

HAZİRAN 2018

Yüksek Lisans-Biyoloji Bölümü

GÜLCAN ÇINAR

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MORINGA OLEIFERA'NİN BİSFENOL A
UYGULAMALARINA BİYOKİMYASAL YANITLARI

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÜLCAN ÇINAR
HAZİRAN 2018

***Moringa oleifera*'nın Bisfenol A Uygulamalarına
Biyokimyasal Yanıtları**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Gülcan ÇINAR

Haziran 2018

©2018 [Gülcan ÇINAR]

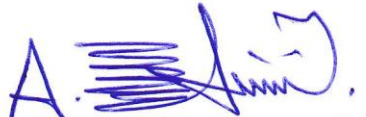
T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: *Moringa oleifera*'nın Bisfenol A Uygulamalarına Biyokimyasal Yanıtları

Öğrencinin, Adı Soyadı: Gülcan ÇINAR

Tez Savunma Tarihi: 20 Haziran 2018

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

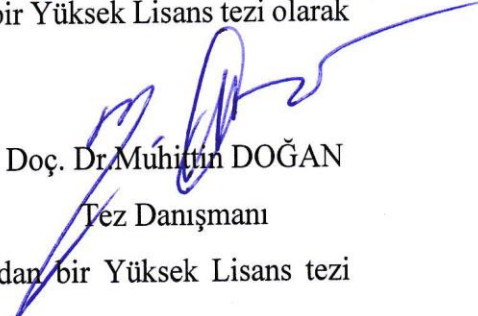

Prof. Dr. A. Necmeddin YAZICI

FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Filiz ÖZBAŞ GERÇEKER
Enstitü ABD Başkanı

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


Doç. Dr. Muhittin DOĞAN
Tez Danışmanı

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

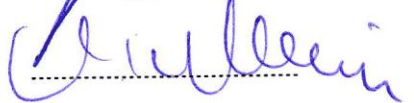
Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Dr. Öğr. Üyesi Mehmet YALÇIN

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa PEHLİVAN

İmzası

İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Gülcan ÇINAR

ABSTRACT

BIOCHEMICAL RESPONSES OF *MORINGA OLEIFERA* TO BISPHENOL A APPLICATIONS

ÇINAR, Gülcan

M.Sc. in Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhittin DOĞAN

June 2018

58 pages

Bisphenol A (BPA) is an industrially important monomer used in many chemical manufacturing plants throughout the World for the synthesis of polycarbonates, epoxy resins phenol resins, polyesters, polyacrylates and lacquer coatings on food cans as well as storage vessels. The aim of the present study was to evaluate the biochemical effect of endocrine disrupting chemical BPA on the *M. oleifera*. The plant seeds were germinated in perlite under 26 ± 1 °C. After germination periods, the seedlings were then transferred to 2 L plastic vessels containing aerated nutrient solution. After seedlings were acclimatized, they were supplied with 0, 1.5, 17.2 and 50 mg/L BPA. At the end of the BPA application period, the seedlings were harvested and analyses were carried out. High BPA concentrations developed some toxicity symptoms. Root fresh weights were increased by 117.3% and 17.7% at 1.5 and 17.2 mg/L BPA concentrations, respectively, when compared with the control. Similarly, stem and leaf fresh weights were increased by low BPA concentrations. On the other hand, high BPA concentration was significantly reduced fresh weights of the seedlings parts. A dose-dependent reduction was determined on the amount of chl-a, chl-b and carotenoid contents of leaves. The study indicated that BPA toxicity on total carbohydrate in the seedling root and stem were dependent upon BPA concentration. However, total carbohydrate content of leaves was increased up to 1.5 mg/L BPA concentration. The content, however, was decreased at 17.2 and 50 mg/L. Total phenolic contents of seedling parts was increased in low BPA concentrations. In general, toxicity was increased in high BPA concentration. Increases in H₂O₂ and malondialdehyd contents showed that BPA concentrations caused oxidative stress.

Keywords: Biochemical response, bisphenol A, growth, *Moringa oleifera*

ÖZET

MORINGA OLEIFERA’NIN BİSFENOL A UYGULAMALARINA BİYOKİMYASAL YANITLARI

ÇINAR, Gülcan

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Muhittin DOĞAN

Haziran 2018

58 Sayfa

Bisfenol A (BPA), gıda kaplarında ve depolama kaplarında polikarbonatlar, epoksi reçineler fenol reçineleri, poliestерler, poliakrilatlar ve lake kaplamaların sentezi için Dünya çapında birçok kimyasal üretim tesislerinde kullanılan endüstriyel olarak önemli bir monomerdır. Bu çalışmanın amacı, endokrin bozucu bir kimyasal olan BPA'nın *M. oleifera* üzerindeki biyokimyasal etkisini değerlendirmektir. Bitki tohumları 26 ± 1 °C altında perlit içinde çimlendirildi. Çimlenme dönemlerinden sonra, fideler havalandırılmış besin çözeltisi içeren 2 L plastik kaplara aktarıldı. Fidelerin aklımasyonu sağlandıktan sonra, *M.oleifera* fidelerine 0, 1.5, 17.2 ve 50 mg/L BPA uygulaması yapıldı. BPA uygulama döneminin sonunda fideler hasat edildi ve analizler gerçekleştirildi. Yüksek BPA konsantrasyonlarında bazı toksisite semptomlarının geliştiği gözlemlendi. Kök taze ağırlıkları kontrolle karşılaştırıldığında 1.5 ve 17.2 mg/L BPA konsantrasyonlarında sırasıyla % 117.3 ve % 17.7 oranında artmış olduğu belirlendi. Benzer şekilde, gövde ve yaprak taze ağırlıklarının, düşük BPA konsantrasyonlarında arttığı bulundu. Öte yandan, yüksek BPA konsantrasyonu fidelerin organlarının taze ağırlıklarını önemli ölçüde azalttığı ve yaprakların chl-a, chl-b ve karotenoid miktarlarında doza bağlı bir azalma olduğu belirlendi. Çalışma, fidelerin köklerindeki ve gövdesindeki toplam karbonhidrat içeriği üzerindeki BPA toksisitesinin BPA konsantrasyonuna bağlı olduğunu gösterdi. Ancak, yaprakların toplam karbonhidrat içeriği 1.5 mg/L BPA konsantrasyonunda arttığı bulundu. Fenolik madde içerikleri 17.2 ve 50 mg /L'de azalmış iken, düşük BPA derişiminde ise artış gösterdiği belirlendi. Sonuç olarak, yüksek BPA konsantrasyonlarında toksisite düzeyinde artışlar görüldü. H₂O₂ ve malondialdehid içeriğinde artışlar, BPA konsantrasyonlarının oksidatif strese neden olduğunu gösterdi.

Anahtar Kelimeler: Biyokimyasal yanıtlar, Bisfenol A, Büyüme, *Moringa oleifera*

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde değerli bilgilerini paylaşan, çalışma boyunca emeğini ve sabrını esirgemeyen; söylediği her sözün hayatıma kattığı önemini asla unutamayacağım çok değerli ve saygıdeğer danışman hocam ***Doç. Dr. Muhittin DOĞAN***'a,

Çalışma boyunca yardımcı olan arkadaşlarım **Oummu Kulthum MOHAMED ALI HASSANE**'ye ve **Meral DİKBAŞ**'a,

Hayatımın her evresinde bana destek olan **CANIM AİLEME**,

Sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ABSTRACT	v
ÖZET.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
BÖLÜM 1: GİRİŞ.....	1
1.1 Bisfenol A (BPA).....	1
1.1.1 BPA Kaynakları.....	3
1.1.2 Kanalizasyon Çamuru ve Biyosolidlerde BPA Konsantrasyonları.....	5
1.1.3 Sedimentlerde BPA Konsantrasyonları	6
1.1.4 Havadaki BPA Konsantrasyonları	6
1.1.5 Yaban Hayatında BPA'nın Biyoakümülyasyonu.....	7
1.1.6 İnsanlarda BPA.....	7
1.2. Moringa.....	8
1.2.1 Yayılış Alanları.....	9
1.2.2 Yaprak ve Genç Sürgünler.....	9
1.2.3 Çiçek, Meyve ve Tohum.....	10
1.2.4 Taksonomi ve Genetik Farklılık.....	12
1.2.5 Ağaç Kabuğu ve Odunu.....	12
1.2.6 Büyüme, Gelişme ve Verim.....	12
1.2.7 Üreme, Yayılma ve Yetiştirme.....	13
1.2.8 Ekolojisi.....	14
1.2.9 Kullanım Alanları.....	14
1.3. Çalışmanın Amacı.....	15
BÖLÜM 2: LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	16
BÖLÜM 3: MATERYAL VE METOD.....	23
3.1. <i>Moringa oleifera</i> için Deney Ortamı ve Uygulama	23
3.2. Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid Analizi	23

3.3 Malondialdehit (MDA) Tayini.....	24
3.4 Toplam Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi.....	24
3.5 Protein Olmayan SH Grupların Analizi.....	24
3.6 Toplam Karbonhidrat Tayin.....	24
3.7 Hidrojen Peroksit Analizi.....	25
3.8 İstatistiksel Analiz.....	25
BÖLÜM 4:BULGULAR.....	26
4.1 Moringa Fidelerinin Büyüme ve Gelişimleri Üzerine BPA Etkisi.....	27
4.2 Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid Miktarları.....	29
4.3 Organların Toplam Karbonhidrat Miktarları.....	31
4.4 Organların Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	32
4.5 Non-Protein SH Gruplar	33
4.6 Hidrojen Peroksit İçerikleri	34
4.7 Organların Malondialdehit İçerikleri.....	35
BÖLÜM 5: TARTIŞMA VE SONUÇ.....	36
KAYNAKLAR.....	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1.1 <i>Moringa oleifera</i> 'nın vejetatif ve generatif kısımları	11
Şekil 4.1 BPA etkisinde yetiştirilen moringanın deney sonu genel görünümü.....	26
Şekil 4.2 BPA etkisindeki moringa organlarının deney sonu genel durumu.....	27
Şekil 4.3 BPA etkisindeki moringa kök, gövde ve yapraklarının taze ağırlıkları....	28
Şekil 4.4 BPA etkisindeki moringa kök ve gövdelerinin uzunlukları.....	29
Şekil 4.5 BPA etkisindeki moringa yapraklarının fotosentetik pigment içerikleri...	30
Şekil 4.6 BPA etkisindeki moringa organlarının toplam karbonhidrat miktarları...	31
Şekil 4.7 BPA etkisindeki moringa organlarının toplam fenolik bileşik miktarları..	32
Şekil 4.8 Organlarının protein olmayan SH grup miktarları	33
Şekil 4.9 Organlarının H ₂ O ₂ miktarları	34
Şekil 4.10 Organlarının MDA miktarları.....	35

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Bisfenol A (BPA)

Polikarbonat yapımı için kullanılan çevresel bir kirleticisi olan bisfenol A (2, 2-bis- (4-hidroksifenil) propan) plastikler ve biberonlardan, tekrar kullanılabilir su şişelerinden gıda kutularının kaplamalarına kadar her yerde bulunur. BPA endüstriyel, tarımsal, kentsel atıklar ve buna benzer alanlar yoluyla sürekli bir şekilde sucul çevre içersine girmektedir. İnsanlar, muhafaza ambalajlarının plastiklerden süzülen BPA'ya bu ambalajlarda bulunanları yiyerek ya da içerek bu kimyasala sürekli maruz kalmaktadırlar (Huang vd., 2012).

Bisfenol A (BPA) ilk kez 1891' de Rus kimyacı Alexander Dianin tarafından sentezlendi (Dianin, 1891). Ancak, BPA'nın östrojenik özellikleri 1930'larda keşfedildi (Dodds ve Lawson, 1936). Bir endokrin bozucu olan BPA, endokrin sisteminin işlevini/fonksiyonlarını değiştiren ve sonuç olarak sağlam bir organizmada veya soyunda olumsuz sağlık etkilerine neden olan ekzojen bir madde veya karışımdır (Damastra vd., 2002).

BPA su içersinde az oranda çözülebilir (25 °C de 120-300 mg/L ile çözülebilir) ve asetik, asit, aseton, metanol, etanol, izopropanol, butil alkol, eter, benzen ve alkalın solüsyon içersinde kolayca çözünebilmektedir. BPA hayvan hücrelerin üzerinde belirgin bir toksik etkiye sahiptir (LD₅₀ 4200 mg/kg). Hidrofobik ve uçucu olmayan organik kirleticilere dahildir (Xia vd., 2017).

WHO tarafından verilen tanıma göre morfoloji, fizyoloji, büyüme, gelişim değişmesi gibi olumsuz bir etki bir organizmanın, sisteminde veya (alt) popülasyonun işlevsel kapasitesinde bir bozulmaya neden olur, ek stresi telafi etme kapasitesinin bozulması

veya diğer etkilere yatkınlık artışı ile sonuçlanan bir üreme veya yaşam süresi meydana gelir (WHO/IPCS, 2002).

BPA temel bir monomer olarak Polikarbonat plastiklerin üretiminde ve epoksi reçinelerin sentezinde bir ara ürün olarak 50 yıldan daha fazla bir zamandır kullanılmaktadır. Ayrıca Polyester reçineler, polisülfon reçineler ve poliakrilat reçinelerinde de bir bileşen olarak kullanılır. Polikarbonatlar CD'ler, gözlükler, plastik şişeler, biberonlar, vb. gibi farklı nesnelerin bileşiminde kullanılırken, epoksi reçineler temel olarak gıda kutularının iç kısmı ve dış dolgularında kullanılır. BPA aynı zamanda ısıtıcı kağıtlar içinde de bir geliştirici olarak kullanılır (ANSES, 2013).

Polyester karbonat gibi diğer polimerlerin sentezinde (otomotiv ve nakliye, tüketici ürünleri, vb), poliakrilatlar (tıbbi ekipman, otomotiv, havacılık, vb), polisülfonlar (tıbbi ekipman, ev aletleri, vb), polieterimitler (elektrikli ve elektrikli ekipman, havacılık, vb) polioller (poliüretan üretiminde kullanılan) vb kullanılır. BPA, vinil ester reçineleri (otomotiv ve deniz inşaatı, vb.), Fenolik plastik reçineler (aşındırıcılar, yalıtım, vb.), doymamış reçineler (bisfenol fumaratlar, BPA epoksi dimetakrilatlar) gibi başka reçinelerin üretilmesi için de kullanılabilir. BPA, örneğin tüketici ürünlerinde bulunan (bilgisayar, televizyon, bulaşık deterjanı, vb.) alev geciktiricilerin sentezlenmesinde de kullanılabilir (ANSES, 2011).

Birçok üründe yaygın kullanım alanı ile ilgili olarak, BPA 'nın varlığı çevrede her yerde geniş oranda bulunur ve neredeyse sürekli bir insan maruziyeti de buna katkıda bulunur (Chevalier Fenichel, 2015; Legeay ve Faure, 2017). Gıda saklama kap/ambalajlar ile besine bulaşan BPA'nın besinlerin yenmesi yoluyla BPA'ya maruz kalınmasının çok önemli bir kaynağıdır (ANSES, 2013; EFSA, 2015). İçme suları, epoksi reçinesiyle kaplanmış olan borudan salınması ile 0.014 - 0.317 mg/L arasında değişen konsantrasyonlarda BPA ile kirlenmiş olabilir (Arnold vd, 2013).

Toz solunması ve ısıya duyarlı kağıtlar ile deri teması da insanların BPA'ya maruz kalmasının önemli bir kaynağıdır (Michalowicz, 2014). Her yerde bulunmasında dolayı, tüm insanların % 95'inden fazlasının vücudunda BPA bulunması BPA'nın evrensel bir insan maruziyetine yol açtığını göstermektedir (Calafat vd, 2005).

BPA insan serumunda ve idrarda bulunmuştur. Ek olarak, amniyotik sıvı ve göbek kordonu kanındaki varlığı maternal ve fetal maruziyeti yansıtır (Vandenberg vd., 2007). BPA bitkiler içersinde sinerjik bir etkiye sahip olmak için, ağır ve hafif metaller gibi başka çevresel faktörlerle ile de etkileşime girebilir (Pan vd., 2013).

1.1.1 BPA Kaynakları

Bisfenol A'nın kaynakları doğal olarak meydana gelmez, ancak yüksek üretim ve tüketimden kaynaklanan ve daha sonraki aşamalarda çevreye girmesinin bir sonucu olarak doğada her yerde bulunur (Tsai, 2006). BPA'nın çevresel kaynakları, tüketim öncesi ve tüketim sonrası ürünler olarak sınıflandırılabilir. Tüketici kaynakları, BPA ve BPA içeren ürünlerin üretiminde kullanılan kaynakları içerir; burada ilk BPA salınım kaynağı, üretim tesislerinin atık su boşaltımından kaynaklanmaktadır (Staples vd., 1998; Cousins vd., 2002; Klecka vd., 2009). BPA ve BPA içeren ürünlerin taşınması ve işlenmesi, tüketici salınımı için ek kaynaklardır.

Tüketici kaynaklı kaynaklar arasında, belediye atıksu arıtma tesislerinden atık deşarjı, atık depolama alanından sızma, evsel atıkların yakılması ve plastiklerin çevreye zarar vermesi de dahil olmak üzere atık bertarafı veya atık ile ilgili olanlar da yer almaktadır (Teuten vd., 2009; Fu, Kawamura 2010; Flint vd., 2012). 2000 yılında Fürhacker vd. Güney Avusturya'da bulunan bir tesiste atık su arıtma sırasında BPA'nın % 90'ının çıkarıldığını belirlemişlerdir; benzer bulgular Amerika Birleşik Devletleri'nde de rapor edilmiştir (Dorn vd., 1987).

Bununla birlikte, BPA'yı uzaklaştırma çabalarına rağmen, ortamdaki BPA miktarları rapor edilmeye devam edilmektedir. (Fromme vd., 2002; Leusch vd., 2006; Mussolf vd., 2010). Örneğin, BPA'nın tespiti, Japonya'da tehlikeli atık depolama sızıntılarında (Yamamoto vd., 2001) ve ABD'deki atık sularda 12 mg/L'de 17,2 mg/L'ye kadar ulaştığı bildirilmiştir (Kolpin vd., 2002). BPA çevresel oluşum, ısı, asidik veya bazik şartlar ile temas durumunda, BPA molekülleri arasındaki ester bağlarının hidrolizini hızlandırır; bu da, insan ve evcil hayvanlarla etkileşime geçmesini hızlandırır. Ayrıca

teneke kutuları sterilize etmek için ısıtılmaya maruz bırakmasıyla da bu kimyasal olayın gerçekleşmesi tetiklenir. Teneke ve polikarbonat plastiğinde asidik veya bazik yiyecek veya içecek bulunması ve bu ürünlerin tekrar tekrar ısıtılması ve yıkanması (Howdeshell vd., 2003; Kang vd., 2003; Vanderberg vd., 2007; von Goetz vd., 2010), iç mekandaki tozların ve dış dolgularının solunması diğer bir BPA maruziyetini temsil etmektedir (Olea vd., 1996; Calafat vd., 2008; Geens vd., 2009b).

Bisfenol A, bir katalizörün, güçlü bir asidik iyon değişim reçinesi varlığında, fenolün aseton ile yoğunlaştırılmasıyla sentezlenir. BPA'nın moleküler yapısı, 2 metil grubu ve 2 fenol grubu olan bir merkezde tetrahedral karbon atomunun oluşması şeklindedir. Bisfenol A suda orta derecede çözünür bir bileşiktir (oda sıcaklığında 120-300 mg/L), (ABD Çevre Koruma Ajansı, 2014) ve alkali matrislerde ayrılmaktadır (pKa 10.29 + 0.69). ABD Ulusal Sağlık Tehlikeli Maddeler Veri Bankası Enstitüleri, BPA için 3.64 + 0.32 log Kow değerini rapor etmektedir. Böylece, her ne kadar son çalışmalar biyoakümülyasyonun ve orta derecede lipofilik maddelerin toksikolojik ilişkisinin anlaşılmasının önemini vurgulasada (Valenti vd., 2012, Nichols vd., 2015) BPA'nın tarihine bakıldığında orta düzeyde biyolojik birikime sahip olduğu düşünülecektir. (Staples vd., 1998; Heinonen vd., 2002).

Ek olarak, BPA tosisitesi düşük uçuculuk, düşük buhar basıncı, yüksek erime noktası ve orta çözünürlüğe sahip olmasından da kaynaklanmaktadır (Staples vd., 1998). Atmosferdeki hızlı foto-oksidasyonu ve bozulması, havadaki BPA'nın düşük yarı ömrünü (0.2 gün) açıklar. Düşük yarı ömürlü olması ve yalnızca biyolojik birikim kapasitesine rağmen, BPA, daha sonra yaban hayatı ve insanlar da dahil olmak üzere çoklu çevresel matrislerde (örneğin su, toprak ve hava) tespit edilmiştir.

BPA'nın suda algılanması, 1990'ların sonlarında başlamış ve bu daha önceki gözlemlerden bu yana çevrede bulunmasıyla ilgili yayınları giderek arttırmaktadır. Yayın konuları, çevresel yayılmadan önce BPA'nın transformasyonu (örn., Ozonlama ve bakteriyel bozulma) ile ilgili en iyi yönetim uygulama çalışmalarına kimyasal ve biyolojik tespit ve kantifikasyon yöntemi geliştirme

alışmalarından kaynaklanır. Atık su arıtma tesisindeki Bifenol A konsantrasyonları nondetect'ten 370 mg /L'ye kadar değişmiştir, ancak çoğu durumda atık su seviyeleri 5 mg/L'den azdır. alışmalar arasındaki saptama sınırı ayrıca, her çalışmada kullanılan spesifik analitik yöntemler arasındaki tutarsızlıklardan kaynaklanan 0,006 mg /L ila 10 mg / L arasında geniş bir aralık sergilemiştir (Corrales vd., 2015).

1.1.2 Kanalizasyon amuru ve Biyosolidlerde BPA Konsantrasyonları

Literatürde, oğunluğu Avrupa (8) ve Kuzey Amerika (8) olmak üzere geri kalan ve Asya (3) ve Avustralya (1) kökenli olan 20 adet BPA atık su arıtma çamuru ve biyosolid çalışmalarına rastlanmıştır. Bisfenol A, bu çamur ve biyosolid raporlarında, 10 ila 100 000 mg/kg kuru ağırlık arasında değişen konsantrasyonlarda, her yerde bulunan çevresel bir kirletici maddedir. Konsantrasyonları, büyük ölçüde, kaynak yükleme ve atık su arıtma proseslerinin miktarına ve türüne bağlıdır. Çoğu belediye Atık Su Arıtma Tesisi için, BPA konsantrasyonları 10 ila 10 000 mg/kg (kuru ağırlık) arasındadır. Bununla birlikte, endüstriyel atık alanlarındaki Atıksu Arıtma Tesisi çamurlarında daha yüksek seviyeler (> 100 000 mg/kg) bulunmuştur (Meesters ve Schroder, 2002).

Literatürde, her biri Asya ve Kuzey Amerika'dan, bir tanesi Avrupa'dan olmak üzere, BPA'nın toprakta meydana geldiği sadece 6 çalışma bulunmuştur. Karasal topraklara BPA'nın temel kaynakları arasında kanalizasyon çamuru uygulaması (Langdon vd., 2012), atık su ile sulama (Chen vd., 2011), çöp sızıntısının boşaltılması (Fent vd., 2003), elektronik atıkların bertarafı ve geri dönüşümü (Huang vd., 2014) bulunmaktadır.

Topraktaki konsantrasyonlar, alınan atık veya atık miktarına ve türüne bağlı olarak birkaç büyüklük sırasına sahip bir oranda (yani, <0.01-1000 mg/kg) değişmektedir. Arıtma amuru ile özel olarak işlenen topraklar genellikle 1 ila 150 mg/kg arasında değişen BPA konsantrasyonları içermektedir (Kinney vd., 2008; Langdon vd., 2012).

BPA toprağa ulaştığında, 314 ila 1524 arasındaki yüksek bir toprak-su ayırma katsayısından dolayı nispeten hareketsizdir (Fent vd., 2003) ve 3 gün içinde ayrışamayan BPA kalıntıları oluşturabilir. Toprak ve tortu Emilimi, organik madde konsantrasyonlarına ve parçacık tane büyüklüğüne büyük ölçüde bağlıdır (Sun vd., 2012). pH değerleri pKa'ya yaklaşıyorsa (Zeng vd., 2006), bu topraklarda BPA'nın iyonlaşması gerçekleşebilir ve bu da yeraltı sularına daha fazla süzülme veya sızmaya neden olabilir. Bifolat anyonun kaderi, taşınması ve biyoyararlanımı ya da BPA toprak bölmesinin ayrıştırılamayan kalıntıları ayrıntılı olarak araştırılmamıştır (Fent vd., 2003; Huang vd., 2014a).

1.1.3 Sedimentlerde BPA Konsantrasyonları

Sedimentlerde BPA varlığına ilişkin 50 çalışma tespit edilmiş ve Asya (29), Avrupa (17) ve Kuzey Amerika (4) dahil olmak üzere birçok kıtaya yayılmıştır. Avustralya, Antarktika, Orta Amerika, Güney Amerika veya Afrika için hiçbir çalışma bulunamamıştır. Topraklarda olduğu gibi, tortulardaki BPA konsantrasyonları, birkaç büyüklük derecesine sahiptir ve belediye ve endüstriyel Atıksu Arıtma Tesisi (AAT) gibi atık su kaynaklarından yüklenmesine bağlıdır. Yoğun nüfuslu kentsel alanların, AAT'lerin ve 0 endüstriyel deşarjların akışı altında, 100 ile 1000 mg/kg (kuru ağırlık) arasındaki konsantrasyonlar yaygın olarak bildirilmiştir (Yang vd., 2005; Gong vd., 2011).

1.1.4 Havadaki BPA Konsantrasyonları

BPA'yı atmosfere salan kaynaklar arasında, evsel ve elektronik atıkların yakılması (Owens vd., 2007; Fu ve Kawamura, 2010) ve püskürtme boyalar bulunmaktadır (Peltonen ve Pukkila, 1988). BPA'nın düşük volatilitesi, düşük hava emisyonları ve hızlı fotooksidasyon yarı ömrü (<7 saat) nedeniyle, BPA'nın atmosferde ihmal edilebilir bir varlığa sahip olması beklenmektedir (Cousins vd., 2002; Fu ve Kawamura, 2010).

BPA'nın atmosferik aerosol konsantrasyonları çok çeşitli coğrafi ve demografik yerlerde araştırılmıştır. Örneğin, Hindistan, Çin, Japonya, Yeni Zelanda ve Amerika Birleşik Devletleri'nin kentsel bölgelerinde, BPA seviyeleri 0,004-17 ng/m³ arasında

değişirken, BPA Çin ve Almanya'nın kırsal bölgelerinde 0,005-0,2 ng/m³ arasında değişmiştir. Pasifik, Atlantik ve Hint Okyanuslarında BPA bulunmaktadır ve kentsel kıyı bölgelerinde en yüksek konsantrasyona sahip olduğu (0.001-0.03 ng/m³ arasında) tespit edilmiştir. Ayrıca, polar bölgelerden toplanan aerosol örneklerinde BPA konsantrasyonları 0.001-0.017 ng/m³ arasında değişmektedir. BPA doğal olarak oluşmadığı ve toplum tarafından yüksek oranda talep edilen bir çok ürünün hammaddesini oluşturduğu için, kentsel alanlarda en yüksek konsantrasyonlarda raporlanması beklenmektedir, ayrıca BPA, dünyanın uzak bölgelerinde de mevcuttur (Coraless vd., 2015).

1.1.5 Yaban Hayatında BPA'nın Biyoakümüülasyonu

1999'dan beri yaban hayatında BPA konsantrasyonları üzerine toplam 63 çalışma yayınlanmıştır. Deniz ve tatlı su sistemlerinden toplanan çeşitli farklı su türlerinin dokularında Bisfenol A tespit edilmiştir. Balıklarda ve yaban hayatındaki türlerin doku seviyeleri üzerindeki verilerin çoğunun bulunduğu organizmalar grubunda, BPA, 0.2-13 000 ng/g arasında değişen konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Bisfenol A, ppt içindeki balıklarda düşük ppb aralığında bildirilenlere benzer konsantrasyonlarda ve amfibiler, yumuşakçalar, gastropodlar, kabuklular, sucul böcekler, polikarenler, algler ve diatomlarda da ölçülmüştür. BPA biriktirme verilerinin mevcut olduğu tek karasal organizma, solucan (*Eisenia fetida*) için geçerlidir. Bu türlerde kanalizasyon kaplama yataklarından toplanan yetişkin solucanlarda BPA'nın dokudaki seviyeleri ölçmüştür (Markman vd., 2007). Su türlerinde ve gıda zincirlerinde BPA'nın birikme potansiyelini daha iyi tanımlamak için daha fazla deneysel veriye ihtiyaç vardır (Coraless vd., 2015).

1.1.6 İnsanlarda BPA

Bilimsel fikir birliği ile insanlarda, birincil maruziyet yolunun konserve yiyecek tüketimi olduğu kanıtlanmıştır. Örneğin, Carwile vd. (2011) 5 günlük bir süre boyunca taze gıdalar yerine bir yemeklik konserve çorba tüketiminden sonra idrardaki BPA konsantrasyonlarında % 1200'lük bir artış gözlemlemişlerdir (Ye vd., 2011).

Konserve veya paketlenmiş gıdaları ortadan kaldıran diyet değişikliğinde ise, üriner sistemde BPA konsantrasyonlarının keskin bir şekilde düştüğünü gözlemlemişlerdir (Rudel vd., 2011).

Termal kağıt, kredi kartı makbuz yazıcılarında ve diğer perakende uygulamalarında kullanıldığı şekliyle, ısı baskısı sürecinde reaktif olarak ek bir BPA (20 mg/g kağıt) kaynağını temsil etmektedir (Hormann vd., 2014; Vom Saal vd., 2014; Vom Saal ve Galce, 2014). Yüzlerce mikrograma kadar BPA, ısıyla basılan makbuzlardan nispeten geçici temasta transfer edilebilir. BPA için deri penetrasyon oranı belirsiz olmasına rağmen, sınırlı sayıda gönüllü üzerinde yapılan bir çalışmada, bu maruziyetin insan serumunda konjuge olmayan BPA'nın anlamlı artışlarıyla ilişkili olduğu anlaşılmaktadır (Vom Saal vd., 2014).

1.2 Moringa

İngilizce’ de horseradish (yaban turpu) ağacı ve ben ağacı olarak bilinen drumstick ağacı, Kuzey Hindistan, Pakistan ve Nepal’e özgü küçükken orta boy, yaprak dökmeyen veya yaprak döken bir ağaçtır. Güney Asya ve Güneydoğu Asya, Arap Yarımadası, tropikal Afrika, Orta Amerika, Karayipler ve tropikal Güney Amerika’nın birçok ülkesi de dahil olmak üzere kendi doğal yayılım alanının çok ötesinde doğallaştırılmışlardır. Ağaç genellikle yayılan, açık sarkık bir taç, kırılğan dalları, tripinnate yaprakları tüylü, kalın ve sivri, derin çatlaklı beyazımsı kabuğu ile 10 ya da 12 metreye kadar büyür. Temel olarak yenilenebilir meyveler, yapraklar, çiçekler, kökler ve tohum yağı için değerlidir.

Yerli olduğu ve tanınmış olduğu süreler boyunca geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılmıştır (Roloff vd., 2009). Drumstick ağacı, kendi aralığı içinde dikkate değer fenotipik varyasyon sergiler (Ramachandran vd., 1980; Suthanthirapandian vd., 1989).

Yabani ağaçlarda genellikle küçük meyveler yetişir, güney Hindistan’da yetiştirilen çeşitler ise “Jaffna” ve “Chavakacheri murunga” olarak adlandırılırken, bu meyvelerin boyları 60-90 cm ve 90-120 arasında değişir.

Kırmızı uçlu meyvelere sahip “Chemmurunga” nın çeşitinin yıl boyunca çiçeklendiği ve meyve veriminin yüksek olduğu söylenir. Güney Hint Tamilnadu eyaletinde yetiştirilen diğer iyi bilinen çeşitler arasında, kalın etli ve acı bir tada sahip olan "Palmurungai", "Punamurungai" ve çok kısa meyveler üreten (15 ila 23 cm uzunluğunda) "Kodaikalmurungai" bulunur. Kuzey Hindistan’ da farklı çeşitler yetiştirilir; bazı türleri meyve bolluğu sağlarken, diğerleri ise nadiren çiçek açar ve temel olarak yeşillikleri için yetiştirilir (Ramachandran vd., 1980).

1.2.1 Yayılış Alanları

Drumstik ağacı, Kuzey Asya'daki Himalaya eteklerinde (33° N, 73° E) kuzeybatıdaki Pakistan'dan (33° N, 73° E) Hindistan'ın kuzey batısındaki Bengal Eyaletine ve kuzeydoğudaki Bangladeş'te, deniz seviyesinde yaygın olarak en son alüvyal arazide 1,400 m. nehir yatakları ve akarsulara kadar yayılır. Deniz seviyesinden 1400 metreye kadar yüksekliklerde yaşayabilir (Nasır vd., 1972 ; Parotta vd., 2001 ; Ramachandran vd., 1980 ; Troup vd., 1921).

Pakistan, Hindistan ve Nepal' in yanı sıra Afganistan, Bangladeş, Sri Lanka, Güneydoğu Asya, Batı Asya, Arap yarımadası, Doğu ve Batı Afrika, Batı Hint Adaları ve güneydeki diğer bölgelerinde de doğallaştırılmıştır.

Florida, Orta ve Güney Amerika'da Meksika'dan Brezilya ve Paraguay'dan Peru'ya kadar Batı Hint Adaları boyunca Pakistan, Hindistan ve Nepal' in yanı sıra Afganistan, Bangladeş, Sri Lanka, Güneydoğu Asya, Batı Asya, Arap yarımadası, Doğu ve Batı Afrika'nın diğer bölgelerinde ve Florida, Orta ve Güney Amerika'da Meksika'dan Brezilya ve Paraguay'dan Peru'ya kadar doğallaştırılmıştır (Francis vd., 1991; Jahn vd., 1986; Lahjie vd., 1987; Little vd., 1964 ; Ramachandran vd., 1980; Vivien vd., 1990).

1.2.2 Yaprak ve Genç Sürgünler

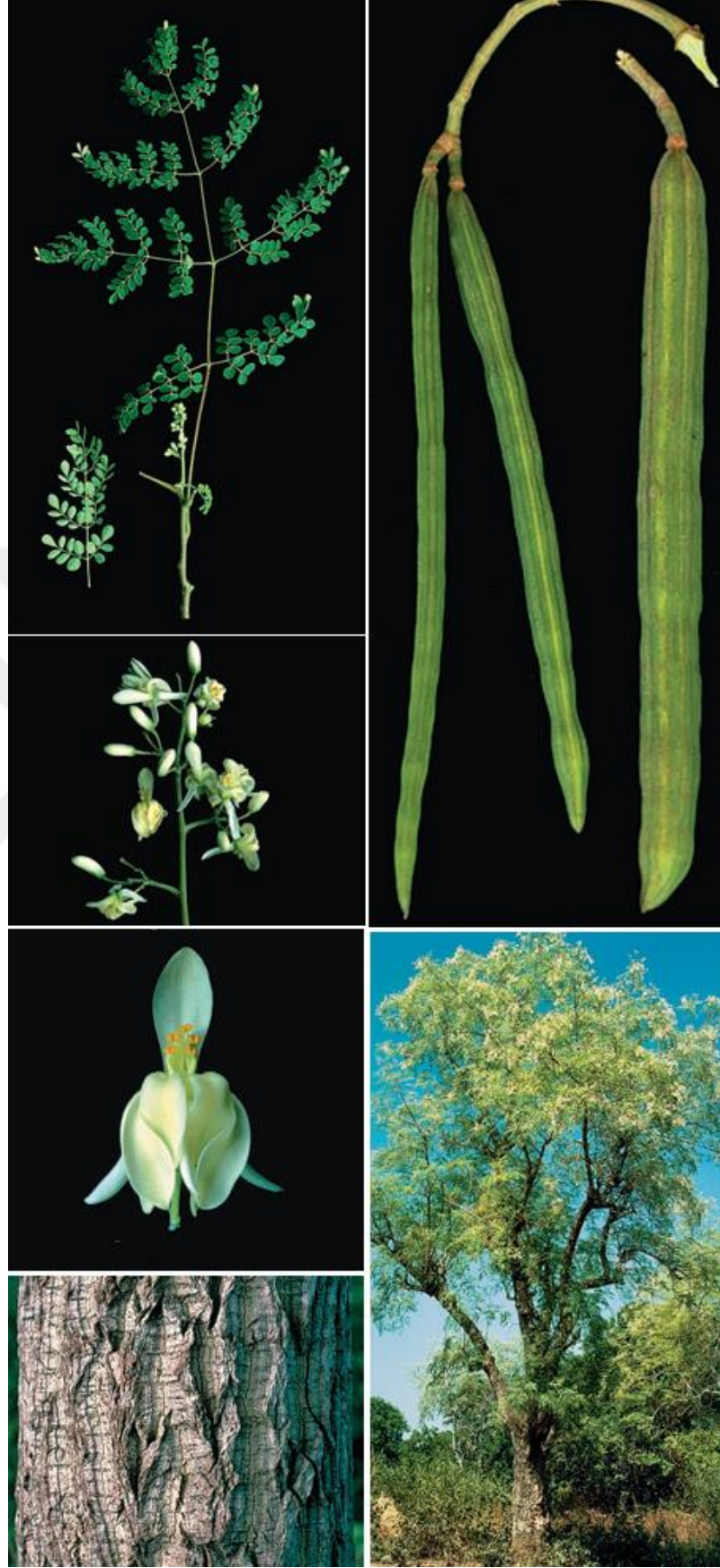
Yapraklar bipinnat veya daha çok 45 cm uzunluğunda tripinnattır ve dallar üzerinde alternat ve spiral olarak düzenlenmiştir. Yaprakçıklar 1,2-2,0 cm uzunluğunda ve 0,6-1,0 cm genişliğinde, yanal yaprakçıklar eliptik, terminal obovattır; Yanal

yaprakçıkların petiolleri 1,5-2,5 mm uzunluğunda, 3-6 mm uzunluğunda olan terminallerdir. Broşürler ince tüylü, yeşil ve hemen hemen tüysüz, üstte solgun ve tüysüz, altta kırmızı tüylü orta boyunlu, tüm kenarlar (dişli değil), yuvarlatılmış veya kör uçlu ve tepesinde kısa sivri uçlu tabanı bulunur. Dallar ince tüylü yeşil ve kahverengidir (Roloff vd., 2009).

1.2.3 Çiçek, Meyve ve Tohum

Kokulu, biseksüel, sarımsı beyaz çiçekler, yayılan ince, tüylü sapları üzerinde bulunur veya 10-25 cm uzunluğunda aksiller kümeleri (salkımları) sarkar. Tek çiçekler, bireysel çiçekler, 3 mm uzunluğunda bazal bir çanak (hipantyum) üzerinde, yaklaşık 0,7-1 cm uzunluğunda ve 2 cm genişliğinde, beş eşit olmayan sarımsı-beyaz, ince damarlı, spatulat yaprakları, beş küçük steril stamenler (staminodes) ile beş stamen ve İnce şekilli bir pistile sahip tek hücreli bir yumurtalık bulunur (Little vd., 1964 ; Ramachandran vd., 1980).

Meyveleri, genellikle 20-50 cm uzunluğunda, ancak bazen 1 m veya daha uzun ve 2,0-2,5 cm genişliğinde, uzunlamasına çıkıntılara sahip sarkık, doğrusal, üç taraflı kapsüllerdir. Her biri genellikle 26 tohumu içeren kapsüller, gelişimleri sırasında koyu yeşil renktedir ve çiçeklenmeden sonra olgunlaşmaları yaklaşık 3 ay sürer (Palanisamy vd., 1985). Olgunlaştıklarında kahverengileşirler ve koyu kahverengi trigonous tohumları serbest bırakılarak üç açıdan boyuna açık olarak bölünürler. Tohumlarda yaklaşık 1 cm çapında, üç beyazımsı papulus kanadı bulunur. Besin ağırlıkları, kilogram başına 3,000-9,000 tohum arasında değişmektedir. Çeşitler arasında farklılık gösterir (Negi, 1977).



Şekil 1. 1 *Moringa oleifera*'nın vejatatif ve generatif kısımları (Roloff vd. 2009).

1.2.4 Taksonomi ve Genetik Farklılık

Güney Hint (Tamilce) isminden türeyen *Moringa*, *Moringaceae* familyasındaki tek cins olup, Kuzey Afrika'dan Güneydoğu Asya'ya yarı kurak habitatlara özgü 12 tane yaprağını döken ağaç türü vardır (Mabberley, 1997). 28 kromozomlu bir diploid tür olan *M. oleifera*' ya ek olarak, diğer birçok *Moringa* türünün yararlı besin, lif, tıbbi ürünler ve diğer ürünleri olduğu kanıtlanmıştır (Jahn vd., 1986; Morton 1991)

1.2.5 Ağaç Kabuğu ve Odunu

Ağaç kabuğu beyazımsı gri, kalın, yumuşak, çatlaklı ve siğilli ya da kuru, pürüzlü olur. Yaralandığı zaman, önce ağaç kabuğundan beyaz renkte bir reçine sızar ama açıkta kalınca kahverengimsi siyah ya da kırmızımsı kahverengiye dönüşür. Odun yumuşak ve hafiftir, 0,5 ila 0,7 g/cm³ arasında bir yoğunluğa sahiptir (World Agroforestry Center, 2009).

1.2.6 Büyüme, Gelişme ve Verim

Fideler, karakteristik keskin bir koku ve çok seyrek yanal köklere sahip olan şişmiş, yumrulu, beyaz bir kazık kök geliştirir. Tohumlardan yetişen ağaçlarda, kalın, yumrulu yanal köklerin geniş yayılma sistemi ile derin, şişkin bir kazık kök gelişir. Kazık kökler, vejetatif olarak yayılan ağaçlarda gelişmez (Lahjie vd., 1987).

M.oleifera uygun bölgelerde ilk 3-4 yıl süresince her yıl 1-2 m artışta bir uzunluk ile hızlı bir şekilde yetişir. Ağaçların yaşam süresi genellikle bilinmemektedir. Tanzanya' da yağmur suyuyla beslenme koşulları altında yürütülen bir deneyde, fidelikte yetiştirilen fidelerin boyları ilk yıl boyunca ortalama 4,1 m'ye erişmiştir (Munyanziza ve Sarwatt, 2003). Ağaçlar nadiren 10-12 m uzunlukta büyürken, ara sırada 75 cm'nin üzerinde gövde çapı ile 16 m'nin üzerinde yüksekliğe erişebilirler (Parrotta, 1993). Meyve üretimi ağacın dikiminden 6 ila 8 ay sonra başlar (Ramachandran vd., 1980). Meyve üretimi genellikle ilk 2 yıl süresince düşüktür. (Booth ve Wickens 1988; Morton, 1991).

1.2.7 Üreme, Yayılma ve Yetiştirme

Çiçeklenme, bulunulan konum ile ve çeşitler arasında büyük ölçüde değişiklik gösterir. Mevsimsel olarak serin olan kuzey Hindistan'da, ağaçlar nisan ile haziran ayları arasında sadece bir kez çiçek açabilirken, güney Hindistan'da çiçeklenme genellikle yılda iki kez görülür. Karayip adaları gibi daha sabit mevsimsel sıcaklık ve yağış rejimleri olan bölgelerde, çiçeklenme yıl boyunca az veya çok miktarda sürekli olarak meydana gelebilir (Little vd., 1964; Ramachandran vd., 1980).

Çiçeklenme genellikle ilk yıl içinde ve çoğunlukla ekim ayından sonraki 6 ay içinde erken yaşlarda başlar. Ağaçlar genellikle yaklaşık 12 yılda iyi tohumlu mahsuller üretirler (World Agroforestry Center, 2009). Tozlaşma genellikle arılar ve diğer böceklerin yanı sıra kuşlar tarafından da yapılır (Jyothi vd., 1990; Morton, 1991).

Olgun, dehisent kapsüller, çiçeklenmeden yaklaşık 3 ay sonra olgunlaşırlar ve birkaç ay boyunca ağaçta kalırlar, esas olarak tohumları rüzgâr ve su ile dağılmak suretiyle serbest kalır ancak büyük olasılıkla tohumlar hayvanlar tarafından yenir. Tohumlar ön işlem yapılmadan ekilmelidir, çünkü kazıma çimlenmeyi kolaylaştırmamaktadır (Sharma ve Raina, 1982). En uygun ekim derinliği 1-2 cm'dir (Sharma ve Raina, 1982; Verma, 1973).

Çimlenme oranı genelde taze tohumlar için % 60-90 arasındadır ve ekimden 7-30 gün sonra gerçekleşir (Jahn vd., 1986; Nautiyal ve Venhataraman, 1987; Parrotta, 1993; Sharma ve Raina, 1982). Tohumlar, 2 aydan daha uzun süre ortam sıcaklıklarında depolandığında yaşayabilirliğini korumazlar (Sharma ve Raina, 1982; Verma, 1973), Hindistan' da yapılan bir çalışmada koruma altına alınmayıp ortam şartlarında bırakılan tohumlar için çimlenme yüzdeleri sırasıyla 1, 2 ve 3 ay sonra % 60, 48 ve % 7,5 olarak bildirilmiştir (Morton, 1991).

Bununla birlikte, Brezilya'da yapılan testlerde, tohumlar soğuk depolamada veya ortam sıcaklıklarında hava geçirmeyen sızdırmaz kaplarda depolanmış ve birkaç yıl boyunca canlılıklarını korumuşlardır (Teofilo ve Freitas, 2003).

1.2.8 Ekolojisi

Güney asyada ki drumstik ağacının yerli çeşitleri, yıllık sıcaklık değişiminden büyük oranda etkilenir, bu bölgedeki minumum maksimum gölge sıcaklıkları değişimi en sıcak ve en soğuk aylarda sırasıyla , -1-3 °C ve 38- 48 °C civarındadır. Bu bölgede yıllık yağışmiktarı 750 mm den 2200 mm'ye kadar ulaşmaktadır (Nautiyal ve Venhataaraman, 1987; Troup vd., 1921).

Moringa ağacı yüksek kuraklığa karşı toleranslıdır ve yıllık yağışın 300 mm den daha düşük bir seviyeye ulaştığı Doğu Afrika, Suudi Arabistan, Afganistan, Pakistan ve Hidistan'ın kurak ve yarı kurak bölgelerinde bile yetiştirilmektedir (Booth ve Wıckens, 1988; Ramachandran vd., 1980).

Bu ağaç deniz seviyesinden 1400 m yükseklikte yetişmektedir (Booth ve Wıckens, 1988). Ayrıca yetiştığı alanlardaki topraklar genellikle organik madde oranının sıklıkla çok düşük olduğu ve iyi drenajlı topraklardır. Bu toprakların yüzeyleri yılın çeşitli ayları için çok kurak olabilir (Champion, 1936).

1.2.9 Kullanım Alanları

M.oleifera ağacı/fidesi, esas olarak, kuşkonmazla çok benzer bir tada sahip olan yenilebilir, hassas baklaları için değerlendirir. Bunlar, pişirilmiş veya salamura edilmiş bir şekilde, besleyici bir sebze olarak yenilebilir özelliktedir. Yumuşak yaprakları, su teresi gibi bir tada sahiptir ve çiçeklerle birlikte pişmiş veya çiğ olarak yenilebilir. Protein, mineraller, beta-karoten, tiamin, riboflavin ve vitaminler, özellikle A ve C vitaminleri, açısından zengidir (Dahot vd., 1988; Gupta vd., 1989). Yeşil kapsüllerin askorbik asit (C vitamini) içeriği, 100 g meyve özütü için 92-126 mg arasında değişir (Dogra vd., 1975). Genç meyveler, çiçekler ve yapraklar %5-10 oranında protein içerir. Kızartılmasından sonra fıstık gibi tadı olan olgunlaşmamış tohumlar da çiğ veya pişmiş olarak tüketilir (Ramachandran vd., 1980; Szolnukım T. W. 1985).

Horseradish'in (yaban turpu) keskin tadı olan kökleri, soyma ve kurutma işleminden sonra sirke ile karıştırıldıktan sonra bir çeşni veya garnitür olarak kullanılır (Martin

vd.,1979). Kök kabuğu, alkaloidler, özellikle moringin, efedrin ile birlikte toksik bir bileşik oluşturur ve bu bileşik toksisite bakımından zengin olduğu için tamamen çıkarılmalıdır (Morton, 1991). Tohumlar %19-47 oranında yağ içerir (Ahmad vd., 1989; Khan vd., 1975; Szolnukim, 1985).

Ticari olarak ‘ben oil’ olarak bilinen, zeytinyağına benzer ve paletik, stearik, behmik ve oleik asitler bakımından zengindir ve kozmetikte ve sabun yapımında kullanılır (Delaveau vd., 1980; Nautiyal vd., 1987).   ekler ayrıca tonik olarak, diüretik bir ilaç ve koagulant olarakta kullanılır. A ve C vitamini bakımından zengin yaprakların, iskorbüt hastalığı ve solunum rahatsızlıkları için yararlı olduğu kabul edilir; Ayrıca kusturucu bir ilaç olarak kullanılır. Yapraklardan ekstrakte edilen meyve suyunun güçlü antibakteriyel ve antimalaryal özellikleri vardır (Chopra vd., 1956).

Yapraklar macun haline getirilerek, yaraların iyileşmesini desteklemek için harici bir uygulama olarak kullanılır. Tohum yağı, romatizma ve gut tedavisi için deri üzerine uygulanır (Parrota, 2001). Kök kabuklarından ve tohumlardan elde edilmiş olan tıbbi değeri kanıtlanmış çeşitli bileşikler izole edilmiştir (Booth ve Wickens, 1988).

1.2 Çalışmanın Amacı

Bu  alışma, mucize bitki olarak da anılan *M. oleifera*’nın laboratuvar ortamında ve kontrollü şartlarda yetiştirilerek, önemli bir endokrin bozucu kimyasal madde olan BPA’nın farklı derişimlerine karşı göstereceği biyokimyasal tepkilerin belirlenmesi amacıyla yapılacaktır. Bu araştırma ile *M. oleifera*’nın BPA uygulamalarına biyokimyasal yanıtları ilk kez belirlenecektir.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETLERİ

Li vd. (2018) Önceki çalışmalar odaklı olarak BPA' nın bitki biyolojik karakterleri üzerindeki etkilerini daha sistematik olarak değerlendirmek için BPA 'ya maruz kalan soya fasulyesi bitkilerinin yer üstü ve yer altı organlarının biyolojik karakterlerini araştırmışlardır. Sonuçlarda, üç gün boyunca 0,8 mg/L BPA' ya maruz kaldıktan sonra, köklerdeki indol-3-asetik asit (IAA) ve gibberellik asit seviyelerinin önemli ölçüde arttığı ve yapraklarda IAA seviyesinin arttığı, dolayısıyla köklerin ve yaprakların her ikisinin de karakter indekslerinin artmış olduğu görülmüştür. Bu arada, gözlemlenen değişimler için hormon seviyeleri belirlenmiş ve fotosentez açısından analiz edilmiştir. Saplardaki IAA ve etilen seviyeleri artmış, ancak sapların karakter indeksleri artmamıştır. Daha yüksek BPA konsantrasyonları, özellikle 17,2 mg/ L BPA'ya maruz kalınmasıyla, IAA, gibberellik asit ve zeatin seviyeleri (yapraklarda artmış zeatin hariç) azalmış ve absisik asit ve etilen seviyeleri artmış; Böylece, tüm karakter indekslerinin önemli ölçüde azalmış olduğunu bulmuşlardır. Değişik biyolojik karakterlerdeki değişimler karşılaştırarak, yaprak alanı, kök yüzey alanı ve kök uzunluğunun en belirgin şekilde değiştiği görmüşlerdir. Ek olarak, fotosentetik parametrelerde meydana gelen değişiklikler, bitki büyüme değişiklikleri ve etkilenen biyolojik karakterler için başlangıç nedenleri saptanmıştır. BPA maruziyet süresi uzadığında karakter indekslerindeki değişiklikler daha güçlü olmuş ve BPA' nın ortamdaki çıkarılmasından sonra, karakter indekslerinde bir miktar iyileşme gözlemlenmiştir. Bu nedenle, BPA maruziyetinin hormon seviyesini ve fotosentezi etkileyerek bitki karakterlerindeki değişiklikleri düzenleyebileceğini belirlenmişler ve kök yüzey alanı, kök uzunluğu ve yaprak alanı gibi kısımların BPA' ya en hassas olan kısımlar olduğu ispatlamışlardır.

Jiao vd. (2017) göre birçok çalışma, büyüme ve metabolizma gibi faaliyetler bitkilerde farklı büyüme aşamalarında değişiklik göstermektedir. Böylece, bitkinin

evre kirliliğine karşı verdiği cevaplar, buna göre farklılık göstermektedir. Bu bilgiler ışığında BPA' nın soya fasulyesinin klorofil içerikleri üzerindeki etkilerini incelemeye karar vermişlerdir. Soya'nın (*Glycine max* L.) farklı büyüme aşamalarında (fide, çiçeklenme ve bakla, tohum oluşumu ve olgunlaşma) esas ara madde (5-aminolevulinic asit, porphobilinogen, protoporphyrin IX, magnezyum protoporfirin ve protochlorophyll) içerikleri ölçülmüş ve klorofil sentezindeki anahtar enzimler (5- aminolaevulinik asit dehidrataz, porphobilinogen deaminase, roporfinojen III sintaz, magnezyum chelataz) belirlenmiştir. Düşük dozlu (1,5 mg/L) BPA maruziyetinin, klorofil sentezindeki farklı büyüme aşamalarındaki ara maddelerin içeriğine ilaveten anahtar enzimlerin aktivitelerini de arttırdığını belirlemişler, bunun da klorofil içeriğinde bir artışa ve net fotosentetik oranı etkilediğine dair bir kanıt olduğunu belirlemişlerdir. Buna karşılık, orta ve yüksek doz (17,2, 50,0 mg/L) BPA maruziyeti indeksler üzerinde inhibitör etkiler yaratmış olduğunu gözlemlemişlerdir. BPA maruziyetinin geri çekilmesinin ardından, bitki büyüme aşaması ile ilgili olan indeksler bir dereceye kadar iyileşmiştir. Farklı büyüme aşamalarında bu indeksler zerindeki BPA' nın etki düzeyini: fide aşaması> olgunlaşma aşaması>ieklenme ve bakla aşaması> tohum doldurma aşaması olarak sıralamışlardır. BPA maruziyetinin geri çekilmesinin ardından ters bir etki gözlemlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda, bitki klorofil I sentezindeki anahtar enzimlerin BPA' ya verdiği yanıtlarla, BPA' nın klorofil içeriğini nasıl etkilediğini göstermişlerdir. Ayrıca BPA'nın etkilerinin farklı bitki büyüme aşamalarında net farklılıklar göstermekte olduğunu kanıtlamışlardır.

Xia vd. (2017) yaptıkları çalışmada BPA kirliliğinin, farklı büyüme şartlarındaki soya bitkisinin köklerinde bulunan mineral elementlerin içeriklerine (P, K, Ca ve Mg) olan zararlı etkilerini inceleyerek belirlemişlerdir. Kök aktivitesi ve çok önemli olan solunum enzimlerinin (heksokinaz, fosfofruktokinaz, piruvat kinaz ve izositrat dehidrokinaz) etkinliklerini incelemişlerdir. Sonuçlar BPA'nın düşük dozunun (1,5 mg/L) farklı büyüme şartlarındaki soya kökleri içersinde P, K, Mg ve Ca'un seviyelerini arttırdığı ortaya çıkarmıştır. Oysaki BPA'nın yüksek dozları (6,0 ve 12,0 mg/L) doza bağımlı bir şekilde P, K ve Mg içeriklerinin seviyelerini azaltmıştır.

BPA'nın soya kökleri içersindeki Ca'un içeriği üzerine teşvik edici bir etki yaptığını belirlenmişlerdir. Farklı büyüme şartlarındaki soya köklerinde BPA'nın mineral madde içeriği, kök aktivitesi ve solunum enzimleri aktivitesi üzerine etkisi:

çiçeklenme ve tohumlanma aşaması $\geq$ fidelenme aşaması (mineral elemen içerikleri) ; fidelenme aşaması $\geq$ tohum dolumu aşaması (kök aktivitesi ve solunum enzimlerinin aktiviteleri) şeklinde olduğunu kanıtlamışlardır.

Jiao vd. (2017) yaptıkları çalışmada, BPA' nın soya fasulyesi fidelerinde (*Glycine max* L.) fotosentezi nasıl etkilediğini ortaya çıkarmaya çalışmışlardır. Stomatal ve stomatal olmayan faktörler, stomatal faktörler (stomatal iletkenlik ve davranışlar) ve stomatal olmayan faktörleri (Hill reaksiyonu, taşınabilir fotosentez sistemi kullanılarak görünür kuantum verimi, Rubisco aktivitesi, karboksilasyon verimi, maksimum Rubisco karboksilasyon hızı, maksimum elektron taşıma hızlarının aracılık ettiği ribuloz-1,5-bisfosfat rejenerasyon kapasiteleri ve trio fosfat kullanım oranı) incelemişlerdir. Dahası, bu çalışmada çevredeki BPA kirliliğinin benzeri bir ortam yapmışlardır. Sonuçlar, düşük doz BPA' nın, esas olarak stomatal faktörleri teşvik ederek net fotosentez oranını arttırdığını, bunun sonucunda nisbi büyüme oranlarının artmasına ve soya fasulyesi fide büyümesini hızlandırdığına dair veriler bulmuşlardır. Yüksek doz BPA'nın, stomatal ve stomatal olmayan faktörleri eşzamanlı olarak inhibe ederek fotosentez oranını azaltırken ve bu inhibisyonun soya fasulyesi fide büyümesini daha da azaltarak nispi büyüme oranlarında azaltıcı etki olduğunu kanıtlamışlardır. BPA'nın ortamdan geri çektiklerinden sonra ise, tüm indeksler farklılaşan derecelerde eski haline gelmiştir. Sonuç olarak, düşük doz BPA, stoma faktörlerini destekleyerek fotosentez oranını arttırırken yüksek doz BPA, stomatal ve stomatal olmayan faktörleri eş zamanlı olarak inhibe ederek fotosentez oranını azaltmış olduğunu ispat etmişlerdir. Bu bulguların, BPA'nın bitki fotosentezine etkileri için bir model (veya hipotez) sağlayacağını düşünmüşlerdir.

Zhang vd. (2017) bitkilerde ROS'un çevresel konsantrasyonlarda ki BPA maruziyetinin neden olduğu stres için koruyucu rol oynayıp oynamadığını araştırmayı amaçlamışlardır. Amacı belirlenmiş olan bu çalışmada, soya kökleri (fide, çiçeklenme ve bakla aşamaları) 1,5 ve 3,0 mg/L BPA' ya maruz bırakılmış ve ROS yanıtları ölçülmüştür.

Soya köklerinde kalan BPA ve ROS seviyeleri arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Sonuçlar, 9 saatlik 1,5 mg/L BPA maruziyetin ROS üretiminde değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. ROS daha sonra soya köklerinde (fide evresinde) yavaş yavaş

birikmiştir. 3,0 mg/L BPA' ya maruz bırakmada, çiçeklenme ve tohumlama aşamasında daha güçlü ve erken bir ROS yanıtı sağlamıştır, fakat membran lipid peroksidasyonuna yol açmamıştır. Soya fasulyesi köklerindeki kalıntı BPA içeriği, 9 saatlik maruziyetin ardından doruk konsantrasyonlara ulaşmış ve daha sonra, çiçeklenme ve bakla aşamasında kademeli olarak azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, soya fasulyesi köklerindeki ROS' un, BPA'nın bitkilere zarar vermesini önleyebileceğini ve BPA'nın oksidatif metabolizmasında rol oynayabileceğini göstermişlerdir. Sonuç olarak, gözlemlenen ROS metabolik etkileri, BPA maruziyetinin indüklediği strese karşı bitkilerin kendi kendini koruma tepkileri olabileceğini düşünmüşlerdir.

Wang vd. (2015) çalışmalarında soya fasulyesi fidelerinin büyümesinde 1,5 mg/L BPA derişimini uygulamışlardır. Bu uygulama ile İndol-3-asetik asit ve zeatin içeriği ve absisik asit / İndol-3-asetik asit, absisik asit / gibberellik asit, absisik asit / zeatin, etilen / gibberellik asit ve etilen/ İndol-3-asetik asit ve etilen / zeatin oranlarında azalmalar saptamışlardır. Daha yüksek BPA konsantrasyonları (3-96 mg/L arası) ile muamelede, soya fasulyesi fidelerinin büyümesini önlemiş olduğunu belirlemişlerdir. Bu arada, İndol-3-asetik asit, gibberellik asit, zeatin ve etilen içeriğini azaltmış ve absisik asit/ İndol-3-asetik asit, absisik asit/ gibberellik asit, absisik asit / zeatin, etilen/ gibberellik asit, etilen /İndol-3-asetik asit ve etilen / zeatin oranlarını arttırmış olduğu gözlemlenmiştir. Büyüme ve stres hormonlarının oranlarındaki artışlar köklerin BPA içeriğindeki artış ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir. Böylece BPA yalnızca bitki büyüme hormonlarının seviyelerini değiştirerek bitki büyümesini ve büyümesinin oranını engelleyebileceğini ve kökler tarafından BPA'nın absorpsiyonundan dolayı köklerdeki stres hormonlarını etkileyebileceğini kanıtlamışlardır.

Kang vd. (2006) BPA'nın su içersinde az oranda çözülebilir olduğunu (25 °C de 120-300 mg/L ile çözülebilir) ve asetik asit, aseton, metanol, etanol, izopropanol, butil alkol, eter, benzen ve alkalın solüsyon içersinde kolayca çözünebilmekte olduğunu belirlemişlerdir.

BPA'nın hayvan hücreleri üzerinde belirgin bir toksik etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir (LD50 4200 mg/kg). Hidrofobik ve uçucu olmayan organik

kirleticilere dahil olan BPA'nın aynı zamanda anormal büyüme ve gelişmeye neden olduğunu, sinir ve bağışıklık sistemlerini etkilediğini ayrıca canlı organizmaların genetik fonksiyonlarını etkilediğini ve uluslararası olarak bilinen çevresel bir endokrin bozucu olduğunu savunmuşlardır.

Rapala vd. (2017) çalışmalarında 5–50 mg/L BPA'nın *Arabidopsis thaliana* üzerindeki toksisitesini incelemişlerdir. Ek olarak, 4 haftalık gelişimden sonra 0,5-5 mg/L BPA'nın etkilerini incelemişlerdir. BPA'nın çimlenme oranı ve klorofil a/b oranı üzerinde bir etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. Ancak 5 mg/L BPA ile muamele edilen fidelerde Klorofil a ve karotenoid içeriğinin anlamlı düzeyde yükseldiğini ispatlamışlardır. Bu çalışmada 4 haftalık bitkilerde klorofil ve karotenoid içeriğinde herhangi bir değişiklik olmamış ve fotosentetik parametreler (Fv/Fm, Fv/F0 ve PI) etkilenmemiş, bunun sonucunda da hiçbir fotoinhibisyon olmadığı kanıtlanmıştır. Yapılan çalışmanın sonucunda Oksidatif stres belirtileri görülmemiştir. BPA yaprak protein içeriğini önemli ölçüde düşürmüştür. Düşük bir BPA konsantrasyonunun *A. Thaliana'* nin çiçeklenmesi üzerinde önemli bir etkisi olmadığını saptamışlar, ancak daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğunu düşündüklerini belirtmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre düşük BPA konsantrasyonunun *A. thaliana'* nin büyüme ve gelişimi üzerine olumsuz bir etkisi olmadığını kanıtlanmışlardır.

Pan vd. (2013) çalışmalarında, BPA'nın çimlenme, taze ağırlık, kazık kök uzunluğu ve yaprak farklılaşması üzerindeki etkilerini, *Arabidopsis thaliana*'da ışık spektrumunun farklı kısımları (koyu, kırmızı, sarı, yeşil, mavi ve beyaz ışık) altında incelenmiştir. Belirlenen sonuçlarda düşük doz BPA'nın *A. thaliana* fidelerinin taze ağırlığında, kazık kök uzunluğunda ve yan kök oluşumunda artışa neden olduğunu, yüksek dozunda ise doza bağlı bir şekilde yavaşlama/engelleme (inhibisyon) etkisi olduğunu göstermişlerdir. BPA'nın, *A. thaliana*'da çimlenme ve erken fide büyümesinde ışık tepkisi oluşturulmasında kayda değer bir rolü olmadığını ve Karrikinlerden farklı olarak, BPA'nın çimlenme taze ağırlığı ve çeşitli ışık koşullarında kazık kök uzunluğu üzerindeki etkilerinin benzer olduğunu söylemişlerdir.

Bu arada, BPA' ya maruz kalma durumunda *A. thaliana*'nın yaprak ucunun ışığa bağımlı bir şekilde önemli ölçüde farklılaşmasına etki ettiği ve kırmızı ışığın karanlık ya da açık durumda çok fazla etkisi olmadığını bulmuşlardır.

Dogan vd. (2010) yaptıkları bu çalışmada, BPA ve TBBPA'nın nohut tohumu çimlenmesi üzerindeki toksik etkileri ve köklerdeki bazı olası biyokimyasal değişiklikleri belirlemişleridir. Tohum çimlenmesi 10 ve 50 mg/L BPA ve TBBPA uygulamalarında önemli ölçüde değişmemiş olduğunu gözlemlemişlerdir. Bununla birlikte, tohum çimlenmesi her iki muamelenin 100 mg/L konsantrasyonu tarafından engellenmiştir. Benzer şekilde, nohut kökü gelişiminin yüksek BPA ve TBBPA konsantrasyonlarından olumsuz yönde etkilenmiş olduğunu gözlemlemişlerdir. Köklerde H₂O₂ oluşumu ile ortaya çıkan BPA ve TBBPA kaynaklı oksidatif stres uygulamalarının malondialdehid (MDA), peroksidaz (POD) aktivitesi ve protein olmayan SH grupları ile kantitatif olarak ilişkili olduğunu saptamışlardır. BPA ve TBBPA'nın kökler üzerindeki toksik etkilerini de histokimyasal olarak belirlemişlerdir. Boyamalar açısından, lipid peroksidasyon derecesi, özellikle TBBPA' da uygulanan konsantrasyonlarla şiddetli bir şekilde arttığını belirlemişlerdir. Evans mavisıyla boyamayla, BPA ve TBBPA konsantrasyonlarında, köklerin plazma membran bütünlüğünün nispeten korunmuş olduğunu belirtmişlerdir. Bununla birlikte, her iki kimyasalın, özellikle de TBBPA'nın yüksek konsantrasyonlarında bütünlüğü korunmadığını belirlemişlerdir. Evans mavisi boyama ile BPA ve TBBPA'nın düşük konsantrasyonlarında kısmen korunmuş köklerin plazma zarının bütünlüğünün korunduğunu belirlemişleridir. Nohut tohumlarının çimlenmesinde, 10 ve 50 mg/L konsantrasyonlarında her iki muamelede de oksidatif stresi tolere edebilme kapasitesine sahip olduğu, ancak bu kapasite, POD aktivitesi ve protein olmayan SH grupları tarafından ortaya çıktığı gibi, 100 mg/L BPA ve TBBPA konsantrasyonlarında ise kısmen kaybedilmiş olduğunu belirlemişlerdir.

Ferrara vd. (2006) endokrin bozucu kimyasallardan BPA' nın farklı derişimlerinin bazı kültür bitkilerinin çimlenme, morfoloji ve kök hücrelerindeki mikronukleus içeriğini belirlenmişlerdir.

Genel olarak, kullanılan herhangi bir dozdaki BPA, incelenen türlerin çimlenmesini ve erken büyümesini (6 gün) engellemediğini gözlemlemişlerdir. BPA konsantrasyonunun, bakla ve domates fidelerinin büyüme dönemini belirgin olarak azalttığı saptamışlardır.

Ayrıca, 21 günlük büyümeden sonra bakla ve domateste kök ve sürgünlerde ölçülen BPA miktarı, BPA' nın biyoakümülyasyonunun meydana geldiğini göstermişlerdir. Baklagiller ve makarnalık buğday kök ucu hücrelerindeki mikro nukleus sayısı, BPA muamelesinin her iki konsantrasyonda da belirgin bir şekilde artmış ve bu da bu türlerde BPA' nın potansiyel bir clastojenik aktivitesini göstermekte olduğu sonucuna ulaşmışlardır.

Bingzhi vd. (2007) çalışmalarında *Elodea nuttallii* ve Bisfenol A (BPA)'nın bir arada bulunduğu bir mikrokozmos sisteminde, sıvı kromatografi- kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi yardımıyla, BPA'nın fitodegradasyon dinamiklerini (1-20 mg/L) ve fitodegradasyon ürünlerini çalışmışlardır. BPA'nın *E. nuttallii* üzerindeki etkilerini değerlendirmek için antioksidasyon aktivitesini ve fosfolipit yağ asitlerini ölçmüşlerdir. Çalışmalarının sonuçlarında, BPA'nın fitodegradasyonunun yarı ömür süresinin 15 günden az olduğunu göstermişlerdir. 2-(4-hidroksifenil) -2- (3,4-o-dihidroksifenil) propan ve 2, 2-bis (4-hidroksifenil) propil alkolün iki olası BPA ürünü olduğunu tespit etmişlerdir. Denemenin sonunda kontrol edilenle karşılaştırıldığında *E. nuttallii*'nin peroksidaz (POD) aktivitesi %50 oranında azalmış olduğunu keşfetmişlerdir. Yağ asidi metanol esterlerinin açıkça değişmiş olduğunu ve oksidasyon stresinin ve membran hasarının BPA'nın *E. nuttallii* üzerindeki iki etkileyici yönü olduğunu ortaya çıkarmışlardır.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOT

3.1 *Moringa oleifera* için Deney Ortamı ve Uygulama

Tez çalışmasında kullanılan *Moringa oleifera* tohumları perlit ortamına ekilerek ihtiyaç anında distile su ile sulandı. *M. oleifera* tohumlarının çimlendirme çalışması kontrollü şartlarda ve bir iklimlendirme dolabında gerçekleştirildi. Daha sonra *M. oleifera* fideleri kontrollü şartlarda ($\sim 120 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$ ışık ve 26 ± 1 °C sıcaklık) gelişimlerine devam ettirildi. Bitkinin fide gelişimi için kullanılan besin çözeltisi 0,88 mM K_2SO_4 , 2 mM $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,25 mM KH_2PO_4 , 1 mM MgSO_4 , 0,11 mM KCl, 100 μM Fe-EDTA, 10 μM H_3BO_3 , 5 μM MnSO_4 , 10 μM ZnSO_4 , 2 μM CuSO_4 ve 0,2 μM $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ içermektedir. Bu besin solüsyonu %10'luk derişimde kullanıldı. Daha sonra, her kapta dört fide olacak şekilde, moringa fideleri iki litrelik %10'luk besin çözeltisi ihtiva eden su kültürü kaplarında aktarıldı. Hidroponik şartlara aklımasyon dönemi sonunda, moringa bitkilerine farklı bisfenol A derişimleri (0, 1.5, 17.2 ve 50 mg/L) uygulandı. Çalışma süresince test çözeltileri 2 güne bir değıştirilerek yenilendi. Beş günlük BPA maruziyetini takiben, çalışma sonlandırıldı. Hasat işlemini takiben, moringa bitkilerinin kökleri üç kez distile su ile yıkandı. Moringaların kök ve gövde uzunlukları cetvel ile ölçülerek kaydedildi. Biyokimyasal analizlerde kullanılacak bitki organları derin dondurucuya konuldu. Moringanın kök, gövde ve yapraklarının taze ağırlıkları hasat anında tartılarak belirlendi.

3.2 Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid Analizi

Moringa yapraklarının fotosentetik pigment analizleri için örnekler % 80'lik aseton ile homojenize edildi. Santrifüj işlemini takiben numunelerin süpernatantları UV/VIS spektrofotometrede (Cintra 202) (klorofil-a için 662 nm, klorofil-b için 645 nm ve

karotenoid için 470 nm’de) asetona karşı okundu. Klorofil-a, klorofil-b ve karotenoid hesaplamaları Lichtenthaler ve Wellburn (1985)’e göre yapıldı.

3.3 Malondialdehit Analizi

Moringa bitki organlarının MDA analizleri için numuneler %10’luk Trikloroasetik asitte homojenize edildi. Bu numuneler santrifüj edildikten sonra 2 ml süpernatanttan alınarak üzerine 2 ml tiyobarbitirik asit eklendi ve 95°C’de 30 dakika su banyosunda bekletildi. Bu işlemi takiben numuneler buzlu su ortamında şok soğutuldu. MDA miktarının belirlenmesi için örnekler UV/VIS spektrofotometrede (Cintra 202) 532, 600 ve 450 nm’de okundu (Zhou, 2001).

3.4 Toplam Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

Moringa fide organlarının fenolik bileşik miktarları için homojeniz edilen örneklerin süpernatantından 50 µl alınarak son hacim 1 ml olacak şekilde % 3’lük sodyum karbonat ve 0.3 N Folin-Ciocalteu eklendi ve sonra oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi. Bu numuneler 765 nm’de UV/VIS spektrofotometrede okundu. Standart olarak gallik asit kullanıldı (Ratkevicius vd., 2003).

3.5 Protein Olmayan SH Gruplarının Analizi

Moringa fide organlarının SH grup miktarının analizi için homojeniz edilen örneklerin süpernatantından 0,5 ml alındı ve üzerine 5 mM etilen diamintetra asetik asit içeren 150 Mm’lık P tamponu (pH 7,4) eklendi. Sonra bu örnek üzerine 0,5 ml 6 mM’lık dithio nitro benzoik asit eklendi ve çalkalandı. Bu örnekler yirmi dakikalık bekleme periyodu sonunda örnekler UV/VIS spektrofotometrede 412 nm’de okundu. (Ellman, 1959). Standart olarak sistein kullanıldı.

3.6 Toplam Karbonhidrat Tayini

Moringa fide organlarının toplam karbonhidrat analizi Dubois vd. (1956)’na göre yapıldı. Santrifüj edilen bir ml’lik etanol ekstraktından alındı ve üzerine dört ml soğuk antron çözeltisi eklendi. On dakika kaynar su banyosundan bekletilmesini takiben şok soğutma yapılarak 620 nm de UV/VIS spektrofotometrede okundu. Standart olarak glukoz kullanıldı.

3.7 Hidrojen Peroksit Analizi

Moringa fide organlarının hidrojen peroksit içeriklerinin belirlenmesi Sergiev vd. (1997)'ne göre belirlendi. Taze bitki organları %0,1'lik trikloroasetik asitte homojenize edildi. Santrifüj edilen örneklerden 0,5 ml alınarak. üstüne 0,5 ml P tamponu ve 1 M'lık KI'dan 1 ml eklendi. Bu karışım 390 nm'de UV/VIS spektrofotometrede (Cintra 202) okundu.

3.8 İstatistiksel Analiz

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi SPSS 11.0 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Gruplar arası farkın belirlenmesi için One-Way ANOVA LSD testi uygulanmıştır. Bunlar üzerindeki farklı harfler $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak önemi belirtir.

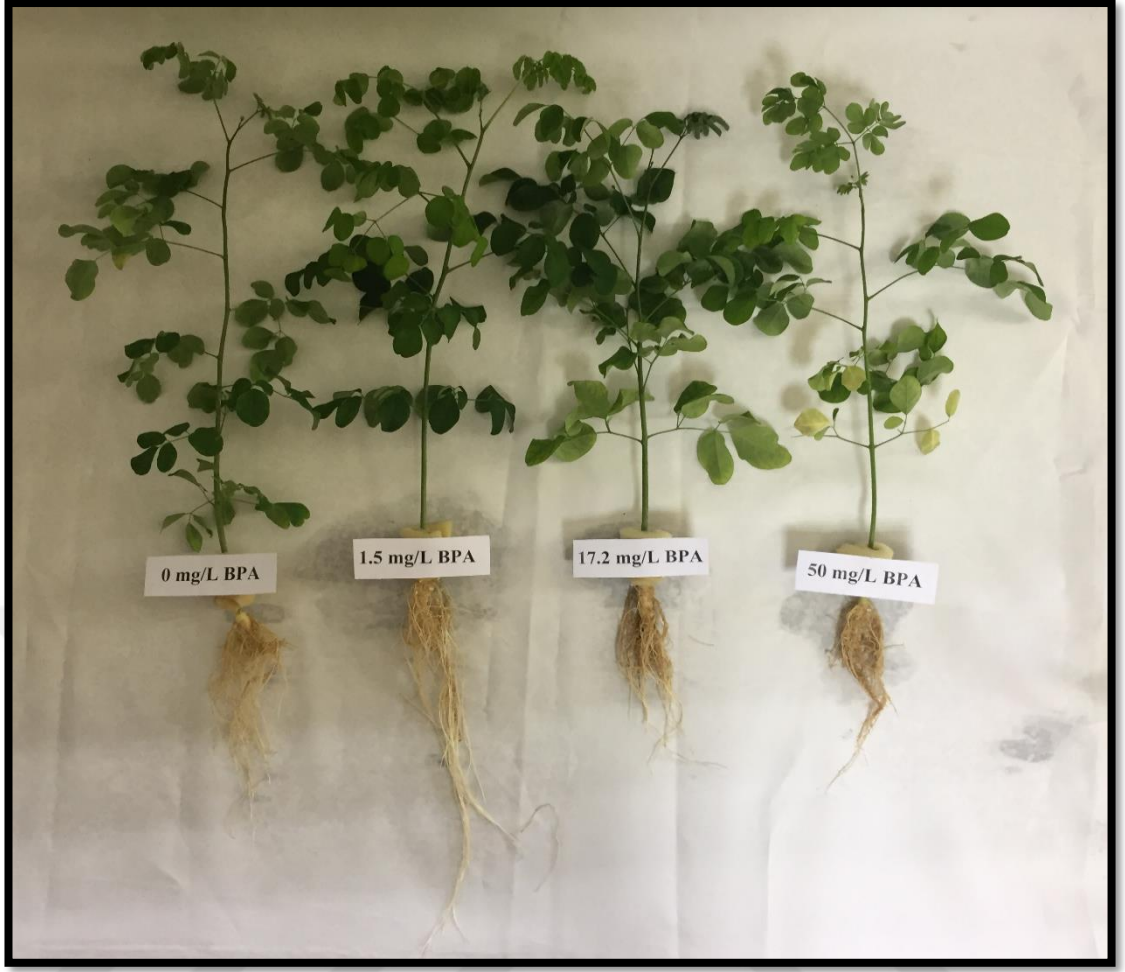
BÖLÜM 4

BULGULAR

Yaptığımız çalışmada, hidroponik olarak kontrollü şartlarda Bisfenol A'nın farklı farklı derişimlerinin (0, 1.5, 17.2 ve 50 mg/L) etkisinde yetiştirdiğimiz moringa bitkilerindeki bazı fizyolojik ve biyokimyasal değişimler belirlenmiştir. Aşağıda hasat öncesine ait moringa bitkilerinin genel bir görünümü bulunmaktadır (Şekil 4.1). Bisfenol A'nın özellikle yüksek derişimindeki bitkilerin önemli ölçüde strese maruz kaldığı açıkça görülmektedir (Şekil 4.2). Özellikle yüksek BPA derişimi moringa fide yapraklarında kloroza neden olmuştur. Ayrıca bu derişimdeki bitkilerde ciddi düzeyde yaprak dökümü gözlenmiştir.



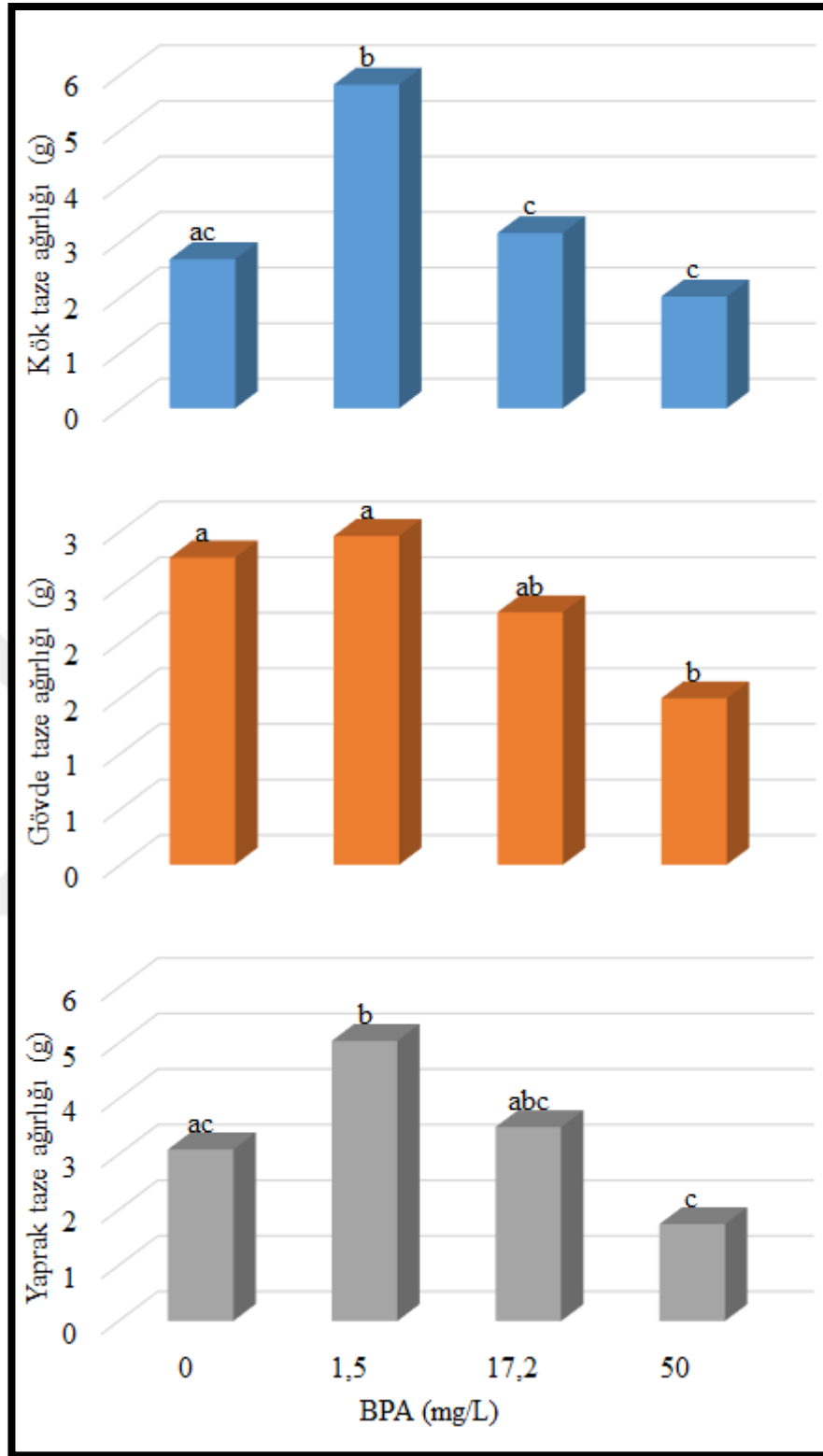
Şekil 4.1 BPA etkisinde yetiştirilen moringanın deney sonu genel görünümü



Şekil 4.2 BPA etkisinde yetiştirilen moringa organlarının deney sonu genel durumu.

4.1 Moringa Fidelerinin Büyüme ve Gelişimleri Üzerine BPA Etkisi

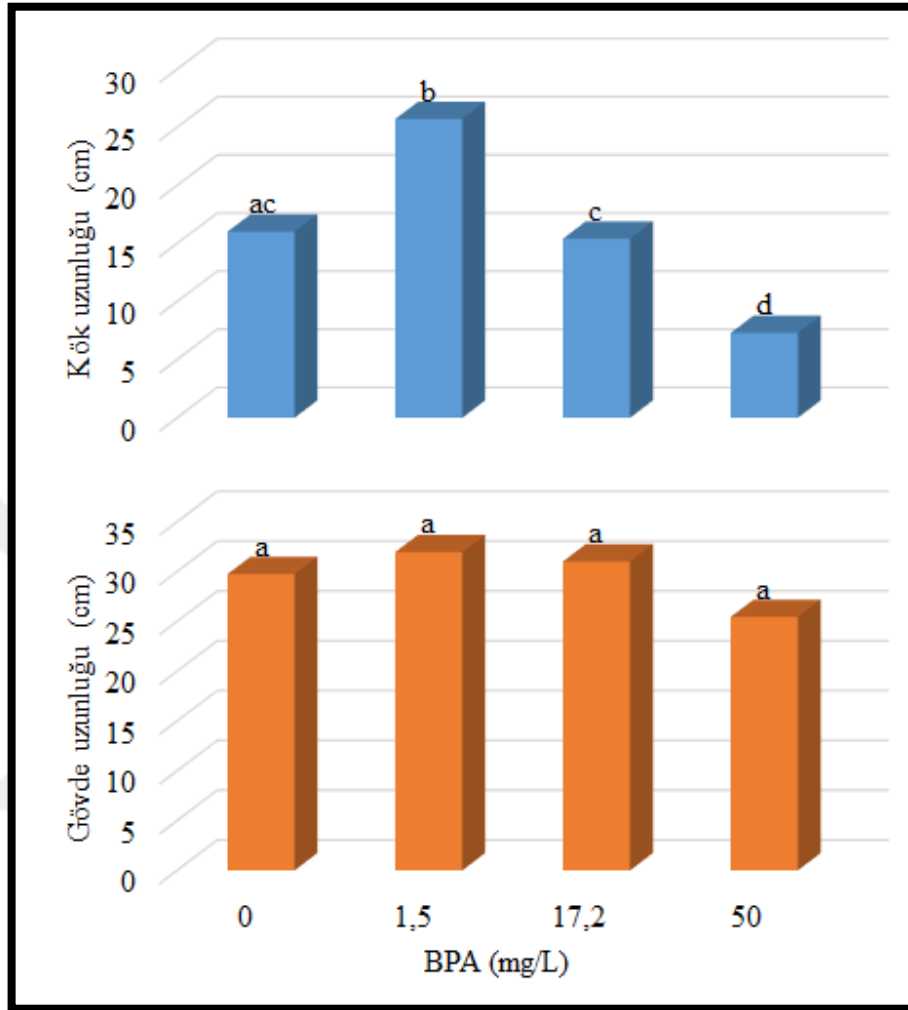
Uygulanan BPA derişimleri moringa bitkilerinin büyüme ve gelişmesi üzerinde farklı şekilde etkileri olmuştur (Şekil 4.3). Köklerin taze ağırlıkları 1.5 ve 17.2 mg/L’lik BPA derişimlerinde sırasıyla %117.3 ($p<0.05$) ve %17.7 ($p>0.05$) düzeylerinde artmış iken, 50 mg/L’lik derişimde ise %24.9 düzeyinde azalmıştır. Moringa gövde taze ağırlıkları 17.2 ve 50 mg/L’de kontrole göre sırasıyla %17.8 ($p>0.05$) ve %45.8 ($p<0.05$) düzeyinde azalmıştır. 1.5 mg/L’lik derişimde ise önemiz düzeyde artışlar belirlenmiştir ($p>0.05$). Yaprakların taze ağırlıkları 1.5 mg/L’lik derişimdeki bitkide %63.1 ($p<0.05$) artmış iken, 50 mg/L’lik derişimde ise %43.6 ($p<0.05$) düzeyinde azalmıştır. 17.2 mg/L’lik derişimde ise önemsiz artışlar belirlenmiştir ($p>0.05$).



Şekil 4.3 BPA etkisindeki moringa kök, gövde ve yapraklarının taze ağırlıkları

Moringa fide kök ve gövdelerinin uzunluk ölçümleri Şekil 4.4’de verilmiştir. Buna göre, kök için 1.5 mg/L’lik derişimde %60.63 ($p<0.05$) artış olmuş; 17.2 ve 50 mg/L derişimde ise sırasıyla %3.75 ($p>0.05$) ve %54.38 ($p<0.05$) azalma bulunmuştur.

Gövde uzunlukları ise tüm uygulanan derişimlerde istatistiksel olarak önemsiz değişim göstermiştir ($p>0.05$).

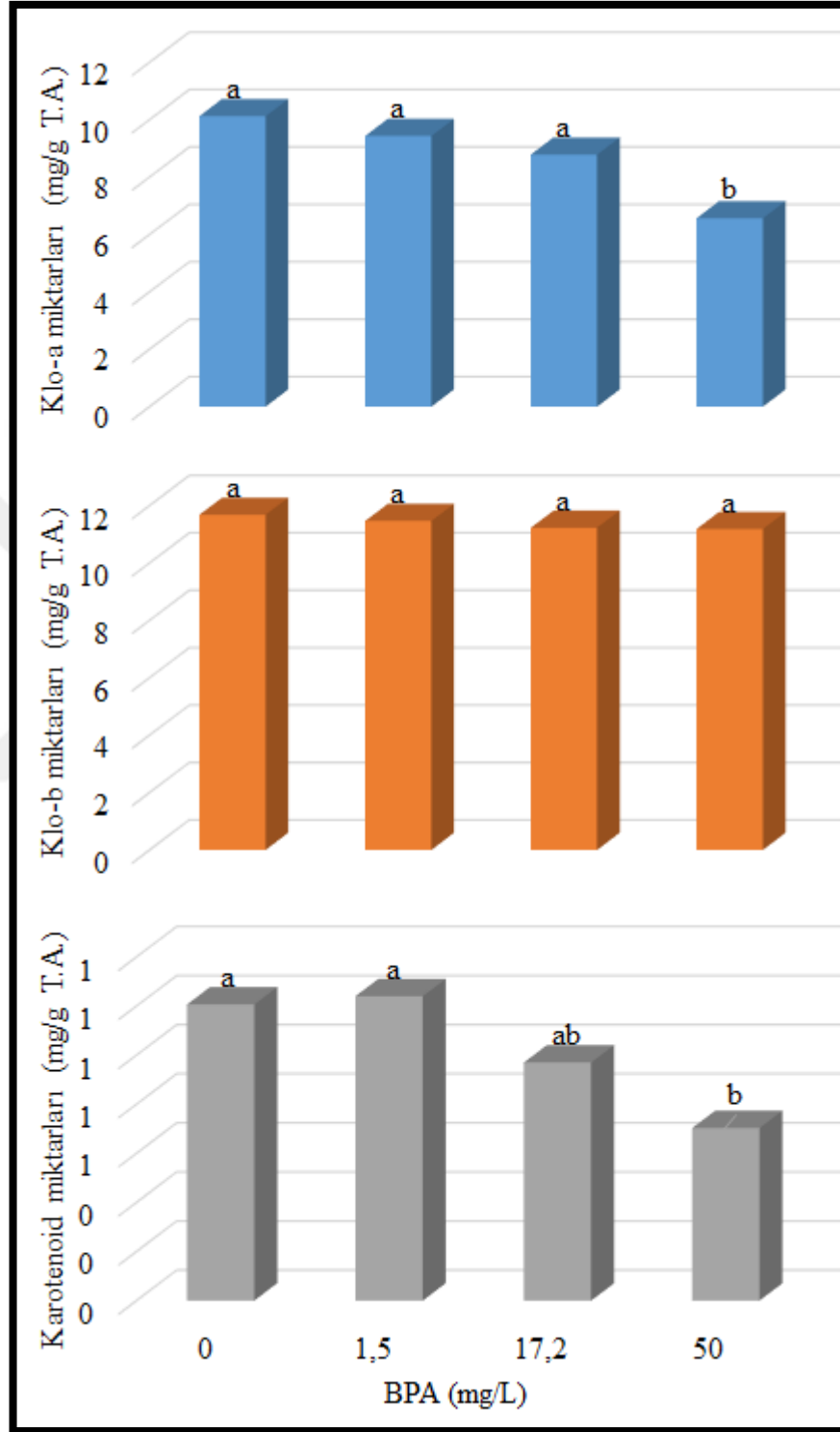


Şekil 4.4 BPA etkisindeki moringa kök ve gövdelerinin uzunlukları

4.2 Klorofil-a, Klorofil-b ve Karotenoid Miktarları

Moringa yapraklarının fotosentetik pigment miktarları Şekil 4.5'te gösterilmiştir. Klorofil-a miktarları 1.5, 17.2 ve 50 mg/L'lik BPA derişiminde kontrole göre sırasıyla %6.82 ($p>0.05$), %13.24 ($p>0.05$) ve %35.15 ($p<0.05$) düzeylerinde azaldığı belirlenmiştir. Benzer olarak, moringa yapraklarının klorofil b miktarları da %4.20 düzeyine kadar azalmalar göstermiştir ($p>0.05$). Karotenoid miktarları 1.5 mg/L derişimde %2.48 düzeyinde önemsiz artış göstermiştir ($p>0.05$). Bunun aksine,

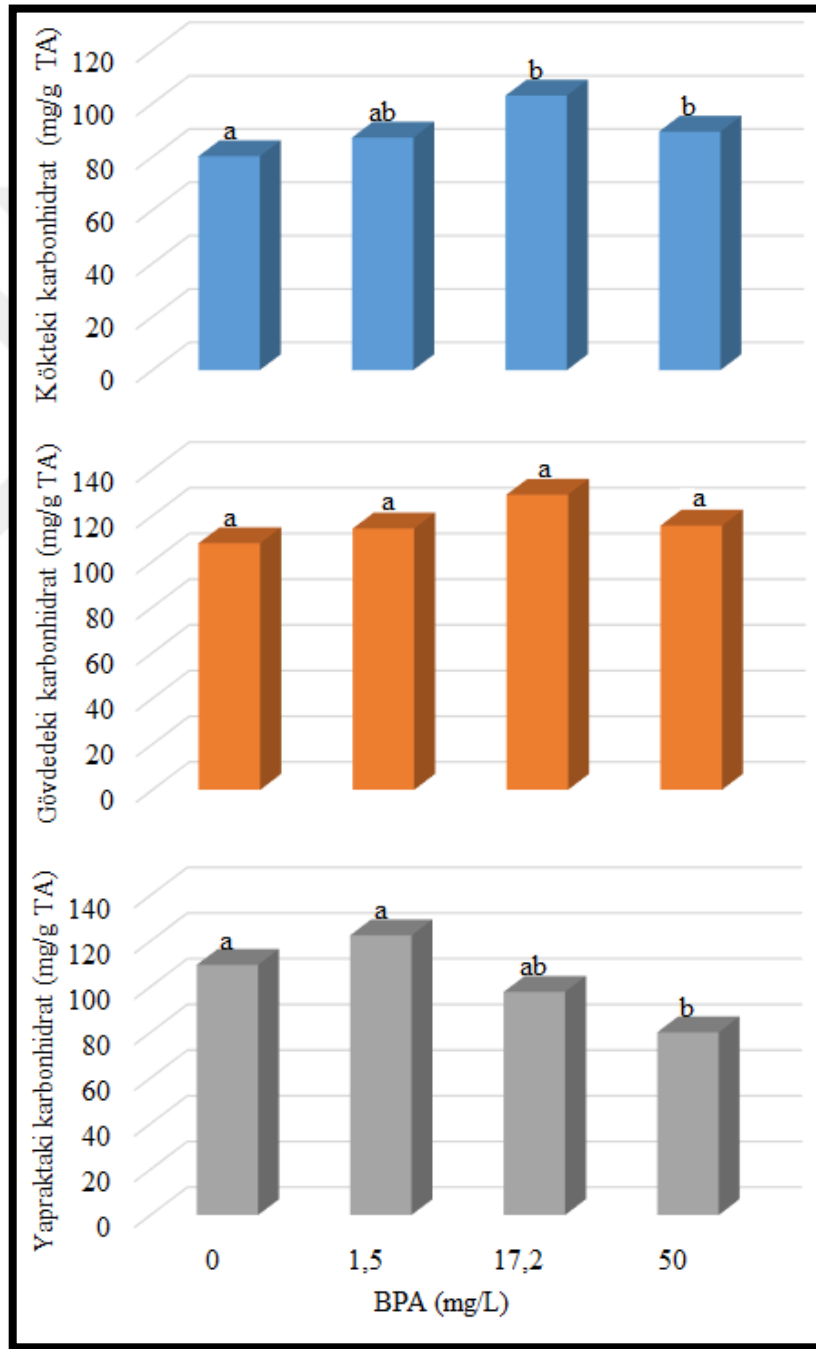
karotenoid miktarları 17.2 ve 50 mg/L'lik derişimlerde kontrole göre sırasıyla %19.83 ve %41.88 ($p<0.05$) düzeylerinde azalmalar göstermiştir.



Şekil 4.5 BPA etkisindeki moringa yapraklarının fotosentetik pigment içerikleri

4.3 Organların Toplam Karbonhidrat Miktarları

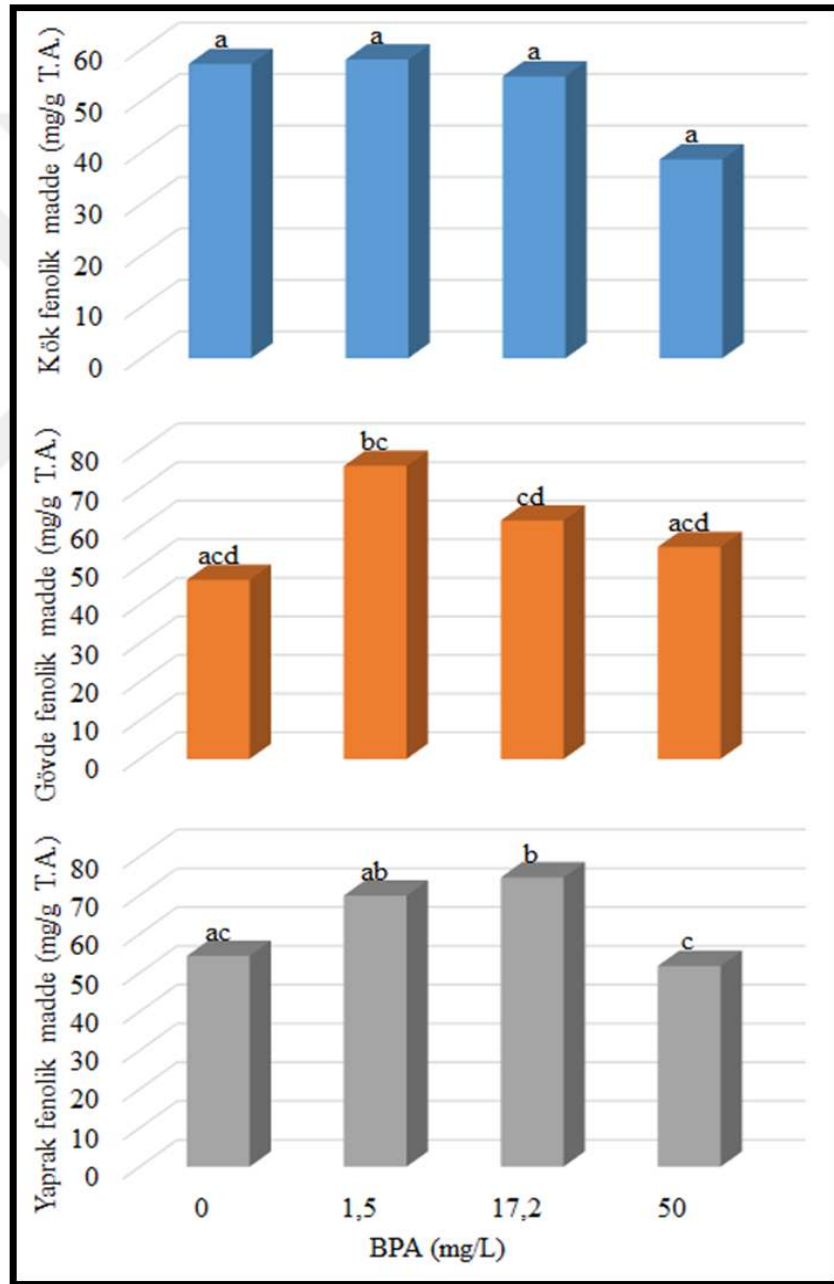
Moringa fide kök ve gövde karbonhidrat miktarları BPA etkisinde artmıştır (Şekil 4.6). Köklerin karbonhidrat miktarları 17.2 ve 50 mg/L önemli düzeyde artmış iken ($p<0.05$), gövdede ise bu artışlar önemsiz olmuştur ($p>0.05$). Yaprakların toplam karbonhidrat içeri de 1.5 mg/L'lik derişimde önemsiz artmıştır ($P>0.05$). Bunun aksine, 50 mg/L de ise %26.97 düzeyine kadar azalma göstermiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.6 BPA etkisindeki moringa organlarının toplam karbonhidrat miktarları

4.4 Organların Toplam Fenolik Madde Miktarları

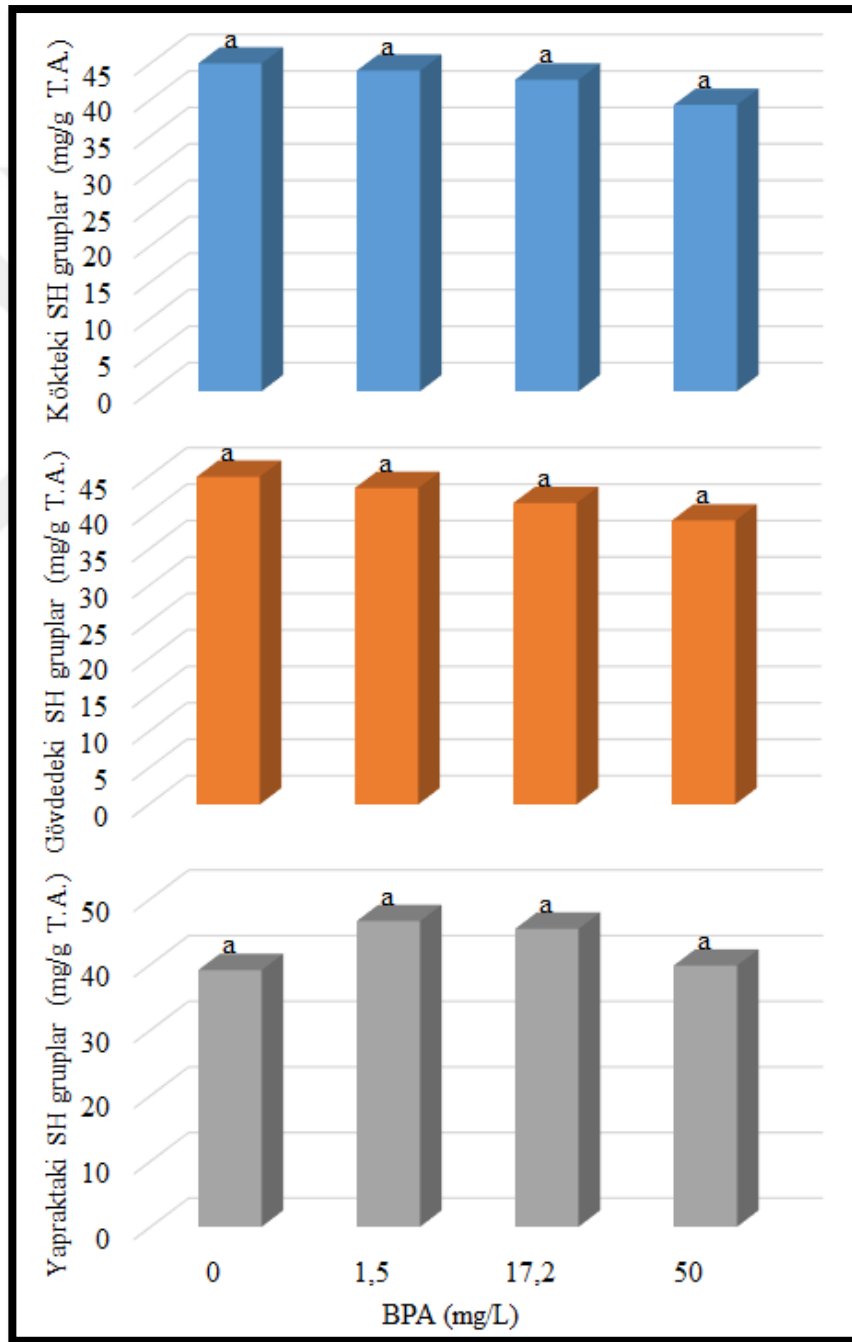
Moringa organlarının toplam fenolik madde içerikleri Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Buna göre kök dokularının fenolik madde içeriği BPA etkisinde önemsiz değişim göstermiştir ($p>0.05$). Gövdelerin fenolik içeriği 1.5, 17.2 ve 50 mg/L’de kontrole göre sırasıyla %63.67 ($p<0.05$), %33.20 ve %18.40 ($p>0.05$) düzeylerinde artmıştır. Yaprakların fenolik bileşikleri 17.2 mg/L’lik derişime kadar artmış ($p<0.05$), 50 mg/L’de ise azalmıştır ($p>0.05$).



Şekil 4.7 BPA etkisindeki moringa organlarının toplam fenolik bileşik miktarları

4.5 Non-Protein SH Gruplar

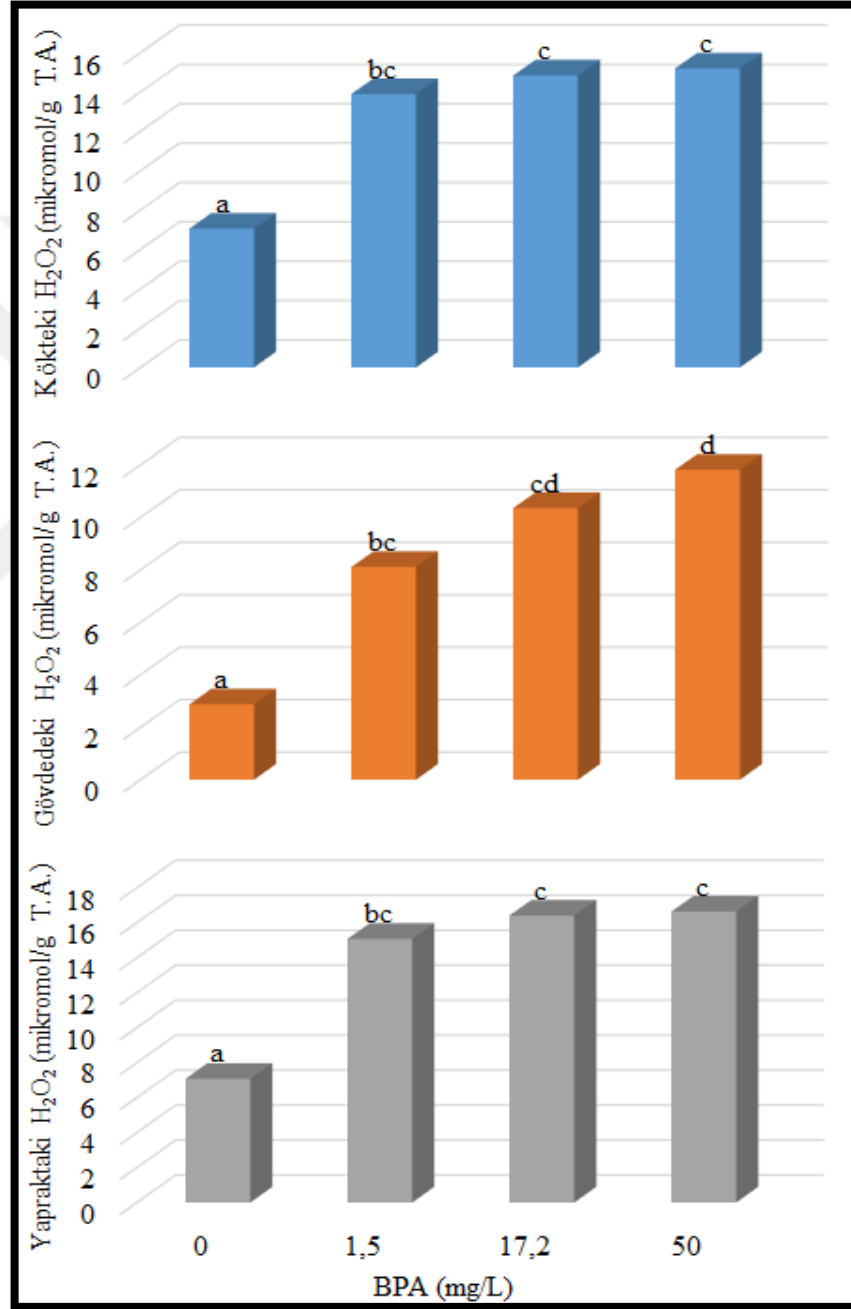
Moringa organlarının protein olmayan SH grup miktarları içerikleri Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Buna göre, kök ve gövdelerin SH grup miktarları BPA etkisinde önemsiz azalmalar göstermiştir ($p>0.05$). Bunun aksine, yaprakların SH grup miktarları 17.2 mg/L’lik derişime kadar önemsiz düzeyde artmış ($p>0.05$), 50 mg/L’de ise kontroldeki seviyeye ulaşmıştır ($p>0.05$).



Şekil 4.8 Organlarının protein olmayan SH grup miktarları

4.6 Hidrojen Peroksit İçerikleri

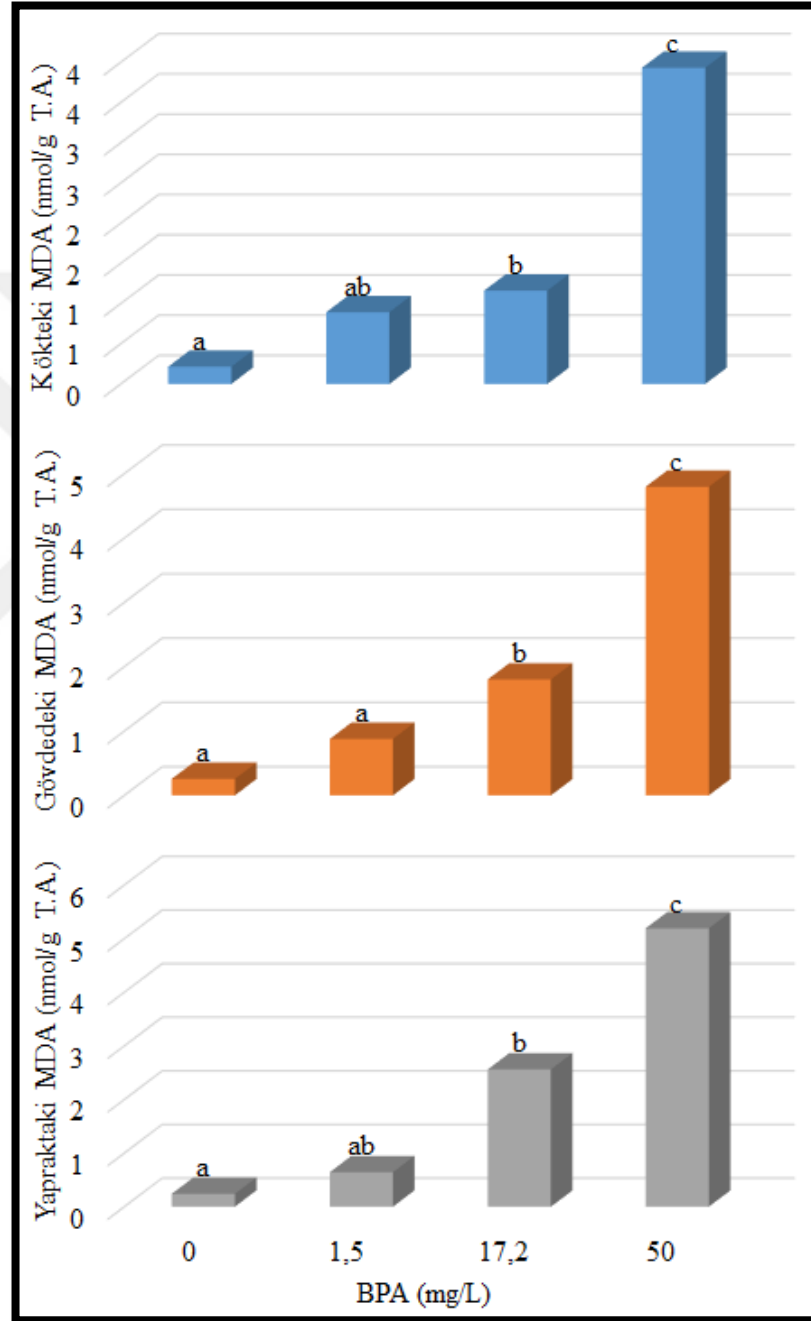
Moringa organlarının hidrojen peroksit içerikleri artan BPA derişimindeki artışa paralel olarak artmıştır (Şekil 4.9). Kontrollerine göre kök, gövde ve yapraktaki maksimum artışlar 50 mg/L'lik derişimde ve sırasıyla 2.16, 4.12 ve 2.35 kat düzeylerinde olmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.9 Organlarının H₂O₂ miktarları

4.7 Organların Malondialdehit İçerikleri

Hidrojen peroksit miktarlarındaki artışa benzer olarak, moringa organlarının MDA içerikleri artan BPA derişimindeki artışla birlikte artmıştır (Şekil 4.10). Kontrollerine göre kök, gövde ve yapraktaki maksimum artışlar 50 mg/L'lik derişimde ve sırasıyla 18.37, 18.76 ve 21.54 kat düzeylerinde olmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.10. Organlarının MDA miktarları

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bisfenol A [2,2-bis (4-hidroksifenil) propan; BPA] bir çevresel endokrin bozucu olarak kabul edilir ve polikarbonat plastiklerin, epoksi reçinelerinin, ambalaj kaplamalarının ve alev geciktiricilerin sentezinde kullanılan ticari açıdan önemli bir monomerdur (Goodson vd., 2002). Bu ürünler yaygın olarak plastik gıda kapları (ambalajları), tıbbi cihazlar, biberonlar ve termal makbuz kağıdı da dahil olmak üzere yaygın olarak kullanılmaktadır (Geens vd., 2011).

Günlük yaşam ve ticaretteki çok büyük talepten dolayı, BPA yıllık 6,8 milyon ton üretimi ile dünyanın sıklıkla ürettiği bir kimyasal olmuştur (Jandegian vd., 2015). Endüstriyel boşaltımlardaki yaygınlık ve geniş çaplı kullanımından dolayı, BPA artan bir içerik ile çevre içerisine her yerde bulunur. Örneğin, Brezilya'daki sıhhi atık gömme alanlarındaki toprakların ortalama BPA içeriği 21.3 µg/g olarak ölçülmüştür (Vieceli vd., 2011). Çin'de tehlikeli depolama sahası sızıntıları ve topraktaki BPA içerikleri sırasıyla 1–370 µg/L ve 0.1–10.5 µg/g aralığındadır (Huang vd., 2012). Ayrıca, Japonya'daki tehlikeli katı atık depolama alanı sızıntılarındaki BPA içeriği 1.3-17.2 mg/L'ye ulaşmaktadır (Yamamoto vd., 2001) ve Güney Florida'daki nehirlerde 4.4–190 mg/L aralığındadır (Singh vd., 2010).

Kazalar yoluyla BPA tarafından kirletilen olaylarda, ortamdaki BPA içeriğinin canlı organizmaların biyolojik aktivitesini etkilemiş olan derişimi 17,2 mg/L'yi geçebilmektedir (Crain vd., 2007). Bu nedenle, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı 1,5 mg/L BPA' nın içme suyu için üst güvenlik limiti olduğunu öne sürmüştür (Geens vd., 2011).

Çok sayıda çalışma, BPA'nın hayvanlar ve insanlar üzerindeki olumsuz etkilerini, özellikle de üreme sağlığı ve immünolojik işlevler üzerindeki etkilerini ve aynı zamanda genetik materyali değiştirme yeteneğini belgelemiştir (Flint vd, 2012; Gies

ve Soto, 2012; Rahman vd, 2015; Rogers vd, 2013; Tiwari vd, 2012; Wong ve Cheng, 2011).

Buna karşılık, BPA'nın bitkiler, özellikle de karasal bitkiler, üzerindeki etkilerini detaylandıran ilgili araştırmalar nadirdir. BPA ile ilgili çevresel risk değerlendirme raporu, BPA'nın bitkiler, özellikle de karasal bitkiler üzerindeki potansiyel riskleri ve toksik etkilerini ele almak için daha fazla çalışma önermiştir (Commission, 2008). Karasal bitkiler BPA'yı kökleriyle topraktan alabilir ve yer üstü organlarına taşıyabilir (Nakajima vd., 2002). Bu durum da BPA'nın bitkin büyüme ve gelişimini etkileyebilme potansiyelini ortaya koyma açısından önemlidir. Yaptığımız çalışmada, uygulanan BPA derişimleri moringa bitkilerinin büyüme ve gelişmesi üzerinde farklı şekilde etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Köklerin taze ağırlıkları kontrole göre 1.5 ve 17.2 mg/L'lik BPA derişimlerinde artarken, 50 mg/L'lik derişimde ise azalmıştır. Gövde ve yaprakların taze ağırlıkları ise özellikle yüksek derişimde azalmıştır. Moringa yapraklarının taze ağırlıkları düşük BPA derişimlerinde artmıştır. Araştırma bulgularımıza benzer şekilde, literatürde düşük BPA dozlarının soya fasulyesi (*Glycine max* L.) ve havuç (*Daucus carota* L.) fidelerinin büyümesini teşvik ettiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Qiu vd., 2013; Terouchi vd., 2004).

Ayrıca moringa bitkisinin kök uzunluğu kontrole göre 1.5 mg/L'lik derişimde artmış; 17.2 ve 50 mg/L derişimde ise azalmıştır. Gövde uzunlukları ise 1.5 ve 17.2 mg/L'lik derişimlerde önemsiz düzeyde artmıştır. Yapılan bir çalışmada yüksek dozlarda BPA (10.0, 17.2 ve 50.0 mg/L) domates (*Solanum lycopersicum* Mill.), makarnalık buğday (*Triticum durum* Desf.), bakla (*Vicia faba* L.) ve marul (*Lactuca sativa* L.) büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (Ferrara vd., 2006). Benzer olarak, soya (*Glycine max* L.) köklerinde amonyum asimilasyonunu ve gelişimini engeller (Qiu vd., 2013; Sun vd., 2013). Diğer bir çalışmada ise *Actinidia delicosa* A. Chev. uzama ve çimlenmesini engelleyen en yüksek dozun 10,0 mg/L olduğunu ortaya çıkarılmıştır (Speranza vd., 2011).

Bununla birlikte, BPA'nın bitkiler üzerindeki etkileri ile ilgili az sayıda araştırma bulunmaktadır. Çalışmalar yüksek dozlarda (> 10,0 mg/L) BPA maruziyetinin bitki büyümesini ve uzamasını engelleyebileceğini göstermiştir (Dogan vd., 2012).

Bu büyüme ve gelişmedeki azalmanın yanı sıra, BPA'nın moringa fidelerinde bazı semptomlara neden olduğu görülmüştür. 1.5 mg/L'lik BPA çözeltisindeki moringa fidelerinin gelişimi kontroldeki bitkilerden daha iyi bir büyüme ve gelişim göstermiştir. Ayrıca herhangi bir toksisite semptomuna rastlanılmamıştır. 17.2 mg/L'li derişimlerdeki moringa fidelerinin özellikle yaşlı yapraklarında düşük seviyede de olsa kloroza rastlanılmıştır. Ayrıca yine yaşlı yapraklarda kısmen yaprak absisyonuna neden olmuştur. Yine 17.2 mg/L'lik derişimde bariz primer ve sekonder kök gelişimdeki azalmanın yanında, sekonder köklerinin ucunda kırılma ve yanmaya benzeyen kök gelişiminin anormalisine rastlanılmıştır. 50 mg/L'lik derişimde büyüme ve gelişimdeki keskin azalmanın yanında, yapraklarda dikkate değer düzeyde kloroz ve absisyon gözlenmiştir. Bu derişimdeki bitkilerin köklerinde yumuşama, kahverengileşme gibi toksisite semptomları görülmüştür. Bu toksisite semptomlarının BPA'nın bitkide birçok fizyolojik ve biyokimyasal proseslere negatif etkilerinden dolayı olmuş olabilir. Yaptığımız biyokimyasal analizler de bu durumu desteklemektedir.

Yaptığımız çalışmada, moringa yapraklarının fotosentetik pigment miktarları BPA'nın her bir konsantrasyonunda değişim göstermiştir. Klorofil-a ve klorofil-b miktarları 1.5, 17.2 ve 50 mg/L'lik BPA derişimlerinde azalmıştır. Karotenoid miktarları 1.5 mg/L derişimde önemsiz artış göstermiştir. Bunun aksine, karotenoid miktarları 17.2 ve 50 mg/L'lik derişimlerde kontrole göre önemli düzeylerinde azalmalar göstermiştir. Fotosentezin temel fizyolojik fonksiyonu, bitki büyümesi ve gelişimi için gerekli olan maddeleri ve enerjiyi üretebilen organik maddeyi oluşturmak için CO₂'yi özümsemektir (Heldt ve Piechulla, 2011). Ayrıca fotosentez, primer reaksiyon, elektron nakli, fotofosforilasyon ve karbondioksit (CO₂) asimilasyonunu içeren karmaşık bir fizyolojik süreçtir. Bu nedenle, BPA'nın bitki fotosentezi üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmalar da son derece karmaşık olabilir. Ne yazık ki, BPA'nın fotosentez oranı üzerindeki etkilerinin altında yatan mekanizmalar hakkında kapsamlı ve sistematik bir araştırma azdır. Bu çalışmada, BPA'nın bitki fotosentezi üzerindeki etkilerinin altında yatan potansiyel mekanizmaları, özellikle bitki fotosentezini doğrudan etkileyen stomatal ve stomatal olmayan faktörlerin etkileri incelenmiştir. Bu amaca ulaşmak için soya fasulyesi fidesi yapraklarında stomatal faktörler ve stoma dışındaki faktörler incelenmiştir. Stomatal faktörler stomatal iletkenliği ve davranışları; stoma dışındaki faktörler Hill

reaksiyon aktivitesi, görünür kuantum verimi, ribuloz-1, 5-bisfosfat karboksilaz oksijenaz (Rubisco) aktivitesi, karboksilasyon verimliliği, maksimum Rubisco karboksilasyon hızı, ribuloz- Maksimum elektron taşıma oranları ve trioz fosfat kullanımı hızının aracılık ettiği 1,5-bifosfat rejenerasyon kapasitelerini içerir. Sonuçlar, BPA kirliliğinin potansiyel çevresel risklerini objektif olarak anlamak ve değerlendirmek için referans olarak kullanılabilir. Görünür bitki büyümesi mikroskopik düzeyde algılanmaz fizyolojik aktiviteye dayanmaktadır. Yakın zamandaki çalışmalar, farklı BPA dozlarının, fotosentezi düzenleyerek bitki büyümesi ve gelişimi üzerinde farklı etkiler yaptığını göstermiştir.Örneğin, BPA' nın klorofil sentezini ve flüoresan reaksiyonlarını kontrol ederek net fotosentez oranını düzenlediği ve böylece soya fasulyesi fide büyümesini etkilediği bulunmuştur (Jiao vd., 2015; Qiu vd., 2013).

Bitkiler toprak, hava ve su vasıtasıyla doğrudan BPA ile karşılaşabilirler (Staples vd., 2010; Zhang vd., 2015). Bitkiler BPA'yı absorbe edebilirler ve gilikoit formunda metabolize edebilirler (Hamada vd., 2002; Nakajima vd., 2004). Ancak bitkiler üzerinde BPA'nın toksik etkilerine ait çalışmalar sınırlıdır. Öncelikli çalışmalarının başlıcaları tohum çimlenmesi, vejetatif gelişim, üreme gelişimi ve bazı diğer işlemler üzerine BPA' nın etkilerine odaklanmıştır (Emmanuel vd., 2009; Alonso-Magdalena vd., 2010; Braun vd., 2011; Tiwari vd., 2012).

Bitkilerdeki biyolojik prosesler direkt veya indirekt olarak birbirleriyle alakalıdır. Fotosentetik proseslerde oluşan bu değişimler de birçok anabolik ve katabolik olayları da etkileyebilmektedir. Örneğin karbonhidrat metabolizması da bu olaylardan bir tanesidir. Literatürde toksisite etmenlerinin bitkilerin karbonhidrat içeriklerinde değişme neden olduğunu gösterir bir çok araştırma mevcuttur (Mohan ve Hosetti, 1997; Beltagi vd., 2002). Sonuçlarımıza göre, moringa fide kök ve gövde karbonhidrat miktarları BPA etkisinde artmıştır. Köklerin karbonhidrat miktarları 17.2 ve 50 mg/L önemli düzeyde artmış iken, gövdede ise bu artışlar önemsiz olmuştur. Yaprakların toplam karbonhidrat içeriği de 1.5 mg/L'lik derişimde önemsiz bir oranda artmıştır. Bunun aksine, 50 mg/L de ise azalma bulunmuştur.

Bitkilerin yapısındaki SH gruplarının başlıcaları sistein aminoasidi, GSH, fitokelatinler ve metallothioneinler sayılabilir. Biz bu çalışmamızda non-protein SH içerikleri (özellikle sistein ve GSH gibi) analiz edilmiştir. Buna göre, moringa kök gövde ve yapraklarının protein olmayan SH grup miktarları da BPA etkisinde değişim göstermiştir. Örneğin, kök ve gövdelerin SH grup miktarları BPA etkisinde önemsiz azalmalar göstermiş iken, yaprakların SH grup miktarları 17.2 mg/L'lik derişime kadar önemsiz düzeyde artmıştır. Ayrıca, 50 mg/L'de ise kontroldeki düzeye ulaştığı belirlenmiştir. literatürde stres faktörlerinin SH grup miktarlarında artışa neden olduğunu gösterir bir çok çalışma vardır (Öztürk vd., 2003; Upadhyay ve Panda, 2005).

Fenolik bileşikler birçok stres etmenine karşı yanıtta görevi olan maddelerdir (Ruiz ve Romero, 2001). Moringanın kök, gövde ve yaprak dokularının fenolik madde miktarları BPA etkisinde değişim göstermiştir. Bu değişimler köklerde önemli olmamıştır. Moringa gövdelerinin fenolik içeriğinde artışlar olmuştur. Yaprakların fenolik bileşikleri 17.2 mg/L'lik derişime kadar artmış, 50 mg/L'de ise azalmıştır. Fenolik madde miktarındaki artışların bitkinin toleranstaki rollerinden kaynaklanabilir. Bunun yanında fenolik bileşik miktarındaki azalmanın ise fenolik maddelerin peroksidazlar ve fenol oksidazlar ile parçalanmasından kaynaklanabilir (Thyapong vd., 1995). Bu enzimlerin birçok stres şartlarında artışlar gösterdiği bulunmuştur (Kwak vd., 1996; Ruiz vd., 1998). Yani bunların aktivitesindeki artma da şiddetli stres altında fenolik maddelerin miktarlarındaki azalmanın bir nedeni olabilir.

Önceki çalışmalar yüksek doz BPA'nın (>6,0 mg/L), bitkiler için gözlemlenebilir bir hasara neden olabileceğini ve aşırı bir şekilde ROT metabolik reaksiyonlarını tetikleyebileceğini, düşük doz BPA'nın ise (<3,0 mg/L) ROT metabolizmasında anomalilere neden olabileceğini ama bitkilerde fiziksel hasar ya da değişimlere yol açmadığını göstermiştir (Zhang vd., 2016).

Oksijenli solunum yapan organizmaların metabolik faaliyetleri neticesinde reaktif oksijen türleri (ROT) meydana gelmektedir. Bu reaktif O₂ türleri arasında H₂O₂ de bulunmaktadır. H₂O₂ bitkilerin kloroplastlarda Mehler tepkimesinde, mitokondride ETS sırasında, peroksizomlarda da fotorespirasyon sırasında oluşabilmektedir.

H₂O₂'nin başka bir üretimi de hücre zarlarında bulunan NADPH oksidaz gibi enzimatik yoldur (Slesak vd., 2007). Moringa organlarının H₂O₂ içerikleri artan BPA etkisinde artışlar göstermiştir. Özellikle artan BPA derişimi ile birlikte H₂O₂ miktarında artışların bulunmuş olması, bitki organlarının hücrelerinde BPA tarafından indüklenen oksidatif strese neden olduğunu açıkça göstermiştir.

Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu oksidatif stresin zararlardan makro moleküllere, DNA ve lipitlere kadar zarar verebildiği bilinmektedir (Fadzilla vd., 1997; Gueta-Dahan vd., 1997). Lipid peroksidasyonu birçok stres tarafından tetiklenen oksidatif hasarın bir indikatörü olduğu bilinmektedir. H₂O₂ miktarlarındaki artışa benzer olarak, moringa organlarının MDA içerikleri artan BPA derişimindeki artışla birlikte arttığı belirlenmiştir. Kontrollerine göre kök, gövde ve yapraktaki maksimum artışlar 50 mg/L'lik derişimde ve sırasıyla 18.37, 18.76 ve 21.54 kat düzeylerinde olmuştur. Zarların yapısında yaklaşık olarak yüzde kırk oranında lipitler bulunur ve bunlar da zarların bütünlük noktasında destek olurlar. Birçok stres faktörü de lipitlerin yapısında modifikasyona neden olmaktadır (Harwood ve Russel, 1984). Lipit peroksidasyonu terimi lipitlerin oksidatif olarak hasarlanmasını ifade etmektedir. Yaptığımız çalışmada BPA'nın moringa hücrelerindeki lipit peroksidasyonu düzeyinin MDA analizi yapılarak belirlendi. Bilindiği gibi MDA, lipit peroksidasyonun bir ürünü olarak oluşur ve oksidatif stresin bir indikatörü olarak kullanılmaktadır. Buna göre, gerek BPA etkisinde moringa hücrelerindeki hidrojen peroksit miktarlarındaki artış, gerekse MDA miktarlarındaki önemli düzeydeki artma, moringa bitkisinde BPA'nın oksidatif strese neden olduğunu açıkça göstermiştir.

Endokrin bozucu bir kimyasal olan BPA, önemli bir endüstriyel hammaddedir. BPA'nın yaygın kullanımı, çevreye salınımı, doğada dönüşümünün ve döngüsünün olmaması onun dünya çapında toksik bir madde olma riskini arttırmış ve onu çevresel bir kirlilik haline getirmiştir. Bu çalışmada ise, hidroponik olarak BPA'nın farklı derişimlerinin etkisinde yetiştirilen moringa fidelerindeki fizyolojik ve biyokimyasal değişimler belirlenmiştir. Düşük BPA derişimi moringanın büyüme ve gelişimi üzerinde olumlu etkiler göstermiş iken, yüksek derişimlerin ise toksik etkili olduğu ve oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

Endokrin sistem üzerinde önemli bozucu etkisi olduğu bilinen BPA'nın çevresel düzeyleri ile insan ve hayvanlar üzerindeki olumsuz etkileri ile kayda değeri sayıda çalışma bulunmaktadır. Sucul hayat ve sucul organizmalara etkileri ile de çalışmalar bulunmaktadır. Karasal hayat ve kara bitkileri ile yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. Ayrıca moringa bitkisine BPA'nın etkileri ile çalışmaya da rastlanılmamıştır. Bu bağlamda araştırma sonuçlarımız benzer çalışmalara da kaynak olabilir.



KAYNAKLAR

- Ahmad, M. B., Rauf, A., & Osman, S. M. (1989). Physio-chemical analysis of seven seed oils. *Journal of the Oil Technologists' Association of India*, **21**(3), 46-47.
- Alonso-Magdalena, P., Vieira, E., Soriano, S., Menes, L., Burks, D., Quesada, I., Nadal, A. (2010). Bisphenol A exposure during pregnancy disrupts glucose homeostasis in mothers and adult male off spring. *Environmental Health Perspectives*, **118**, 1243–1250.
- ANSES, (2011). Health Effects of Bisphenol a e Knowledge about the Uses of Bisphenol A.
- ANSES, (2013). Risk Assessment of Bisphenol a (BPA) on Human Health.
- Arnold, S. M., Clark, K. E., Staples, C. A., Klecka, G. M., Dimond, S. S., Caspers, N., vd. (2013). Relevance of drinking water as a source of human exposure to bisphenol A. *Journal of Exposure Science Environmental Epidemiology*, **23** (2), 137-144.
- Beltagı, M. S., Saleh, A. A. H., EL-Meleıgy, El-S. A. (2002). Effect of Cadmium and Paclobutrazol on Anabolic Capacities and Electrophoteric Protein Patterns in Peanut (*Arachis hypogaeae*) Plant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, **5**(2), 196-200.
- Bingzhi, Z., Zhenbin. W., Shuiping, C., Feng, H., Yafen, W., Yunni, G. (2007). Primary Study on Phytodegradation of Bisphenol A by *Elodea nuttallii*. *Wuhan university journal of natural sciences*, **12**, 1118-1124.
- Booth, F. E. M., Wickens, G. E. (1988). Non-timber uses of selected arid zone trees and shrubs in Africa. FAO Conservation Guide 19, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rom.

- Braun, J. M., Kalkbrenner, A. E., Calafat, A. M., Kimberly, Y., Xiaoyun, Y., Dietrich, K. N., Lanphear, B. P. (2011). Impact of early-life bisphenol A exposure on behavior and executive function in children. *Pediatrics*, **128**, 873–882.
- Calafat, A. M., Kuklenyik, Z., Reidy, J. A., Caudill, S. P., Ekong, J., Needham, L. L. (2005). Urinary concentrations of bisphenol A and 4-nonylphenol in a human reference population. *Environmental Health Perspectives*, **113**, 391-395.
- Calafat, A. M., Ye, X., Wong, L. Y., Reidy, J. A., Needham, L. L. (2008). Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiaryoctylphenol: 2003-2004. *Environmental Health Perspectives*, **116**, 39-44.
- Carwile, J. L., & Michels, K. B. (2011). Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003–2006. *Environmental research*, **111**(6), 825-830.
- Champion, H. G. (1936). A preliminary survey of forest types of India and Burma. *Indian Forestry Record (NS) Silviculture*, **1**(1).
- Chen F, Ying GG, Kong LX, Wang L, Zhao JL, Zhou LJ, and Zhang LJ. (2011). Distribution and accumulation of endocrine-disrupting chemicals and pharmaceuticals in wastewater irrigated soils in Hebei, China. *Environ Pollut* **159**, 1490-1498
- Chevalier, N., Fenichel, P. (2015). Bisphenol A: targeting metabolic tissues. *Reviews Endocrine Metabolic Disorders*, **16** (4), 299-309.
- Chopra, R. N., & Nayar, S. L. (1956). *Glossary of Indian medicinal plants*. Council of Scientific And Industrial Research; New Delhi.
- Commission, E. (2008). Updated European risk assessment report 4,4'-Isopropylidenediphenol (bisphenol A). (<http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/bitstream/JRC59980/lbna24588enn.pdf>) (Accessed 10 November 2004).
- Corrales, J., Kristofco, L. A., Steele, W. B., Yates, B. S., Breed, C. S., Williams, E. S., Brooks, B. W. (2015). Global Assessment of Bisphenol A in the

Environment: Review and Analysis of Its Occurrence and Bioaccumulation.
Dose-Response: An International Journal, **13**(3)

Cousins, I. T., Staples, C. A., Klecka, G. M., Mackay, D. (2002). A multimedia assessment of the environmental fate of bisphenol A. *Human and Ecological Risk Assessment*, **8**, 1107-1135.

Crain, D. A., Eriksen, M., Iguchi, T., Jobling, S., Laufer, H., LeBlanc, G. A., Guillette Jr, L. J. (2007). An ecological assessment of bisphenol-A: evidence from comparative biology. *Reproductive Toxicology*, **24**, 225–239.

Dahot, M. U. (1988). Vitamin contents of the flowers and seeds of *Moringa oleifera*. *Pakistan Journal of Biochemistry*.

Damstra, T., Barlow, S., Bergman, A., Kavlock, R., & Van Der Kraak, G. (2002). Global assessment of the state-of-the-science of endocrine disruptors. *Geneva: World Health Organization*, 11-32.

Delaveau, P., & Boiteau, P. (1980). Oils of pharmacological, cosmetological and dietetic interest. IV. Oils of *Moringa oleifera* and *M. drouhardii*. *Plantes médicinales et phytothérapie*, **14**(1), 29-33.

Dianin, A. (1891). In Russian: On condensation products of ketones with phenols. *Journal Russian Physical Chemistry*, **23**, 488-517.

Dodds, E. C., Lawson, W. (1936). Synthetic oestrogenic agents without the Phenanthrene agents. *Nature*, **137**(3476), 996.

Dogan, M., Korkunc, M., Yumrutas, O. (2012). Effects of bisphenol A and tetrabromobisphenol A on bread and durum wheat varieties. *Ekoloji*, **21**, 114–122.

Dogan, M., Yumrutas, Ö., Saygideger, S. D., Korkunc, M., Gulnaz, O., Sokmen, A. (2010). Effects of Bisphenol A and Tetrabromobisphenol A on Chickpea Roots in Germination Stage. *American-Eurasian Journal Agric and Environmental Sciences*, **9**(2), 186-192.

- Dorn, P. B., Chou, C. S., Gentempo, J. J. (1987). Degradation of bisphenol A in natural waters. *Chemosphere*, **16**, 1501-1507.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, **28**, 350.
- EFSA Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing Aids (CEF). (2015). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*, **13**(1), 3978.
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulphydryl groups. *Archives Biochemistry and Biophysics*, **82**, 70-77.
- Emmanuel, S., Schwitzgebel, V. M., Audrey, T., Cederroth, C.R., Christophe, C., Serge, N., Aubert, M. L., Hüppi, P. S. (2009). Perinatal exposure to bisphenol A alters early adipogenesis in the rat. *Environmental Health Perspectives*, **117**, 1549–1555.
- Fadzilla, N. M., Robert, P., Finch R. P., Burdon, R. H. (1997). Salinity, Oxidative Stress and Antioxidant Response in Shoot Cultures of Rice. *Journal of Experimental Botany*, **48**(2), 325-331.
- Fent, G., Hein, W. J., Moendel, M. J., & Kubiak, R. (2003). Fate of ¹⁴C-bisphenol A in soils. *Chemosphere*, **51**(8), 735-746.
- Ferrara, G., Loffredo, E., Senesi, N. (2006). Effects of bisphenol A on the microtubule arrays in root meristematic cells of *Pisum sativum* L. *Plant*, **223**, 910–916.
- 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.
- Flint, S., Markle, T., Thompson, S., Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *Journal of Environmental Management*, **104**, 19–34.

- Francis, J. K., Liogier, H. A. (1991). Naturalized exotic tree species in Puerto Rico. Gen. Tech. Rep. SO-82. New Orleans, LA: US Dept of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 12 p.,82.
- Fromme, H., Kuchler, T., Otto, T., Pilz, K., Muller, J., Wenzel, A. (2002). Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Research*, **36**, 1429-1438.
- Fu, P., Kawamura, K. (2010). Ubiquity of bisphenol A in the atmosphere. *Environmental Pollution*, **158**, 3138-3143.
- Geens, T., Goeyens, L., Covaci, A. (2011). Are potential sources for human exposure to bisphenol-A overlooked? *International Journal Hygiene Environmental Health*, **214**, 339–347.
- Geens, T., Roosens, L., Neels, H., Covac, i. A. (2009). Assessment of human exposure to bisphenol A, triclosan and tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. *Chemosphere*, **76**, 755-760.
- Gies, A., Soto, A. (2012). Bisphenol A: contested science, divergent safety evaluations. In: Gee, D. (Ed.), Late Lessons from Early Warnings: Science, Precaution, Innovation. European Environment Agency, Luxembourg, pp. 247–271.
- Gong, J., Ran, Y., Chen, D. Y., & Yang, Y. (2011). Occurrence of endocrine-disrupting chemicals in riverine sediments from the Pearl River Delta, China. *Marine pollution bulletin*, **63**(5-12), 556-563.
- Goodson, A., Summerfield, W., Cooper, I. (2002). Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. *Food Additives Contaminants*, **19**, 796–802.
- Gueta-Dahan, Y., Yaniv, Z., Zilinskas, A., Ben-Hayyim, G. (1997). Salt and Oxidative Stress: Similar and Specific Effects Responses and Their Relation to Salt Tolerance in *Citrus. Planta*, **203**, 460-469.

- Gupta, K., Barat, G. K., Wagle, D. S., & Chawla, H. K. L. (1989). Nutrient contents and antinutritional factors in conventional and non-conventional leafy vegetables. *Food Chemistry*, **31**(2), 105-116.
- Hamada, H., Tomi, R., Asada, Y., Furuya, T. (2002). Phytoremediation of bisphenol A by cultured suspension cells of *Eucalyptus perriniana*- regioselective hydroxylation and glycosylation. *Tetrahedron Letters*, **43**, 4087–4089.
- 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 Environmental Contamination and Toxicology*, **43**, 50-55.
- Heldt, H.W., Piechulla, B. (2011). The use of energy from sunlight by photosynthesis is the basis of life on earth. In: Heldt, H.W., Piechulla, B. (Eds.), *Plant Biochemistry*, 4th ed. Londres: Elsevier, London, pp. 43–64.
- Hewitt, S., Hillman, J. R., Knights, B. A. (1980). Steroidal oestrogens and plant growth and development. *New Phytologist*, **85**, 329–350.
- Hormann, A. M., Vom Saal, F. S., Nagel, S. C., Stahlhut, R. W., Moyer, C. L., Ellersieck, M. R., ... & Taylor, J. A. (2014). Holding thermal receipt paper and eating food after using hand sanitizer results in high serum bioactive and urine total levels of bisphenol A (BPA). *PloS one*, **9**(10), e110509.
- Howdeshell, K. L., Peterman, P. H., Judy, B. M., Taylor, J. A., Orazio, C. E., Ruhlen, R. L., vom Saal, F. S., Welshons, W. V. (2003). Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environmental Health Perspectives*, **111**, 1180-1187.
- Huang, H., Tan, W.J., Wang, C.C., Leunga, L.K. (2012). Bisphenol A induces corticotropin- releasing hormone expression in the placental cells JEG-3. *Reprod. Toxicology*, **34**, 317–322.
- Huang, Y., Wong, C., Zheng, J., Bouwman, H., Barra, R., Wahlström, B., Neretin, L., Wong, M. (2012). Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources,

- environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*, **42**, 91–99.
- Jahn, S. A., Musnad, H. A., Burgstaller, H. (1986). The tree that purifies water: cultivating multipurpose Moringaceae in the Sudan. *Unasylva*, **38**, 2, 23–28.
- Jandegian, C. M., Deem, S. L., Bhandari, R. K., Holliday, C. M., Nicks, D., Rosenfeld, C. S., Selcer, K. W., Tillitt, D. E., Vom Saal, F. S., Vélez-Rivera, V.(2015). Developmental exposure to bisphenol A (BPA) alters sexual differentiation in painted turtles (*Chrysemys picta*). *General Comparative Endocrinology*, **216**, 77–85.
- Jiao, L., Wang, L., Zhou, Q., Huang, X. (2017). Stomatal and non-stomatal factors regulated the photosynthesis of soybean seedlings in the present of exogenous bisphenol A. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **145**, 150–160.
- Jiao, L., Ding, H., Wang, L., Zhou, Q., Huang, X. (2017). Bisphenol A effects on the chlorophyll contents in soybean at different growth stages. *Environmental Pollution*, **223**, 426-434
- Jiao, L., Wang, L., Qiu, Z., Wang, Q., Zhou, Q., Huang, X. (2015). Effects of bisphenol A on chlorophyll synthesis in soybean seedlings. *Environmental Science Pollution Research International*, **22**, 5877–5886.
- Jones, J. L., Roddick, J. G. (1988). Steroidal estrogens and androgens in relation to reproductive development in higher plants. *Journal Plant Physiology*, **133**, 510–51.
- Jyothi, P. V., Atlura, J. B., Reddi, C. S. (1990). Pollination ecology of *Moringa oleifera* (Moringaceae). *Proc. Indian Academy of Sciences, Plant Sciences*, **100**, 1, 33–42.
- Kang J. H, Kito K., Kondo F. (2003). Factors influencing the migration of bisphenol A from cans. *Journal of Food Protection*, **66**, 1444-1447.
- Khan, F. W., Gul, P., & Malik, M. N. (1975). Chemical composition of oil from *Moringa oleifera*. *Pakistan Journal of Forestry*, **25**(2), 100-102.

- Klecka, G. M., Staples, C. A., Clark, K. E., Hoeven, N., Thomas, D. E., Hentges, S. G. (2009). Exposure analysis of bisphenol A in surface water systems in North America and Europe. *Environmental Science Technology*, **43**, 6145-6150.
- Kolpin, D. W., Furlong, E. T., Meyer, M. T., Thurman, E. M., Zaugg, S. D., Barber, L. B., Buxton, H. T. (2002). Pharmaceuticals, hormones, and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999-2000: A national reconnaissance. *Environmental Science and Technology*, **36**, 1202-1211.
- Kwak, S. S., Kim, S. K., Park, I. J., Lui, J. R. (1996). Enhancement of Peroxidase Activity by Stress Related Chemicals in Sweet Potato. *Phytochemistry*, **43**, 565- 568.
- Lahjie, A. M.; Siebert, B. (1987). Kelor or horse radish tree (*Moringa oleifera* Lam.). A report from East Kalimantan. German Forestry Group, Mulawarman Universty GFG report. **6**, 41–43.
- Langdon, K. A., Warne, M. S. J., Smernik, R. J., Shareef, A., & Kookana, R. S. (2012). Field dissipation of 4-nonylphenol, 4-t-octylphenol, triclosan and bisphenol A following land application of biosolids. *Chemosphere*, 86(10), 1050-1058.
- Legeay, S., Faure, S. (2017). Is Bisphenol A an environmental obesogen? *Fundamental Clinical Pharmacology*, **31**, 594–609.
- Leusch, F. D., Chapman, H. F., van den Heuvel M. R., Tan, B. L., Gooneratne, S. R., Tremblay, L. A. (2006). Bioassay-derived androgenic and estrogenic activity in municipal sewage in Australia and New Zealand. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **65**, 403-41.
- Li, X., Wang, L., Shen, F., Zhou, Q., Huang, X. (2018). Impacts of exogenous pollutant bisphenol A on characteristics of soybeans. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **157**, 463–471.

- Lichtenthaler, H. K., Wellburn, A. R. (1985). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, **11**, 591-592.
- Little, E. L. Jr., Wadsworth, F. H. (1964). Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. *Agricultural Handbook No.* 249.
- Mabberley, D. J. (1997). The Plant Book. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 467.
- Markman, S., Guschina, I. A., Barnsley, S., Buchanan, K. L., Pascoe, D., & Müller, C. T. (2007). Endocrine disrupting chemicals accumulate in earthworms exposed to sewage effluent. *Chemosphere*, **70**(1), 119-125.
- Martin, N., & Maes, H. (1979). *Multivariate analysis*. Academic press.
- Meesters, R. J., & Schröder, H. F. (2002). Simultaneous determination of 4-nonylphenol and bisphenol A in sewage sludge. *Analytical Chemistry*, **74**(14), 3566-3574.
- Michałowicz, J. (2014). Bisphenol A sources, toxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **37** (2), 738-758.
- Mohan, B. S., Hosetti, B. B. (1997). Potential Phytotoxicity of Lead and Cadmium to *Lemna minor* Grown in Sewage Stabilization Ponds. *Environmental Pollution*, **9**, 233-238.
- Morton, J. F. (1991). The horseradish tree, *Moringa pterygosperma* (Moringaceae) – a boon to arid lands? *Economic Botany*, **45**, 3, 318–333.
- Munyanziza, E., Sarwatt, S. V. (2003). The evaluation of *Moringa oleifera* for food security and environmental rehabilitation in Tanzanian rural areas. *Journal of Tropical Forest Science*, **15**, 3, 450–456.
- Musolff, A., Leschik, S., Reinstorf, F., Strauch, G., Schirmer, M. (2010). Micropollutant loads in the urban water cycle. *Environmental Science and Technology*, **44**, 4877-4883.

- Nakajima, N., Oshima, Y., Edmonds, J. S., Morita, M. (2004). Glycosylation of bisphenol A by tobacco BY-2 cells. *Phytochemistry*, **65**, 1383–1387.
- Nakajima, N., Oshima, Y., Serizawa, S., Kouda, T., Edmonds, J. S., Shiraishi, F., Aono, M., Kubo, A., Tamaoki, M., Saji, H., 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 Cell Physiology*, **43**, 1036–1042.
- Nasir, E., Ali, S. I. (eds.). (1972). Flora of West Pakistan: An Annotated Catalogue of the Vascular Plants of West Pakistan and Kashmir. Fakhri Printing Press, Karachi, No. 76-115.
- Nautiyal, B. P., Venhataraman, K. G. (1987). Moringa (Drumstick) – an ideal tree for social forestry. *Myforest*, **23**, 1, 53–58.
- Negi, S. S. (1977). Fodder trees of Himachel Pradesh. *Indian Forester*, **103**, 9, 616–622.
- Nichols, J. W., Du, B., Berninger, J. P., Connors, K. A., Chambliss, C. K., Erickson, R., Hoffman, A., Brooks, B. W. (2015). Observed and modeled effects of pH on bioconcentration of diphenhydramine, a weakly basic pharmaceutical, in fathead minnows. *Environmental Toxicology and Chemistry*, **34**, 1425-1435.
- Olea, N., Pulgar, R., Páez, P., Olea-Serrano, F., Rivas, A., Novillo-Fertrell, A., Pedraza, V., Soto, A. M., Sonnenschein, C. (1996). Estrogenicity of Resin-based Composites and Sealants Used in Dentistry. *Environmental Health Perspectives*, **104**, 298-305.
- Ozturk, L., Eker, S., Ozkutlu, F., Cakmak, I. (2003). Effect of Cadmium on Growth and Concentrations of Cadmium, Ascorbic Acid and Sulphydryl Groups in Durum Wheat Cultivars. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, **27**, 161-168.
- Palanisamy, V., Kumaresan, K. V. (1985). Studies on seed development and maturation in annual Moringa. *Vegetable Science*, **12**, 2, 74–78.

- Pan, W., Xiong, Wu. Q., Liu, J., Liao, H., Chen, W., Liu, Y., Zheng, L. (2013). Effect of BPA on the germination, root development, seedling growth and leaf differentiation under different light conditions in *Arabidopsis thaliana*. *Chemosphere*, **93**, 2585–2592.
- Parrotta, J. A. (1993): *Moringa oleifera* Lam. Reseda, horseradish tree. Res. Note SO-ITF-SM-61, South. For. Res. Sta. For. Serv. U. S. Dep. Agric. New Orleans, LA, USA.
- Parrotta, J. A. (2001). Healing Plants of Peninsular India, CABI Publishing, Wallingford, U. K and New York, N. Y, USA.
- Qiu, Z., Wang, L., Zhou, Q. (2013). Effects of bisphenol A on growth, photosynthesis and chlorophyll fluorescence in above-ground organs of soybean seedlings. *Chemosphere*, **90**, 1274–1280.
- Rahman, M. S., Kwon, W. S., Lee, J. S., Yoon, S. J., R yu, B. Y., Pang, M. G. (2015). Bisphenol A affects male fertility via fertility related proteins in spermatozoa. *Scienetic Report*, **5**, 9169.
- Rama Devi, S., Prasad, M. N. V. (2004). Membrane Lipid alterations in Heavy Metal Exposed Plant. In: Prasad, M. N. V. and Hagemeyer, J. (Eds.) Heavy Metal Stres in Plants, From Molecules to Ecosystems. *Springer-Verlag, Berlin*, 99-116.
- Ramachandran, C., Peter, K. V., Gopalakrishnan, P. K. (1980). Drumstick (*Moringa oleifera*) a multipurpose Indian vegetable. *Economic Bototany*, **34**, 3, 276–283.
- Rapała, M., Pluciński. B., Jedynak. P. (2017). The effect of bisphenol A on growth, pigment composition and photosystem II activity of *Arabidopsis thaliana*. *Acta Biochim Polonica*, **.64(3)**, 407-413.
- Ratkevicius, N., Correa, J. A., Moenne, A. (2003). Departamento de Biología, Facultad de Química y Biología. Universidad de Santiago de Chile, casilla 40 correo 33, Santiago, hile and Departamento de Ecología & Center for Advanced Studies in Ecology and Biodiversity, Facultad de Ciencias

Biológicas, Pontificia Universidad Católica de Chile, casilla 114-D, Santiago, Chile, **26**(10), 1599-1608.

Rogers, J. A., Metz, L., Yong, V.W. (2013). Review: endocrine disrupting chemicals and immune responses: a focus on bisphenol-A and its potential mechanisms. *Molecular Immunology*, **53**, 421–430.

Roloff, A., Weisgerber, H., Lang, U., & Stimm, B. (2009). *Moringa oleifera* LAM., 1785. *Sea*, **10**(10).

Rudel, R. A., Gray, J. M., Engel, C. L., Rawsthorne, T. W., Dodson, R. E., Ackerman, J. M., ... & Brody, J. G. (2011). Food packaging and bisphenol A and bis (2-ethyhexyl) phthalate exposure: findings from a dietary intervention. *Environmental health perspectives*, **119**(7), 914.

Ruiz, J.M., Blumwald, E. (2002). Salinity-Induced Glutathione Synthesis in *Brassica napus* Planta, **214**, 965-969.

Ruiz, J.M., Romero, L. (2001). Bioactivity of the Phenolic Compounds in Higher Plants. In: Rahman A. (ed.), Studies in Natural Products Chemistry. *Elsevier Science pp*, **25**, 651-681.

Schmidt, B., Schuphan, I. (2002). Metabolism of the environmental estrogen bisphenol A by plant cell suspension cultures. *Chemosphere*, **49**, 51–59.

Sergieff L., Alexieva E., Karanov E., (1997). Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and markers in plants. *Comptes Rendus Academie Bulgare des Sciences*, **51**, 121-124.

Sharma, G. K., Raina, V. (1982). Propagation techniques of *Moringa oleifera* Lam. In: *Improvement of Forest Biomass, Indian Society of Tree Scientists, Solan, HP, India*, **175**–181.

Shore, L. S., Kapulnik, Y., Ben-Dor, B., Fridman, Y., Wininger, S., Shemesh, M. (1992). Effects of estrone and 17 β -estradiol on vegetative growth of *Medicago sativa*. *Physiologia Plantarum*, **84**, 217–222.

- Singh, S. P., Azua, A., Chaudhary, A., Khan, S., Willett, K.L., Gardinali, P. R. (2010). Occurrence and distribution of steroids, hormones and selected pharmaceuticals in South Florida coastal environments. *Ecotoxicology*, **19**(2), 338-350.
- Slesak, I., Libik, M., Karpinska, B., Karpinski, S., Miszalski, Z. (2007). The role of hydrogen peroxide in regulation of plant metabolism and cellular signalling in response to environmental stresses. *Acta Biochimica Polonica*, **54**, 39–50.
- Speranza, A., Crosti, P., Malerba, M., Stocchi, O., Scoccianti, V. (2011). The environmental endocrine disruptor, bisphenol A, affects germination, elicits stress response and alters steroid hormone production in kiwifruit pollen. *Plant Biology*, **13**, 209–217.
- Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G. M., Oblock, S. T., Harris, L. R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, **36**, 2149-2173.
- Staples, C., Friederich, U., Hall, T., Klečka, G., Mihaich, E., Ortego, L., Caspers, N., Hentges, S. (2010). Estimating potential risk of terrestrial vertebrate and plants exposed to bisphenol A in soil amended with activated sludge biosolids. *Environmental Toxicology Chemistry*, **29**, 467–475.
- Sun, H., Wang, L. H., Zhou, Q., Huang, X. H. (2013). Effects of bisphenol A on ammonium assimilation in soybean roots. *Plant Biology*, **20**, 8484–8490.
- Suthanthirapandian, I. R., Sambandamurthy, S., Irulappan, I. (1989). Variations in seedling populations of annual moringa (*Moringa pterygosperma* Gaertn.). *South Indian Horticulture*, **37**, 5, 301–302.
- Szolnoki, T. W. (1985). Food and fruit trees of The Gambia. *Food and fruit trees of The Gambia*.
- Teófilo, E. M., Freitas, J. B. S. Vd. (2003). Tipos de embalagens, ambiente tempo de armazenamento e qualidade fisiológica das sementes de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Moringaceae. *Revista Científica Rural*, **8**, 1, 115–122.

- Terouchi, N., Takano, K., Nakamura, Y., Enomoto, K., Hosoya, N., Nishinari, N. (2004). Bisphenol A stimulates growth and shoot differentiation in plants. *Plant Biotechnology*, **21**, 307–308.
- Teuten, E. L., Saquing, J. M., Knappe, D. R. U., Barlaz, M. A., Jonsson, S., Rowland, S. J., Thompson, R. C., Galloway, TS., Yamashita, R., Ochi, D., Watanuki, Y., Moore, C., Viet, P. H., Tana, T. S., Prudente, M., Boonyatumanond, R., Zakaria, MP., Akkhavong, K., Ogata, Y., Hirai, H., Iwasa, S., Mizukawa, K., Hagino, Y., Imamura, A., Saha, M., Takada, H. (2009). Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife. *Philosophical Transactionsof the Royal Society, B* **364**, 2027-2045.
- Thyapong, P., Hunt, M. D., Steffens, J. C. (1995). Systemic Wound Induction of Potato (*Solanum tuberosum*) Polyphenol Oxidase. *Phytochemistry*, **40**, 673-67.
- Tiwari, D., Kamble, J., Chilgunde, S., Patil, P., Maru, G., Kawle, D., Bhartiya, U., Joseph, L., Vanage, G. (2012). Clastogenic and mutagenic effects of bisphenol A: an endocrine disruptor. *Mutatation Research*, **743**, 83–90.
- Troup, R. S. (1921). The Silviculture of Indian Trees. (Vol. 1). Clarendon Press, Oxford, UK.
- Tsai WT. (2006). Human Health Risk on Environmental Exposure to Bisphenol-A: A Review. *Journal of Environmental Science end Health*, **24**, 225-255.
- Upadhyay, R. K., Panda, S. K. (2005). Salt Tolerance of Two Aquatic Macrophytes, *Pistia stratiotes* and *Salvinia molesta*. *Biologia Plantarum*, **49**, 157-159.
- Valenti, T. V., Gould, G. G., Berninger, J. P., Connors, K. A., Keele, N. B., Prosser, K. N., Brooks, B. W. (2012). Human therapeutic plasma levels of the selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) sertraline decrease serotonin reuptake transporter binding and shelter seeking behavior in adult male fathead minnows. *Environ Science& Technology*, **46**, 2427-2435.

- Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, **24**, 139-177.
- Verma, S. C. (1973). Studies on the factors affecting seed germination of Moringa. *Plant Science*, **5**, 64–70.
- Vivien, J. (1990). Wild fruit trees of Cameroon. *Fruits* (Paris), **45**, 2, 149–160.
- Vieceli, N., Lovatel, E., Cardoso, E. (2011). Study of bisphenol A in sanitary landfill soil. *WIT Trans. Ecology Environmental*, **154**, 225–231.
- Vom Saal, F. S., & Welshons, W. V. (2014). Evidence that bisphenol A (BPA) can be accurately measured without contamination in human serum and urine, and that BPA causes numerous hazards from multiple routes of exposure. *Molecular and cellular endocrinology*, **398**(1-2), 101-113.
- Von Goetz, N., Wormuth, M., Scheringer, M., Hungerbühler, K. (2010). Bisphenol A: How the most relevant exposure sources contribute to total consumer exposure. *Risk Analysis*, **30**, 473-487.
- Wang, S., Wang, L., Hua, W., Zhou, M., Wang, Q., Zhou, Q., Huang, X. (2015). Effects of bisphenol A, an environmental endocrine disruptor on the endogenous hormones of plants. *Environmental Sciences Pollution Research*, **22**, 17653–17662.
- Wong, E.W., Cheng, C. Y. (2011). Impacts of environmental toxicants on male reproductive dysfunction. *Trends in pharmacological sciences*, **32**, 290–299.
- Xia, B., Wang, L., Nie, L., Zhou, Q, Huang, X. (2017). A pathway of bisphenol A affecting mineral element contents in plant roots at different grow. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **135**, 115–122.
- Yamamoto, T., Yasuhara, A., Shiraishi, H., Nakasugi, O. (2001). Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. *Chemosphere*, **42**, 415–418.

- Yang, K., Liu, Z., Mao, M., Zhang, X., Zhao, C., & Nishi, N. (2005). Molecularly imprinted polyethersulfone microspheres for the binding and recognition of bisphenol A. *Analytica chimica acta*, **546**(1), 30-36.
- Ye, X., Wong, L. Y., Bishop, A. M., & Calafat, A. M. (2011). Variability of urinary concentrations of bisphenol A in spot samples, first morning voids, and 24-hour collections. *Environmental health perspectives*, **119**(7), 983.
- Zeng, G., Zhang, C., Huang, G., Yu, J., Wang, Q., Li, J., ... & Liu, H. (2006). Adsorption behavior of bisphenol A on sediments in Xiangjiang River, Central-south China. *Chemosphere*, **65**(9), 1490-1499.
- Zhang, J., Li, X., Zhou, L., Wang, L., Zhou, Q., Huang, X. (2016). Analysis of effects of a new environmental pollutant, bisphenol A, on antioxidant systems in soybean roots at different growth stages. *Scientific Reports*, **6**, 23782.
- Zhang, J., Wang, L., Li, M., Jiao, L., Zhou, Q., Huang, X. (2015). Effects of bisphenol A on chlorophyll fluorescence in five plants. *Environmental Science Pollution Research International*, **22**, 17724–17732.
- Zhang, J., Wang, L., Zhou, Q., Huang, Q. (2018). Reactive oxygen species initiate a protective response in plant roots to stress induced by environmental bisphenol A. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **154**, 197–205.
- Zhou, Y., Morais-Cabral, J. H., Kaufman, A., MacKinnon, R. (2001). Chemistry of coordination and hydration revealed by a K⁺ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution. *Nature*, **414**, 43-48.