

**GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİSFENOL A VE TETRABROMOBİSFENOL
A’NIN EKMEKLİK VE MAKARNALIK BUĞDAY
ÇEŞİTLERİNDEKİ ETKİLERİ**

**BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MEDET KORKUNÇ
ARALIK 2010**

**Bisfenol A ve Tetrabromobisfenol A'nın Ekmeklik ve
Makarnalık Buğday Çeşitlerindeki Etkileri**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Tezi**

**Danışman
Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN**

**Medet KORKUNÇ
Aralık 2010**

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: Bisfenol A ve Tetrabromobisfenol A'nın Ekmeklik ve Makarnalık
Buğday Çeşitlerindeki Etkileri

Öğrencinin, Adı Soyadı: Medet KORKUNÇ
Tez Savunma Tarihi: 15.12.2010


Prof. Dr. Ramazan KOÇ
FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN
Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi
olarak kabul edilmiştir.


Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN
Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi
olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

İmzası

Prof. Dr. Saadet D. SAYGIDEĞER



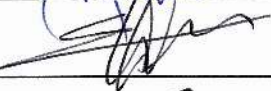
Doç. Dr. Canan CAN



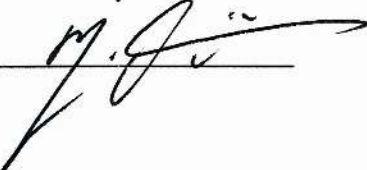
Yrd. Doç. Dr. Ali ÖZKAN



Yrd. Doç. Dr. Hasan AKGÜL



Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN



ÖZET

BİSFENOL A VE TETRABROMOBİSFENOL A’NIN EKMEKLİK VE MAKARNALIK BUĞDAY ÇEŞİTLERİNDEKİ ETKİLERİ

KORKUNÇ, Medet

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN

Aralık 2010, 52 sayfa

Bu çalışmada, bisfenol A ve tetrabromobisfenol A’nın ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario ve makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit tohumlarının çimlenmesine etkileri ile buğday fidelerinin kök ve otsu gövdelerindeki bazı biyokimyasal parametrelere etkileri belirlenmiştir. Tohum çimlenmesi BPA ve TBBPA’nın 10 mg/L derişiminde önemli bir değişim göstermemiştir. Fakat BPA ve TBBPA’nın 50 mg/L’lik derişiminde ise tohum çimlenmesi önemli düzeyde azalmıştır. Benzer olarak, Zenit çeşidinin 50 mg/L BPA etkisindeki fideler hariç, yüksek BPA ve TBBPA derişimlerinde kök ve gövde gelişimi de olumsuz yönde etkilenmiştir. BPA ve TBBPA’nın buğday çeşitlerinin kök ve gövdelerinde oksidatif strese neden olduğu, oluşan H_2O_2 ’nin yanında kantitatif olarak analiz edilen malondialdehit ve protein olmayan SH grup miktarlarıyla da ortaya çıkartılmıştır. BPA ve TBBPA’nın buğday köklerindeki toksik etkileri histokimyasal olarak da belirlenmiştir. Buğday çeşitlerinin 10 mg/L’lik derişimlerde oksidatif stresi tolere edebilme kapasitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Uygulanan kimyasalların derişimine bağlı olarak protein miktarlarında azalma olmuştur. Kök ve gövdelerin H_2O_2 ve MDA miktarlarındaki artış, oksidatif stresin teşvik ettiği sonuçlardan kaynaklandığını düşündürmüştür.

Anahtar Kelimeler: Biyokimyasal etki, bisfenol A, buğday, tetrabromobisfenol A, tohum çimlenmesi

ABSTRACT

EFFECTS OF BISPHENOL A AND TETRABROMOBISPHENOL A ON THE BREAD AND DURUM WHEAT VARIETIES

KORKUNÇ, Medet

M.Sc. in Biology Department

Supervisor: Dr. Muhittin DOĞAN

December 2010, 52 pages

In the present study, effects of BPA and TBBPA on seed germination of bread wheat variety Sagittario and durum wheat variety Zenit and some biochemical changes in their seedling roots and shoots were determined. The seed germination did not significantly change in 10 mg/L BPA and TBBPA applications. However, seed germinations were significantly inhibited by 50 mg/L BPA and TBBPA concentration of both varieties, exception of 50 mg/L BPA in Zenit. Similarly, root and shoot developments were adversely affected by high concentrations of BPA and TBBPA. BPA and TBBPA-induced oxidative stress in roots and shoots demonstrating by H_2O_2 formation was also evaluated quantitatively with malondialdehyde and non-protein SH groups. Toxic effects of BPA and TBBPA on the roots were histochemically determined as well. Wheat varieties have the capacity to tolerate the oxidative stress at 10 mg/L concentrations. Concentration-dependant decreases in protein contents of roots and shoots were determined. Enhancements in H_2O_2 level and lipid peroxidation in roots and shoots were assumed to be resulted from provoked oxidative stress.

Key words: Biochemical effect, bisphenol A, seed germination, tetrabromobisphenol A, wheat

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Öğr. Gör. Dr. Muhittin DOĞAN'a,

Desteklerini esirgemeyen bölüm hocalarımdan Sayın Prof. Dr. Saadet D. SAGIDEĞER ve Doç. Dr. Canan CAN başta olmak üzere emeği olan tüm bölüm hocalarıma,

Çalışmalarında yardımlarını gördüğüm başta Doktorant Önder YUMRUTAŞ olmak üzere diğer bölüm arkadaşlarıma,

Varlıklarından güç aldığım sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

İyi ve kötü günlerimde yanımda olan sevgili eşime,

En içten şükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
TABLolar LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xi
BÖLÜM 1: GİRİŞ.....	1
1.1. Bisfenol A	2
1.2. Tetrabromobisfenol A.....	5
1.3. Amaç.....	7
BÖLÜM 2: LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	8
BÖLÜM 3: MATERYAL VE METOD.....	11
3.1. Materyal.....	11
3.1.1. Bitki Materyali.....	11
3.1.2. Araştırmada Kullanılan Test Kimyasalları.....	11
3.2. Metod.....	11
3.2.1. Deney Ortamı ve Uygulama.....	11
3.2.2. Ölçümler.....	12
3.2.3. Çimlenme Testleri.....	12
3.2.4. H ₂ O ₂ Belirleme.....	12
3.2.5. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi.....	12
3.2.6. Protein Olmayan –SH Grupların Belirlenmesi	13
3.2.7. Radikal Temizleme Aktivitesi.....	13
3.2.8. Protein Analizi.....	13
3.2. 9. Histokimyasal Analizler.....	13
3.2.10. İstatistiksel Analiz.....	14
BÖLÜM 4: ARAŞTIRMA BULGULARI.....	15
4.1. BPA ve TBBPA’nın Çimlenmeye Etkisi.....	15

4.2. BPA ve TBBPA'nın Kök Gelişimine Etkisi.....	16
4.3. BPA ve TBBPA'nın Otsu Gövde Gelişimine Etkisi.....	18
4.4. Vigor İndeksi (VI).....	19
4.5. BPA ve TBBPA Etkisinde Hidrojen Peroksit Derişimleri.....	21
4.5.1. Köklerdeki Hidrojen Peroksit Derişimleri.....	21
4.5.2. Otsu Gövdelerdeki Hidrojen Peroksit Derişimleri.....	22
4.6. BPA ve TBBPA Etkisinde Lipid Peroksidasyonu.....	24
4.6.1. Köklerdeki Malondialdehit (MDA) Miktarları.....	24
4.6.2. Otsu Gövdelerdeki Malondialdehit (MDA) Miktarları.....	25
4.7. BPA ve TBBPA Etkisinde Protein Olmayan SH Grup Derişimleri...	27
4.7.1. Köklerdeki Protein Olmayan SH Grup Derişimleri.....	27
4.7.2. Otsu Gövdelerdeki Protein Olmayan SH Grup Derişimleri.....	28
4.8. BPA ve TBBPA Etkisinde Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	30
4.8.1. Köklerdeki Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	30
4.8.2. Otsu Gövdelerdeki Radikal Temizleme Aktiviteleri.....	31
4.9. BPA ve TBBPA Etkisinde Protein Miktarları.....	33
4.9.1. Köklerdeki Protein Miktarları.....	33
4.9.2. Otsu Gövdelerdeki Protein Miktarları.....	34
4.10. BPA ve TBBPA Etkisinde Histokimyasal Değişimler.....	36
4.10.1. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi.....	36
4.10.2. Membran Sağlamlığının Belirlenmesi.....	38
BÖLÜM 5: TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	47

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa no
Şekil 1.1. BPA'nın kimyasal yapısı.....	3
Şekil 1.2. TBBPA'nın kimyasal yapısı.....	6
Şekil 4.1. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisinde çimlendirilen ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun final çimlenme yüzdeleri.....	15
Şekil 4.2. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisinde çimlendirilen makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in final çimlenme yüzdeleri.....	16
Şekil 4.3. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun kök uzunlukları.....	17
Şekil 4.4. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in kök uzunlukları.....	17
Şekil 4.5. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun otsu gövde uzunlukları.....	18
Şekil 4.6. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in otsu gövde uzunlukları.....	19
Şekil 4.7. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun vigor indeksleri.....	20
Şekil 4.8. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in vigor indeksleri.....	20
Şekil 4.9. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin hidrojen peroksit miktarları.....	21
Şekil 4.10. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin hidrojen peroksit miktarları.....	22
Şekil 4.11. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik	23

	buğday çeşitlerinden Sagittario otsu gövdelerinin hidrojen peroksit miktarları.....	
Şekil 4.12.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit otsu gövdelerinin hidrojen peroksit miktarları.....	23
Şekil 4.13.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin MDA miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır.....	24
Şekil 4.14.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin MDA miktarları.....	25
Şekil 4.15.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario otsu gövdelerinin MDA miktarları.....	26
Şekil 4.16.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit otsu gövdelerinin MDA miktarları.....	26
Şekil 4.17.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin protein olmayan SH grup miktarları.....	27
Şekil 4.18.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin protein olmayan SH grup miktarları.....	28
Şekil 4.19.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario gövdelerinin protein olmayan SH grup miktarları.....	29
Şekil 4.20.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin protein olmayan SH grup miktarları.....	29
Şekil 4.21	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin radikal temizleme aktiviteleri.....	30
Şekil 4.22.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık	31

	buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin radikal temizleme aktiviteleri.....	
Şekil 4.23.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario gövdelerinin radikal temizleme aktiviteleri.....	32
Şekil 4.24.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin radikal temizleme aktiviteleri.....	32
Şekil 4.25.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin protein miktarları.	33
Şekil 4.26.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin protein miktarları.....	34
Şekil 4.27.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario gövdelerinin protein miktarları.....	35
Şekil 4.28.	Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin protein miktarları....	35
Şekil 4.29.	Sagittario'nun farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerindeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.....	36
Şekil 3.30.	Sagittario'nun farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerindeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.....	37
Şekil 3.31.	Zenit'in farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerindeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi...	37
Şekil 4.32.	Zenit'in farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerindeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.....	38
Şekil 4.33.	Sagittario'nun farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.....	39
Şekil 4.34.	Sagittario'nun farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak	39

belirlenmesi.....

- Şekil 4.35.** Zenit'in farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.... 40
- Şekil 4.36.** Zenit'in farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.... 40

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa no
Tablo 1.1. TBBPA'nın bazı fiziksel özellikleri.....	6

SİMGELER VE KISALTMALAR

BPA	: Bisfenol A
DPPH	: 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl
EPA	: Environmental Protection Agency
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
MDA	: Malondialdehit
POD	: Peoksidaz
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SH	: Sülfidril
TBPPA	: Tetrabrolobisfenol A

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Dünya yüzeyinde yaşamını sürdüren canlıların hayatları boyunca ilişkilerini sürdürdüğü dış ortam çevre olarak tanımlanmaktadır. Hava, su ve toprak bu çevrenin fiziksel unsurlarını, insan, hayvan, bitki ve diğer mikroorganizmalar ise biyolojik unsurlarını teşkil etmektedir. Doğanın temel fiziksel unsurları olan, hava, su ve toprak üzerinde olumsuz etkilerin oluşması ile ortaya çıkan, canlı öğelerin hayati aktivitelerini olumsuz yönde etkileyen, cansız çevre öğeleri üzerinde yapısal zararlar meydana getiren ve niteliklerini bozan yabancı maddelerin hava, su ve toprağa yoğun bir şekilde karışması olayına çevre kirliliği adı verilmektedir (tr.wikipedia.org).

İnsanlık tarih boyunca sürekli bir gelişme içerisinde. Gelişme başta teknoloji olmak üzere pek çok alanda devam etmektedir. Gelişen teknolojinin yaşamımıza getirdiği rahatlık yanında, bu gelişmenin tabiata ve çevreye verdiği kirliliğin boyutu her geçen gün hızla artmaktadır. Yaşamı daha mükemmel hale getirmek, daha sağlıklı ve uzun bir ömür sağlayabilmek amacıyla dönük bu gelişmelerin, gerek kırsal, gerek kentsel alanlarda olsun, doğal kaynakları bozduğu su, hava, toprak kirlenmesine yol açtığı, bitki ve hayvan varlığına zarar verdiği son yıllarda inkar edilemez bir gerçek haline dönüşmüştür (tr.wikipedia.org)

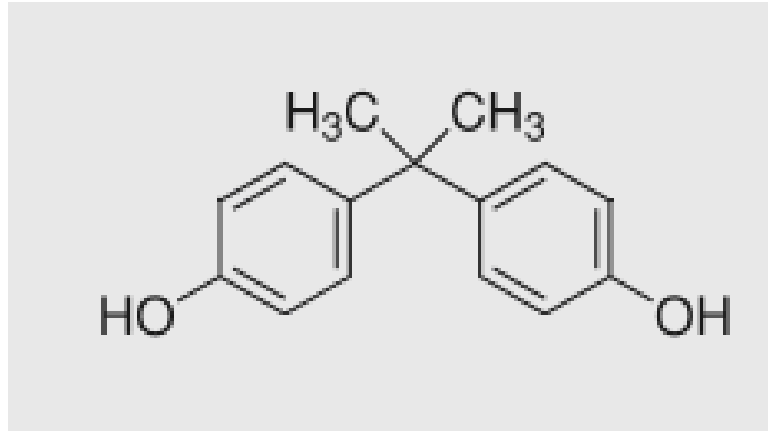
Bu etmenlerin sonucunda pek çok zararlı madde çevreye yayılmaktadır. Bunların başında ağır metaller, pestisitler, organik çözücü maddeler, hidrokarbonlar, insektisitler vs. ve yapısında fenol grubu içeren pek çok madde bulunmaktadır. Bu maddeler canlı ve cansız çevre arasında girdikleri etkileşimlerden dolayı özellikle canlılara pek çok zararlar vermektedir. Özellikle insanlarda bu kimyasalların vücuda girmesi ve birikmesi sonucunda başta kanser pek çok rahatsızlığa sebep olduğu bilinmektedir. Bu maddelerden oldukça toksik olan iki tanesi de Bisfenol A (BPA) ve Tetrabromobisfenol A (TBBPA)'dır.

1.1. Bisfenol A

Bisfenol A, iki fenol ve polikarbonat moleküllerinin birleşmesiyle elde edilen bir tür organik bileşiktir. Hidroklorik asit başta olmak üzere, asit sınıfındaki maddeler aracılığıyla işlenmeye müsait olan bir maddedir. (Şekil 1.1.)

Bisfenol A'nın kullanım alanına bağlı olarak artan talep nedeniyle yıllık üretimi de giderek artmaktadır. Yapılan araştırmalar sadece Avrupa'da 1997–1998 yılları arasında 40.000 ton Bisfenol A kullanılmıştır. Bisfenol A'nın en fazla kullanıldığı alan %60'lık oranla polikarbonat plastik üretimidir. Bunu %26'lık oranla epoksi reçine üretimi takip etmektedir. Genel olarak polyester üretimi, termal kağıt üretimi, PVC plastiklerde katkı maddesi olarak kullanımı, lastik ve poliamid sanayinde kullanımı %0.2-0.3 oranlarında değişmektedir. Günlük hayatımızda kullandığımız PVC plastik pencereler, kompakt disk, iş güvenlik kaskları, kurşungeçirmez camların yüzeyine kaplanan film, otomotiv parçaları, toz boya, su ve süt şişesi, bebek biberonu, birçok elektrik ve elektronik parça yapımında Bisfenol A kullanılmaktadır (ECB, 2003).

Polikarbonat plastikler ve epoksi reçineler genel olarak gıda saklama poşetleri, su, kola ve meyve suyu şişeleri, kola ve bira kutularının iç yüzeyinin kaplandığı plastik film yapımında, bebek biberonu ve kompakt disk yapımında kullanılmaktadır.



Şekil 1.1. BPA'nın kimyasal yapısı

Yüksek sıcaklığa dayanıklı polikarbonat plastikler yaygın olarak otomotiv sektöründe de kullanılmaktadır. Bisfenol A'nın çok geniş kullanım alanının olması

günlük hayatta kişilerin Bisfenol A ile temas etme risklerini arttırmaktadır (Staples, vd., 1998). 2005 yılında BPA'nın yıllık üretimi 3.200.000 ton/yıl olarak hesaplanmıştır (EPA, 2005). Avrupa'da 4 şirket altı üretim alanında BPA'nın 700.000 tonunu üretir ki bu fabrikalardan sadece güney ispanyadaki bir tanesi tek başına 250.000 tondan daha fazlasını üretmektedir (European Comission, 2004). Bisfenol A ciltleme, plastik sertleştirici, boyalar ve dolgu maddesi için ara ürün olarak kullanılmaktadır. BPA ayrıca polikarbonat reçineler ve epoksi reçineleri için substrat olarak kullanılmaktadır. Bununla birlikte, alev geciktirici, sıvı akışkanlığını azaltmak ve termal kağıtlar için ek madde olarak kullanılmaktadır. Otomotiv sektörü cam ve metal gibi geleneksel materyallerin yerini alan reçine ile toplam polikarbonat tüketimini % 20'sini kullanmaktadır. Audio kompakt disk, CD'leri kaydedebilen CD-ROM'lar ve DVD'leri içeren optik ortamlar bu polikarbonat marketlerin hızlı bir şekilde büyüyen (yaklaşık olarak %15-20) bir dilimini içerir (WWF, 2000).

Bisfenol A'nın çevresel konsantrasyonu hakkında yapılan çalışmalarda yüzey sularında Bisfenol A konsantrasyonlarının farklılıklar gösterdiği belirtilmektedir. Avrupa'da yapılan çalışmalarda Bisfenol A'nın yüzey sularındaki oranlarının farklı ülkelerin sınırlarından geçen aynı nehirde bile farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda şehir şebekesi suyunda Bisfenol A bulunduğu belirtilmektedir (Wenzel vd., 2003). Bisfenol A'nın büyük miktarlarda çevreye bulaşması, üretim sırasında oluşan atıkların yeterince arıtılmadan atık sularla yüzey sularına verilmesi, Bisfenol A depolarında meydana gelen kaçaklar ve taşımacılık sırasında meydana gelen kazalarla gerçekleşmektedir. 1993 yılında üretilen 640.000 ton Bisfenol A'nın yaklaşık %0.017'si çeşitli yollarla çevreye dağılmıştır (Staples vd., 1998).

Atıkların toplandığı alanlar sucul ortamlarda BPA kontaminasyonunun ana kaynağıdır. Çünkü BPA çoğunla çözünür (120- 300 mg/L, pH 7) ve çok düşük bir değişkenliğe sahiptir (Staples vd., 1998). Bununla birlikte BPA nötr pH'da ve oda sıcaklığında PVC'den suya geçebilir. Bu plastikten suya karışma yoluyla insanın maruz kalmasının önemli bir kaynağıdır. Bununla birlikte BPA suya karıştığı zaman sudaki kalıntı klor ile reaksiyona girer. Bunun sonucunda, BPA klorinat türevleri kompleks bir biyodegradasyon ile serbest klor ve BPA arasında reaksiyon ürünleri olarak üretilir (Zarfa vd. 2003; Fukazawa vd., 2001).

BPA içeren ürünlerden faydalanma ve onun üretimi boyunca devamlı bir emisyonun olacağı anlamına gelmektedir (WWF, 2000). En önemli emisyonlar fenoplast reçineler (Avrupada suya yıllık 43 ton), termal kâğıtlar (Avrupada suya yıllık 151 ton) ve PVC'ler (Avrupa'da suya 25 ton) gibi maddelerin kullanımından sonuçlanır. Özet olarak Avrupa'da toplam emisyon miktarları 2.1 ton havaya, 199 ton suya ve 30 ton toprağa şeklindedir. Çevre içersinde BPA'nın ilişkisi ve onun çeşitli alanlarda kullanımı genel popülasyonlarda bireyler için pek çok maruz kalma yolu oluşturmaktadır (Fernandez vd., 2001; Welhons vd., 2006). Bunlar;

- 1- Üretim, tüketim ve yayılma süresince onun ilişkisi yüzünden dolaylı ya da dolaysız çevresel maruz kalma,
- 2- Besin maddesi içermeyen ürünlere temas yoluyla ya da nefes yoluyla,
- 3- Besin maddelerinin içermesi durumunda ve bunların tüketilmesi yoluyla olmaktadır.

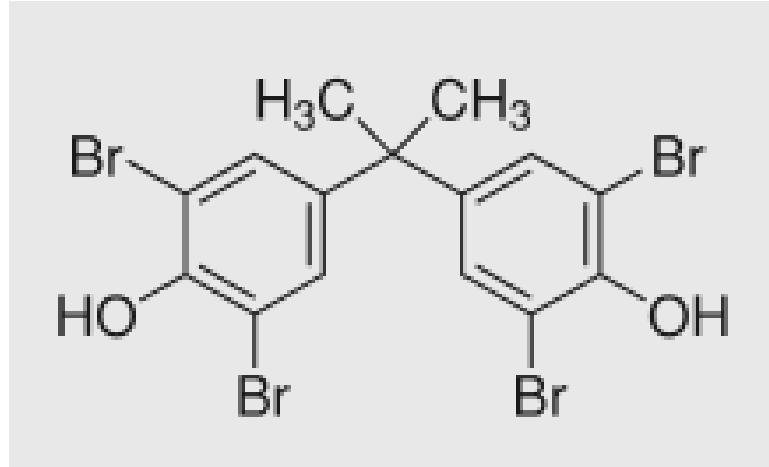
Bitkiler kökleri vasıtasıyla su içersinden BPA'yı absorbe ederek onları birkaç glikosidik bileşiğe metabolize ederler. BPA'nın glikolizasyonu bitkilerde BPA'nın ana rotası olarak dikkat çekmiştir. Bitkiler tarafından BPA'nın glikolizasyonu ana bileşiklerin östrojenetik etkilerine yol açtığı belirtilmiştir. İki oksidatif enzim, peroksidaz ve polifenol oksidaz, BPA metabolizmasında işlev görmektedir (Kang vd., 2006a). Kang vd. (2006b) tarafından yapılan çalışmada *Eichhornia crassipes*'de BPA'nın absorpsiyonu ve metabolizması rapor edilmiştir. BPA'nın % 90'dan fazlası polifenol oksidaz aracılığıyla kökler tarafından absorbe edilmiştir. Sadece küçük miktarlar gövdeye taşınmış ve sürgünlerde degrade olmuşlardır.

Bir tatlı su midye türü olan *Pisidium amnicum* üzerinde yapılan bir çalışmada BPA'nın yarılanma ömrünün düşük sıcaklıkta yavaş oluyorken, sıcaklık artışıyla birlikte yarılanma ömrünün süresinde kısaldığı tespit edilmiştir. BPA'nın bu hızlı yarılanma ömrü yükselmiş metabolit oranıyla ilişkilidir (Heinonen vd., 2002). Balıkta, iki BPA metaboliti (BPA sülfat ve BPA glukuronid) BPA'ya maruz kalmış *Danio rerio* balığından elde edilmiştir (Lindholst vd., 2003). UDP-glukuronosil transferaz bir membran proteinidir ve onun substratlarını fenoller, karboksilik asitler, alkoller ve 4-hidroksibifenil ve opioid bileşikler gibi ksenobiyotikleri içerir. (Tephly ve Burchell, 1990; King vd., 1997).

1.2. Tetrabromobisfenol A

TBBPA, bisfenol A'nın bir türevidir ve bu maddeden sentez edilir. Çok yaygın TBBPA ürünleri göreceli olarak düşük saflıkta bulunur ve gerçekte değişen boyutlarda bromlanmış ürünlerin bir karışımını içerir (Şekil 1.2).

TBBPA bir reaktif ya da akrilonitril butadien stiren, epoksi ve polikarbonat reçineler ile yapıştırıcılar gibi polimerlerde tutuşmayı erteleyici ek madde olarak kullanılmaktadır. Polimerizasyon tipik olarak tamamen kapalı bir cihazda yapılır. Alev geciktirici bir ek madde olarak TBBPA, kuru toz halinde bir maddedir ve çeşitli polimerlerle karışmıştır. Bu madde diğer kimyasallarla reaksiyon vermez. Bu yüzden polimer matriksinin dışına uzar. Örnek olarak, TBBPA polisitrende, ABS termoplastikte ve fenolik reçinelerde ek bir alev geciktirici olarak kullanılmaktadır. ABS reçineleri otomobil parçaları, borular ve tesisat, buzdolabı, iş makineleri ve telefonlarda kullanılmaktadır. Polistiren ise paketlemede, tüketim ürünlerinde, elektrik ve elektronik donanımlarda, mobilyalarda, bina yapımında ve yapı malzemelerinde kullanılmaktadır. TBBPA polikarbonat ve doymamış poliester reçinede reaktif alev geciktirici olarak kullanılmaktadır. Polikarbonatlar iletişim ve elektronik donanım, transportasyon aletleri, reaksiyon donanımı, aydınlatma yapılarında kullanılmaktadır (de Wit, 2002).



Şekil 1.2. TBBPA'nın kimyasal yapısı

Tablo 1.1. TBBPA'nın bazı fiziksel özellikleri

Özellik	Bilgi	Referans
Fiziksel durumu	Renksiz kristal toz	
Kaynama noktası	181-182 °C	
Erime noktası	Yaklaşık 316 °C	IPCS/WHO (1995)
Buhar basıncı	1 < (mm Hg 20 °C)	
Spesifik gravitesi	2,18	

Doymamış poliestерler, mermer benzeri yapılar yapmak, bowling topları, cam güçlendirme panelleri, mobilya parçaları, atık boru kaplama bileşikleri, otomotiv bileşikleri ve elektrik aletleri için kullanılmaktadır. TBBPA ayrıca bis(2-hidroksietil eter) gibi alev geçiktiricilerin üretilmesi için arabileşik olarak kullanılabilir. TBBPA'nın türevleri TBBPA'nın kendisinin kullanıldığı miktarın %25 ini oluşturmaktadır (Gustafsson ve Wallen, 1988).

TBBPA'nın Dünya kapsamındaki genel üretim miktarı yıllık olarak 500.000 tondan fazladır. TBBPA üretimi, kullanımı ve yayılımı gibi etmenler ve biyolojik sistemlerde olası birikimlerinden dolayı çevreyle ilişkilidir. TBBPA çevrede sediment ve çamurlarda (Watanabe vd., 1983; Sellstrom ve Jansson, 1995), atık çamurda (Lee ve Peart, 2002), ev içerisindeki havada (Sjödın vd., 2001), avcı kuş türlerinin yumurtalarında (Berger vd., 2004), insan sütünde (Thomsen vd., 2002) ve plazmada (Jakobsson vd., 2002) tespit edilmiştir. TBBPA potansiyel bir endokrin bozucudur. Çünkü yapısı tiroid hormonu troksine benzer. Bununla birlikte yapılan çalışmalarda bir kan proteini olan prealbümine etkili şekilde bağlandığı görülmüştür (Meerts vd., 2000; Meerts vd., 2001). TBBPA'nın yüksek seviyelerinin bulunduğu sucul ekosistemlerde bu bileşiğin sucul organizmalar üzerinde etkili olduğu söylenebilir. Bitkiler çevrelerde birinci üretici olarak dominanttır. Bu bitkiler kirlenmiş sularda toksik ksenobiyotikleri absorbe edebilirler ve böylelikle besin zinciri içerisine girerler ve insan sağlığına ciddi sorunlar oluşturabilirler (Gupta ve Chandra, 1998).

1.3. Çalışmanın Amacı

Önemli endokrin bozucu kimyasallardan olan BPA ve TBBPA'nın gerek sucul gerekse karasal hayvanlar üzerindeki toksik etkileri ile insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileriyle ilgili ciddi sayıda çalışmalar yapılmıştır. Ancak özellikle karasal bitkilerde BPA ve TBBPA'nın etkileriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu nedenle, bu çalışma endokrin bozucu kimyasallardan olan BPA ve TBBPA'nın, bölgemizde ekimi yapılan ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin çimlenmesine ve buğday fidelerin bazı fizyolojik parametreleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla yapılmıştır.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETLERİ

Loffredo vd. (2010), *Cynodon dactylon*, *Festuca arundinacea*, *Lolium perenne*, *Agropyron fragile*, *Trifolium repens* ve üç kültür bitkisi olan *Cucumis sativus*, *Cucurbita pepo* ve *Raphanus sativus* türleri kullanılarak yaptıkları bir çalışmada, endokrin bozucu kimyasal BPA'nın sudan uzaklaştırılması ve detoksifiye edilmesi üzerine bir araştırma yapmışlardır. Araştırma bulgularına göre, bu bitkilerin bisfenol A'yı polar gruplara taşıyarak glikozilat formuna çevirdiğini tespit edilmiştir. Bununla birlikte doğal olarak yetişen bitkilerin kültür bitkilerine göre, bu dönüşümlerde daha aktif oldukları rapor edilmiştir.

Saiyod vd. (2010) *Dracena sanderiana* ve *D. fragrans* bitkilerinin kök sistemleri üzerine yapılan bir çalışmada, BPA'nın bu iki tür arasındaki tolerans ve alımın kapasitesi değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya göre *D. sanderiana* bitkisi *D. fragrans* bitkisinden daha fazla BPA uzaklaştırma etkisine sahip olduğu bulunmuştur. Uygulanan BPA derişimleri kıyaslandığında, *D. sanderiana*'nın 80 µM'lık BPA derişimine kadar tolerans gösterdiği saptanmıştır. Daha yüksek derişimlerde ise bitkinin olumsuz yönde etkilendiği belirlenmiştir.

Speranza vd. (2010) endokrin bozucu kimyasallardan BPA'nın kivi polenleri üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Uygulanan BPA'nın polen tüpü oluşumu ve gelişimini engellediğini belirlemişlerdir.

Toyama vd. (2009) *Phragmites australis*'in rizosferinde Bisfenol A ve Bisfenol F'nin biodegradasyonu için yaptıkları bir çalışmada, bu maddelerin sediment kısmında uzaklaştırıldığı, ancak bitkinin kök kısmında bulunduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte sediment kısmından *Novosphingobium* sp. ve *Sphingobium yanoikuyae* bakteri türlerinin elde edilmesinden sonra bu maddelerin sediment kısmından bu mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri tarafından uzaklaştırıldığı rapor edilmiştir.

Li vd. (2008) ekmeklik buğdayda TBBPA'nın biyokimyasal etkilerini araştırmışlardır. TBBPA etkisinde buğday yapraklarının klorofil içeriğinde azalmaların olduğu belirlenmiştir. 50 mg/kg'dan 5000 mg/kg'a kadar artan TBBPA derişimlerin klorofil miktarı üzerindeki bu etkileri istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. 7 ve 12 gün TBBPA uygulamaları MDA miktarını artırmıştır. TBBPA etkisinde buğday dokularında antioksidan enzimlerden süperpoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz aktivitelerinde değişikliğe neden olmuştur. Özellikle 500 ve 5000 mg/kg derişimlerdeki bu artışlar önemli bulunmuştur. Araştırmacılar elde ettikleri araştırma sonuçlarına göre, buğdayın artan TBPPA derişimleri nedeniyle tetiklenen oksidatif strese bitkinin savunma mekanizmalarında da azalmanın olduğunu belirtmişlerdir.

Sun vd. (2008) su bitkilerinden *Ceratophyllum demersum* L.'de TBBPA'nın bazı biyokimyasal etkilerini belirlemişlerdir. Uygulamanın 4. gününde ortamdaki TBBPA derişimlerinin çoğunun bitki bünyesine alındığını belirlemişlerdir. Bu birikimin artan derişimle birlikte arttığını bulmuşlardır. Elektron paramagnetik rezonans cihazı kullanılarak elde edilen sonuçlara göre, bitkinin artan kimyasal uygulamalarıyla birlikte serbest radikal ürettiğini belirlemişlerdir. Uygulanan TBBPA derişimleri lipid peroksidasyonuna neden olduğu, klorofil miktarını da azalttığını saptamışlardır. Ayrıca, bazı antioksidan enzim aktivitelerinin de TBBPA toksisitesinde değiştiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak, TBBPA'nın *C. demersum*'da oksidatif stresi tetiklediği ve bu strese karşı tolerans mekanizmalarının devreye girdiği belirtilmiştir.

Lee vd. (2005) BPA'nın lignin parçalayan *Stereum hirsutum* ve *Heterobasidium insulare* ile parçalanması ve hücre kültürü ile parçalanma ürünlerinin östrojenik aktivitesi araştırılmıştır. Organizmanın yüksek düzeyde BPA dirençliliği gösterdiği ve 14 gün içinde kullanılan kültürler ile BPA'nın hepsini parçalandığı belirtilmiştir. BPA'nın 10^{-5} M konsantrasyonda hücre kültürü farklılaşmasını da inhibe ettiği rapor edilmiştir.

Nakajima vd. (2002) BPA tütün bitkisinin hücre kültür ortamına uygulanmış ve BPA'nın metabolitlerinin kimyasal özelliklerini belirlemiştir. BPA'nın uygulanan derişimleri kültür ortamlarında azalmış ve 2.5 saat sonunda ise belirlenecek limitlerin

altına düştüğü bulunmuştur. Hücrelerin ekstraktlarında 4 metabolit belirlenmiştir. En çok bulunan metablotitin 4,4'-isopropylidenediphenol-*O*- β -D-glucopyranoside (BPAG) olduğu tespit edilmiştir. Araştırıcılar tütün fideleri ile yaptıkları çalışmada da BPA'nın kökler tarafından absorblandığını ve β -glikozit metabolitlerinin de yapraklara taşındığını belirlemişlerdir.

Schmidt ve Schuphan (2002), endokrin bozucu kimyasallardan olan BPA *Glycine max*, *Triticum aestivum*, *Digitalis purpurea* ve *Datura stramonium* hücre süspansiyon kültürlerinde çalışılmıştır. Buna göre BPA başlıca glikozidlere, ekstarkte olmayan rezüdülere ve oldukça polar polimerik ürünlere dönüştüğü rapor edilmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Bitki Materyali

Araştırmada kullanılan ekmeklik buğday çeşidi *Triticum aestivum* L. cv Sagittario ve *Triticum durum* Desf. cv. Zenit çeşitlerinin tohumları Tarım Bakanlığı, Gaziantep İl Müdürlüğünden temin edilmiştir. Çalışmalar başlayana kadar tohumlar +4 °C’de muhafaza edilmişlerdir.

3.1.2. Araştırmada Kullanılan Test Kimyasalları

Araştırmada kullanılan test kimyasalları Bisphenol A ve Tetrabromobisphenol A Sigma-Aldrich Inc.’den satın alınmıştır. Bu kimyasallar her iki buğday çeşidine uygulanmak üzere 0, 10 ve 50 mg/L’lik derişimde kullanılmıştır. Araştırmamızdaki analizlerde kullanılan diğer kimyasallarında analitik kalitede olmasına özen gösterilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Deney Ortamı ve Uygulama

Çimlenme deneylerine başlanılmadan önce, tohumlar %5’lik sodyumhipo klorit’te 15 dakika bekletilmiştir. Tohumlar sonra üçer defa distile sudan geçirilerek yüzeylerindeki hipokloritten arındırılmıştır. Araştırmamız petri kaplarında (120 mm) yürütülmüştür. Deney başlamadan önce petri kapları steril edilmiştir. Petri kaplarının altına iki kat kaba fitle kağıdı yerleştirilmiştir. Dört tekrarlı olarak, her petri kabına 20 tohum gelecek şekilde deney düzeneği oluşturulmuştur. BPA ve TBBPA’nın 10 ve 50 mg/L derişimleri ile (~10 mL) tohumlar sulanmıştır. Kontrol olarak saf su kullanılmıştır. Günlük olarak petri kapları kontrol edilmiş, gerekli olduğu durumlarda

kendi test çözeltileri ile sulanmışlardır. Petri kaplarındaki buğday tohumları fotoperiyot uygulamadan 24 ± 1 °C’de inkübe edilmiştir. Ayrıca günlük olarak çimlenmeler gözlemlenerek kaydedilmiştir. Radikula ve plumula çıktığı an tohumlar çimlenmiş sayılmıştır.

3.2.2. Ölçümler

Altıncı günün sonunda, buğday çeşitlerinin otsu gövde ve kök uzunlukları cetvel yardımıyla ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.3. Çimlenme Testleri

Uygulama periyodu sonunda buğday çeşitlerinin final çimlenme yüzdeleri hesaplanmıştır. Çimlenen tohumların vigor indeksleri toplam çimlenme yüzdesi ile kök uzunluğunun çarpımıyla bulunmuştur (Abdul-Baki and Anderson 1973).

3.2.4. H₂O₂ Belirleme

Tartılmış taze bitki materyali 50 mM P-tamponunda (pH 7.8) homojenize edilmiştir. Homojenizata % 5’lik TCA (trikloroasetik asit) eklenmiştir. Karışımı 10000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant alınmıştır. Daha sonra bir deney tüpüne süpernatanttan 1,6 mL, % 50’lik TCA’dan 0,4 mL, 10 mM’lık ferros amonyum sülfattan 0,4 mL ve 125 mM’lık potasyum tiosiyanattan 0.2 mL eklenerek karıştırılmıştır. Bu karışım 480 nm’de spektrofotometre de okunmuştur (Sagisaka, 1976). Standart olarak H₂O₂ kullanılmıştır.

3.2.5. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Buğday çeşitlerinin kök ve otsu gövdelerinin lipid peroksidasyon düzeyleri Zhou (2001)’e göre belirlenmiştir. Taze bitki dokuları %10’luk TCA’da havan kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenizat 10000 rpm’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Sonra 2 mL homojenizattan alınmış, 2 mL tiyobarbitirik asit eklenerek 95°C’de 30 dakika bekletilmiştir. Bu bekleme süresi sonunda örnekler şok soğutma

uygulmasına tabi tutulmuştur. Tekrar 10000 rpm’de 20 dakika santrifüjden sonra 532, 600 ve 450 nm’de spektrofotometrede okunmuştur.

3.2.6. Protein Olmayan SH Grupların Belirlenmesi

Protein olmayan SH grupların belirlenmesi Cakmak ve Marschner (1992)’e göre yapılmıştır. Tartılan taze bitki materyali 5 mL % 5’lik meta-fosforik asit içinde homojenize edilmiştir. Homojenizat 15.000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 500 L alınmış ve üzerine 2.5 mL fosfat tamponu (pH 7.4) eklenmiştir. Son olarak 0.5 mL DTNB eklenmiş ve karıştırılmıştır. 20 dakika inkübasyondan sonra hazırlanan örnekler standartlara karşı 412 nm’de spektrofotometrede (Cintra 202) okunmuştur. Standart olarak redükte glutatyon (GSH) kullanılmıştır.

3.2.7. Radikal Temizleme Aktivitesi

Buğday dokularının radikal temizleme aktivitesi DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Burizts ve Bucar, 2000).

3.2.8. Protein Analizi

Buğday çeşitlerinin protein analizi Lowry ve ark. (1951)’nın saptadıkları yöntemine göre yapılmıştır. 0,5 gram taze materyal 5 mL 0.1 M fosfor tamponunda (pH 7) homojenize edildikten sonra 12.000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 0,3 mL alınmış, üzerine 3 mL alkali çözelti ilave edilip 15 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Sonra 0,3 mL Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiş ve 750 nm’de okunmuştur. Aynı işlem 0,3 mL distile su kullanılarak tanık için de uygulanmıştır. Standart olarak bovin serum albumin (BSA) kullanılmıştır.

3.2.9. Histokimyasal Analizler

Histokimyasal analizlerde kullanılacak buğday kökleri birkaç dakika 0.5 mM CaCl_2 'de (pH 4.5) yıkanmıştır. Beklenmeden kurutma kağıdında kurulandıktan sonra aşağıdaki uygulamalar yapılmıştır.

- 1- Plazma membranı sağlamlığının belirlenmesi: Kökler 5 ml % 0.025'lik Evans Blue içeren 100 μM CaCl_2 çözeltisinde 30 dakika bırakılmıştır. Daha sonra yeterince saf su ile yıkandıktan sonra fotoğrafları çekilmiştir (Yamamoto vd., 2001).
- 2- Lipid peroksidasyonun histokimyasal olarak belirlenmesi: Kökler Schiff's reagentinde 60 dakika bekletilmiştir. Daha sonra boyanan kökler 0.05 M HCl'de hazırlanmış % 5'lik $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ 'de köklerdeki renk kırmızı olana kadar durulanmıştır. Daha sonra yeterince saf su ile yıkandıktan sonra fotoğrafları çekilmiştir (Pompella vd., 1987).

Boyamalardan sonra buğday köklerinin fotoğrafları CANON EOS 7D marka fotoğraf makinesi kullanılarak çekilmiştir.

3.2.10. İstatistiksel Analiz

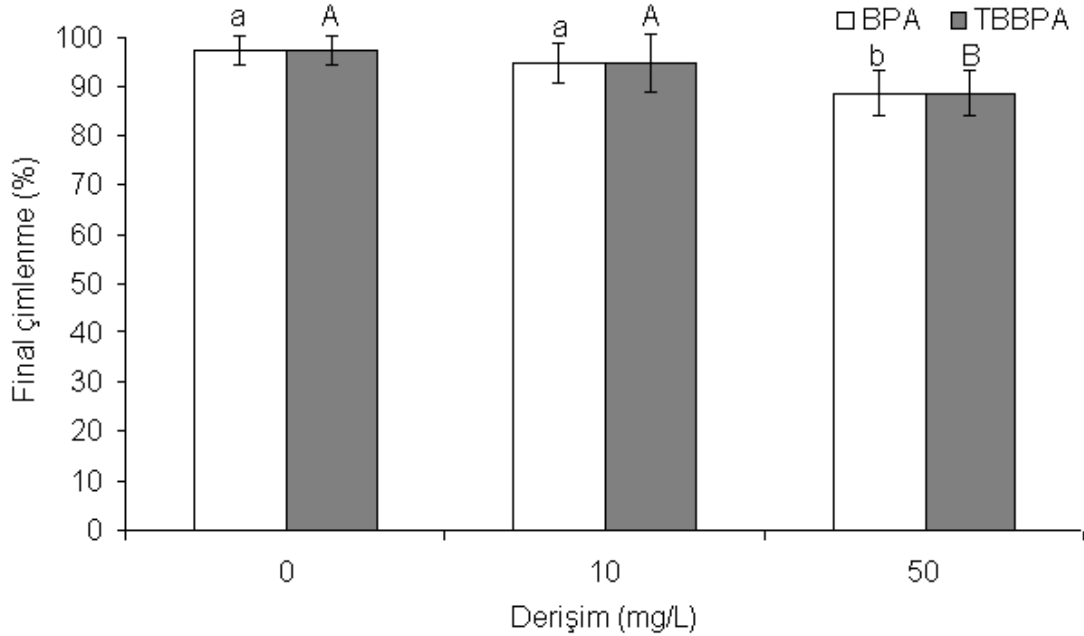
Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS (SPSS 11.0 for Windows) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Hangi grubun ya da grupların farklı olduğunu belirlemek amacıyla One-Way ANOVA LSD testi uygulanmıştır.

BÖLÜM 4

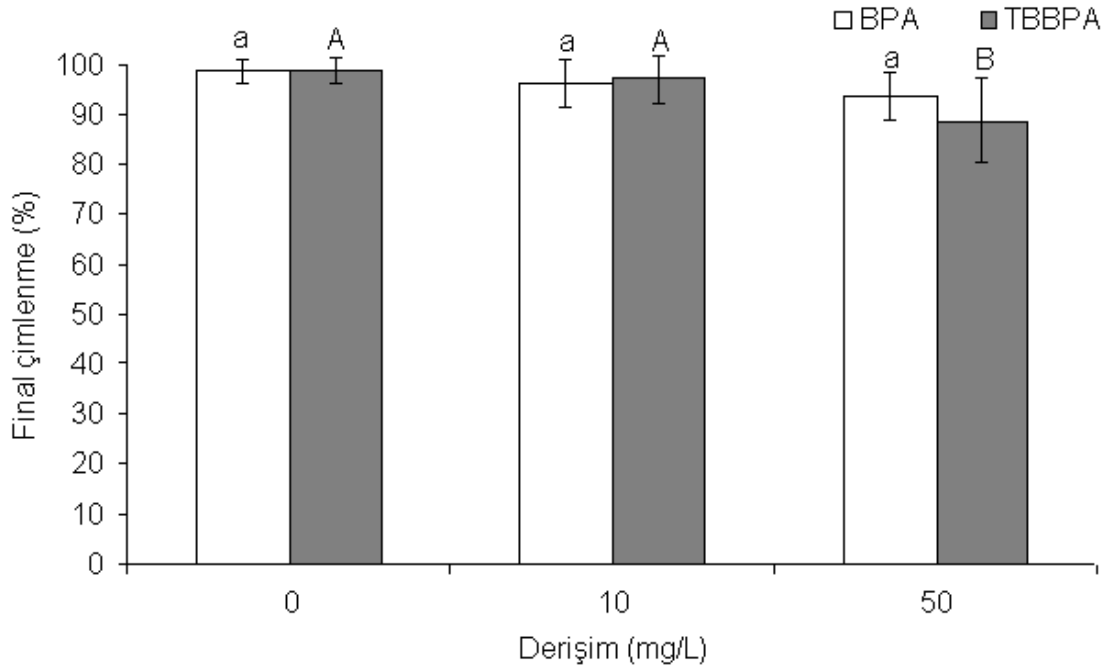
ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1.BPA ve TBBPA'nın Çimlenmeye Etkisi

Sagittario ve Zenit tohumlarının final çimlenme yüzdeleri sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir. Sagittario ve Zenit çeşitlerinin en yüksek final çimlenme yüzdeleri sırasıyla %97.5 ve %98.8 olarak kontrol gruplarda olduğu hesaplanmıştır. Her iki buğday çeşidinin de final çimlenme yüzdeleri uygulanan BPA ve TBBPA derişimleri tarafından kontrole göre azalmıştır. Bu azalmalar her iki buğday çeşidinin 10 mg/L'lik BPA ve TBBPA derişimlerinde önemsiz düzeyde olmuştur ($p>0.05$). En düşük final çimlenme yüzdeleri ise yine Sagittario ve Zenit çeşitleri için %88.8 olarak 50 mg/L'lik TBBPA uygulamasında olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).



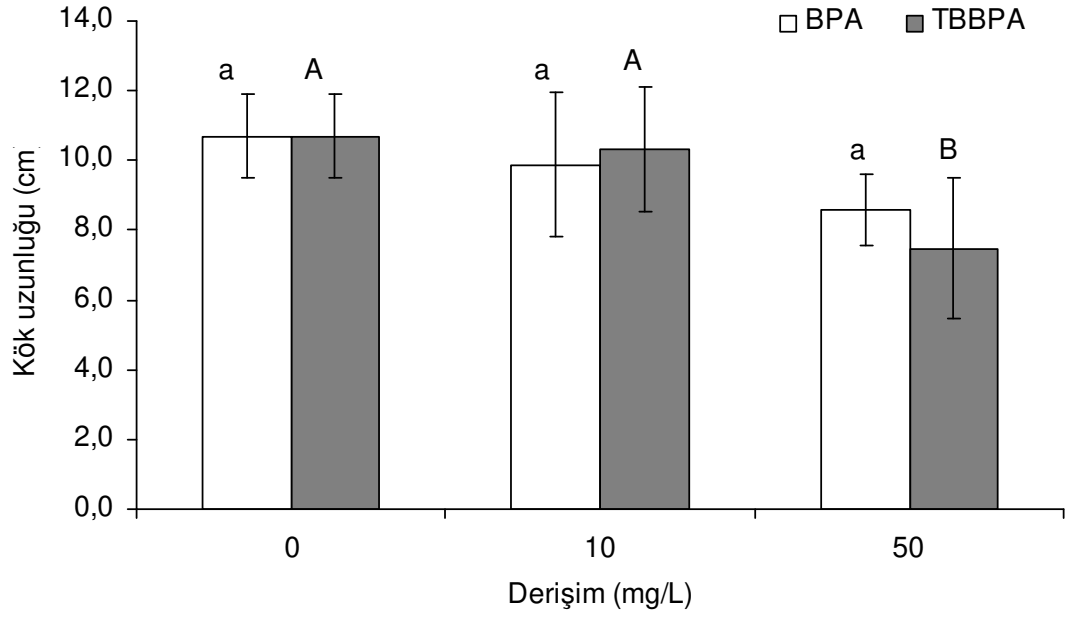
Şekil 4.1. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisinde çimlendirilen ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun final çimlenme yüzdeleri. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



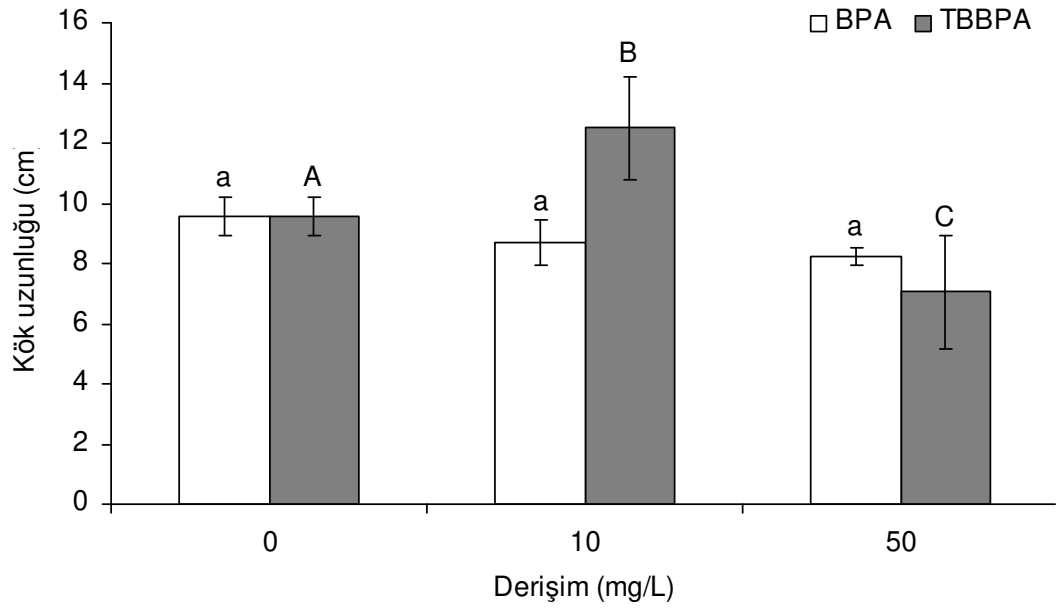
Şekil 4.2. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisinde çimlendirilen makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in final çimlenme yüzdeleri. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.2. BPA ve TBBPA'nın Kök Gelişimine Etkisi

Sagittario ve Zenit fidelerinin kök uzunlukları sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de vermiştir. Uygulanan her iki kimyasal, Sagittario ve Zenit fidelerinin kök gelişimini farklı şekilde etkilemiştir. BPA ve TBBPA etkisinde Sagittario'nun kök gelişimi olumsuz yönde etkilenmiştir. Fakat bu azalmalar BPA ve TBBPA'nın 10 mg/L'lik derişiminde %7,5 ve %3,7 düzeylerinde istatistiksel olarak önemsiz düzeyde olmuştur ($p > 0,05$). Bunun aksine, BPA ve TBBPA'nın 50 mg/L'lik derişiminde sırasıyla %19,6 ve %29,9 düzeylerinde istatistiksel olarak önemli düzeylerde azalmıştır ($p < 0,05$). Zenit fidelerinin kök uzunlukları BPA uygulamasının bütün derişimlerinde azalmıştır. Bunun aksine, TBBPA uygulamasının 10 mg/L'lik derişimlerinde önemli düzeyde artmışken, 50 mg/L'lik derişiminde ise önemli düzeyde azalmıştır ($p < 0,05$).



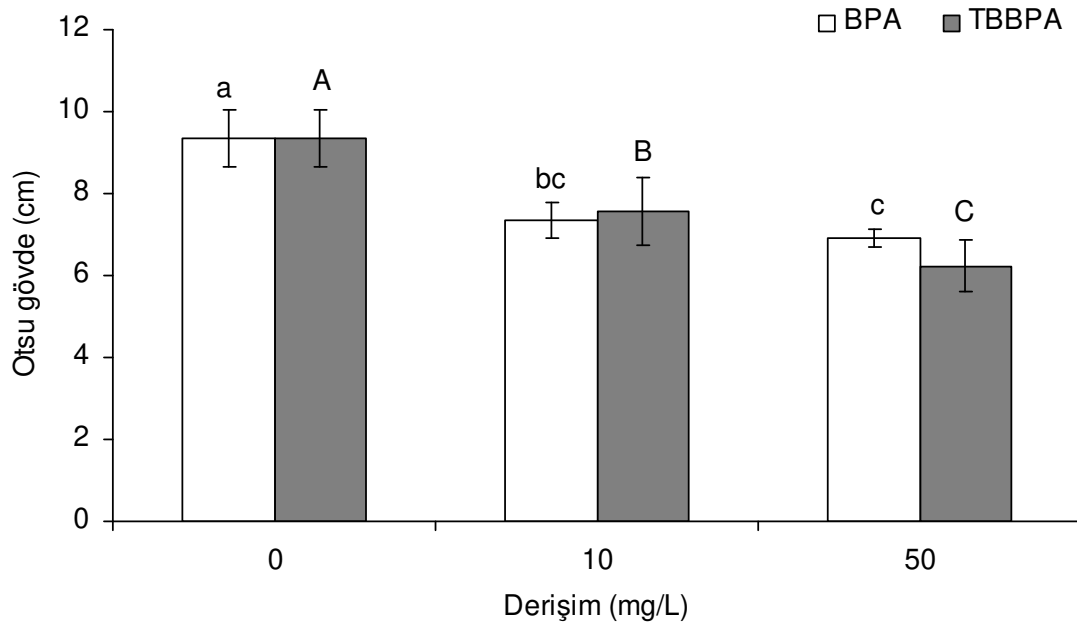
Şekil 4.3. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun kök uzunlukları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



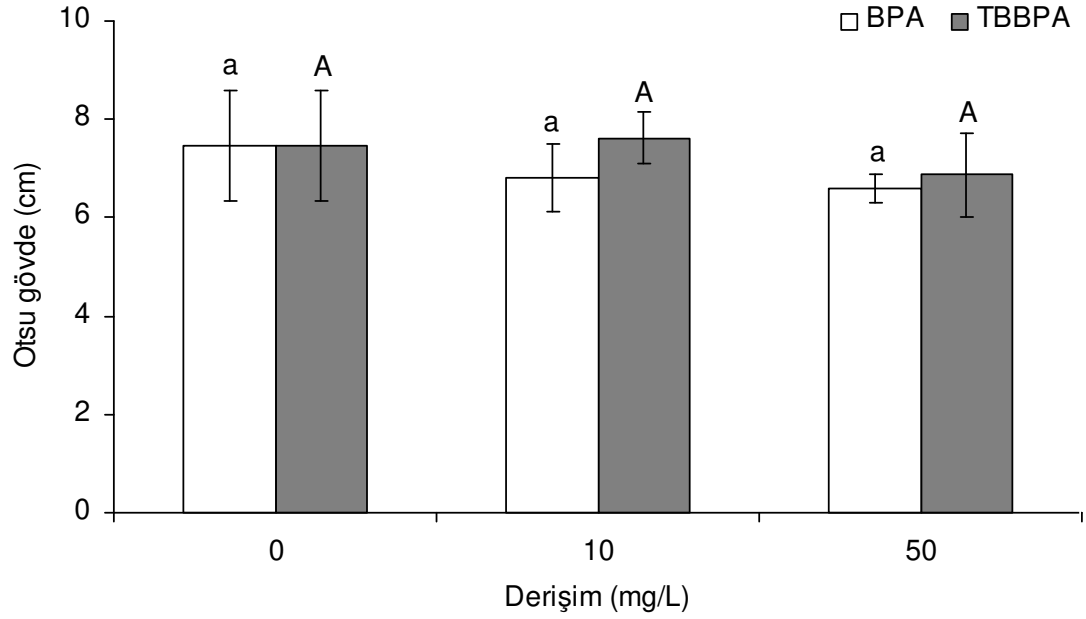
Şekil 4.4. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in kök uzunlukları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.3. BPA ve TBBPA'nın Otsu Gövde Gelişimine Etkisi

Sagittario ve Zenit fidelerinin BPA ve TBBPA etkisinde 6. gün sonundaki gövde uzunlukları sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'de verilmiştir. Her iki kimyasalın etkisinde Sagittario'nun gövde uzunlukları önemli düzeylerde azalmıştır. Bu azalmalar BPA uygulamasının 10 ve 50 mg/L'lik derişiminde sırasıyla %21,3 ve %26,6 olmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde TBBPA uygulamasının 10 ve 50 mg/L'lik derişiminde ise sırasıyla %19,1 ve %34,0 düzeyinde olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Zenit çeşidinin 10 ve 50 mg/L'lik BPA derişiminin etkisinde gövde uzunlukları sırasıyla %9,3 ve %12,0 düzeylerinde azalmıştır ($p>0.05$). 10 mg/L'lik TBPPA etkisinde gövde uzunluğu %1,3 kontrole göre önemsiz artmışken ($p>0.05$), 50 mg/L TBBPA etkisinde ise % 8,0 düzeyinde azalmıştır ($p>0.05$).



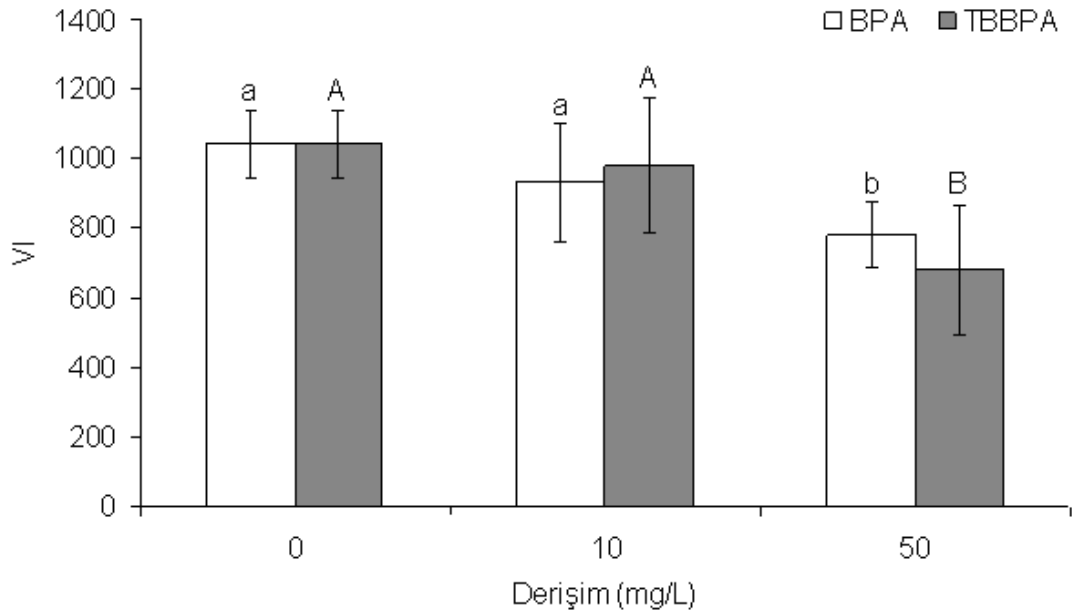
Şekil 4.5. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun otsu gövde uzunlukları. Hata barları standart sapmayı belirtmektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



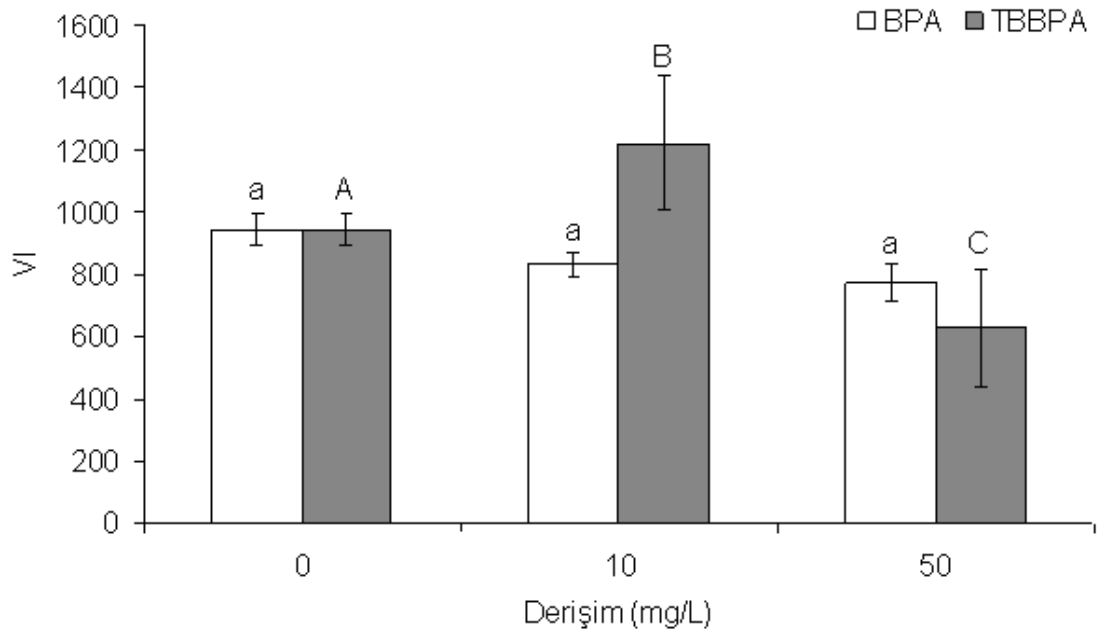
Şekil 4.6. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in otsu gövde uzunlukları. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.4. Vigor İndeksi (VI)

Sagittario ve Zenit fidelerinin BPA ve TBBPA etkisindeki hesaplanan vigor indekleri sırasıyla Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de vermiştir. Her iki kimyasal etkisinde ekmeklik buğday çeşidinde vigor indeksleri 10 mg/L'de önemsiz azalma göstermiştir ($p > 0.05$). Buna karşın BPA ve TBBPA'nın 50 mg/L'lik derişimlerinde sırasıyla %25,0 ve %34,6 düzeyinde azalmıştır ($p < 0.05$). BPA derişimlerinin etkisindeki Zenit çeşidinin vigor indekslerinde istatistiksel olarak önemli bir değişim belirlenmemiştir ($p > 0.05$). Buna karşın TBBPA'nın 10 mg/L'lik derişimde %29,8'lik artış olmuşken ($p < 0.05$), 50 mg/L'lik derişimde ise %33,3'lük bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.7. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario'nun vigor indeksleri. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

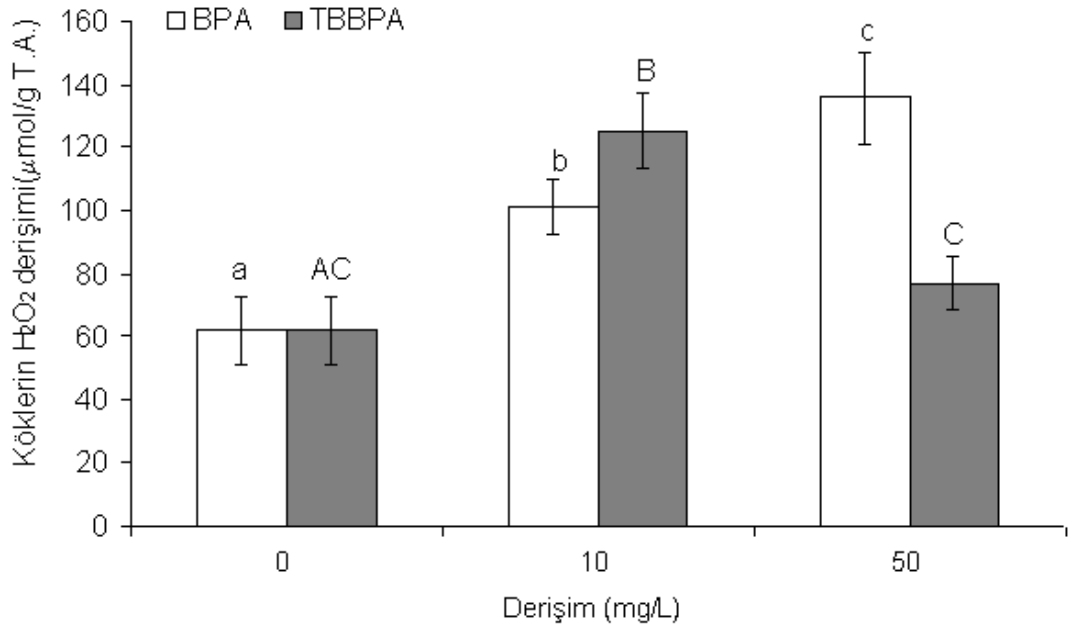


Şekil 4.8. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit'in vigor indeksleri. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

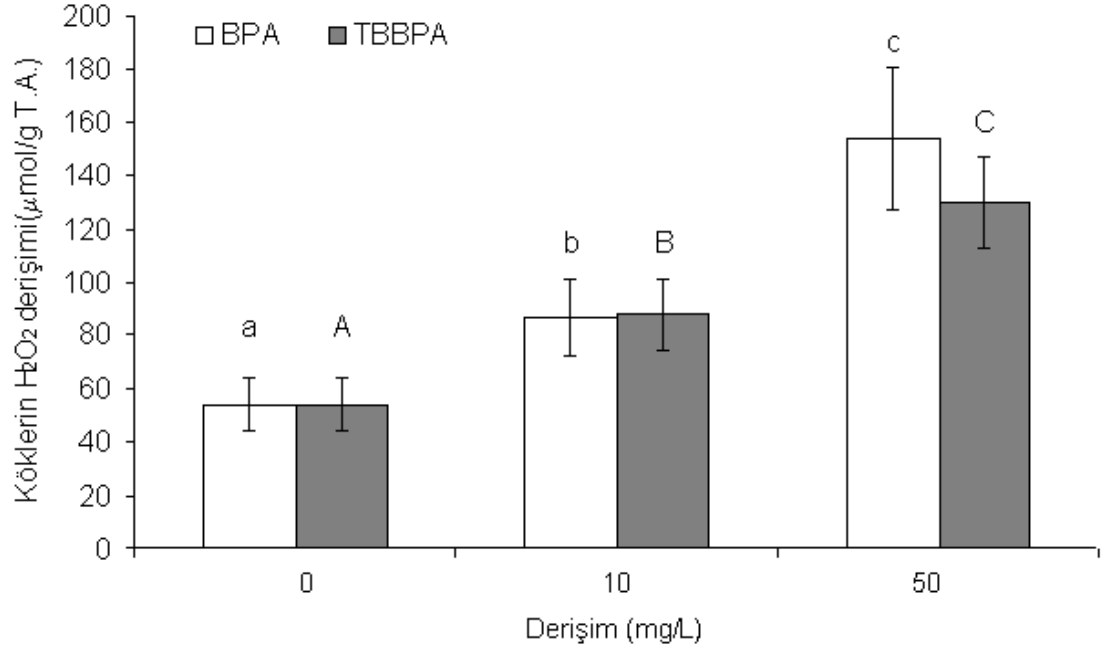
4.5. BPA ve TBBPA Etkisinde Hidrojen Peroksit Derişimleri

4.5.1. Köklerdeki Hidrojen Peroksit Derişimleri

BPA ve TBBPA etkisinde buğday fidelerinin köklerinde indüklenen oksidatif stresin bir göstergesi olarak analiz edilen H_2O_2 miktarları, Sagittario çeşidi için Şekil 4.9’da, Zenit çeşidi için ise Şekil 4.10’da verilmiştir. BPA’nın 10 ve 50 mg/L’lik derişimlerinin etkisinde Sagittario köklerinin H_2O_2 miktarları kontrolüne göre sırasıyla 1,6 ve 2,2 kat artış gösterdiği belirlenmiştir ($p<0.05$). TBBPA’nın aynı derişimlerinin etkisinde ise Sagittario’nun hidrojen peroksit miktarları 2,03 ($p<0.05$) ve 1,3 ($p>0.05$) kat artış gösterdiği belirlenmiştir. Bunlara benzer olarak, Zenit fidelerinin köklerinin hidrojen peroksit miktarları 10 ve 50 mg/L BPA etkisinde kontrole göre sırasıyla 1,61 ve 2,85 kat artış göstermiştir ($p<0.05$). Ayrıca 10 ve 50 mg/L TBBPA etkisinde ise bu artışlar 1,62 ve 2,41 kat olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).



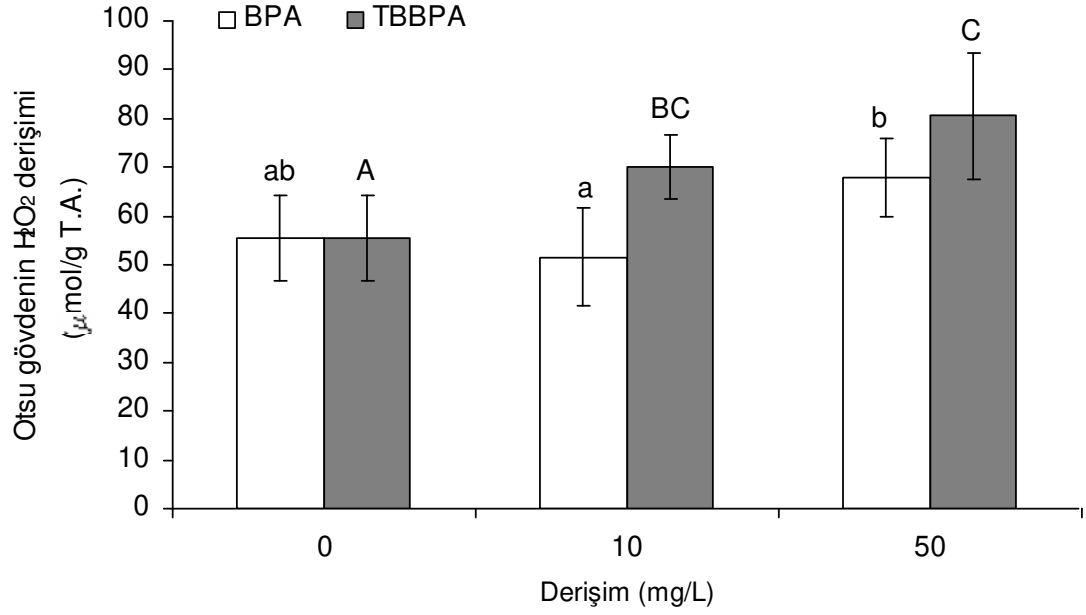
Şekil 4.9. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin hidrojen peroksit miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



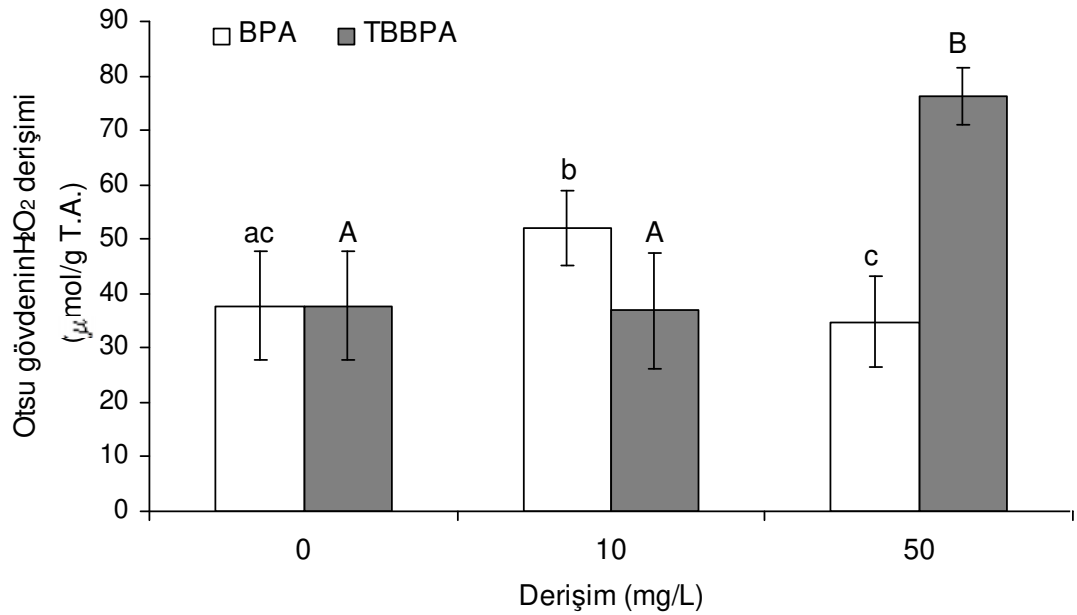
Şekil 4.10. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin hidrojen peroksit miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.5.2. Otsu Gövdelerdeki Hidrojen Peroksit Derişimleri

Sagittario ve Zenit fidelerinin BPA ve TBBPA etkisinde 6. gün sonundaki hidrojen peroksit miktarları sırasıyla Şekil 4.11 ve Şekil 4.12’de verilmiştir. Her iki buğday çeşidinin otsu gövdelerinin hidrojen peroksit miktarları BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisinde genelde artışlar göstermiştir. Sagittario’nun gövdelerinde 10 mg/L BPA etkisinde kontrolüne göre %6,9 düzeyinde azalmışken ($p > 0.05$), 50 mg/L’lik derişimde ise 1,23 kat artış gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). 10 ve 50 mg/L TBBPA etkisinde Sagittario gövdelerinin hidrojen peroksit derişimleri 1,28 ve 1,46 kat artmıştır ($p < 0.05$). Zenit gövdelerinin hidrojen peroksit miktarları 10 ve 50 mg/L BPA etkisinde 1,38 ($p < 0.05$) ve 0,92 ($p > 0.05$) kat değişim göstermiştir. Aynı derişimlerde TBPPA etkisinde ise 0,98 ($p > 0.05$) ve 2,02 ($p < 0.05$) kat düzeylerinde değişim gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.11. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario otsu gövdelerinin hidrojen peroksit miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

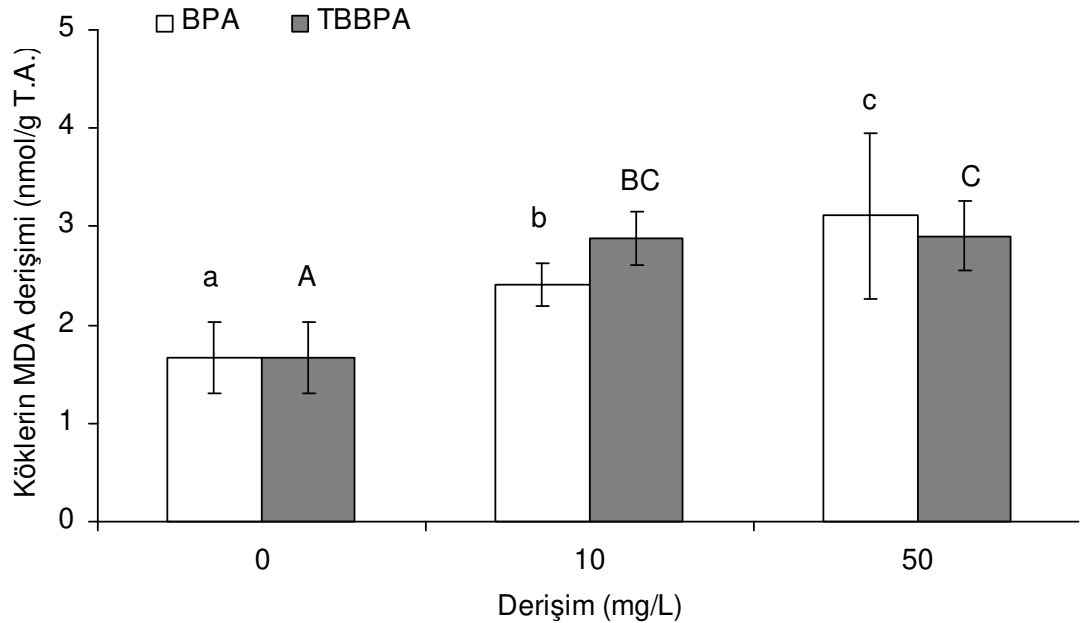


Şekil 4.12. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit otsu gövdelerinin hidrojen peroksit miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

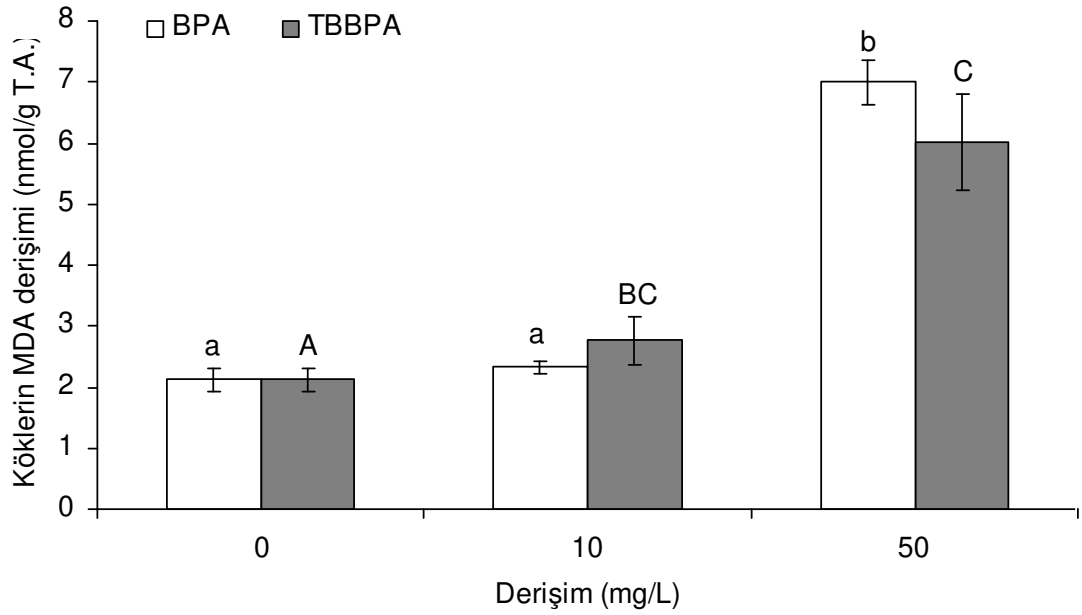
4.6. BPA ve TBBPA Etkisinde Lipid Peroksidasyonu

4.6.1. Köklerdeki Malondialdehit (MDA) Miktarları

BPA ve TBBPA etkisinde Sagittario (Şekil 4.13) ve Zenit (Şekil 4.14) köklerinin MDA miktarları, Zenit fide köklerinin 10 mg/L'lik BPA derişiminde MDA miktarı hariç ($p>0.05$), önemli düzeylerde arttığı belirlenmiştir. Sagittario ve Zenit köklerinin en yüksek MDA miktarları BPA ve TBBPA'nın 50 mg/l'lik derişimde belirlenmiştir. Köklerdeki bu artış BPA ve TBBPA için sırasıyla %86,2 ve %73,7 düzeyinde olmuştur. Benzer şekilde, Zenit köklerinin BPA etkisindeki MDA derişimleri 10 ve 50 mg/L için sırasıyla %9,4 ve %229,7 bulunmuşken, aynı derişimlerdeki TBBPA etkisinde ise %30,2 ve %183,5 olduğu belirlenmiştir.



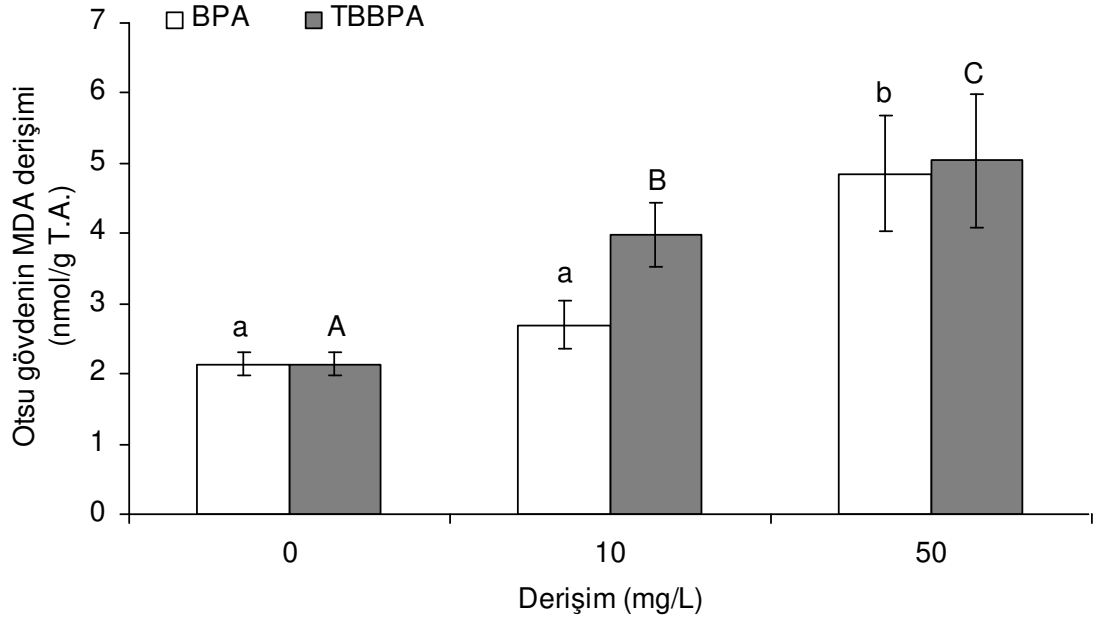
Şekil 4.13. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin MDA miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



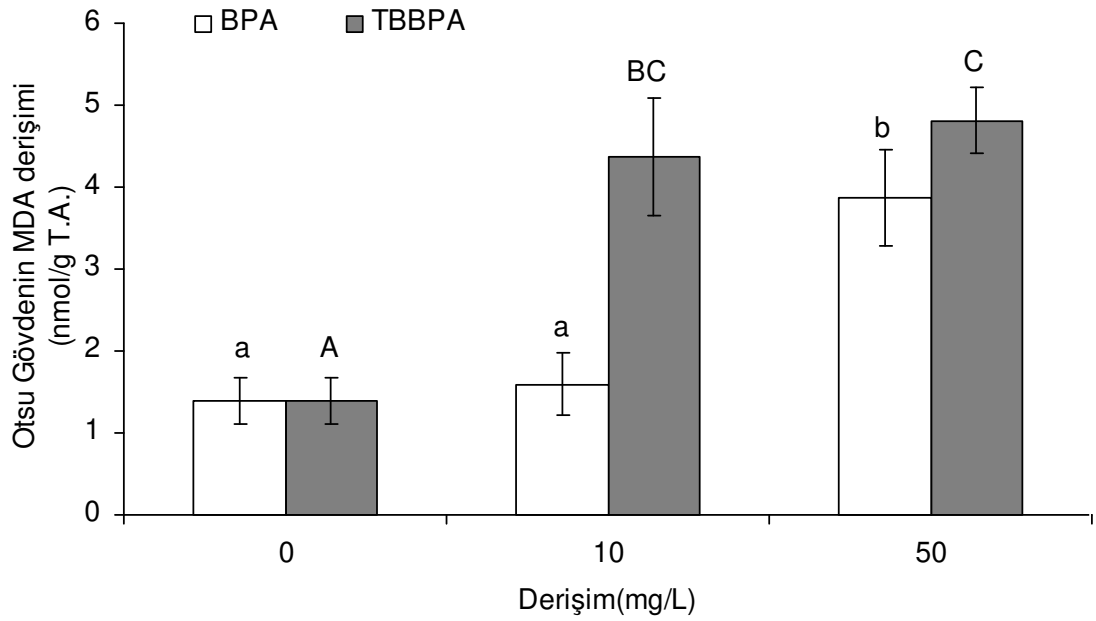
Şekil 4.14. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin MDA miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.6.2. Otsu Gövdelerdeki Malondialdehit (MDA) Miktarları

Buğday çeşitlerinin köklerindeki MDA miktarları gibi otsu gövdelerinin de MDA miktarlarında artışlar olmuştur. Sagittario fide gövdelerindeki en yüksek artışlar 50 mg/L'lik BPA da %126,6 ve TBBPA için ise %135,5 düzeyinde olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 4.15). Zenit fidelerinin gövdelerindeki en yüksek artışlar da 50 mg/L'lik derişimlerde belirlenmiştir (Şekil 4.16). BPA ve TBBPA için bu artışlar kontrole göre sırasıyla %177,1 ve %243,6 düzeylerinde saptanmıştır ($p < 0.05$).



Şekil 4.15. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario otsu gövdelerinin MDA miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

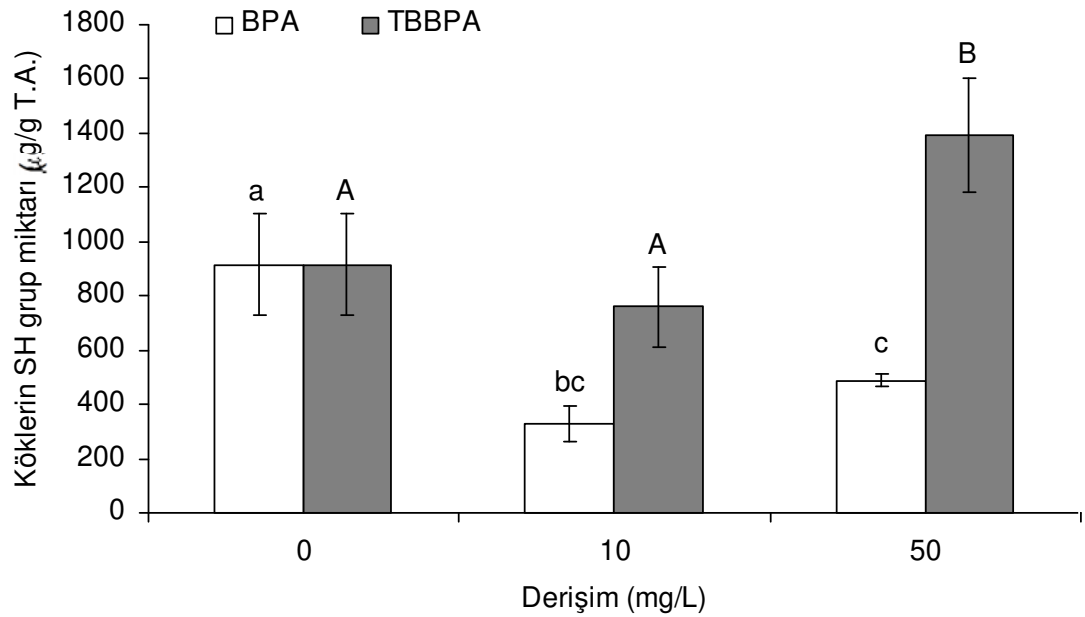


Şekil 4.16. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit otsu gövdelerinin MDA miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

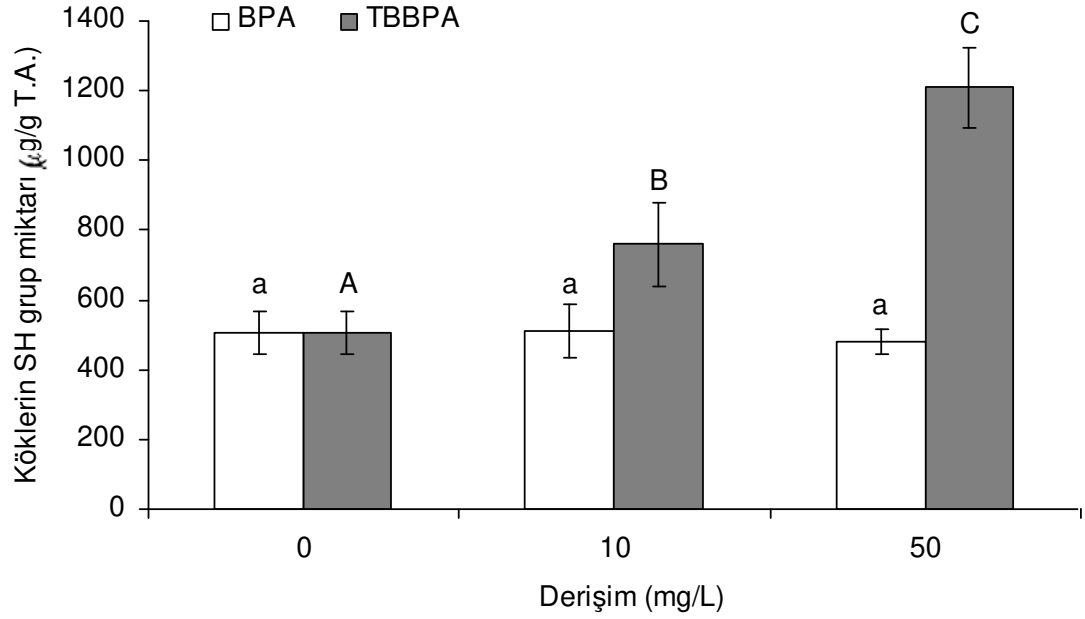
4.7. BPA ve TBBPA Etkisinde Protein Olmayan SH Grup Değişimleri

4.7.1. Köklerdeki Protein Olmayan SH Grup Değişimleri

Ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin protein olmayan SH grupları BPA ve TBBPA etkisinde değişimler gösterdiği bulunmuştur. Sagittario köklerinin protein olmayan SH grup miktarları 10 ve 50 mg/L BPA ile 10 mg/L TBBPA etkisinde azalmışken, 50 mg/L’lik TBBPA derişiminde ise arttığı bulunmuştur (Şekil 4.17). Buna göre test edilen kimyasalların derişimleri arasında en düşük SH grup miktarı 329,8 µg/g ile 10 mg/L BPA derişiminde, en yüksek miktar ise 1393,6 µg/g ile 50 mg/L TBBPA derişiminde belirlenmiştir. Buna karşın Zenit fidelerinin köklerinin SH grup miktarları BPA etkisinde önemli bir değişim göstermemiştir (Şekil 4.18). TBPPA derişimlerinin etkisinde ise önemli düzeylerde artışlar saptanmıştır.



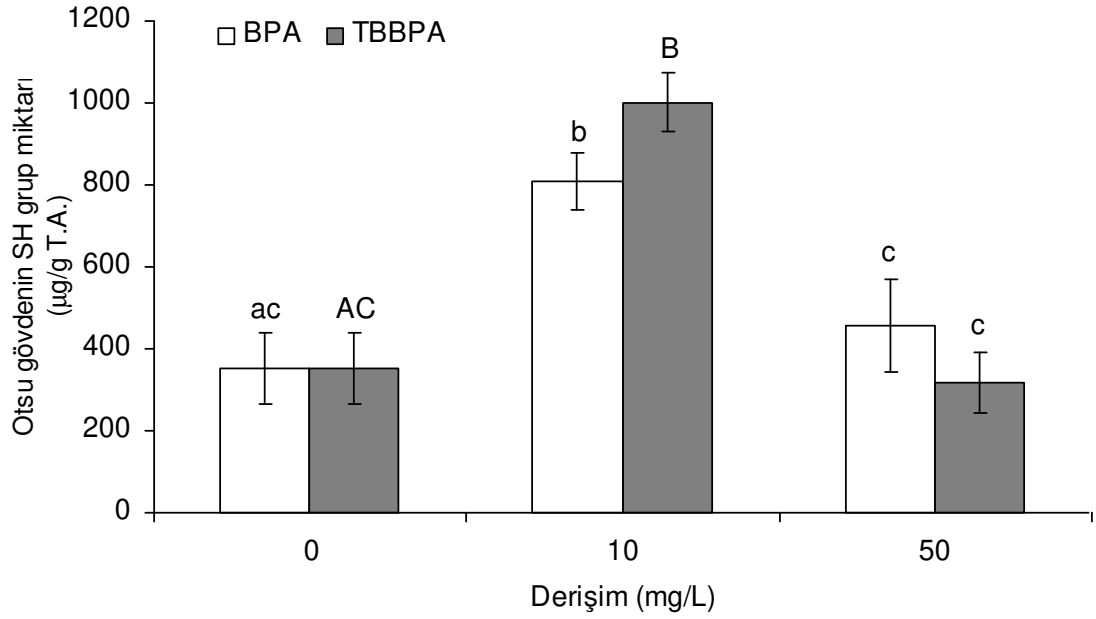
Şekil 4.17. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin protein olmayan SH grup miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirtmektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



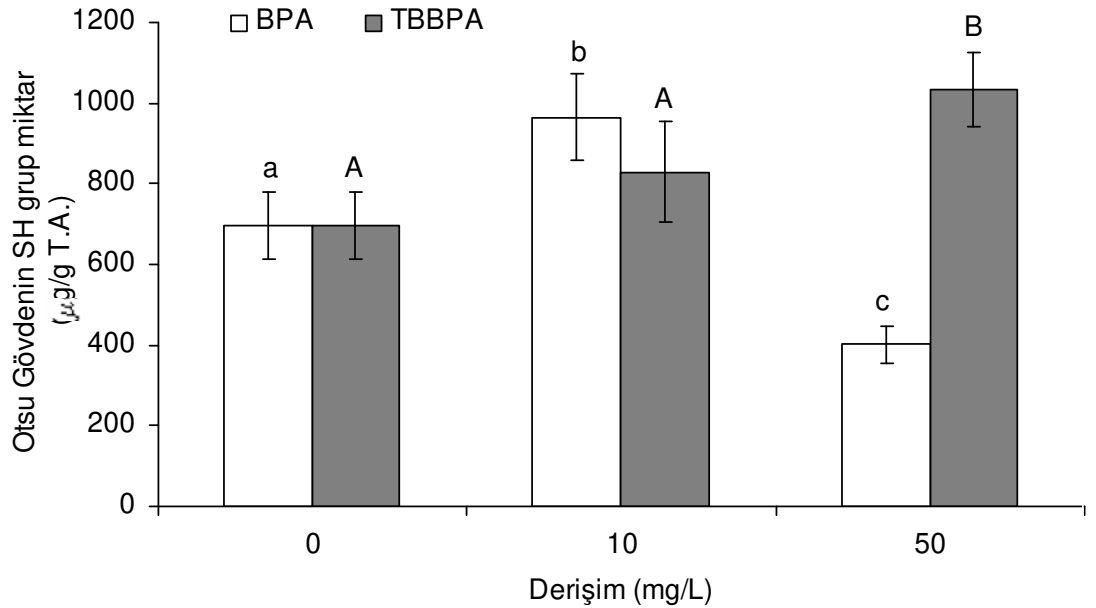
Şekil 4.18. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin protein olmayan SH grup miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.7.2. Otsu Gövdelerdeki Protein Olmayan SH Grup Derişimleri

Sagittario'nun gövdelerinin protein olmayan SH grup miktarları Şekil 4.19'da verilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, 10 mg/L BPA ve TBBPA etkisinde Sagittario gövdelerinin SH grup miktarları kontrole göre sırasıyla %130,4 ve %185,2 düzeylerinde artışlar gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). Bunun aksine, 50 mg/l'lik BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisinde ise istatistiksel olarak önemli bir değişim göstermemiştir ($p > 0.05$). Sagittario da belirlendiği gibi, düşük derişimdeki BPA ve TBBPA etkisinde de Zenit gövdelerinin SH grup miktarlarında artışlar bulunmuştur (Şekil 4.20). Zenit gövdelerinin en düşük SH grup miktarı 478,7 µg/g ile 50 mg/L'de, en yüksek miktar ise 1032.5 µg/g ile 50 mg/L'lik TBBPA derişiminde belirlenmiştir.



Şekil 4.19. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario gövdelerinin protein olmayan SH grup miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

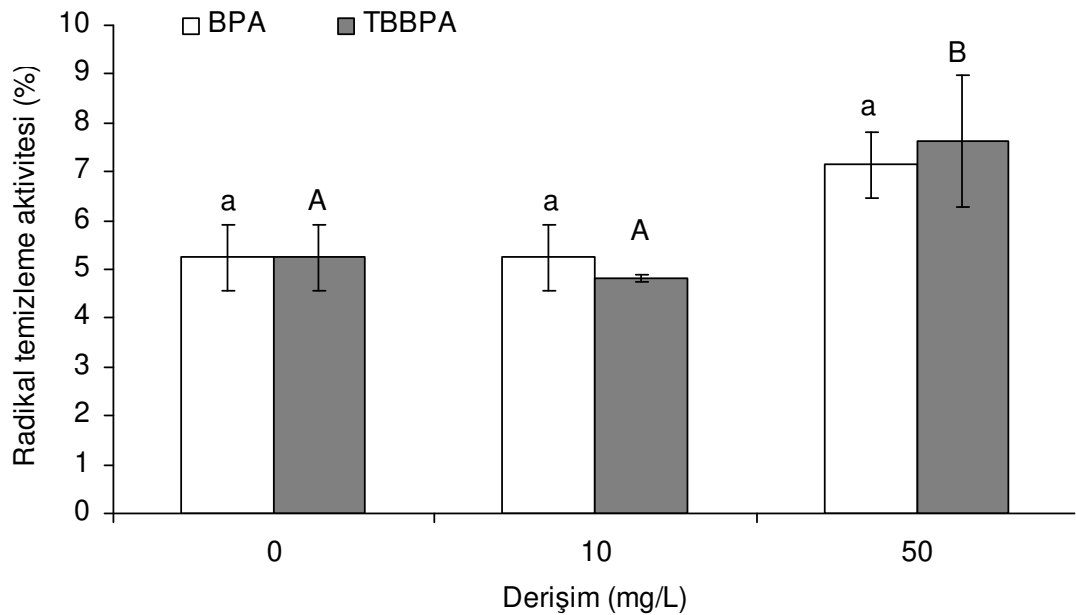


Şekil 4.20. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin protein olmayan SH grup miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

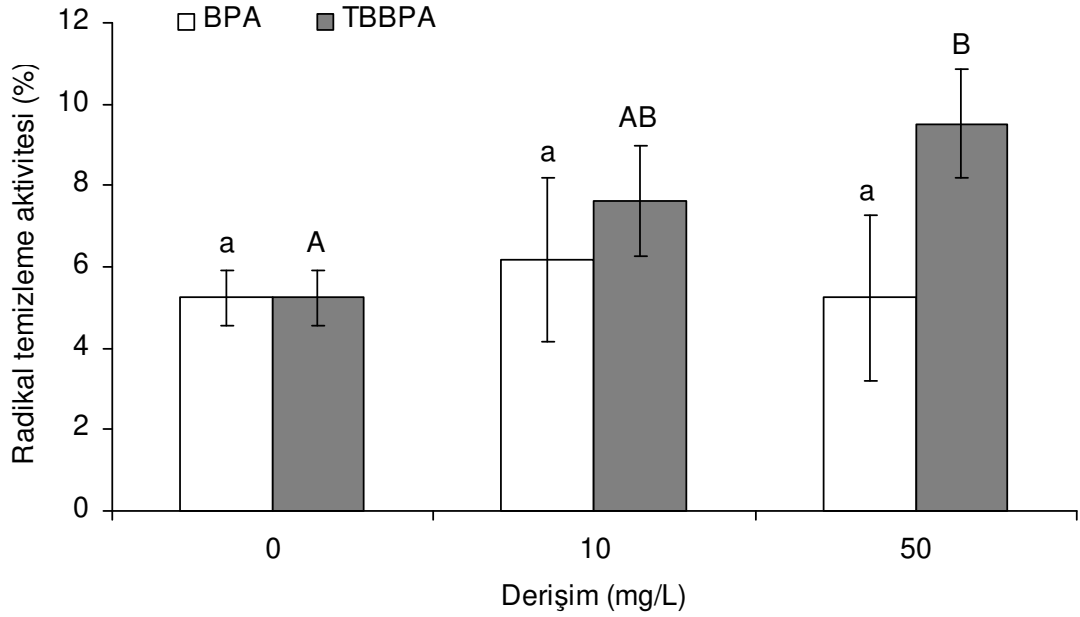
4.8. BPA ve TBBPA Etkisinde Radikal Temizleme Aktiviteleri

4.8.1. Köklerdeki Radikal Temizleme Aktiviteleri

BPA ve TBBPA etkisinde buğday fidelerinin köklerinin radikal temizleme aktiviteleri, Sagittario çeşidi için Şekil 4.21’de, Zenit çeşidi için ise Şekil 4.22’de verilmiştir. Sagittario çeşidinin köklerinin radikal temizleme aktiviteleri BPA’nın 10 ve 50 mg/L’lik derişimlerinde artmasına rağmen, bu artışlar kontrole göre önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). 10 mg/L TBBPA etkisinde ise önemsiz düzeyde azalmıştır ($p>0.05$). Bunların aksine TBBPA’nın 50 mg/L’lik derişiminde kontrole göre %177,6 düzeyinde önemli bir artış göstermiştir ($p<0.05$). Bunlara benzer olarak, Zenit fidelerinin köklerinin hidrojen peroksit miktarları 10 ve 50 mg/L BPA etkisinde kontrole göre önemli bir değişim göstermemiştir ($p>0.05$). 50 mg/L TBBPA etkisinde ise %81,7 düzeyinde bir artış göstermiştir ($p<0.05$).



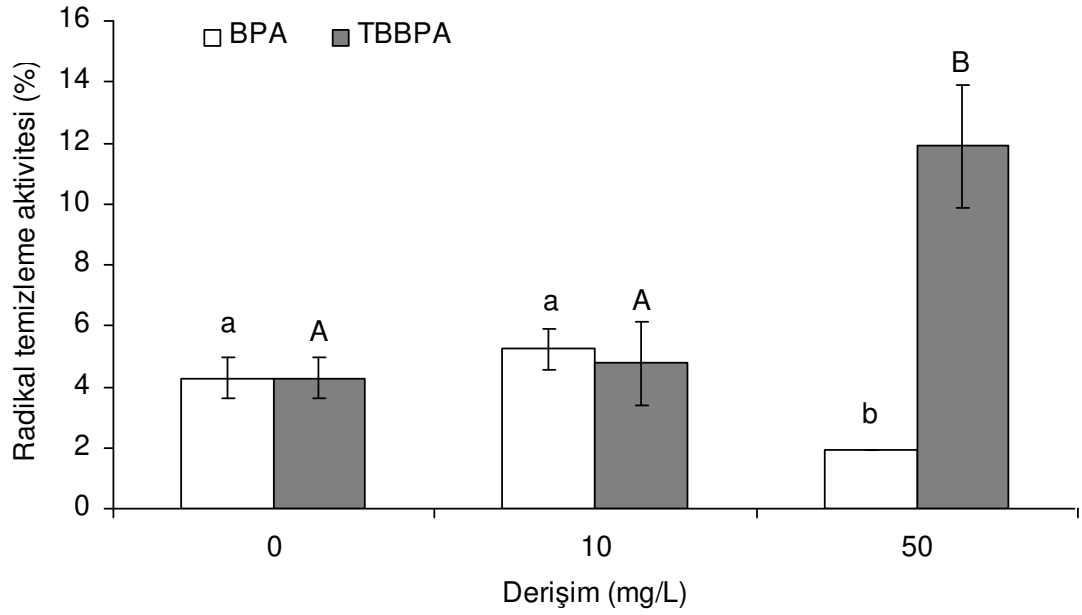
Şekil 4.21. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin radikal temizleme aktiviteleri. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



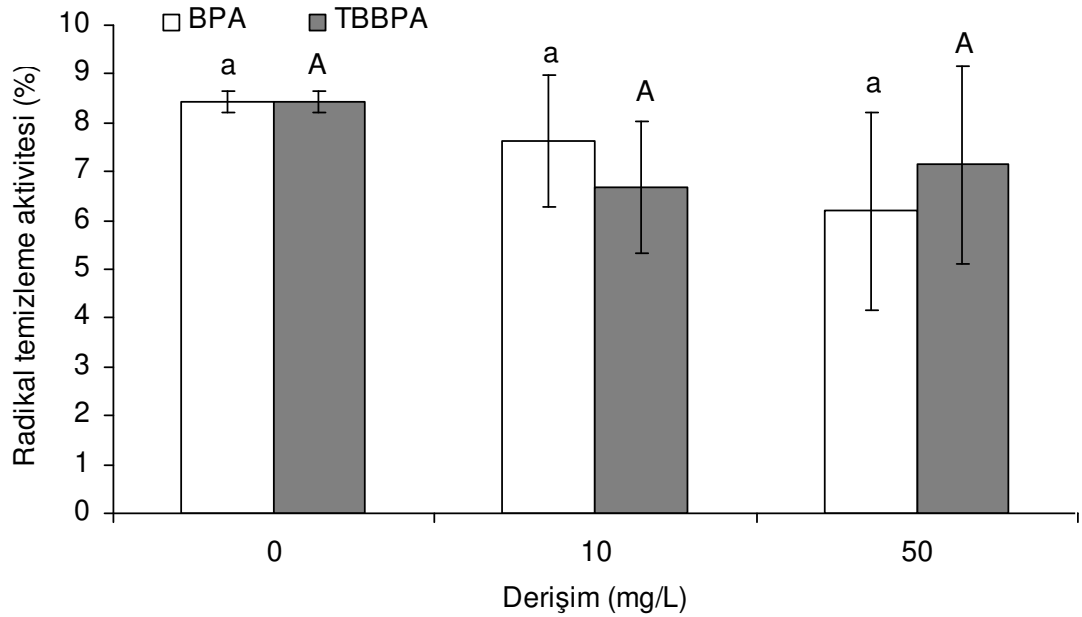
Şekil 4.22. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin radikal temizleme aktiviteleri. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.8.2. Otsu Gövdelerdeki Radikal Temizleme Aktiviteleri

BPA ve TBBPA etkisinde buğday fidelerinin gövdelerinin radikal temizleme aktiviteleri, Sagittario çeşidi için Şekil 4.23’de, Zenit çeşidi için ise Şekil 4.24’de verilmiştir. Sagittario çeşidinin gövdelerinin radikal temizleme aktivitelerine göre, BPA ve TBBPA’nın 10 mg/L derişimlerinde kontrole göre önemli bir değişim belirlenmemiştir ($p > 0.05$). Bunların aksine 50 mg/L BPA etkisinde kontrole göre önemli bir azalma belirlenmişken, 50 mg/L TBBPA etkisinde ise önemli bir artış elde edilmiştir ($p < 0.05$). Makarnalık buğday çeşidi olan Zenit fidelerinin gövdelerinin radikal temizleme aktiviteleri, BPA ve TBBPA etkisinde azalmıştır. Ancak, her iki kimyasalın uygulanan derişimlerinin etkisindeki bu azalmalar kontrole göre önemsiz olmuştur ($p > 0.05$).



Şekil 4.23. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario gövdelerinin radikal temizleme aktiviteleri. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

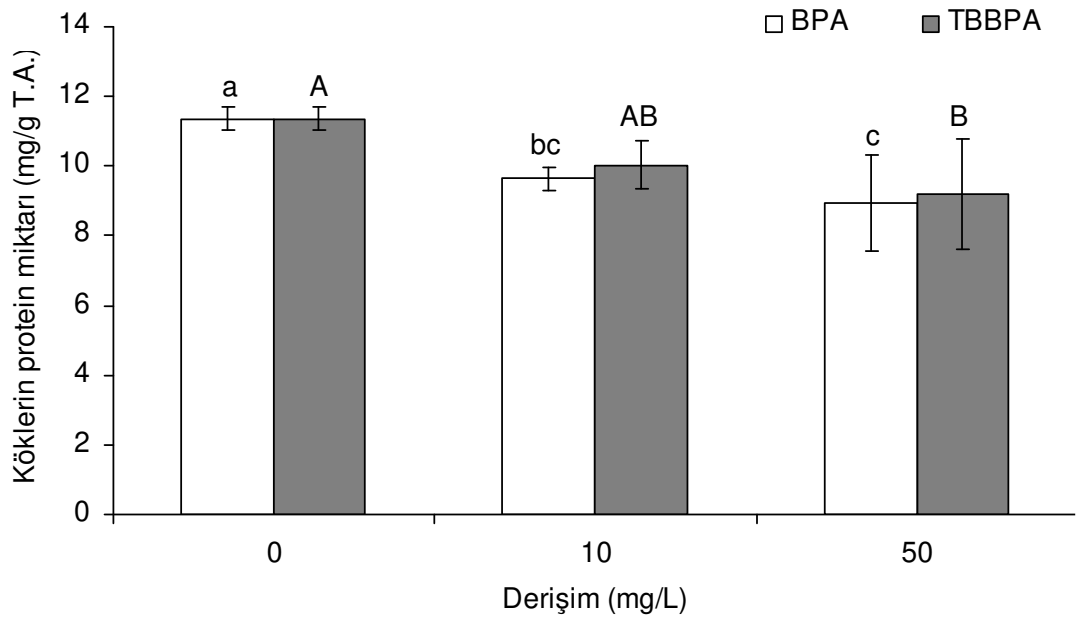


Şekil 4.24. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin radikal temizleme aktiviteleri. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

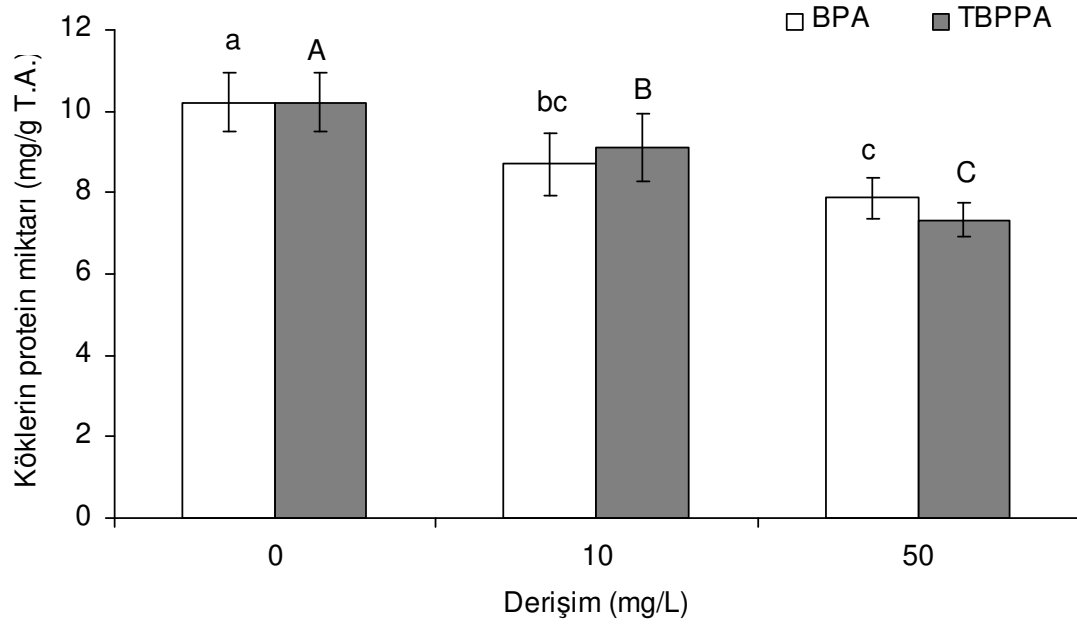
4.9. BPA ve TBBPA Etkisinde Protein Miktarları

4.9.1. Köklerdeki Protein Miktarları

Buğday dokularındaki protein olmayan SH grup miktarlarının aksine, fidelerin köklerinin protein miktarları BPA ve TBBPA etkisinde azalmalar göstermiştir. Sagittario köklerinin BPA etkisindeki bu azalmalar 10 ve 50 mg/L'lik derişimde ve kontrole göre sırasıyla %15,4 ve %19,1 ve olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.25). Benzer şekilde, 10 ve 50 mg/L TBBPA etkisindeki azalmaları da %12,0 ve %19,3 düzeylerinde olmuştur. Zenit köklerindeki protein miktarlarındaki en yüksek azalmalar da 50 mg/L derişimlerde ve BPA ve TBBPA için kontrole göre sırasıyla %23,1 ve %28,4 düzeylerinde olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Şekil 4.26).



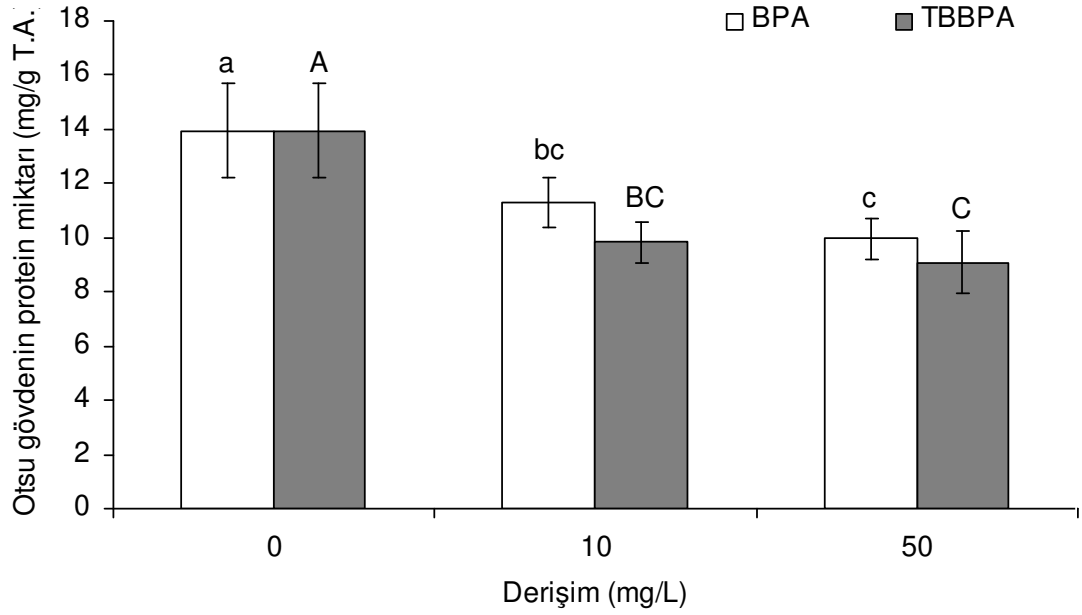
Şekil 4.25. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario köklerinin protein miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p<0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



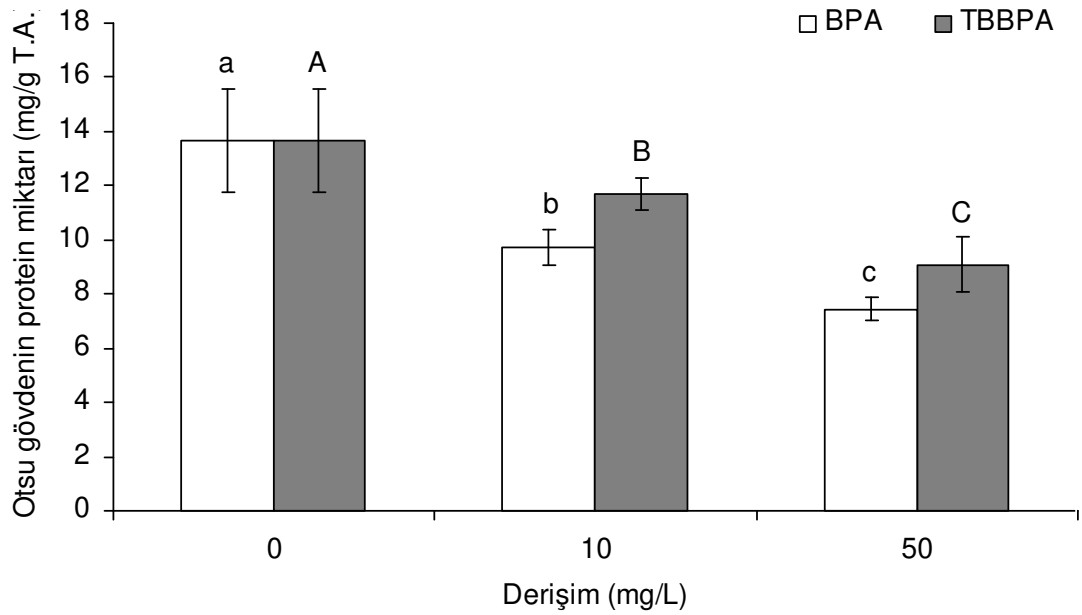
Şekil 4.26. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit köklerinin protein miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.9.2. Otsu Gövdelerdeki Protein Miktarları

Ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario ve makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin protein miktarları Şekil 4.27 ve Şekil 4.28’de verilmiştir. Buna göre, köklerdeki protein miktarlarında elde edilen bulgulara paralel olarak, gövdelerin protein miktarlarında da önemli azalmalar elde edilmiştir. En yüksek protein miktarları kontrollerde bulunmuştur. Buna karşın, Sagittario gövdelerinin en düşük protein miktarları, BPA ve TBBPA’nın 50 mg/L’lik derişiminde bulunmuş ve kontrolüne göre sırasıyla %28,5 ve %34,8 düzeylerinde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$). Zenit gövdelerinin en düşük protein miktarları da BPA ve TBBPA’nın 50 mg/L’lik derişiminde bulunmuş ve kontrole göre %45,7 ve %33,4 düzeylerinde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 4.27. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki ekmeklik buğday çeşitlerinden Sagittario gövdelerinin protein miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.



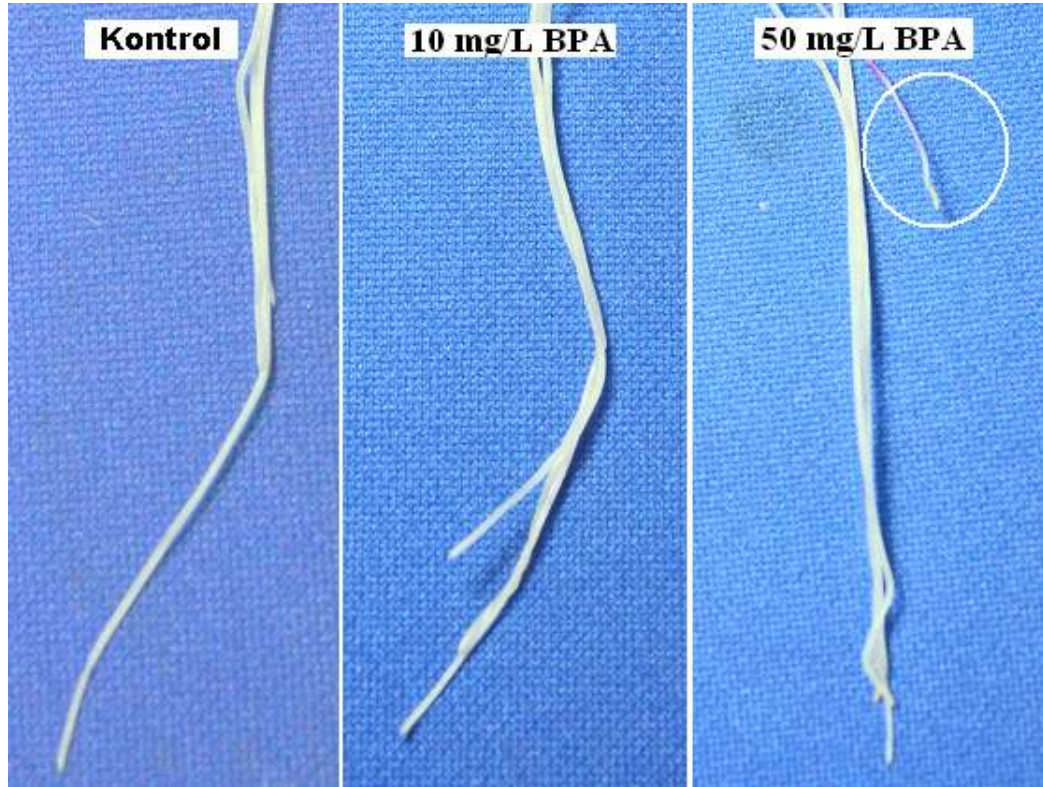
Şekil 4.28. Farklı BPA ve TBBPA derişimlerinin etkisindeki makarnalık buğday çeşitlerinden Zenit gövdelerinin protein miktarları. Hesaplamalar dört tekrarın ortalaması ile yapılmıştır. Hata barları standart sapmayı belirlemektedir. Barlar üzerindeki farklı harfler $p < 0,05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

4.10. BPA ve TBBPA Etkisinde Histokimyasal Değişimler

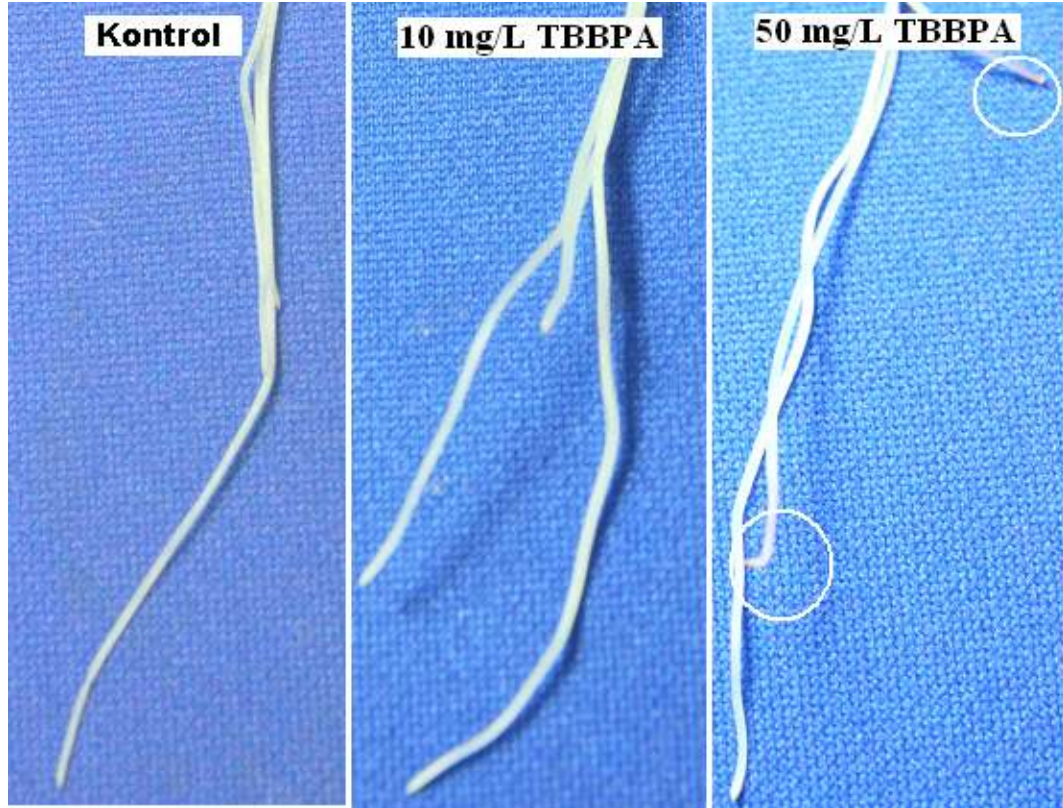
BPA ve TBBPA'nın makarnalık ve ekmeklik buğday çeşitlerinin köklerinde meydana getirdiği oksidatif hasarı histokimyasal olarak belirlemek amacıyla, kökler Schiff ve Evans Blue çözeltileri ile boyamalar yapılmıştır.

4.10.1. Lipid Peroksidasyonunun Belirlenmesi

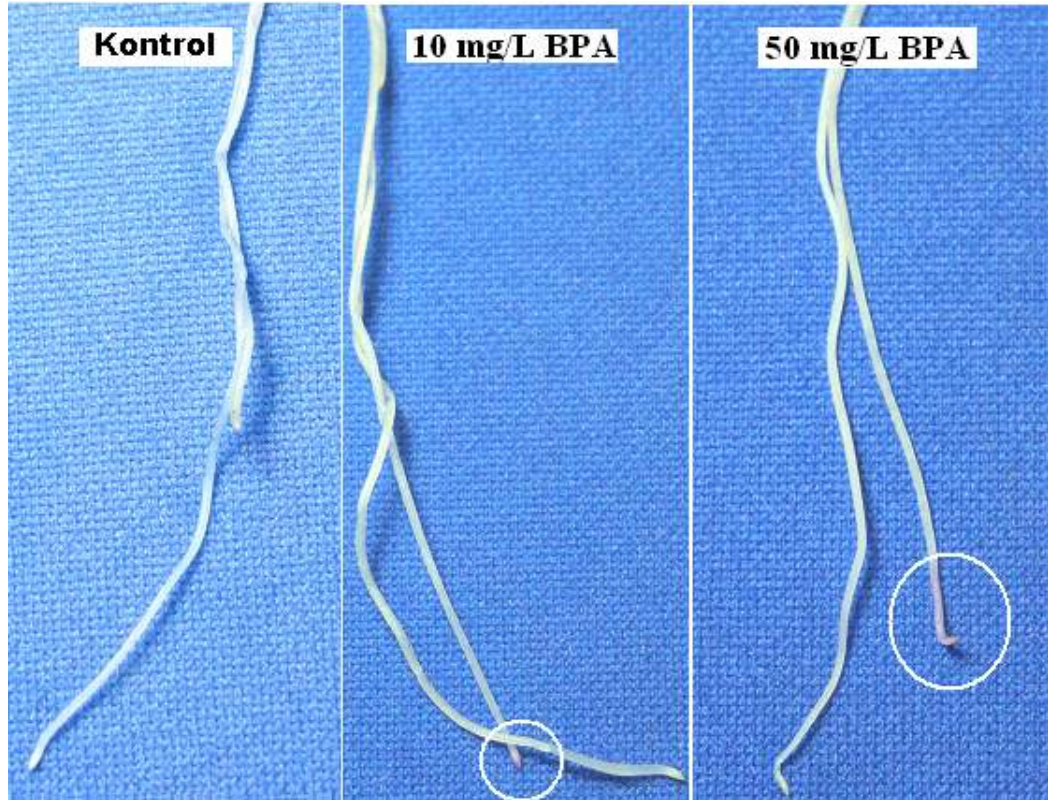
Şekil 4.29-32'de kimyasallarla uygulama sonunda, boyanan köklerin durumu verilmiştir. Bunlara göre, Sagittario'nun 50 mg/L BPA, 10 ve 50 mg/L'lik TBBPA derişimlerinin etkisinde kök uçlarında boyanmaların olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca Zenit köklerinin de 10 ve 50 mg/L BPA ve 50 mg/L'lik TBBPA derişimlerinde kök uçlarında boyanmaların olmuştur. Bu bulgulara göre, boyanmalar uygulamaların bitki köklerinde lipid peroksidasyonuna neden olduğunun en açık kanıtı olarak sunulabileceğini göstermiştir.



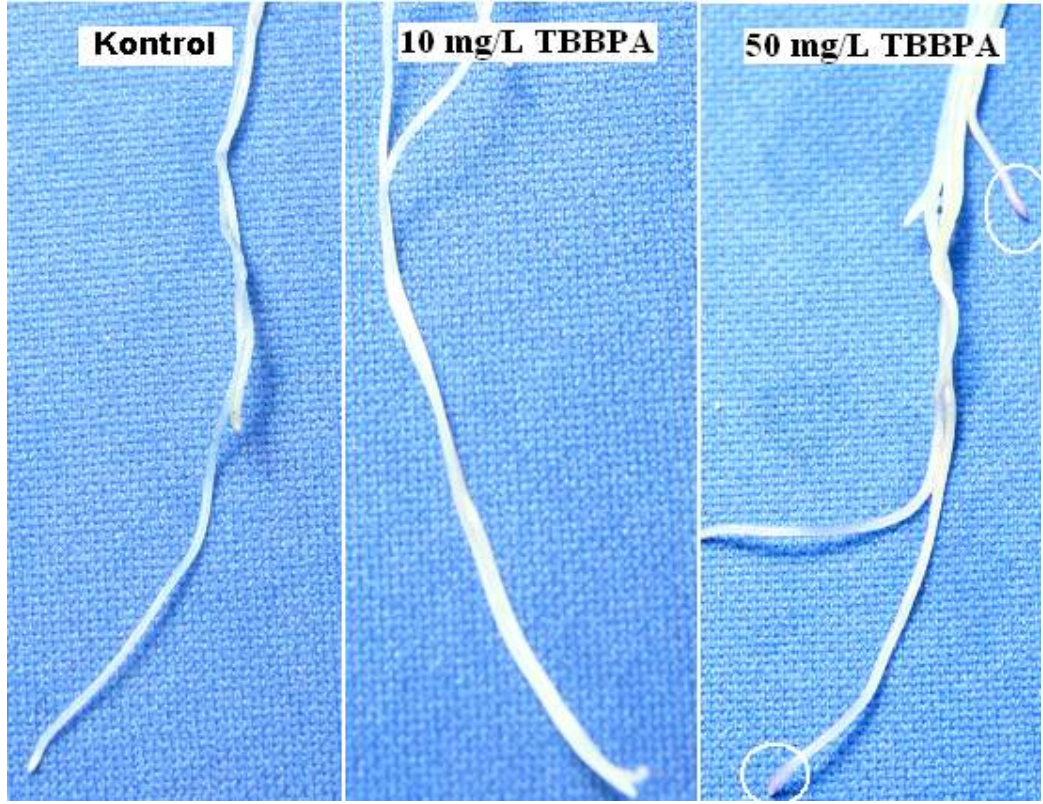
Şekil 4.29. Sagittario'nun farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerindeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.



Şekil 4.30. Sagittario'nun farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerdeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.



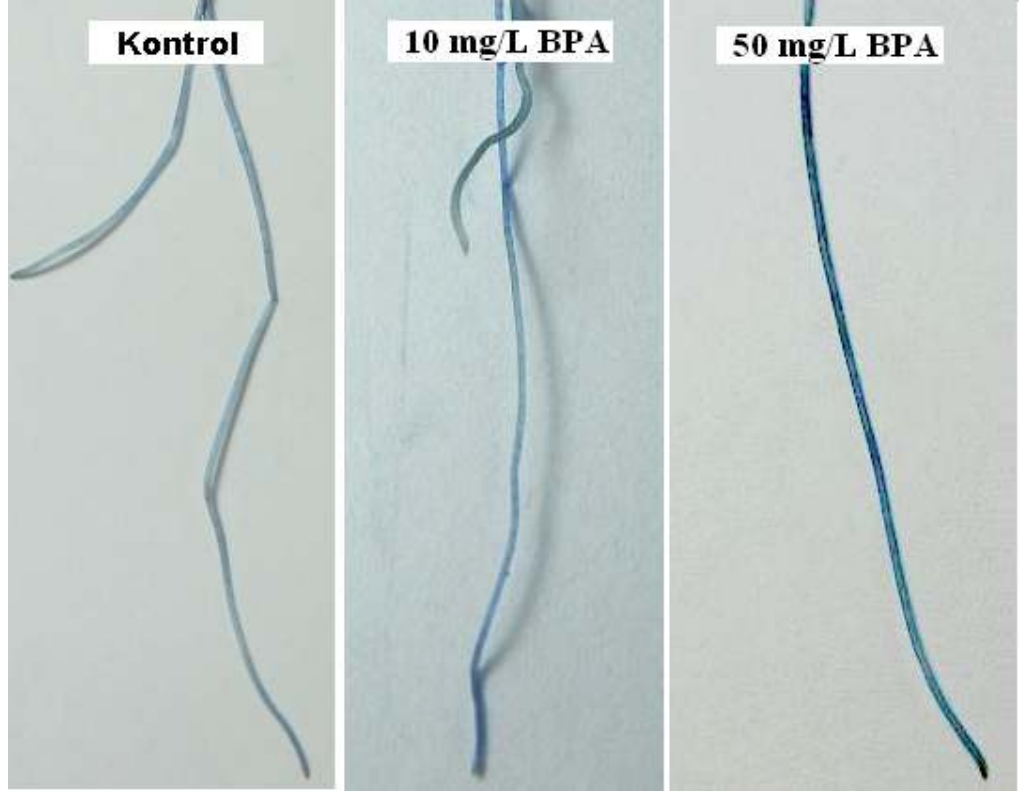
Şekil 4.31. Zenit'in farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerdeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.



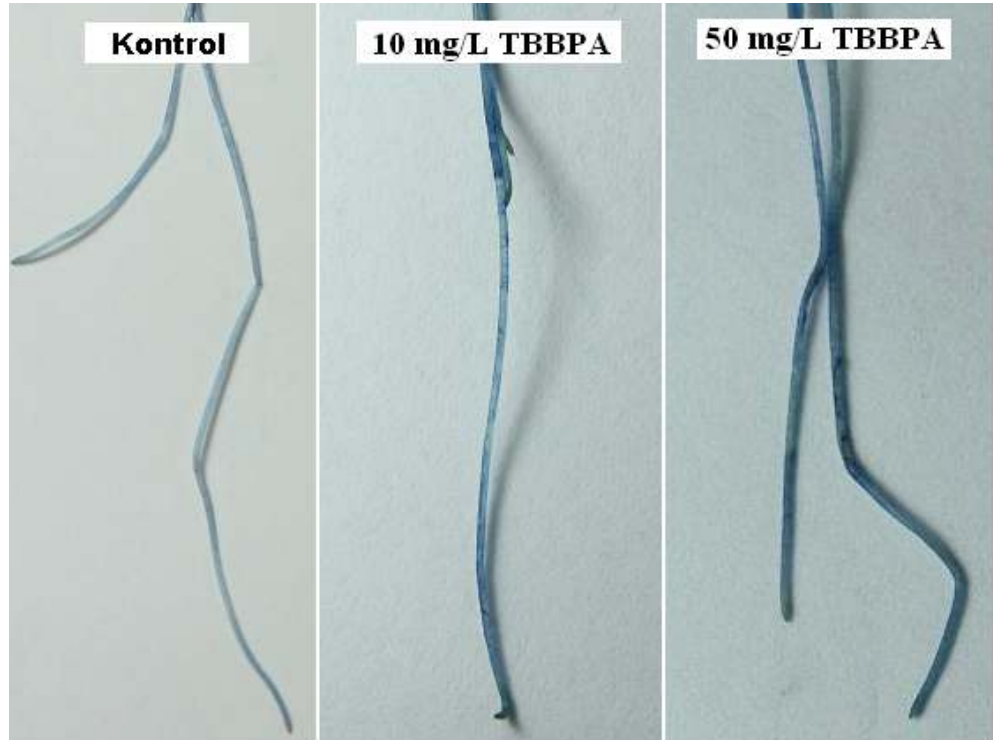
Şekil 4.32. Zenit'in farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerdeki lipid peroksidasyonunun histokimyasal olarak belirlenmesi.

4.10.2. Membran Sağlamlığının Belirlenmesi

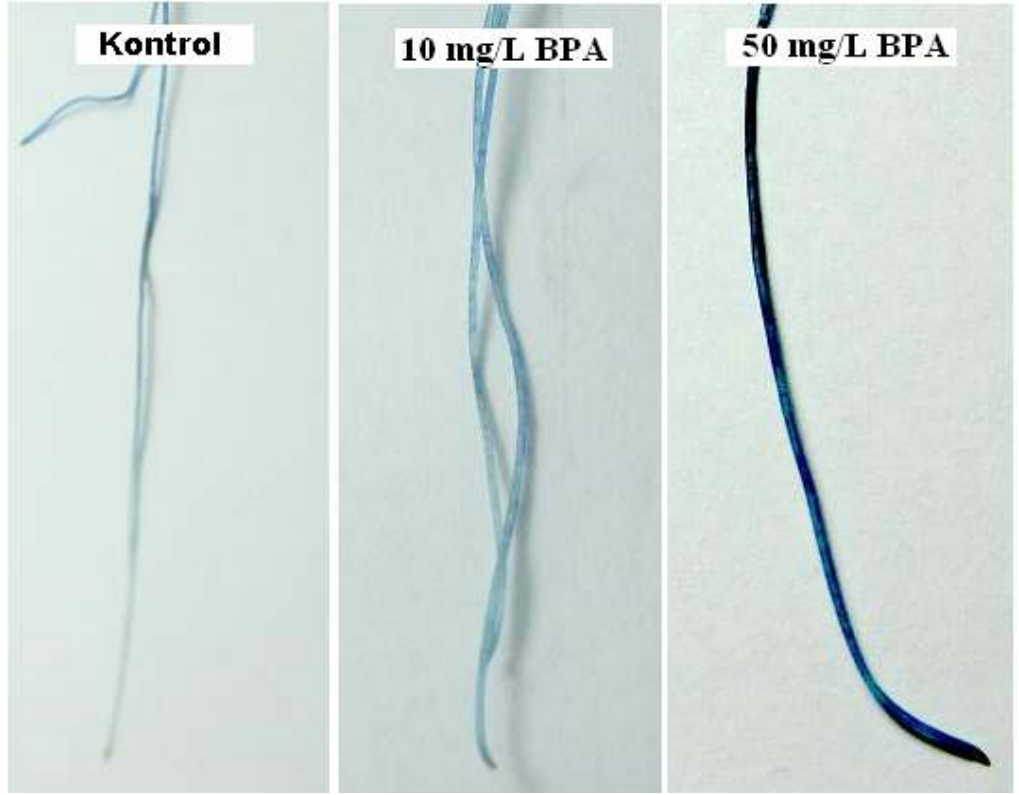
BPA ve TBBPA etkisinde ekmeklik ve makarnalık buğday çeşitlerinin köklerdeki membran sağlamlığının belirlenmesi için, kökler Evans Blue ile boyanmıştır. Şekil 4.33- 36'da görüldüğü gibi, buğday çeşitlerinin membran sağlamlıkları 10 mg/L'lik BPA ve TBBPA derişiminde kısmen korunmuştur. Buna karşın, özellikle 50 mg/L'lik BPA ve 50 mg/L'lik TBBPA derişiminde membran sağlamlığının kontrole göre önemli düzeyde etkilendiği tespit edilmiştir.



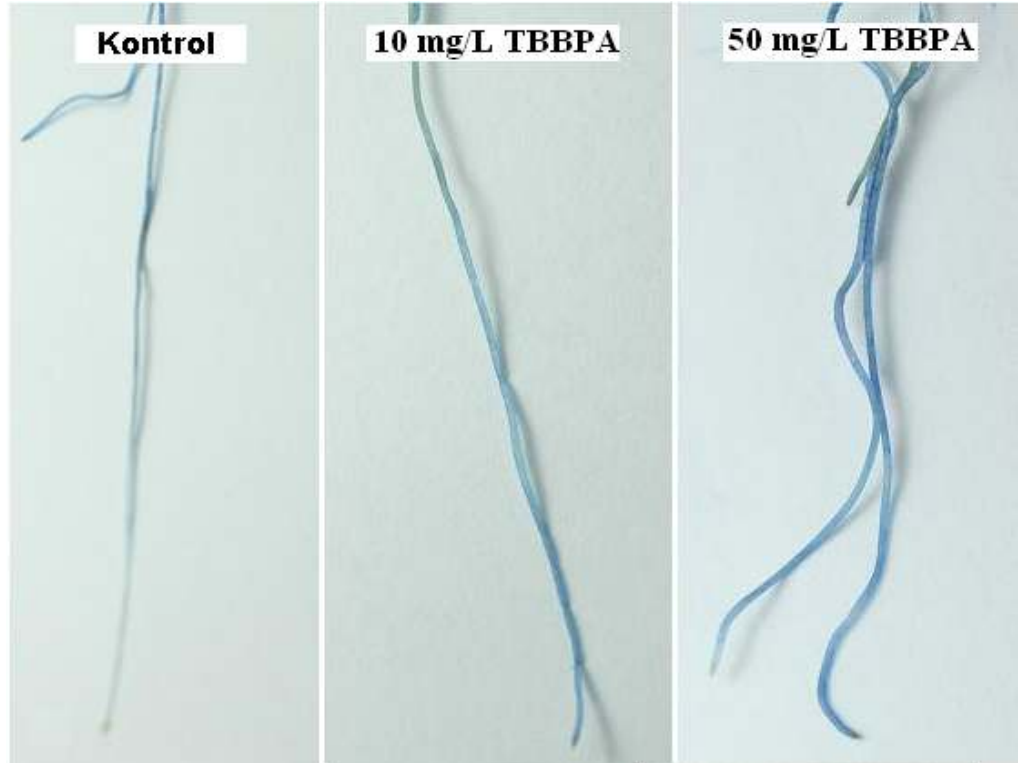
Şekil 4.33. Sagittario'nun farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.



Şekil 4.34. Sagittario'nun farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.



Şekil 4.35. Zenit'in farklı BPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.



Şekil 4.36. Zenit'in farklı TBBPA derişimlerinin etkisindeki köklerinin membran sağlamlığının histokimyasal olarak belirlenmesi.

BÖLÜM 4

TARTIŞMA VE SONUÇ

İnsan aktiviteleri sonucu çevreye verilen atık maddeler gerek suçul ve gerekse karasal canlılarda üreme, gelişme ve diğer hayati faaliyetlerin olumsuz etkilenmesine neden olmaktadır. Genel olarak çevreye verilen bu atıklar fenolik maddeler, aldehitler, alkoller, steroller, poliaromatik hidrokarbonlar, pestisitler, dioksinler, alkilfenolik bileşikler, deterjanlar, ağır metaller gibi kimyasallardır. Ksenoöstrojenler olarak adlandırılan bu grupta yer alan kimyasalların çoğu veya bunların degradasyon ürünleri de östrojenik, mutajenik, karsinojenik veya toksik etkili olabilmektedir. Çevredeki bu kimyasallar genelde canlılar tarafından çeşitli yollarla bünyelerine alınarak depolanabilmektedirler (Paxeus vd., 1992; Toppari vd., 1996). Bunun sonucunda da canlılar üzerinde zararlı etkileri olabilmektedir. Bu çalışmada, BPA ve TBBA'nın farklı buğday çeşitlerinin kök ve gövdelerindeki bazı biyokimyasal değişimlere ve tohum çimlenmesi üzerine etkileri araştırılmıştır.

Bitkiler genellikle çimlenme süreçleri boyunca toksisiteye duyarlıdırlar. Tohum çimlenmesi bitkilerin toksik etkilere toleransları için sıklıkla kullanılan kriterlerden birisidir (Parkpian vd., 2002). Ferrara vd. (2006) 10 ve 50 mg/L BPA konsantrasyonlarının etkisinde tohum çimlenmesinin engellemediğini bildirmiştir. Bulgularımıza göre, Sagittario ve Zenit'in tohum çimlenmesi 10 mg/L BPA ve TBBPA derişimindeki uygulamalarda önemli bir şekilde değişiklik göstermemiştir. Bununla birlikte, tohum çimlenmesi Zenit tohumlarının 50 mg/L BPA derişiminde de önemsiz düzeyde azalmışken, Zenit'in 50 mg/L TBBPA ve Sagittario'nun 50 mg/L BPA ve TBBPA derişimlerinde önemli düzeyde azalmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, uygulanan yüksek kimyasal derişimlerinin buğday tohumlarının çimlenmesi üzerindeki etkilerinin olduğunu göstermiştir.

Kök ve gövde gelişimi üzerine BPA ve TBBPA konsantrasyonlarının etkileri bazı çalışmalarda belirlenmiştir. *Trifolium pratense*'de TBBPA uygulamasını izleyen

süreçte dikkate değer bir etki gözlenmemiştir ve TBBPA'nın *T. pratense*'nin kök ve gövde uzaması üzerine bir etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır (Sverdrup vd., 2006). Bununla birlikte, domatesin büyümesini negatif şekilde etkileyen BPA'nın, makarnalık buğdayda ve marulda ise muhtemelen hem hücre uzamasını hem de hücre bölünmesini engellendiği belirlenmiştir (Ferrara vd., 2006). Benzer şekilde, araştırma bulgularımıza göre, her iki buğday çeşidinin kök ve gövde gelişimlerine BPA ile birlikte özellikle TBBPA'nın yüksek derişimlerinin negatif etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, çevresel atıklarda bulunabilen bu tür fenolik bileşiklerin bitki gelişimi üzerindeki olumsuz etkilerinin kimyasalın yapısına ve derişimine bağlı olarak etkilerinin olabileceğini göstermiştir. Tohum çimlenmesi ve kök uzunluğu esas alınarak yapılan vigor indekslerine göre, BPA ve TBBPA indeksleri kontrole göre azaltmıştır. Diğer yandan uygulanan test kimyasalları karşılaştırıldığında ise TBBPA'nın BPA'ya göre daha olumsuz yönde etkilediği ortaya çıkartılmıştır.

Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat eşleşmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle reaktif oksijen türleri süperoksit gibi radikaller, ayrıca daha önce hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (McCord, 1993). Serbest radikal, atomik ya da moleküler yapılarda eşleşmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen partikülleri de denmektedir. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere de antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine bünyede daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedir (Çavdar vd., 1997).

Stres faktörlerinin bitkilerde süperoksit radikal, alkoksil radikal, hidrojen peroksit ve hidroksil radikaller gibi ROT'ları katalizledikleri bilinmektedir. Bitkiler ROT'lar tarafından başlatılmış hasarın tamiri ve hafifletilmesi için kompleks antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Bu sistemin esas bileşenlerini süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, peroksidazlar ve glutatyon-askorbat döngüsünün

enzimleri olan askorbat peroksidaz, dehidroaskorbat redüktaz, monodehidroaskorbat redüktaz ve glutatyon redüktaz gibi enzimatik antioksidanlar ile askorbat, glutatyon, α -tokoferol, fenolik bileşikler ve karotenoidler gibi enzimatik olmayan antioksidanları içerdiği bilinmektedir (Foyer vd., 1994; Noctor ve Foyer, 1998). Önceki çalışmalarda, BPA ve TBBPA'nın uyarılan ROT oluşması ile oksidatif strese yol açabildiğini göstermiştir (Chitra vd., 2003; Shi vd., 2005; Sun vd., 2008). Hidrojen peroksit, O_2 'nin iki elektron indirgenmiş ürünüdür. Bu bileşik potansiyel bir reaktif oksijen türüdür ancak serbest radikal değildir. Ekmeklik ve durum buğday köklerinde BPA ve TBBPA uygulamasından sonra H_2O_2 üretimi tetiklenmiştir. H_2O_2 formasyonları, bununla birlikte, Sagittario köklerinin 50 mg/L TBBPA konsantrasyonu ve Zenitin 50 mg/L TBBPA konsantrasyonunda ise indirgenmiştir. Genellikle, H_2O_2 üretimi BPA ve TBBPA'nın yüksek konsantrasyonu tarafından şiddetli oksidatif stres yüzünden azaltılmıştır. H_2O_2 'nin katalaz ve proksidaz (POD) gibi farklı reaksiyon mekanizmalarında oluşan çeşitli antioksidan enzimler tarafından yok edildiği bilinmektedir. Katalaz ortak substrat olmaksızın H_2O_2 'yi parçalayabilirken, POD H_2O_2 'yi etkisiz hale getirirken ortak substrat ihtiyacı duyar (Hegedüs vd., 2001). Elde edilen verilere bağlı olarak, uygulanan kimyasallar açık bir biçimde ROT üretimini artırmıştır. Buna rağmen, BPA ve TBBPA'nın ROT üretimi üzerindeki mekanizmaları ise hala açık değildir (Bindhumol vd., 2003). Bununla birlikte, BPA ve TBBPA etkisinde buğday çeşitlerinin kök ve gövdelerinde oluşan radikallerin temizleme aktivitelerinde değişimlerin olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, özellikle buğday köklerinin 50 mg/L BPA ve TBBPA etkisinde oluşan stresle birlikte meydana gelen radikallerin temizleme aktivitelerinde de ciddi artışlar olmuştur.

Lipidler organik solventlerle çözünebilen karbon ve hidrojen zengin yağlar ve yağ benzeri maddelerin bir grubudur. Membran yapılarının yaklaşık % 40'ını oluştururlar ve bütünlüğünü sağlarlar. Membranların lipid kompozisyonu organellerin yapısı ve fonksiyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir. (Harwood ve Russel, 1984). Membran lipidleri sık sık biyotik ve abiyotik stres koşulları altında kalitatif ve kantitatif olarak modifiye olurlar (Kuiper, 1985). Bunlar plazma membranları ve çeşitli hücre fosfolipidlerinin toplam ve oransal bolluğundaki değişimin yanı sıra yağ asitlerinin doymuşluk düzeyindeki değişimleri de içerir. Ayrıca biyotik ve abiyotik streslerin lipidlerde peroksidasyona neden olduğu da bilinmektedir (Rama Devi ve Prasad,

2004). Lipid peroksidasyonu denildiğinde lipidlerin oksidatif bozulması kastedilir. Bazı çalışmalar, BPA ve TBBPA'nın lipid peroksidasyonuna neden olduğuyla ilişkilidir (Bindhumol vd., 2003; Sun vd., 2008). Malondialdehit lipid peroksidasyonunun sıklıkla kullanılan indikatörlerinden biridir. Sun vd. (2008) *Ceratophyllum demersum*'da MDA içeriğinin TBBPA uygulamasından sonra önemli şekilde arttığını rapor etmişlerdir. Artan konsantrasyonlarda buğday çeşitlerinin köklerinin MDA içeriğinde artan BPA ve TBBPA ile birlikte bir artış bulunmuştur. Yapılan korelasyon analizlerine göre BPA derişimlerinin etkisindeki Sagittario köklerinin MDA içeriği ile H₂O₂ miktarı arasında pozitif ilişkinin olduğu belirlenmiştir (r=0.722; p=0.004). Benzer şekilde TBBPA derişimlerinin etkisindeki Sagittario köklerinin MDA içeriği ile H₂O₂ miktarı arasında da pozitif önemli bir ilişki belirlenmiştir (r=0.556; p=0.03). Zenit köklerinin MDA içeriği ile H₂O₂ miktarları arasında BPA (r=0,892) ve TBBPA (r=0,875) arasında da pozitif ilişki belirlenmiştir (p<0.001). Buğday çeşitlerinin gövdelerinin MDA içeriği de artan BPA ve TBBPA ile birlikte bir artış göstermiştir. İstatistiksel analizlere göre, Sagittario gövdelerin MDA içeriği ile H₂O₂ miktarları BPA (r=0.644; p=0.012) ve TBBPA (r=0.755; p=0.002) arasında pozitif bir ilişki elde edilmiştir. Zenit gövdelerinin MDA içeriği ile H₂O₂ miktarları BPA (r=-0.332; p=0.146) ve TBBPA (r=0.538; p=0.036) arasında da pozitif bir ilişki elde edilmiştir. Yapılan korelasyon analiz sonuçları da BPA ve TBBPA'nın buğday dokularında oksidatif strese neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca, histokimyasal denemeler, buğday köklerinde lipid peroksidasyonuna neden olan BPA ve TBBPA'nın plazma zar lipidlerine oksidatif zararın değerlendirilmesi için yürütülmüştür. Diğer yandan, kantitatif ve kalitatif olarak peroksidasyonun derecesi BPA ve TBBPA'nın 50 mg/L konsantrasyonunda net olarak belirlenmiştir. Yüksek BPA ve TBBPA konsantrasyonunun ROT üretimini tetiklemede bir potansiyel olabileceği ileri sürülmüştür. BPA ve TBBPA ile muamele edilen kökün hücre ölümüyle ilişkili olarak büyümesinin gelişip gelişmeyeceğini belirlemek için, Evans Blue alının derecesi deneyi ile plazma zarı bütünlüğünün kaybı çalışılmıştır. Köklerin plazma zarı bütünlüğü ile ilişkili olarak Evans Blue ile boyanması BPA ve TBBPA'nın düşük konsantrasyonlarda korunduğunu gösterirken bütünlük her iki kimyasalın yüksek konsantrasyonunda ise kısmen bozulduğunu göstermiştir. Bu durum özellikle BPA için geçerli bir durum olarak ortaya çıkmıştır.

Bitkilerde bulunan SH gruplarını başlıca monotiyoller (sistein ve glutatyon), fitoşelatinler ve metalotiyoneinler oluşturmaktadır. Bitkilerde protein olmayan SH gruplarının çoğunun glutatyonu ifade ettiği belirtilmiştir (Grill vd., 1979). Köklerde protein olmayan SH gruplarının içeriği BPA ve TBBPA uygulamalarını takiben değişmiştir. Glutatyon ROT'ları yakalama yeteneğine sahip bir antioksidan olarak önemli bir rol oynayan eşsiz bir tiyol içerikli tripeptittir (Sun vd., 2008). Sagittario köklerinin BPA ve TBBPA etkisinde SH grup miktarları ile H₂O₂ miktarları arasında negatif ilişki bulunmuşken (BPA için $r=-0,665$; $p=0,009$, TBBPA için $r=-0,434$, $p=0,079$), Zenit köklerinde ise BPA etkisinde negatif ($r=-0,348$; $p=0,134$), TBBPA etkisinde ise pozitif ilişkili olduğu belirlenmiştir ($r=0,921$; $p<0,001$). Sagittario gövdelerinin BPA ve TBBPA etkisinde SH grup miktarları ile H₂O₂ miktarları arasında önemsiz ilişki bulunmuştur ($p>0,05$). Bunun aksine Zenit gövdelerinde ise önemli ilişkiler belirlenmişti (BPA için $r=0,698$; $p=0,006$, TBBPA için $r=0,663$; $p=0,009$). Yukarıda bahsedildiği gibi, buğday kök ve sürgünlerinde H₂O₂ seviyesindeki artış oksidatif stresin olası bir sebebidir. SH gruplarındaki artış ise oksidatif stresle etkileşime giren adaptif bir mekanizma aracılığıyla artabilir. Protein olmayan SH gruplarının aksine, kök ve sürgünlerdeki protein içeriği BPA ve TBBPA muamelesinden sonra azalmıştır. Yapılan korelasyon analizlerine göre BPA ve TBBPA etkisindeki buğday çeşitlerinin kök ve gövde dokularında oluşan H₂O₂ ile protein miktarları arasında negatif ilişkiler belirlenmiştir. Bununla ilişkili olarak, daha önce yapılan araştırma sonuçları da ROT'lardan hidroksil radikalının proteinlerin yıkımına neden olduğunu bildirmişlerdir (Halliwell, 1987). Elde edilen bulgular ve önceden rapor edilen çalışma sonuçlarına göre, protein içeriğindeki bu azalmaya her iki buğday çeşidinin kök ve gövde dokularında BPA ve TBBPA tarafından uyarılmış oksidatif stresin bir sonucu olarak üretilen ROT'ların neden olabileceği sonucuna varılabilir.

Pestisitler, poliaromatik hidrokarbonlar, alkil fenoller, dioksinler, Tetrabromobisfenol A, Bisfenol A vb. gibi evsel, endüstriyel ve zirai kaynaklı birçok kimyasal madde insan ve hayvanlarda endokrin yıkıcı aktivite gösterebilmektedir. Tetrabromobisfenol A ve bisfenol A'nın üretim faaliyetleri ve atıklarla çevreye bulaştırılıyor olmasının yanında, özellikle insan başta olmak üzere diğer canlılardaki akümüasyonu ve olası toksik etkileriyle ilgili ciddi çalışmalar yapılmaktadır. Ancak endokrin bozucu bu kimyasalların bitkilerdeki etkileriyle ilgili sınırlı sayıda çalışma

yapılmıştır. Yani yüksek bitkilerdeki fizyolojik etkileri tam olarak belirlenememiştir. Yapılan bu çalışma ile Bisfenol A ve Tetrabromobisfenol A'nın yüksek bitkilerde meydana getirdiği bazı fizyolojik değişiklikler belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar BPA ve TBBPA'nın düşük konsantrasyonlarında tohum çimlenmesinde önemli bir etkilerinin olmadığını göstermiştir. Bu varyetelerin kök ve gövde dokularında H_2O_2 ve lipid peroksidasyonundaki artışların tetiklenmiş oksidatif stresten kaynaklandığı göstermektedir. Artan üretim ve tüketim faaliyetleri sonucu çevresel sorunlar günümüzde hat safhaya ulaşmıştır. Bu çevre sorunları arasında sayılan ve henüz bitkiler üzerinde fazla çalışmanın yapılmadığı bu tür fenolik karakterli kimyasallarında da bitkiler üzerinde etkilerinin olduğu belirlenmiştir. BPA ve TBBPA'nın ve bunların parçalanma ürünlerinin bitki toksikolojisinde önemli rollerinden dolayı, elde edilen bulguların benzer çalışmalara destek olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- Abdul-Baki, A.A., Anderson, J.D., 1973. Relationship between decarboxylation of glutamic acid and vigour in soybean seed. *Crop Science* **13**, 222-226.
- Berger, U., Herzke, D., Sandanger, T.M., 2004. Two trace analytical methods for determination of hydroxylated PCBs and other halogenated phenolic compounds in eggs from Norwegian birds of prey. *Anal. Chem.* **76**, 441–452.
- Bindhumol, V., Chitra, K.C., Mathur, P.P., 2003. Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology* **188**, 117-124.
- Burits, M., Bucar, F. 2000. Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil. *Phytotherapy Research*, **14**, 323-328.
- Cakmak, I., Marschner, H., 1992. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiol.* **98**, 1222-1227.
- Chitra, K.C., Latchoumycandane, C., Mathu, P.P., 2003. Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. *Toxicology* **185**, 119-127.
- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve Antioksidan savunma, *Türk nefroloji ve transplantasyon dergisi*, 3-4, 92-95.
- de Wit, C.A., 2002. An overview of brominated flame retardants in the environment. *Chemosphere* **46**, 583-624.
- Environmental Protection Agency. 2005. Cross-species mode of action information assessment: a case study of bisphenol A. Govt Reports Announcements and Index, Issue 26, National Center for Environmental Assessment.
- European Commission. 2003. Risk assessment report of 4,4-isopropylidenediphenol (BISPHENOL-A). Italy.
- Fernandez M.F., Rivas A., Pulgar R., Olea N. 2001. Human exposure to endocrine disrupting chemicals: the case of bisphenols. In: Nicolopoulo-Stamati P, Hens L, Howard CV, editors. Endocrine disrupters. Environmental health and policies. Kluwer Academic Publishers 149–165.
- Ferrara, G., Loffredo, E., Senesi, N., 2006. Phytotoxic, clastogenic and bioaccumulation effects of the environmental endocrine disruptor bisphenol A in various crops grown hydroponically. *Planta* **223**, 910-916.

- Fukazawa, H, Hoshino, K, Shiozawa T, Matsushita H, Terao Y. 2001. Identification and quantification of chlorinated bisphenol A in wastewater from wastepaper recycling plants. *Chemosphere* **44**, 973–979.
- Foyer, C.H., M. Lelandais, K.J. Kunert, 1994. Photooxidative stress in plants. *Physiol. Plant.*, **92**, 696-717.
- Grill, D., Esterbauer, H., Klösch, U., 1979. Effect of sulphur dioxide on glutathione in leaves of plants. *Environ. Pollut.* **19**, 187-194.
- Gupta, M., Chandra, P., 1998. Bioaccumulation and toxicity of mercury in rooted-submerged macrophyte *Vallisneria spiralis*. *Environ. Pollut.* **103**, 327–332.
- Gustafsson, K, Wallen M. 1998. Status report on tetrabromobisphenol A (CAS no. 79-94-7). Clearing house Sweden. Solna, Sweden: National Chemicals Inspectorate.
- Halliwell, B., 1987. Oxidative damage, lipid peroxidation and antioxidant protection in chloroplasts. *Chem. Phys. Lipids* **44**, 327-340.
- Harwood, J.L. and Russel, N.J. 1984. *Lipids in Plants and Microbes*. Allen and Unwin, London.
- Hegedüs, A., Erdei, S., Horvath, G., 2001. Comparative studies of H₂O₂ detoxifying enzymes in green and greening barley seedling under cadmium stress. *Plant Sci.* **160**, 1085-1093.
- Heinonen, J., Honkanen, J. Kukkonen, J.V.K., Holopainen, I.J. 2002. “Bisphenol A Accumulation in the Freshwater Clam *Pisidium amnicum* at Low Temperatures”, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **43**, 50-55.
- <http://tr.wikipedia.org/>
- IPCS/WHO 1995. Environmental Health Criteria 172: Tetrabromobisphenol A and Derivatives. WHO, Geneva.
- Jakobsson, K., Thuresson, K., Rylander, L., et al., 2002. Exposure to polybrominated diphenyl ethers and tetrabromobisphenol A among computer technicians. *Chemosphere* **46**, 709–716.
- Kang, J.H., Katayama, Y., Kondo, F., 2006b. Biodegradation or metabolism of bisphenol A: From microorganisms to mammals. *Toxicology* **217**, 81-90.
- Kang, J.-H., Kondo, F., Katayama, Y. 2006a. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology* **226**, 79–89.
- King, C.D., Rios, G.R., Green, M.D., Mackenzie, P.I., Tephly, T.R. 1997. Comparison of stably expressed rat UGT1.1 and UGT2B1 in the glucuronidation of opioid compounds. *Drug Metab. Dispos.* **25**, 251–255.

- Kuiper, P.J.C., 1985. Lipid Metabolism of Higher Plants as a Factor in Environmental Adaptation. In: Siegenthaler, P.A. and Eichenberger, W. (Eds) Structure, Function and Metabolism of Plant Lipids. Elsevier, Amsterdam, pp, 525-530.
- Lee, H.B., Peart, T.E., 2002. Organic contaminants in Canadian municipal sewage sludge: Part I. Toxic or endocrine-disrupting phenolic compounds. *Water Qual. Res. J. Can.* **37**, 681–694.
- Lee, S.M., Koo, B.W., Choi, J.W., Choi, D.H., An, B.S., Jeung, E.B. and Choi I.G., 2005. Degradation of bisphenol A by white rot fungi, *Stereum hirsutum* and *Heterobasidium insulare*, and reduction of its estrogenic activity. *Biol. Pharm. Bull.* **28**(2), 201-207.
- Li, Y., Zhou, Q., Li, F., Liu, X., Luo, Y., 2008. Effects of tetrabromobisphenol A as an emerging pollutant on wheat (*Triticum aestivum*) at biochemical levels. *Chemosphere* **74**, 119-124.
- Lindholm C, Wayne PM, Marriott P, Pederson SN, Bjerregaard P 2003. Metabolism of bisphenol A in zebrafish (*Danio rerio*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to estrogenic response. *Comp. Biochem. Physiol. C* **135**, 169–177
- Loffredo E., Eliana Gattullo, C., Traversa, A. and Senesi N. 2010. Potential of various herbaceous species to remove the endocrine disruptor bisphenol A from aqueous media. *Chemosphere* **80**, 1274–1280.
- Lowry, O.H., Rosebrought, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- McCord J. Human disease, free radicals and the oxidant / antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; **26**: 351 - 357.
- Meerts, I.A.T.M., Letcher, R.J., Hoving, S., Marsh, G., Bergman, A., Lemmen, J.G., van der Burg, B., Brouwer, A., 2001. In vitro estrogenicity of polybrominated diphenyl ethers, hydroxylated PBDEs, and polybrominated bisphenol A compounds. *Environ. Health Perspect.* **109**, 399–407.
- Meerts, I.A.T.M., van Zanden, J.J., Luijckx, E.A.C., van Leeuwen-Bol, I., Marssch, G., Jakobsson, E., Bergman, A., Brouwer, A., 2000. Potent competitive interactions of some brominated flame retardants and related compounds with human transthyretin in vitro. *Toxicol. Sci.* **56**, 95–104.
- Nakajima N., Ohshima Y., Serizawa S., Kouda T., Edmonds J., Shiraishi F., Aono M., Kubo A., Tamaoki M., Saji H. and Morita M. 2002. Processing of Bisphenol A by Plant Tissues: Glucosylation by Cultured BY-2 Cells and Glucosylation/Translocation by Plants of *Nicotiana tabacum*. *Plant and Cell Physiology* **43**, 1036-1042.

- Noctor, G., C.H. Foyer, 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **49**, 249-279.
- Parkpian, P., Leong, S.T., Laortanakul, P., Juntaramitree, J., 2002. An environmentally sound method for disposal of both ash and sludge wastes by mixing with soil: A case study of Bangkok plain. *Environ. Monit. Assess.* **74**, 27-43.
- Paxeus, N., Robinson, P., Balmer, P., 1992. Study of Organic Pollutants in Municipal Wastewater in Gotenberg, Sweden. *Water Sci. Technol.*, **25**, 249-256.
- Pompella, A., Maellaro, E., Casini, A.F., Comporti, M., 1987. Histochemical detection of lipid peroxidation in the liver of bromobenzene-poisoned mice. *Am. J. Pathol.* **129**, 295-301.
- Rama Devi, S. and Prasad, M.N.V., 2004. Membrane Lipid alterations in Heavy Metal Exposed Plant. In: Prasad, M.N.V. and Hagemeyer, J. (Eds.) Heavy Metal Stress in Plants, From Molecules to Ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, 99-116.
- Sagisaka, S., 1976. The occurrence of peroxide in a perennial plant *Populus gelrica*. *Plant Physiol.* **57**, 308-309.
- Saiyod S., Vangnai A.S., Thiravetyan P. and Inthorn D. 2010. Bisphenol A removal by the *Dracaena* plant and the role of plant-associated bacteria. *J. Hazard Mater.* **78**(1-3), 777-185.
- Schmidt B. and Schuphan I. 2002. Metabolism of the environmental estrogen bisphenol A by plant cell suspension cultures. *Chemosphere* **49**, 51-59.
- Sellstrom, U., Jansson, B., 1995. Analysis of tetrabromobisphenol A in a product and environmental samples. *Chemosphere* **31**, 3085-3092.
- Shi, H.H., Wang, X.R., Luo, Y., Su, Y., 2005. Electron paramagnetic resonance evidence of hydroxyl radical generation and oxidative damage induced by tetrabromobisphenol A in *Carassius auratus*. *Aquat. Toxicol.* **74**, 365-371.
- Sjodin, A., Carlsson, H., Thuresson, K., Sjodin, S., Bergman, A., Ostman, C., 2001. Flame retardants in indoor air at an electronics recycling plant and at other work environments. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 448-454.
- Speranza A., Crosti, P., Malerba, M., Stocchi, O., Scoccianti V. 2010. The environmental endocrine disruptor, bisphenol A, affects germination, elicits stress response and alters steroid hormone production in kiwifruit pollen. *Plant Biol.* 1-9.
- Staples, C.A., Dome, P.B., Klecka, G.M., Oblock, S.T., Haris, L.R., 1998 A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere* **36**, 2149-2173.

- Suga, T., Hirata, T., 1990. Biotransformation of exogenous substrates by plant cell cultures. *Phytochemistry* **29**, 2393-2406.
- Sun, Y., Guo, H., Yu, H., Wang, X., Wu, J., Xue, Y., 2008. Bioaccumulation and physiological effects of tetrabromobisphenol A in coontail *Ceratophyllum demersum* L. *Chemosphere* **70**, 1787-1795.
- Sverdrup, L.E., Hartnik, T., Mariussen, E., Jensen, J., 2006. Toxicity of three halogenated flame retardants to nitrifying bacteria, red clover (*Trifolium pratense*) and a soil invertebrate (*Enchytraeus crypticus*). *Chemosphere* **64**, 96-103.
- Tephly, T.R., Burchell, B. 1990. UDP-glucuronosyltransferases: A family of detoxifying enzymes. *Trends Pharmacol. Sci.* **11**, 276– 279.
- Thomsen, C., Leknes, H., Lundanes, E., Becher, G., 2002a. A new method for determination of halogenated flame retardants in human milk using solid-phase extraction. *J. Anal. Toxicol.* **26**, 129–137.
- Toppari, J., Larsen, J., Christiansen, P., Gwercman, A., Grandjean, P., Guillette Jr, L., Jegou, B., Jensen, T., Jouannet, P., Keiding, N., Leffers, H., McLachlan, J., Meyer, O., Muller, J., Rajpert-De-Meyts, E., Scheike, T., Sharpe, R., Sumpter, J., Skakkebaek, N., 1996. Male Reproductive Health and Environmental Xenoestrogens. *Environ. Health Perspec.*, **104**, 741-803.
- Toyama T., Sato, Y., Inoue, D., Sei, K., Chang, Y.-C., Kikuchi S. and Ike M. 2009. Biodegradation of bisphenol A and bisphenol F in the rhizosphere sediment of *Phragmites australis*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* . **108**, 147-150.
- Watanabe, I., Kashimoto, T., Tatsukawa, R., 1983. The flame retardant tetrabromobisphenol A and its metabolite found in river and marine sediments in Japan. *Chemosphere* **12**, 1533–1539.
- Welshons W.V., Nagel S.C., vomSaal F.S. 2006. Large effects from small exposures III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology* **147**, 56–69.
- Wenzel, A., Muler, J., Ternes, T., 2003. Study on Endocrine Disrupters in Drinking Water Final Report, Schmallingenberg and Wiesbaden Env.
- World Wildlife Fund (WWF). 2000. Bisphenol A: a known endocrine disruptor. Surrey, UK.
- Yamamoto, Y., Kobayashi, Y., Matsumoto, H., 2001. Lipid peroxidation is an early symptom triggered by aluminum, but not the primary cause of elongation inhibition in pea roots. *Plant Physiol.* **125**, 199-208.
- Zafra A, del Olmo M, Suarez B, Hontoria E, Navalon A, Vilchez JL. 2003. Gas chromatographic–mass spectrometric method for the determination of

bisphenol-A and its chlorinated derivatives in urban wastewater. *Water Res.* **37**, 735–742.

Zhou, Q., 2001. The measurement of malondialdehyde in plants. In: Zhou Q. (Ed.): *Methods in Plant Physiology*. China Agricultural Press, Beijing: pp