., Sharifi R. S., (2010), "Effects of nano-iron oxide particles on agronomic traits of soybean", *Notulae Scientia Biologicae*, 2 (2), 112-113.

Solanki P., Bhargava A., Chhipa H., Jain N., Panwar J., (2015), “Nano-fertilizers and their smart delivery system”, In: Rai M., Ribeiro C., Mattoso L., Duran N., Editors, “Nanotechnologies in Food and Agriculture”, Springer, Cham.

Szymańska R., Kołodziej K., Ślesak I., Zimak-Piekarczyk P., Orzechowska A., Gabruk M., Zadło A., Habina I., Knap W., Burda K., Kruk J., (2016), “Titanium dioxide nanoparticles (100–1000 mg/l) can affect vitamin E response in *Arabidopsis thaliana*”, *Environmental Pollution*, 213, 957-965.

Tassi E., Giorgetti L., Morelli E., Peralta-Videa J. R., Gardea-Torresdey J. L., Barbafieri M., (2017), “Physiological and biochemical responses of sunflower (*Helianthus annuus* L.) exposed to nano-CeO₂ and excess boron: modulation of boron phytotoxicity”, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 50-58.

T. C. Ticaret Bakanlığı, Esnaf, Sanatkârlar ve Koperatifçilik Genel Müdürlüğü, (2019), “2018 Yılı Ayçiçeği Raporu”.

Tilman D., Knops J., Wedin D., Reich P., (2002), “Plant diversity and composition: effects on productivity and nutrient dynamics of experimental grasslands”, In: Loreau M, Naeem S, Inchausti P, Editors, “Biodiversity and Ecosystem Functioning”, Oxford University Press, Oxford, pp 21–35.

Torabian S., Zahedi M., Khoshgoftar A. H., (2016), “Effects of foliar spray of two kinds of zinc oxide on the growth and ion concentration of sunflower cultivars under salt stress”, *Journal of Plant Nutrition*, 39 (2), 172-180.

TUIK, (2019), Tahıllar ve diğer bitkisel ürünlerin alan ve üretim miktarları (seçilmiş ürünlerde), Türkiye İstatistik Kurumu.

Verma S. K., Das A. K., Patel M. K., Shah A., Kumar V., Gantait S., (2018), “Engineered nanomaterials for plant growth and development: A perspective analysis”, *Science of the Total Environment*, 630, 1413-1435.

Yan X.-Y., (2018), “Nanozyme: A new type of artificial enzyme”, *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 45 (2), 101-104.

Yang F., Liu C., Gao F., Su M., Wu X., Zheng L., Hong F., Yang P., (2007), “The improvement of spinach growth by nano-anatase TiO₂ treatment is related to nitrogen photoreduction”, *Biological Trace Element Research*, 119 (1), 77-88.

Yanık F., (2019), “*Triticum aestivum* L. (Buğday)’da Gümüş Nanopartikülleri İle Oluşturulmuş Programlı Hücre Ölümünün Belirlenmesi”, Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi.

Web 1, (2020), <https://adnanotubes.com/ultimate-uses-of-carbon-nanotubes>, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Web 2, (2020), <https://tr.iknowkh.com/79445-071026162149-88>, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Web 3, (2020), <https://wid.wisc.edu/top-ten>, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Web 4, (2020), <https://justjournal.org/2017/12/14/nanoparticles-small-particles-big-potential>, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Web 5, (2020), http://www.tekdozdijital.com/wp-content/uploads/2016/11/image_650_365.jpg, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Web 6, (2020), <https://www.mdpi.com/2075-4426/7/1/2/xml>, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Web 7, (2020), <http://educationncareers.blogspot.com/2012/11/types-of-infections.html>, (Erişim Tarihi: 29/06/2020).

Zhang R., Zhang H., Tu C., Hu X., Li L., Luo Y., Christie P., (2015), “Phytotoxicity of ZnO nanoparticles and the released Zn (II) ion to corn (*Zea mays* L.) and cucumber (*Cucumis sativus* L.) during germination”, *Environmental Science and Pollution Research*, 22 (14), 11109-11117.

Zhao L., Hernandez-Viezcas J. A., Peralta-Videa J. R., Bandyopadhyay S., Peng B., Munoz B., Keller A. A., Gardea-Torresdey J. L., (2013), “ZnO nanoparticle fate in soil and zinc bioaccumulation in corn plants (*Zea mays*) influenced by alginate”, *Environmental Science: Processes & Impacts*, 15 (1), 260-266.

Ze Y., Liu C., Wang L., Hong M., Hong F., (2011), “The regulation of TiO₂ nanoparticles on the expression of light-harvesting complex II and photosynthesis of chloroplasts of *Arabidopsis thaliana*”, *Biological Trace Element Research*, 143 (2), 1131-1141.

Zheng L., Hong F., Lu S., Liu C., (2005), “Effect of nano-TiO₂ on strength of naturally aged seeds and growth of spinach”, *Biological Trace Element Research*, 104 (1), 83-91.

ÖZGEÇMİŞ

Kevser ÖZKURT, 1994 yılında İstanbul'da doğdu. 2012 yılında başladığı Marmara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, (%100 İng) Biyomühendislik Bölümü'nü 2017 yılında başarıyla tamamlayarak aynı yıl yüksek lisans eğitimine Gebze Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, (%30 İng) Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda başladı. Lisans öğrenimi sürecinde, Pendik Veteriner Kontrol Enstitüsü'nde bakteriyel ve viral teşhis, aşı üretim gibi çeşitli laboratuvarlarda ve Romanya, Bükreş Politeknik Üniversitesi, Uygulamalı Kimya ve Malzeme Bilimi Mühendisliği, Oksit Malzemeler ve Nanomalzemeler Laboratuvarı'nda stajyerlik yaptı. Ek olarak, lisans eğitiminin son iki yılını, Marmara Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü, Prof. Dr. Ahu ALTINKUT UNCUOĞLU yürütücülüğündeki Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı ve Biyoloji Bölümü, Prof. Dr. Yıldız AYDİN yürütücülüğündeki Bitki Doku Kültürü ve Moleküler Laboratuvarı'nda gönüllü stajyerlik yaptı. Yüksek lisans sürecinde, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü, Bitki Biyoteknolojisi Laboratuvarı'nda TÜBİTAK 1009-Stratejik Ar-Ge Projelerini Destekleme Programı kapsamında altı ay boyunca bursiyerlik yapmıştır. Ortak bir çalışma ürünü olan yüksek lisans tezi sürecinde, TÜBİTAK BİDEB 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı'ndan bir yıl boyunca burs almaya hak kazanmıştır.