



**SODYUM DODESİL SÜLFATIN ARPA BİTKİSİNİN
GELİŞİMİ ÜZERİNDE NEDEN OLDUĞU
FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER**

Osman EREN

**Yüksek Lisans Tezi
Kimya Ana Bilim Dalı
Doç.Dr. Mucip GENİŞEL
AĞRI-2017
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.
AĞRI İBRAHİM ÇEÇEN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Osman EREN

**SODYUM DODESİL SÜLFATIN ARPA BİTKİSİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNDE
NEDEN OLDUĞU FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Doç. Dr. Mucip GENİŞEL

AĞRI-2017

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum Sodyum Dodesil Sülfat'ın Arpa Bitkisinin Gelişimi Üzerinde Neden Olduğu Fizyolojik ve Biyokimyasal Değişimler adlı tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullarda saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim-Öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

☐

Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

☐

Tezim sadece Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.

☒

Tezimin 3 yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

Osman EREN

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Doç. Dr. Mucip GENİŞEL danışmanlığında, Osman EREN tarafından hazırlanan bu çalışma/...../..... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

İmza:

Jüri Üyesi :

İmza:

Jüri Üyesi :

İmza:

Yukarıdaki imzalar adı geçen öğretim üyelerine ait olup;

Enstitü Yönetim Kurulunun .../.../201.. tarih ve / nolu kararı ile onaylanmıştır.

.... /...../.....

Doç. Dr. İbrahim HAN

Enstitü Müdürü

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SODYUM DODESİL SÜLFATIN ARPA BİTKİSİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNDE NEDEN OLDUĞU FİZYOLOJİK VE BİYOKİMYASAL DEĞİŞİMLER

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mucip GENİŞEL

2017, 86 sayfa

Jüri: Prof. Dr. Rahmi DURLUPINAR

Doç. Dr. Mucip GENİŞEL

Doç. Dr. Murat ŞENTÜRK

Sodyum dodesil sülfat (SDS) deterjan ve temizlik ürünlerinin en önemli bileşenidir. Temizlik maddelerinin kullanım sıklığı ile evsel ve endüstriyel atılım yolu dikkate alındığında SDS'nin akarsulara, yeraltı sularına ve sonunda tarımsal alanlara bulaşmaması olanaksız gözükmemektedir. Bu araştırmada SDS tarafından arpa (*Hordeum vulgare* L) bitki metabolizmasında indüklenen fizyolojik ve biyokimyasal değişimler araştırılmıştır. Bu amaçla arpa fideleri 9 gün süre ile hidroponik sistemlerde ve optimal şartlar altında yetiştirildikten sonra yetiştirme ortamlarına ön çalışmalarla belirlenen beş farklı dozda (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mM) SDS ilavesi yapıldı. SDS uygulamasından 72 saat sonra fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimlerin belirlenmesi için bitkiler hasat edildi. Kök- gövde uzunluğunun kontrol fidelerine göre SDS uygulamalarıyla ciddi derecede inhibisyona uğradığı belirlendi. Aynı zamanda SDS'nin etkisiyle arpa yapraklarının çözülebilir protein miktarı ve klorofil *a*., klorofil *b*, toplam klorofil içeriği ile karotenoid miktarının azaldığı belirlendi. Ayrıca protein sentezi üzerinde SDS'nin olumsuz etkileri elektroforetik yol ile belirlenen protein profilinde de açıkça görüldü. Diğer taraftan SDS uygulamasının antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz, katalaz, askorbat peroksidaz ve glutatyon reduktaz aktivitesinde düşüşe, peroksidaz aktivitesinde ise artışa neden olduğu tespit edildi. Ayrıca reaktif oksijen türlerinden süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumunun SDS'nin etkisiyle tetiklendiği belirlendi. Bunların doğal bir sonucu olarak hücre zararı hasarının indikatörü olan lipid peroksidasyon düzeyinin SDS uygulamaları ile ciddi derecede artış gösterdiği tespit edildi. Sonuç olarak araştırma bulgularımız SDS'nin arpa bitkisinin büyüme, bazı biyokimyasal sentez olayları ve antioksidan savunma mekanizmaları üzerinde olumsuz etkiler gösterdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Bundan dolayı araştırma sonuçlarımız ışığında, bu bileşiğin tarımsal alanlara salıverilmemesi için daha sıkı önlemler alınmasının, bitkilerin sağlıklı gelişimi ve ekolojik dengenin korunması açısından bir zorunluluk olduğunu düşünmekteyiz.

2017, 86 sayfa

Anahtar sözcükler: antioksidan enzimler, arpa, fotosentetik pigment içeriği hücre zarı hasarı, protein profili, reaktif oksijen türleri, sodyum dodesil sülfat

ABSTRACT
Msc Thesis

**SODIUM DODECYL SULPHATE INDUCED PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL
CHANGES ON THE DEVELOPMENT OF BARLEY SEEDLINGS**

Thesis advisor: Assoc. Prof. Mucip GENİŞEL

2017, 86 pages

Jury: Prof. Rahmi DURLUPINAR

Assoc. Prof. Mucip GENİŞEL

Assoc. Prof. Murat ŞENTÜRK

Sodium dodecyl sulphate (SDS) is the most important component of detergent and cleaning products. When considered usage frequency of cleaning matters and the excretion shape of domestic and industrial wastes, it is impossible that sodium dodecyl sulphate does not contaminate to rivers, ground waters and finally to agricultural areas. In this study, it was investigated SDS-induced physiological and biochemical changes on barley (*Hordeum vulgare* L) plant metabolism. For this purpose, barley seedlings were cultivated for 9 days at optimal conditions in hydroponical systems and then SDS at five different concentrations (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mM) determined by preliminary studies was added to their growing media. After 72 hours from SDS application, barley seedlings were harvested for determination of changes at physiological and biochemical parameters. It was determined that root- shoot lengths were seriously reduced in SDS applications compared to control seedlings. Also, SDS decreased soluble protein amounts and chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll content, and carotenoid levels of barley leaves. By the way, it was clearly observed the negative effects of SDS on protein synthesis in protein profiles determined by electrophoretic method. On the other hand, SDS applications decreased the activities of antioxidant enzymes including superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase, and increase the peroxidase activities. Besides, formation of reactive oxygen species including superoxide anion and hydrogen peroxide was induced by SDS. As a natural consequence of these, SDS applications severely increased the levels of lipid peroxidation, indicator of cell membrane damage.

In conclusion, our research findings clearly revealed that SDS has negative effects on growth, some biochemical synthesis and antioxidant defence mechanisms at barley. Therefore we also think that taking precaution for avoid contamination of agricultural areas by this compound is essential in terms of healthy plant growth and protection of ecological balance.

2017, 86 pages

Key Words: antioxidant enzymes, barley, cell membrane damage, photosynthetic pigment contents, protein profile, reactive oxygen species, sodium dodecyl sulfate

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlanan bu araştırma, Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Bu araştırma MYO.17.003 nolu Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak desteklenmiştir.

Çalışma konumun belirlenmesinden son aşamasına kadar benden desteğini esirgemeyen, her konuda yardımcı olan, çalışmaların tamamlanması için her türlü şartı sağlayan, benim için danışmandan çok daha öte anlam ifade eden kıymetli hocam Sn. Doç. Dr. Mucip GENİŞEL'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım esnasında Laboratuvarın imkânlarından faydalanmamı sağlayan Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvar'ı yönetimine teşekkür ederim.

Ayrıca kendisini ihmal etmeme rağmen maddi ve manevi desteğini esirgemeyen sevgili eşim Haticetül Kübra ALTAY EREN'e ve bugünlere gelmem de büyük katkıları olan Anne ve Babam'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

13/09/2017

Osman EREN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
TEŞEKKÜR	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. MATERYAL-METOT	13
2.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar.....	13
2.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları	14
2.3. Kullanılan Yöntemler.....	17
2.3.1. Bitkilerin büyütülmesi.....	17
2.3.2. Protein miktarının tayini	18
2.3.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini	19
2.3.4. Peroksidaz (POD) aktivitesinin tayini.....	20
2.3.5. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi	21
2.3.6. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini	22
2.3.7. Glutasyon redüktaz (GR) aktivitesinin tayini	22
2.3.8. Lipit peroksidasyon (LPO) miktarının belirlenmesi	23
2.3.9. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	23
2.3.10. Süperoksit (O ₂ ⁻) miktarının belirlenmesi	24
2.3.11. Fotosentetik Pigment miktarının belirlenmesi	25
2.3.12. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS PAGE)	26
2.3.13. İstatistiksel analiz.....	27
3. KURAMSAL TEMELLER.....	28
3.1. Reaktif Oksijen Türleri	28
3.2. Bitkilerdeki Başlıca Serbest Radikaller	28
3.3. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması	29
3.3.1 Süper Oksit radikali (O ₂ ⁻)	29
3.3.2 Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	30
3.3.3 Lipid hidroperoksit (LOOH)	31
3.4. Antioksidan Enzimler.....	32
3.4.1. Superoksit Dismutaz (SOD) (EC 1. 15. 1. 1).....	32
3.4.2. L- Askorbat Peroksidaz (APX) (EC 1. 11. 1. 11)	33

3.4.3. Katalaz (CAT) (EC 1. 11. 1. 6)	33
3.4.4. Glutasyon Redüktaz (GR) EC 1. 6. 4. 2	34
3.4.5. Peroksidaz (POD) (EC 1.11.1.7).....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	36
4.1. Ortalama Kök-Gövde Uzunluğu Sonuçları	40
4.2. Çözülebilir Protein İçeriği Sonuçları	43
4.3. Fotosentetik Pigment İçeriği Sonuçları	45
4.3.1. Klorofil <i>a</i> pigmenti sonuçları	45
4.3.2. Klorofil <i>b</i> pigmenti sonuçları	46
4.3.3. Toplam klorofil içeriği sonuçları	47
4.3.4. Karotenoid içeriği sonuçları	49
4.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Sonuçları	50
4.4.1. H ₂ O ₂ içeriği sonuçları	50
4.4.2. Süperoksit anyonu (O ₂ ⁻) içeriği sonuçları	51
4.5. Antioksidan Enzim Aktivite Sonuçları	53
4.5.1. SOD enzimi sonuçları	53
4.5.2. POD enzimi sonuçları	54
4.5.3. CAT enzimi sonuçları	55
4.5.4. APX enzimi sonuçları	56
4.5.5. GR enzimi sonuçları.....	58
4.6. Lipit Peroksidasyon (MDA içeriği) Seviyesi Sonuçları.....	59
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR	61
5.1. SDS Uygulamalarının Bitkinin Kök ve Gövde Gelişimi Üzerine Etkileri	62
5.2. SDS Uygulamalarının Çözülebilir Protein İçeriği Üzerine Etkileri.....	63
5.3. SDS Uygulamalarının Fotosentetik Pigment İçeriği Üzerine Etkileri	64
5.4. SDS Uygulamalarının Bitkinin Reaktif Oksijen Türlerine Etkileri	66
5.5. SDS Uygulamalarının Bitkinin Antioksidan Enzimleri Üzerine Etkileri	68
5.6. SDS Uygulamalarının Hücre Zarına Etkileri	68
5.7. Sonuçlar	72
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ	86

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

APX	: Askorbat peroksidaz
CAT	: Katalaz
DHA	: Dehidroaskorbik asit
EDTA	: Etilendiamin tetra asetik asit
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: İndirgenmiş glutasyon
GSSG	: Yükseltgenmiş glutasyon
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
μ l	: Mikrolitre
μ M	: Mikromolar
NBT	: Nitroblue tetrazolium klorür
nmol	: Nano mol
PAGE	: Poliakrilamid jel elektroforezi
POD	: Peroksidaz
PVP	: Polivinilpirrolidon
ROT	: Reaktif oksijen türleri
rpm	: Devir/dakika
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBA	: Tiobarbutirik asit
TCA	: Trikloroasetik asit
U	: Enzim ünitesi
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
O ₂ ⁻	: Süperoksit anyonu

ŞEKİLLER VE ÇİZELGELER DİZİNİ

Şekil 1.1. SDS'nin açık yapısı	6
Şekil 1.2. SDS'nin üç boyutlu yapısı	6
Şekil 3.1. Protein tayini için kullanılan standart grafik	19
Şekil 3.2. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik....	20
Şekil 3.3. H ₂ O ₂ miktarı ölçümünde kullanılan standart grafik	24
Şekil 3.4. O ₂ ⁻ anyonu miktarı ölçümünde kullanılan standart grafik	25
Şekil 4.1. 0.5, 1, 1.5 ve 2 mM SDS uygulanan bitkilerde hasat öncesi durum ...	37
Şekil 4.2. 0.5, 1, 1.5 ve 2 mM SDS uygulanan bitkilerde hasat sonrası durum ...	37
Şekil 4.3. Konsantrasyon aralığı belirleme için yapılan ön denemelerin kök uzunluğu sonuçları	38
Şekil 4.4. Konsantrasyon aralığı belirleme için yapılan ön denemelerin Koleptil uzunluğu sonuçları	39
Şekil 4.5. 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 mM SDS uygulanan bitkilerde hasat öncesi durum	40
Şekil 4.6. 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 ve 0.5 mM SDS uygulanan bitkilerde hasat sonrası durum	40
Şekil 4.7. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin ortalama kök uzunluğu üzerindeki etkisi	41
Şekil 4.8. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin ortalama koleptil uzunluğu üzerindeki etkisi	42
Şekil 4.9. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin protein miktarına etkisi.....	44
Şekil 4.10. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin protein profili üzerindeki etkisi	44
Şekil 4.11. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin klorofil a miktarı üzerindeki etkisi	46

Şekil 4.12. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin klorofil b miktarı	
üzerindeki etkisi	47
Şekil 4.13. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin toplam klorofil miktarı	
üzerindeki etkisi	48
Şekil 4.14. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin karotenoid miktarı	
üzerindeki etkisi	50
Şekil 4.15. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin H ₂ O ₂ miktarı	
üzerindeki etkisi	51
Şekil 4.16. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin O ₂ ⁻ miktarı	
üzerindeki etkisi	52
Şekil 4.17. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin SOD aktivitesi	
üzerindeki etkisi	54
Şekil 4.18. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin POD aktivitesi	
üzerindeki etkisi	55
Şekil 4.19. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin CAT aktivitesi	
üzerindeki etkisi	56
Şekil 4.20. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin APX aktivitesi	
üzerindeki etkisi	57
Şekil 4.21. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin GR aktivitesi	
üzerindeki etkisi	59
Şekil 4.22. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin MDA seviyesi	
üzerindeki etkisi	60
Çizelge 3.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Sınıflandırılması	29
Çizelge 4.1. Konsantrasyon aralığı belirlemek için yapılan ön denemelerin	
ortalama kök uzunluğunda meydana getirmiş olduğu değişim	38
Çizelge 4.2. Konsantrasyon aralığı belirlemek için yapılan ön denemelerin	
ortalama koleptil uzunluğunda meydana getirmiş olduğu değişim	39

Çizelge 4.3. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin ortalama kök uzunluğunda meydana getirmiş olduğu değişim	41
Çizelge 4.4. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin ortalama koleptil uzunluğunda meydana getirmiş olduğu değişim	42
Çizelge 4.5. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin protein miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	43
Çizelge 4.4. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin klorofil a miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	45
Çizelge 4.7. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin klorofil b miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	47
Çizelge 4.8. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin toplam klorofil miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	48
Çizelge 4.9. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin karotenoid miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	49
Çizelge 4.10. SDS uygulamalarının arpa bitkisinin H ₂ O ₂ miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	51
Çizelge 4.11 SDS uygulamalarının arpa bitkisinin O ₂ ⁻ miktarında meydana getirmiş olduğu değişim	52
Çizelge 4.12. SDS uygulamalarının SOD aktivitesi üzerinde meydana getirmiş olduğu değişim	53
Çizelge 4.13. SDS uygulamalarının POD aktivitesi üzerinde meydana getirmiş olduğu değişim	55
Çizelge 4.14. SDS uygulamalarının CAT aktivitesi üzerinde meydana getirmiş olduğu değişim	56
Çizelge 4.15 SDS uygulamalarının APX aktivitesi üzerinde meydana getirmiş olduğu değişim	57

Çizelge 4.16. SDS uygulamalarının GR aktivitesi üzerinde

meydana getirmiş olduğu değişim 58

Çizelge 4.17. SDS uygulamalarının MDA miktarı üzerinde

meydana getirmiş olduğu değişim 60



1. GİRİŞ

Biyoloji Terimleri Sözlüğüne göre çevre; organizma ya da bir parçası üzerinde etkili olan dış etkenlerin bütünü olarak tanımlanabilir (Karol vd. 1998). Çevre kirliliğini de çevrenin ana fiziksel öğeleri olan hava, toprak ve suyun doğrudan ya da dolaylı olarak insan faaliyetleri sonucu zarar görmesi şeklinde tarif edebiliriz. Nüfus artışı, sanayileşme ve şehirleşme çevre kirliliğinin ana sebepleridir. Canlı yaşamının devam edebilmesi için çevresel öğelerin kirlenmemesi yani ekolojik dengenin bozulmaması gerekmektedir (Feyzioğlu 2011). Çevre problemlerine ilk defa 1869 yılında Massachussetts Halk Sağlığı Komitesinde dikkat çekilmiş hatta çevre problemleri ile ilgili yazılı bir açıklama da yapılmıştır. Bu tebliğ de bütün bireylerin temiz bir çevreye gereksinim duyduğu, çevrenin fiziksel etmenlerini oluşturan hava, toprak ve suyun kirlenmemesi gerektiği bildirilmiş ve bunların bütün insanlığın ortak mirası olduğu, bireylerin bilmeyerek de olsa çevreye zarar veremeyeceği belirtilmiştir. Ne yazık ki bu tebliğ de yer alan hususlar devletler tarafından eksiksiz bir şekilde hayata geçirilmemiştir (Gündüz 1994). Çevresel problemlerin hem meydana gelmesinde hem de çevrenin korunmasında, şahısların ve hükümetlerin ortak mesuliyetleri vardır. Bu mesuliyetlerin bilinmesi ve çevrenin korunması için çevre ile ilgili eğitimler zaruridir (Dımışkı ve Ünal 1999). Çevrenin ana fiziksel öğeleri hava, toprak ve sudur.

Hava kirliliği dış havada kükürt dioksit (SO_2), partiküler madde (PM), nitrojen oksitleri (NO_x) ve ozon (O_3) gibi zararlı maddelerin çevre ve sağlık üzerine olumsuz etki yapacak seviyede olması şeklinde tanımlayabiliriz. Kirlilik durumu atmosferde doğal süreçlere zarar vermekte ve bütün canlıların sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir (Bayram vd. 2006).

Toprak kirliliği çevrenin bilinçsizce ve hor bir şekilde kullanılması sonucu meydana gelmektedir. Ekolojik tahribatın artması ile de toprak kirliliği giderek hız kazanmaktadır. İnsan nüfusunun artması, köyden kente göç ve sanayileşme sonucu özellikle evsel ve endüstriyel atıklar toprağa ya doğrudan verilmekte ya da taşıyıcı kanallar vasıtasıyla dolaylı olarak toprağa bulaşmaktadır. Bunun sonucunda toprak ekosistemi tahrip olmakta hatta tamamen yok olabilmektedir

(Güler ve Çobanoğlu 1997). Evsel ve endüstriyel atıkları genel bir tasnifle katı atıklar, sıvı atıklar ve gaz atıkları olarak sınıflandırabiliriz. Evsel katı atıklar genelde organik atıklar olup endüstriyel katı atıklar ise hem organik hem de anorganik nitelikteki çok çeşitli atıklar olabilmektedir (Behçet vd. 2014).

Çevrenin bir diğer fiziksel ögesi de bütün canlılar için elzem olan sudur. Su, canlı ağırlığının ve dünyanın yaklaşık %75'ini oluşturmaktadır. Dünya genelinde yapılan araştırmalar su kullanım miktarının her yıl arttığını göstermiştir (Zeyrek 1996). Yeryüzünde Tatlı su kaynakları % 2'nin de altında olup geri kalan suyu okyanuslar, tortul kayaçlar ve buzullar oluşturmaktadır. En gelişmiş canlı organizma olan insandan tek hücreli canlılara kadar bütün organizmalar için gerekli olan kullanılabilir su, sonsuz olmayıp kısıtlıdır (Kuleli 1989; Kocataş 1992). Tatlı su kaynaklarının ekolojik dengeli kullanımı canlıların yaşamsal faaliyetleri ile sürdürülebilir kalkınmanın ana unsurunu oluşturmaktadır. Su kaynakları, uzun vadede dikkatli ve düzenli olarak kullanılması gereken çevresel bir mirastır. Halihazırda bütün su varlıklarımız ekolojik kirlenme tehdidiyle karşı karşıyadır. Suyun kirlenmesi bütün canlıların sağlığını tehdit eder. Bu bozulmaya doğrudan ya da dolaylı yünden insan faaliyetleri sebep olmaktadır. Suyu kirleten etmenleri kabaca, hayvansal atıklar, toprak erozyonu, kimyasal kirlilikler, biyolojik kirlilikler, atmosferde oluşan kirlilikler ve yerleşim alanlarındaki kirlilikler olarak sınıflandırabiliriz. Atık sular tatlı su kaynaklarında ciddi ekolojik tahribatlar meydana getirmektedir. Atık sularda hem endüstri hem de evsel kaynaklı kimyasal kirlilik alt grubunda deterjanlar yüksek miktarda bulunur (Toroğlu vd. 2006). Ayrıca atık sularda bulunan deterjanların toprağa bulaşması nedeniyle toprağın biyolojik ve kimyasal yapısı da bozulur. Bunun sonucunda toprakta toksik element birikmesi olur (Kristensen and Hansen 1994; Dodson *et al.* 2000; Boyraz ve Cangir 2008).

Kısaca özetlemek gerekirse çeşitli faaliyetlerden dolayı su kaynaklarını tehdit eden başlıca ana unsurlar şunlardır: organik ve anorganik maddeler, zararlı mikroorganizmalar, tarımsal amaçlı kullanılan ilaçlar, toksik maddeler ve ağır metaller. Bu zararlı öğeler nedeniyle kullanılabilir su varlıkları ciddi anlamda azalmakta ve ekolojik olarak zarar görmektedir. Bundan dolayı bitki, hayvan ve

insan sağlığı ciddi manada tehdit altındadır. Tüm bunların yanında kullanım genişliği ve miktarı da dikkate alındığında sanayi ve evsel dezenfektanlar ve deterjanlar bu kirletici öğelerin ana unsurları arasındadır (Barlas ve Dirican 2005).

Deterjan bulaşan suların başta toprak olmak üzere deniz gl ve nehirlerle karışması vre üzerinde telafisi zor hasarlar meydana getirmektedir. Sucul ortamlarda çeşitli endüstri atıkları, tarımsal faaliyetler ve özellikle deterjan ve dezenfektanların neden olduğu sülfat artışı kirliliğin bir göstergesidir (Nisbet and Verneaux 1970; ztrk ve Türkan 1989). Deterjanların sudaki miktarı ile ilgili Bozkurt vd (2004) tarafından yapılan Yarseli baraj gölündeki kirlilik ölümünde, deterjan seviyesinin 10,2 mg/l ye kadar çıktığı bildirilmiştir. Bu değer, canlı sağlığını tehdit edebilen bir değer olup Dünya Sağlık rgtnn belirttiği kabul edilebilir düzeyin neredeyse 50 katıdır.

Buna ek olarak sulardaki deterjan oranı da gün geçtikçe artmaktadır. 1997-2004 yılları arasında İstanbul boğazında farklı noktalardan yapılan ölümler bu durumu desteklemektedir. Örneğin İstanbul Büyükşehir Belediyesine ait K1 istasyonundan alınan su numunesinde 1997 yılında ki deterjan miktarı yaklaşık 20 µg/l iken bu oran 2004 yılında 40 µg/l'yi geçmiştir. Yine aynı çalışmada M8 istasyonundan alınan numunede 1997 yılından 2004 yılına kadar artış oranının % 350'lere yaklaştığı bildirilmiştir (Peker 2007). Deterjanlar canlılara doğrudan zarar verdiği gibi dolaylı olarak da zarar vermektedir. Mesela deterjanların çözünmesi sonucu meydana gelen kimyasal reaksiyonlarla zehirli gazlar da açığa çıkarabilmektedir. Ayrıca, atık sularda deterjanların neden olduğu köpüklerin içerisine mikroorganizmaların yerleşerek çevreye yayıldıkları da bildirilmiştir (Yaramaz 1992). Deterjanlar sadece su ekosistemine değil aynı zamanda toprak geçirgenliğine de zarar vermektedir. Örneğin kanalizasyon alt yapısı düzgün olmayan yerleşim yerlerinde deterjan içeren evsel ve endüstriyel atık suları, fosseptik ya da birikinti sularından toprağın i katmanlarına kadar sızabilmektedir.

Merkezi Londra'da olan "Sentetik Deterjanlar Daimi Teknik Komitesi"nin 4. Gelişim Raporu deterjanların kirlilik göstergesi olduğu, mikroorganizma yükü ve fiziksel açıdan temiz olan sularda deterjan oranının 0,5 mg/l den fazla olmaması gerektiği, eğer deterjan bu orandan fazla ise kirli kabul edilmesi

gerektiğini önermiştir. Özellikle Birleşik Devletler ve Avrupa'nın çoğu ülkesinde suda deterjanların bulunma oranı yasal olarak 0.5mg/l olmasına rağmen Dünya Sağlık Örgütünün önerisi ile bu seviye 0,2 mg/l de tutulmaktadır. Türk Standartları Enstitüsü de bu sınırı 0,2 mg/l olarak önermektedir (Doğan vd. 1986; Anonim 2010).

Canlı sağlığı üzerine yapılan araştırmalar deterjanların, alerjik reaksiyonlara sebep olduğu ve kanser oluşumuna neden olabileceği bildirilmiştir (Özkalp ve Özçelik 1988). Deterjanların güvenli kabul edilen dozun altında bile suda yaşayan canlılar üzerine, patolojik, fizyolojik, üreme, embriyolojik ve biyokimyasal yönden; bitki çeşitleri üzerine de sararma, klorofil-protein kompleksini parçalama, hücre membranlarına zarar verme, metabolizma da yavaşlama, büyümede gecikme, patomorfolojik değişimler, biyokütle artışında azalma, protein ve DNA sentezin de yavaşlama gibi olumsuz durumlara neden olduğu belirtilmiştir (Öztürk ve Türkan 1989). Anyonik deterjanların uygulandığı domates örneklerinde 180 ppm dozu bile domates meyvesinin kuru ağırlık oranını yaklaşık % 50 oranında azalttığı ve dozun artmasına bağlı olarak gittikçe artan oranda kuru ağırlıkta azalma meydana geldiği bildirilmiştir (Yurdakul vd. 2014). Deterjanların insan sağlığı üzerine etkileride ciddi boyutlara varabilmektedir. Deterjanın deriye nüfuz edip deri yağlarını çözdüğü ve bu durumda egzamadan çeşitli mantar ve bakterilerin deri tabakasında çoğalmalarına kadar insan için zararlı olan durumlar meydana geldiği bildirilmiştir (Ayaz ve Yurttagül 2008).

Deterjanlar başlıca 4 ana bileşenden meydana gelmektedir. Bunlar; Yüzey Aktif Maddeler, köpük düzenleyiciler, yardımcılar ve katkı maddeleridir (Wolkoff *et al.* 1998). Ekolojik süreçleri bozan, gittikçe kullanım alanı genişleyen yüzey aktif maddeler çevreye zarar verici unsurlar içerisinde. Yüzey Aktif Madde; suda, sulu bir çözeltide veya susuz ortamda çözündüklerinde sıvı yüzeyini genelde küçülten, yani yüzey gerilimini azaltan maddeler olarak tanımlanabilir (Atıcı 2006). Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) hemen hemen bütün deterjan, dezenfektan ve temizlik ürünlerinde kullanılan ana yüzey aktif maddedir. Yüzey aktif maddeler, baş ve kuyruk olmak üzere iki uçlu bir yapıdan oluşurlar. Kuyruk kısmında hidrofobik grup bulunurken baş kısmında hidrofilik grup bulunur.

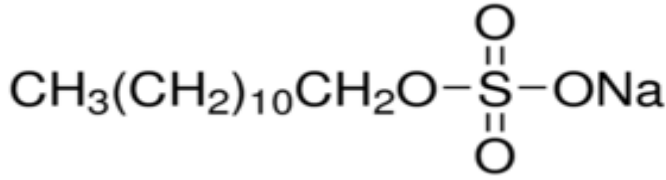
Surfaktanların yapısında bulunan hidrofobik yapı genellikle uzun hidrokarbon, florokarbon veya siloksan zincirlerinden meydana gelirken suyu seven hidrofilik baş kısım ise iyonik veya yüksek polaritedeki gruplardan meydana gelmektedir. Hidrofobik ya da hidrofilik isimlendirmesi ise yüzey aktif maddenin içinde bulunan uçların suyla yaptıkları değme açısına göre yapılmaktadır. Deterjanlar farklı oranlarda hidrofob ve hidrofil grup içerirler. Bu grupların bileşimi, deterjanın ve yüzey aktif maddenin özelliklerini belirler (Erbil 2006). Deterjanlar, yüzey aktif madde (YAM)'nin hidrofilik kısmının su içerisindeki elektrik yükü özelliklerine göre anyonik, katyonik, noniyonik ve amfoterik deterjan olarak sınıflandırılır. Katyonik Deterjanlar: Organik bazların tuzlarıdır. Diğer deterjanlara göre antiseptik özelliği daha yüksek olduğu ve köpük oluşturma yetenekleri de anyonik deterjanlardan daha az olduğu için lokanta, otel gibi yerlerde genelde kullanılırlar. Katyonik deterjanların hidrofilik kısmı hücre membranında bulunan fosfolipidlerin yapısındaki eksi yüklü fosfat kökü ile tepkimeye girerken; hidrofobik kısmı da hücre zarının hidrofobik kısımlarının içine girer. Böylece hücre zarının bütünlüğü bozulur. Buna ek olarak deterjanlar hücrede bulunan önemli enzimlere de etki eder (Sultan ve Sipahi 2007).

Noniyonik deterjanlar da suda tamamen iyonize olmazlar ve renk açma özelliklerinden dolayı tekstil sanayinde kullanılırlar. Polietilen oksitler, alkil glukozitler, sorbitan esterler, polioksietilen sorbitan esterler bu gruba dâhildir.

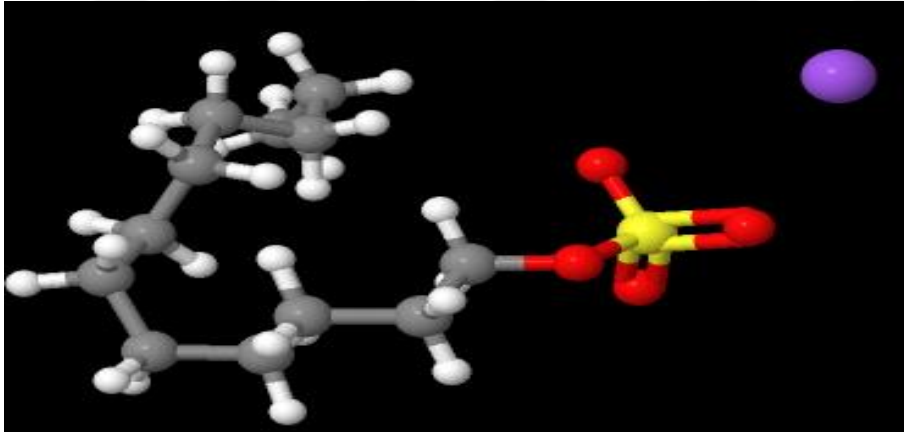
Amfoterik deterjanların net elektrik yükü sıfırdır; çünkü aynı molekülde hem pozitif hem de negatif yük bulunur. Bulundukları ortama pH'sına göre anyonik ya da katyonik özellik sergileyebilirler. Çift yük taşıdıklarından adsorblandıkları yüzeyde yük değişimine neden olmazlar (Doğancı vd. 2010).

Anyonik deterjanlar ise en çok tüketilen, genelde evlerde kullanılan deterjanlar grubunu oluşturur. Anyonik Deterjanlar primer veya sekonder alkil sülfatlar ile sodyum alkil benzen sülfonatlar olarak kabaca ikiye ayrılır. Anyonik Deterjanlar sulu çözeltilerinde negatif yüklü bir grup veya anyon verirler. Sodyum dodesil sülfat (SDS) ve yağ asitlerinin Na/K tuzları olan sabunlar bunların arasındadır (Sultan ve Sipahi 2007).

Deterjanlara anyonik özelliği kazandıran SDS, yapısındaki sodyum atomunu oda sıcaklığı ve nötral pH'da verir ve kalan kısım anyonik duruma geçer. SDS'nin molekül formülü $\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$ olup molekül ağırlığı 288,379 g/mol dır. 206 °C 'de eriyen bileşik 1,01 g/cm³ yoğunluğuna sahiptir. SDS'yi oluşturan; karbon-hidrojen (C-H) kükürt-oksijen (S-O) ve karbon-oksijen (C-O) atomları arasında kovalent yapılı bağlar bulunmaktadır. Sodyum atomu ile oksijen arasında ise iyonik yapılı bir bağ mevcuttur (Haliki 2011). SDS Sıvı-gaz ara yüzeyine adsorblanır ve sıvının yüzey geriliminin düşmesini sağlar (Fainerman *et al.* 2010). SDS'nin molekül formülü şekil 1.1. deki gibi 3 boyutlu yapısı da şekil 1.2. deki gibidir.



Şekil.1.1. SDS'nin molekül formülü



Şekil 1.2. SDS'nin üç boyutlu yapısı

SDS nin baş (hidrofilik) kısmını yüklü sülfat grubu oluştururken hidrofobik olan kuyruk kısmını ise dodesil hidrokarbon grubu oluşturur. SDS, aminoasitlerin peptit bağlarını parçalar. Ek olarak, (-) yük taşıdığından dolayı peptitleri (-) yük ile yükler (Fainerman *et al.* 2010). Günümüzde sürfaktanlar içerisinde istenilen özellikleri en iyi karşılayan bileşik SDS dir. Bundan dolayı SDS'nin çok geniş bir kullanım alanı bulunmaktadır ve gün geçtikçe kullanım

miktarı da artmaktadır. Tüketilen yüzey aktif maddelerin % 73'ünü anyonik kısım oluşturur. Bu YAM'lerde en çok kullanılan ise SDS dir. Dünya genelinde 1990 yılında 9.840.000 ton, 1995 yılında 10.262.000 ton olan YAM tüketimi, 2000 yılında 12.616.000 ton olarak belirlenmiştir. Tüm bu veriler SDS kullanım miktarının da her yıl arttığını göstermektedir (Atıcı 2006).

SDS katı ilaç formülasyonlarından diş macunlarına, şampuanlardan duş jellerine, tıraş köpüklerinden zemin temizleyicilere, araba yıkama sabunlarından losyonlara ve de özellikle çamaşır deterjanlarında, bulaşık deterjanlarında ve sıvı el sabunlarında kullanılmaktadır. SDS yalnızca temizlik endüstrisinde değil aynı zamanda diş hekimliğinde, deri yumuşatmada, yün temizlemede, metal işlemede, boya ve kâğıt endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca gıda endüstrisinde yumurta akı, meyve suyu, bitkisel yağ ve krema gibi bazı gıda maddelerinde katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Kelly *et al.* 1997; Kumar *et al.* 2014). Bu kadar fazla kullanılan bir bileşiğin canlılar üzerine maalesef ki yüksek düzeyde olumsuz etkileri bulunmaktadır. SDS bakteriler de protein denatürasyona ve hücre membranının parçalanmasında etkili olup bakteri öldürücü etkisi, pH 1.5 ve 3 aralığında daha da artmaktadır. SDS'nin Levulinik Asit ile beraber Et ve Marul da bulunan patojenler ile *E. coli* ve *Salmonella* gibi gıda kaynaklı patojenlerin yok edilmesinde etkili olduğu bildirilmiştir. Bu durum SDS'nin yararlı mikroorganizmalar üzerine de kaçınılmaz olarak etki ettiğini gösterir. Nitekim SDS'nin suda yaşayan farklı türdeki mikroorganizmalar üzerine de etki ettiği bildirilmiştir (Demirel 2013).

SDS'nin Gram Negatif bakterileri üzerine olumsuz etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. SDS sitoplazma içinde yanlış katlanan ve denatüre olan protein miktarlarında artışa yol açmakta olup, ayrıca hücrede diğer birtakım farklı toksik etkileri de olabilir (Rajagopalet *al.* 2002). SDS farklı hücre organellerinde çeşitli etkilere sahiptir. *Saccharomy cerevisiae*'da hormon seviyesine göre hedef hücre reseptörlerin miktarını azaltan ya da arttıran genlerde up- down regülasyon genlerinde değişime neden olmuştur. Up-down regülasyon üreten genler sitoplazmada, mitokondride, nükleusta peroksizom ve plazma membranında lokalize olmuşlardır (Abboud *et al.* 2007).

SDS'nin su ekolojisi üzerine toksik etkilerini araştırmak için bir bakteri türü olan *Vibrio fischeri*, bir alg olan *Dunaliella tertiolecta*, kabuklular sınıfının üyesi olan *Tigriopus fulvus*, derisi dikenliler su hayvanı grubuna ait *Paracentrotus lividus* ve Avupa Deniz Levređi (*Dicentrarchus labrax*) üzerinde yapılan çalışmalara göre söz konusu maddenin bu canlılar üzerindeki EC50 değerleri sırasıyla 2.6, 4.8, 7.4, 3.2, 7.3 mg.L⁻¹ olduğu tespit edilmiştir. Bu değerler SDS'nin çok dūřuk düzeyde bile organizmalar için zararlı olduğunu göstermektedir. (Mariani *et al.* 2006).

SDS'nin 0-15 mg/l konsantrasyon aralığı ipura'nın (*Sparus aurata L.*) böbrek ve dalağının morfolojik yapısının bozulmasına neden olduğu bildirilmiştir (Carrasco *et al.* 2001). SDS'nin farklı konsantrasyonlarına maruz kalan 20 kalkan yavrusunda %50 ölüm oranı görölmüştür. *Centropomus parallelus* larda SDS'nin büyüme ve metabolizma ile ilgili subletal kronik etkilerinin olduğu bildirilmiştir (Rocha *et al.* 2007).

SDS'nin *Cyprinus carpio L*'nin metabolizma ve yüzme kapasitesini etkilediği belirtilmiştir (Bantseev *et al.* 2003). SDS, Su Piresinde akut toksisite oranını arttırmıştır (Ahlers *et al.* 2006). Kobay farelerin SDS ile muamele edilmesi sonucu günlük 1200 mg'nin göz ve deri için toksik olabileceği ayrıca sıçanlarda bu değerden daha dūřuk SDS dozlarının bile kolesterol esterleri ve fosfolipitleri arttırdığı ve trigliserit seviyesini azalttığı bildirilmiştir (Boeijs *et al.* 2006).

SDS'nin sadece mikroorganizmalar ve hayvanlar üzerinde değil insanlar üzerinde de olumsuz etkileri bulunmaktadır. Egzamalı bireylerde cilt duyarlılığı ve tahrişini arttırdığı ayrıca bu duyarlılığın mevsimsel olarak değişebileceği ifade edilmiştir (Löfler and Effendy 1999).

Status Cosmeticus, hiçbir şekilde kozmetik ürünü kullanamayan hastalardır. SDS'nin "StatusCosmeticus"a neden olan kimyasal maddeler içinde yer aldığı tespit edilmiştir (Utaş 2003). SDS'nin Dentin Hassasiyetine yol açtığı belirtilmiştir. (Hacıoğulları vd. 2014). Diş macunlarına temizlik gücü artması için ilave edilen köpük arttırıcı özelliğine sahip SDS'nin mukoza hücrelerinin yıkımını

arttırıp tahriş edici etki gösterdiği ve Akut alerjik dişeti iltihabı ile aftöz lezyon oluşumunda doğrudan etkili olduğu belirtilmiştir (Baran ve Nalçacı 2007).

Dirilgen and İnce (1995) SDS'nin farklı konsantrasyonlarda bitki gelişimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Ekip yaptığı çalışmada su mercimeği (*Lemna minor* L.) üzerine SDS'nin etkilerini 1-300 ppm arası araştırmıştır ve çalışmalarında 1-40 ppm SDS seviyelerinin bitkinin gelişimini arttırdığı bu değerden sonra inhibisyonun başladığını bildirmişleridir. SDS'nin konsantrasyona bağlı olarak yapraklarda birikiminin arttığı ve ayrıca biyodegradasyonu neticesinde ortamda alkalın ara maddelerinin oluştuğunu gözlemlemişlerdir.

Aynı çalışmada 40 ppm değerine kadar kuru taze ağırlığın kontrolden düşük olduğu fakat bu değerden sonra artış olduğu; Yapraklarda biyoakümüülasyonun da konsantrasyonla arttığı bildirilmiştir.

Su Mercimeği (*Lemna minor* L.) ve su kadifesi (*Azolla filiculoides* L.) üzerine SDS'nin toksikolojik etkilerini araştıran bir başka çalışmada da SDS'nin her iki su bitkisine de olumsuz olarak etki ettiği rapor edilmiştir. Bu araştırmada 2.5, 10, 25, 50 ve 100 ppm uygulanan SDS su mercimeğinde 50 ppm'ye kadar morfolojik olarak etkisini göstermezken 50 ve 100 ppm de 3. günden itibaren bitkide bölgesel sararmalar ve dehidrasyon meydana geldiği; 7. gün de ise 50 ppm ve 100 ppm dozlarında yapraklarda sırasıyla % 50 ve %80 sararmanın olduğu bildirilmiştir. Su Kadifesi bitkisinde ise 2.5 ppm de etki görülmezken 10 ppm ve üzeri dozlarda yapraklarda kademeli olarak küçülme ve kahverengileşmenin meydana geldiği rapor edilmiştir. 7. gün de ise yapraklarda 50 ppm ve 100 ppm dozlarında sırasıyla % 70 ve % 80 dehidrasyonun meydana geldiği bildirilmiştir (Forni *et al.* 2012)

SDS'nin hormonlar üzerine de etkisinin olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada su mercimeği bitkisinde etilen üretiminin 50 ve 100 ppm de 36. saatte tamamen durduğu ve daha sonra bu konsantrasyonlarda etilen üretiminin tekrar kontrol değerlerine yaklaştığı rapor edilmiştir. Su kadifesi bitkisinde ise 50 ve 100 ppm değerlerinde etilen üretiminin arttığı ve daha sonra azalıp kontrol değerlerine

yaklaştığı bildirilmiştir. Bunun nedeninin bitki hormonlarının SDS'ye erken tepki vermelerinden kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır (Forni *et al.* 2012).

Aynı çalışmaya göre, bitkinin antioksidan maddelerinden olan fenolik maddelerin içeriğinde, 3. günün sonunda su mercimeğinde 50 ppm'ye kadar artış olduğu; 100 ppm uygulanan örneğin fenolik madde miktarının ise kontrolden daha düşük seviyede olduğu rapor edilmiştir. 7. günün sonunda ise 2.5, 10 ve 25 ppm uygulanan numunelerde fenolik madde miktarının kontrol grubuna göre artış gösterdiği; 50 ve 100 ppm dozlarında ise diğer dozlara göre azalma olduğu bildirilmiştir. Su kadifesi bitkisinde ise ilk 3 gün 100 ppm uygulanan örnek hariç, fenolik madde miktarında önemli bir değişimin olmadığı, 100 ppm de kontrole göre artış olduğu bildirilmiştir. 7. günde 100 ppm uygulanan bitkinin fenolik madde içeriği kontrolden düşük iken diğer dozlarda kontrole göre artış olduğu rapor edilmiştir. (Forni *et al.* 2012). Forni *et al.* (2008) bildirdiğine göre SDS su mercimeğinin büyüme oranlarını ve klorofil içeriğini de olumsuz yönde etkilemektedir.

SDS bitkilerin yapısında cereyan eden farklı biyokimyasal sentez olaylarına ve enzim aktivitelerine farklı şekillerde etki etmektedir. Buğday ile yapılan bir çalışmada; SDS'nin çimlenme yüzdesine, biyokütle, CAT aktivitesine, protein içeriğine olumsuz etkileri varken GR aktivitesini, çözülebilir şeker içeriğini ve prolin içeriğini arttırdığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Chang *et al.* 2015). Bu çalışmada çimlenme yüzdesi kontrol grubunda % 96 iken, 800 mg/L dozunun çimlenmeyi tamamen inhibe ettiği bildirilmiştir. 320 mg/L SDS uygulamasına kadar da çimlenme yüzdesinde belirgin bir düşüşün olmadığı; ama 400 ppm ve üzeri dozlarda inhibisyon etkisinin görüldüğü rapor edilmiştir. Yine kök uzunluğu SDS konsantrasyonu ile ters bir ilişki göstermiş olup 50 ppm'nin kök uzunluğunda ortalama 0,6 cm'lik bir azalma meydana getirdiği rapor edilmiştir. Hem kökte hem de gövde de biyokütle SDS konsantrasyonu ile negatif bir korelasyon göstermiştir.

SDS'nin etkisi bitkinin organları arasında da farklılık göstermektedir. Nitekim Chang ve arkadaşlarının (2015) yaptığı araştırmada, protein içeriği, SDS uygulama dozunun artması ile kökte artarken gövdede azalmıştır. Köklerde SDS

dozunun artmasıyla beraber çözünür şeker içeriği 320 ppm'ye kadar çok hafif azalırken, daha sonraki seviyelerde önemli bir artış göstermiştir. Gövde de ise çözünür şeker içeriği 100 ppm'ye kadar stabil iken daha sonra ciddi bir artış göstermiştir. Prolin ise önemli miktarda artma göstermiştir. örneğin çözünür şeker yüzdesi gövde de, 720 ppm de kontrol grubuna göre % 80 artarken; köklerde, prolin içeriği 720 mg/L'de kontrol grubuna göre % 90 artarak ortalama 159.63 mikrogram/gram olmuştur.

SDS canlıların enzimleri üzerine de etki etmektedir. SDS'nin farklı konsntrasyonlarının *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 lipazında inhibisyona ve aktivitede azalışa neden olduğu bildirilmiştir (Bakır Ateşlier 2009).

SDS, *Pseudomonas sp. KWI-56*, *Bacillus sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Yarrowia lipolytica*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Aspergillus carneu*, *Bacillus thermoleovorans* gibi çok farklı mikroorganizmlara ait lipaz enzimini inhibe ettiği bildirilmiştir (Izumi *et al* 1990; Rua *et al* 1997; Nawani *et al.*,1998; Saxena *et al* 2003; Ochoa *et al* 2005; Singh and Banerjee, 2007; Yu *et al* 2007).

SDS'nin yalnızca mikroorganizma enzimleri üzerine değil bitki enzimleri üzerine de etkileri olduğu rapor edilmiştir. SDS'nin fasülye üreaz enzimi üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada SDS'nin çok düşük konsantrasyonlar da bile hücrede taşıyıcı görevi gören p-glikoproteinlerin ATPaz enziminin inhibisyonuna neden olduğu, üreaz enziminin yapısını bozduğu ve aktivitesinde değişime neden olduğu bildirilmiştir (Doige *et al* . 1993; Hirai *et al.* 1993).

Buğday bitkisine uygulanan SDS'nin, bazı antioksidant enzimler üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. CAT enziminin 400 mg/L SDS uygulama dozuna kadar görece stabil iken bu seviyeden sonra düşüş gösterdiği; GR aktivitesinin ise 100 ppm'ye kadar artmış olduğu, daha sonra biraz düştüğü ve sonrasında stabil kaldığı rapor edilmiştir (Chang *et al* 2015).

Birkaç istisna dışında birçok enzim SDS tarafından inhibe edilir. Bazı istisnai enzimlerde SDS tarafından aktive edilirler. Örneğin: Pankreatik Lipaz, Piruvat Oksidaz, Tirozinaz, ve Polifenol Oksidaz (Moore and Flurkey1990).

SDS'nin bakladan izole edilmiş PPO enzimi aktivitesi üzerine, belli bir doza kadar artışa neden olduğu, buna ek olarak boyutunda da az da olsa bir değişimin olduğu bildirilmiştir. Bu değişimin nedeninin SDS nin enzime bağlanması sonucu olduğu şeklinde yorumlanmıştır. SDS' nin varlığında Dihidroksifenil alanin'nin bağlayıcılığında da artış meydana geldiği ve enzim termostabilitesinin de düştüğü bildirilmiştir (Moore and Flurkey 1990).

SDS'nin su mercimeği ve su kadifesinin enzimleri üzerine etkisini araştıran diğer bir çalışmada, su mercimeğinde Fenilalanin Amonyum Liyaz (PAL) enzimi aktivitesinde 10 ppm'ye kadar artış görüldüğü, 25 ve 50 ppm dozlarında aktivitede azalışın meydana geldiği ve 100 ppm de ise enzim aktivitesinin kontrol grubundan da az olduğu rapor edilmiştir (Forni *et al.* 2012).

Aynı çalışmada önemli bir antioksidan enzim olan GUAİKOL Peroksidaz (G-POD) aktivitesinde 50 ve 100 ppm dozlarının uygulandığı su mercimeği örneklerinde azalma meydana geldiği bildirilmiştir. Su kadifesi bitkisinde ise hem PAL aktivitesinde hem de G-POD aktivesinde sadece 100 ppm uygulanan bitkide yüksek düzeyde artış meydana geldiği rapor edilmiştir (Forni *et al.* 2012).

Yapılan mevcut çalışmalar, net olarak SDS'nin bütün canlılar için toksik olduğunu ortaya koymaktadır. Yine de SDS'nin etkilerinin çok daha fazla ve detaylı parametrelerle açıklanması gerekmektedir. Bildiğimiz kadarıyla SDS'nin bitkiler üzerine etkilerini açıklayan çalışma sayısı çok azdır. SDS'nin bitkiler ve diğer bütün canlılar için hayatiyet derecesinde önemli olan klorofil pigmentine etkisi, hücre hasarının en önemli göstergelerinden biri olan Malondialdehit seviyesine etkisi gibi farklı parametrelerin değişimini ortaya koyan çalışmalar bildiğimiz kadarıyla mevcut değildir. Ayrıca SDS'nin oksidan savunma mekanizmaları ve antioksidant enzim aktiviteleri üzerine yaptığı etkileri belirten çalışmalar da yeterli düzeyde değildir.

2. MATERYAL-METOT

2.1. Yararlanılan Alet ve Cihazlar

Buzdolabı	: Arçelik
Derin dondurucu (-80°C)	: Harris, İngiltere
Elektroforez	: Owl Separation Systems P10DS
Hassas terazi	: Shimadzu AY220
Homojenizatör	: Wiggen Hauser D- 500
Karıştırıcı	: Fisons Whirlimixer
Manyetik karıştırıcı	: Chiltern HS31
Masa santrifüjü	: Hettich EBA 21
pH metre	: WTW unilab pH metre
Soğutmalı santrifüj	: Hettich Micro 22 R
Spektrofotometre	: Shimadzu UVmini-1240

2.2. Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları

Çalışmada kullanılan çözeltilerin kullanıldığı yerler ve hazırlanış şekilleri aşağıda belirtilmiştir. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler Sigma ve Fluka şirketlerinden temin edilmiştir.

1. Arnon ve Hoagland bitki besleme çözeltisi: 0,505 g KNO_3 , 1,18 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,493 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,08 g NH_4NO_3 , 2,86 g H_3BO_3 , 1,81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,08 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 0,22 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,6 mg FeSO_4 , 0,6 mg tartarik asit saf su içerisinde çözülerek hacmi 1 litreye tamamlanmıştır.

2. 0,1 M KH_2PO_4 , % 0,3 Polyvinylpyrrolidone (PVP) , 1 mM EDTA Tamponu (Protein tayini ve antioksidan enzimlerin homojenizasyon tamponu) : 1,361 g KH_2PO_4 bir miktar saf suda çözülmüş ve hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır. 1 N KOH kullanılarak pH 6,75'e ayarlandıktan sonra üzerine 0,3 g PVP ve 0,029 g EDTA ilave edilmiştir.

3. 103,5 mM KH_2PO_4 (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon): 1,41 g KH_2PO_4 , 70 ml saf suda çözülmüş, 1 N KOH ile pH: 7,5'e ayarlanmış ve hacim saf su ile 100 ml'ye tamamlanmıştır.

4. 40 mM H_2O_2 çözeltisi (Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi): 346 μl %35'lik H_2O_2 alınıp hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

5. 5 mM H_2O_2 çözeltisi (Katalaz aktivitesi ölçümünde standart grafik hazırlamak için kullanılan): 43 μl %35'luk H_2O_2 alınıp hacmi saf su ile 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır.

6. 0,1 M Na_2HPO_4 , pH: 5,5 (Peroxidazın aktivitesi ölçümünde kullanılan tampon çözeltisi): 3,55 g Na_2HPO_4 alınarak 200 ml saf suda çözülmüş ve pH: 5,5'e ayarlandıktan sonra hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

7. Peroksidaz aktivitesi ölçümünde kullanılan substrat çözeltisi (5mM guaikol + 5mM H₂O₂): 54 µl quaikol ve 15 µl H₂O₂'dan (d: 1,13 g/mol) 5 mM olacak şekilde 100 ml 0,1 M fosfat tamponu (pH: 5,5) içinde çözülerek hazırlanmıştır.

8. 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7,8) (SOD için tampon çözelti): 1,7 g KH₂PO₄ 200 ml saf suda çözülmüş, pH: 7,8'e ayarlandıktan sonra ve hacim saf su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır.

9. 13 mM metionin çözeltisi (SOD reaksiyon karışımı için): 0,586 g metionin alınır, 250 ml 50 mM KH₂PO₄ (8. Madde'de hazırlanan çözelti) tamponu içerisine ilave edilerek çözülür.

10. 63 µM NBT (Nitroblue Tetrazolium Klorür-SOD reaksiyon karışımı için): 0,0128 g NBT alınır, 250 ml 50 mM KH₂PO₄ (8. Madde'de hazırlanan çözelti) tamponu içerisine ilave edilerek çözülür.

11. 0,1 mM EDTA (SOD reaksiyon karışımı için): 0,073 g EDTA 8. maddede hazırlanmış olan 250 ml 50 mM KH₂PO₄ tamponu içerisine ilave edilerek çözülmüştür.

12. 13 µM Riboflavin (SOD aktivitesi için 2. çözelti): 0,019 g riboflavin, 500 ml saf suda çözülmüş, 3 ml'lik reaksiyon karışımının 13 µM riboflavin içermesi için 390 µL riboflavin alınmıştır.

13. %0,1 lik Trikloroasetik asit (TCA-Lipid peroksidasyon için homojenizasyon çözeltisi) : 100 ml saf su içerisine 0,1 g TCA ilave edilerek çözülür.

14. %0,5 lik Tiobarbutirik asit (TBA- Lipid peroksidasyon için reaksiyon çözeltisi): 100 ml saf su içine 20 gram TCA çözülür ve daha sonra içerisine %0,5 TBA ilave edilerek iyice çözünmesi sağlanır.

15. Monomer (akrilamid/bis) çözeltisi (%30 akrilamid, %2,7 bis) : 29,2 ml akrilamid 75 ml saf suda çözülür, çözeltiye 0,8 g bis katılıp çözülür. Son hacim 100 ml'ye tamamlanır.

16. Ayırma jeli tamponu (1,5 M Tris, pH: 8,8) : 18,15g tris 50 ml saf suda çözülür. HCl ile pH: 8,8' e ayarlanır. Saf su ile 100 ml' ye tamamlanır.

17. Yükleme jeli tamponu (0,5 M Tris, pH: 6,8) : 3 g tris 40 ml saf suda çözülür. HCl ile pH 6,8' e ayarlanır. Saf su ile 50 ml'ye tamamlanır.

18. %10 Sodyum Dodesil Sülfat ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3\text{Na}$): 1g SDS son hacim 10 ml olacak şekilde saf suda çözülür.

19. %10 Amonyum Persülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$): 1 g amonyum persülfat son hacim 10 ml olacak şekilde saf suda çözülür. (Polimerizasyon başlatıcı)

20. Örnek uygulama tamponu (0,125 M Tris, %4 SDS, %20 gliserol, %10 2-merkaptotanol, %0,2 bromfenol mavisi pH: 6,8): 2,5 ml yükleme jeli tamponu, 4 ml %10 SDS, 2 ml gliserol, 1 ml 2-merkaptotanol alınıp son hacim 10 ml olacak şekilde saf su ile tamamlanır, pH: 6,8'e ayarlanır. Karışıma 0,02 g bromfenol mavisi katılarak karıştırılır.

21. Tank tamponu (0,025 M Tris, 0,192 M glisin, %0,1 SDS, pH: 6,8) : 3g Tris, 14,4 g Glisin, 1 g SDS alınır. 900 ml saf suda çözülerek pH 6,8'e ayarlanır. Son hacim 1000 ml'ye saf su ile tamamlanır.

22. 0,25 mM NADPH çözeltisi hazırlamak için (GR aktivitesi için) : 0,0022 g NADPH 10 ml saf su içerisinde çözülür.

23. 1 mM oksitlenmiş glutatyon (GSSG) (GR aktivitesi için) 0,0061 g GSSG, 10 ml saf su içerisinde çözülür.

24. 0,5 mM EDTA (GR aktivitesi için) 0,0014 g EDTA 10 ml saf su içerisinde çözülür.

25. 50 mM Tris-HCl (GR aktivitesi için) 0,06 g Tris bir miktar saf su içerisinde çözülür, sonra pH:7,8' e ayarlanır ve son hacim 10ml'ye tamamlanır.

26. %5'lik TCA (Hidrojen Peroksit içeriği homojenizasyonu için) 1 g TCA 10 ml saf su içerisinde çözülür.

27. 60 mM KH_2PO_4 (Süperoksit Anyon miktarı tespiti için homojenizasyon çözeltisi) 0,081 g KH_2PO_4 bir miktar suda çözülür. pH 7,8'e ayarlanır ve son hacim 10 ml'ye tamamlanır.

28. 10 mM hidroksilamin (Süperoksit içeriği için) 0,0069 g hidroksilamin 10 ml saf su içerisinde çözülür.

29. 17 mM Aminobenzen Sülfonik Asit (Süperoksit anyonu miktarı tayini için) 0,029 g Sülfonik Asit 10 ml saf suda çözülür.

30. 7 mM 1- Naptalamine (Süperoksit anyonu miktarı tayini için) 0,01 g 1- Naptalamine 10 ml saf su içerisinde çözülür.

31. Commasie Brilliant Blue çözeltisi (Bradford yöntemi ile protein tayini) 15 mg (miligram) G-250 boyası 7.5 ml etanolde çözüldü 15 ml fosforik asit ilave edildi. 285 ml saf su ilave edilir.

32. 250 μM askorbik asit, 5 mM H_2O_2 , 50 mM K_2HPO_4 (APX aktivite tayini için): 0,00044 g askorbit asit ve 0,85 g KH_2PO_4 90 ml saf suda çözülür ve pH:7,00'a ayarlandıktan sonra üzerine 25 μl %35 H_2O_2 katılıp iyice karıştırılır ve hacmi 100 ml'ye tamamlanır.

2.3. Kullanılan Yöntemler

2.3.1. Bitkilerin büyütülmesi

Bu çalışmada arpa (*Hordeum vulgare* L.) bitkisi kullanılmıştır. Tohumlar Doğu Anadolu Tarımsal Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Tohumlar ekilmeden önce %96'lık alkol ile hızlıca yıkanmış ve %5'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dakika sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra 5 kez saf su ile yıkanmış ve steril kurutma kağıtlarında kurutulmuştur. Bitkiler oksijen pompaları

ile sürekli havalandırılan ve Hoagland besiyeri içeren hidroponik sistemde 20-23 °C sıcaklıkta, 16 saat ışık ve 8 saat karanlık periyodunda, % 70 nem ortamında büyütülmüştür. Ekimin ardından dokuzuncu günde 5 farklı arpa grubundan biri kontrol grubu olarak seçilmiş ve geri kalan her bir gruba 4 farklı doz (0.5 mM, 1 mM, 1.5 mM, 2 mM) sodyum dodesil sülfat uygulanmıştır.

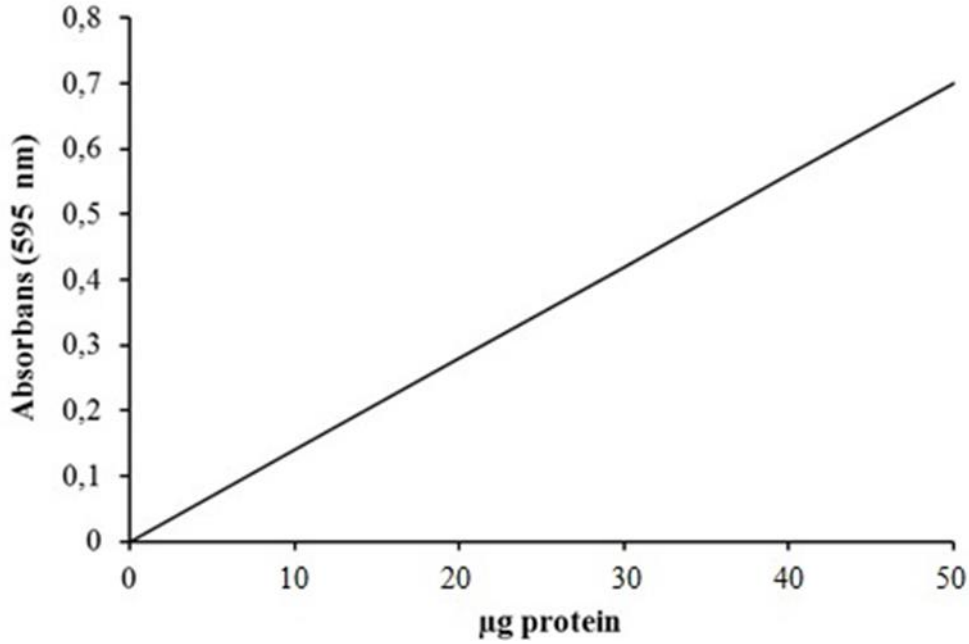
Bu deney düzeneğinde 0.5 mM grubundan yüksek konsantrasyonlarda SDS'nin benzer etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu deneyin ardından aynı şekilde yeni bir düzenek kurularak 0.5 mM ve daha alt, toplamda 5 farklı konsantrasyon (0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM) uygulaması ile deneye devam edilmiştir. Bitkilerin su seviyeleri, ortamın nem düzeyi ve sıcaklık seviyesi günlük olarak takip edilip, bitkiler 72 saat sonra hasat edilmiştir.

2.3.2. Protein miktarının tayini

Bitkilerin yapraklarından alınan 0,2 g'lık örnekler kullanılarak Bradford (1976) metoduna göre protein tayini yapıldı. Sonuçlar "mg protein/g taze doku cinsinden hesap edildi. Her bir uygulama dozuna ait bitkinin yaprak kısmının tamamı sıvı azotta havan ile parçalandıktan sonra 0.2 g alınarak 800 µl 0.1 M fosfat tamponunda (pH:6.75) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hertz' te (Hz) homojenizasyon yapıldı. Homojenat 15.000 rpm'de 20 dakika ve 4 °C'de santrifüj edildikten sonra tüplerin üst kısmındaki sıvı kısım (süpernatant) protein tayini için kullanıldı.

Spektrofotometrik yöntemde kullanılacak grafiğin hazırlanması ise şu şekilde yapılır; 1 ml saf su içinde 1 mg protein içerek şekilde sığır serum albümin çözeltisi hazırlanır ve bu çözeltiden 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µg proteine denk gelecek hacimler tüplere aktarıldıktan sonra distile su ile tüplerdeki hacimler 0,2 ml'ye tamamlanır. Tüpler vortekslenir ve her bir tüp üzerine 3 ml Coomassie Brilliant Blue reaktifi ilave edildikten sonra tekrar vortekslenir. Şahit numune için ise 0,1 M fosfat tamponu ile 3 ml Coomassie reaktifi karıştırılır. Standart grafik ise spektrofotometre de 595 dalga boyundaki absorbans değerlerine karşılık gelen protein değerleri aracılığı ile elde edilir. Bitki yapraklarındaki protein miktarının belirlenmesi için ise her bir farklı uygulama

dozuna ve kontrole ait süpernatanttan 0,2 ml tüplere alınır ve üzerine 3 ml de Coomassie Brilliant Blue ilave edilir. Karışım vortekslendikten sonra 595 nm deki absorbans değerleri ölçülür ve standart grafik aracılığı ile örneklerdeki protein miktarı belirlenir. Gerekli hesaplamalar yapıldıktan sonra numunelerdeki protein miktarı mg protein/g doku olarak tayin edilir.



Şekil.3.1. Protein tayini için kullanılan standart grafik

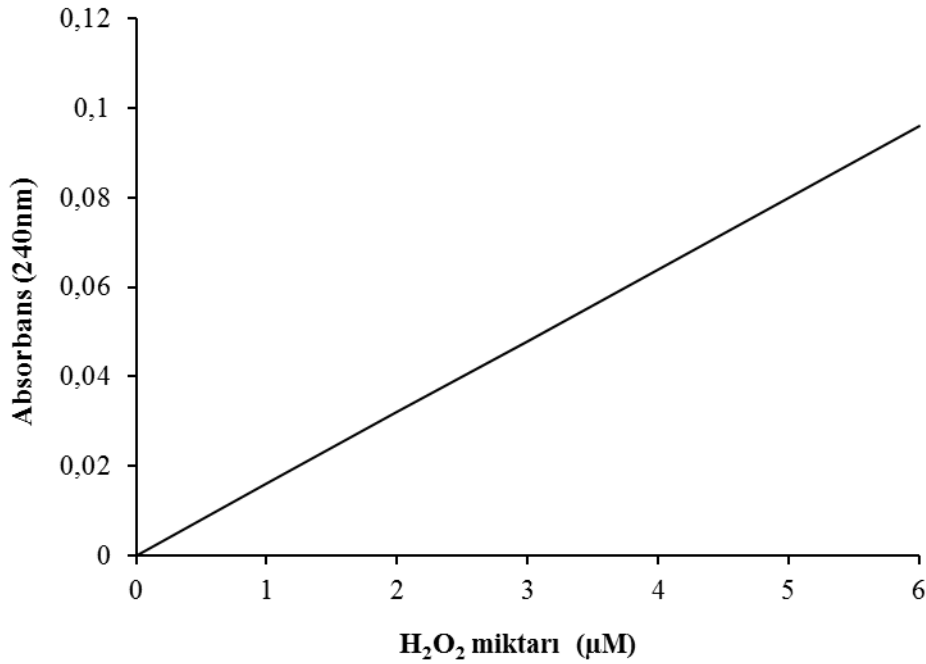
2.3.3. Katalaz (CAT) aktivitesinin tayini

0,2 gram yaprak örnekleri 0,1 M 1 ml fosfat tamponunda (pH: 6,75) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hz.de homojenize edildi. 15.000 rpm de 15 dakika ve 4°C de santrifüj edilen örneklerde sıvı üst faz enzim kaynağı olarak kullanıldı. Katalaz (CAT) ortamdaki H_2O_2 yi oksijen ve suya dönüştürür. Bu çalışmada kullanılan metot Gong *et al.* (2001)'ün bulduğu metot kullanılmıştır. Bu metot H_2O_2 'nin parçalanması esnasında 240 nm de meydana gelen absorbans farkının ölçülmesi ilkesini esas alır.

Örneklerdeki CAT aktivitesinin tespit edilmesi için standart grafiğin hazırlandı. Standart grafik şu şekilde hazırlanır; 3 ml'lik quartz spektrofotometre kuvetlerine 5 mM H_2O_2 çözeltisinden 0,15, 0,3, 0,45, 0,6, 0,75, 0,9, 1,05, 1,2, 1,35 ve 1,5 ml konulur daha sonra hacimler deiyonize su ile 1.5 ml' ye

tamamlanır ve her bir quartz küvete 103.5 mM 1.47 ml KH_2PO_4 tamponu ile 30 μl saf su ilave edilir. Spektrofotometrede 240 dalga boyunda absorbans şahit numuneye karşı okunur ve absorbans değerlerine karşılık gelen μM cinsinden H_2O_2 değerleri kullanılarak standart grafik elde edilir.

Örneklerdeki CAT aktivitesinin belirlenmesi için quartz küvetlere 103 mM 1.47 ml KH_2PO_4 tamponu ile 40 mM H_2O_2 substrat çözeltisinden 1,5 ml konulduktan sonra 25 μl süpernatant ilave edildi. Spektrofotometrede 1 dakika aralıklarla 3 dakika boyunca köre karşı absorbans değeri tespit edildi. Absorbansın doğrusal bir şekilde düştüğü aralıktan dakika başına absorbans azalması hesaplandı. Bu değerler hazırlanan standart grafik yardımı ile μmol olarak H_2O_2 miktarına dönüştürüldü. 1 dakikada 25 $^\circ\text{C}$ 'de absorbans değerini 1 μmol düşüren enzim miktarı 1 enzim ünitesi ($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ protein) olarak kabul edildi.



Şekil.3.2. Katalaz aktivitesi ölçümünde kullanılan standart grafik

2.3.4. Peroksidaz (POD) aktivitesinin tayini

0,2 gram yaprak örnekleri 0,1 M 0,9 ml Na_2HPO_4 tamponunda (pH: 5,5) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hz.de homojenize edildi. 15.000 rpm de 15 dakika ve 4 $^\circ\text{C}$ de santrifüj edilen örneklerde süpernatant enzim kaynağı olarak

kullanıldı. Peroksidaz enzim aktivitesinin ilkesi, substrat olarak guaikol ve H_2O_2 'nin kullanılması sonucu oluşan bileşiğin sebep olduğu absorbans artışının 470 nm'de izlenmesine dayanır (Yee *et al.* 2002).

Enzim aktivitesi tayini için quartz 3 ml'lik küvete; 100 ml 0,1 M Na_2HPO_4 içeren substrat çözeltisinden (5mM guaikol + 5mM H_2O_2) 3 ml alındı ve üzerine 40 µl süpernatant ilave edildi. 1'er dakika aralıklarla 5 dakika boyunca absorbans değerindeki artış kaydedildi ve absorbans değerinin doğrusal şekilde arttığı kısımdaki artış 1 dakika ile oranlandı. 1 dakikada, 25°C'de absorbans değerini 0.01 arttıran enzim miktarı 1 enzim ünitesi olarak kabul edildi. Sonuçlar, g yaprak üzerine düşen enzim ünitesi ($U \cdot mg^{-1}$ protein) olarak belirlendi.

2.3.5. Süperoksid dismutaz (SOD) aktivitesinin belirlenmesi

SOD aktivitesi tayinini süperoksit radikali ile Nitro Blue Tetrazolium (NBT) arasındaki redoks reaksiyonunun engellenmesi esasının spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Süperoksit anyonu Nitro Blue Tetrazolium'u (NBT) mavi renkli formazan'a indirger ve bu fotokimyasal bir reaksiyondur. Bu aşamada Süperoksit radikalinden NBT'ye elektron transfer edilir. SOD enzimi bu reaksiyonu engeller.

0,2 gram yaprak örnekleri 0,1 M 0.9 ml K_2HPO_4 tamponunda (pH: 7,8) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hz.de homojenize edildi. 15.000 rpm de 15 dakika ve 4°C de santrifüj edilen örneklerde süpernatant enzim kaynağı olarak kullanıldı. Süperoksit dismutaz aktivitesi için 3 ml hacmindeki spektrofotometre küvetine 2,58 ml reaksiyon çözeltisi ilave edildi. Reaksiyon çözeltisi; 50 mM KH_2PO_4 (pH: 7,8), 13 mM metiyonin, 63 µM NBT, 13µM riboflavin ve 0,1 mM EDTA içermektedir. Daha sonra üzerine 30 µl süpernatanttan alınıp küvete ilave edildikten sonra riboflavin çözeltisinden (13 µM) 390 µl alındı, karışım bekletilmeksizin vortekslendikten sonra beyaz ışık kaynağı önüne yerleştirildi. 15 dakika boyunca ışık kaynağının önünde bekletildi ve ışık kaynağı kapatılarak reaksiyonun durması sağlandı. Burada NBT'nin 15 dakika boyunca renk açılmasındaki yoğunluk şahit numuneye karşı okundu. Şahit (kör) numune karışımındaki bütün çözeltileri süpernatant (enzim kaynağı) hariç içerir. 1 enzim

ünitesi, 560 nm'de NBT redüksiyonunu % 50 inhibisyona uğratan enzim miktarı olarak kabul edilip değerler U.mg^{-1} protein olarak sunuldu (Agarwal and Pandey 2004; Yordanova *et al.* 2004).

2.3.6. Askorbat peroksidaz (APX) aktivitesinin tayini

0,25 gram yaprak örnekleri 0,1 M 1 ml K_2HPO_4 tamponunda (pH: 7,0) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hz.de homojenize edildi. 15.000 rpm de 15 dakika ve 4°C de santrifüj edilen örneklerde süpernatant enzim kaynağı olarak kullanıldı. Askorbat peroksidaz aktivitesi, APX enziminin 290 nm'de ki absorbans azalışı esasına dayanır (Nakano and Asada 1981). Enzim aktivitesinin tayini için 50 mM K_2HPO_4 250 askorbik asit ve 5 mM H_2O_2 (pH: 7,0) tamponu ile 20µl süpernatant içeren karışım 1 ml'lik spektrofotometrik küvetlerde 290 nm de ölçüldü. Askorbat peroksidaz aktivitesi, 290 nm'de askorbik asit için $2,8 \text{ mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$ epsilon katsayısının kullanılmasıyla hesaplandı. Sonuçlar U.mg^{-1} protein olarak ifade edildi.

2.3.7. Glutatyon redüktaz (GR) aktivitesinin tayini

0,2 gram yaprak örnekleri 0,1 M 1 ml K_2HPO_4 tamponunda (pH: 7,8) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hz.de homojenize edildi. 15.000 rpm de 15 dakika ve 4°C de santrifüj edilen örneklerde süpernatant enzim kaynağı olarak kullanıldı. Aktivite ölçümü, Foyer and Halliwell (1976) metoduna göre yapıldı. Bu metodun esası disülfid bağı içeren oksitlenmiş glutatyonun (GSSG), elektron vericisi olarak NADPH kullanan glutatyon redüktaz tarafından sülfidril grubu içeren Glutatyon'a (GSH) dönüştürülmesi esnasında NADPH oksidasyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır.

Enzim aktivitesi tayini için; 200 µl EDTA (0,5 mM) hazırlandı ve üzerine 50 mM Tris-HCl (pH: 7,8), 250 µl GSSG ile 500 µl NADPH eklendi ve karışım vortekslendikten sonra çözeltiye 50 µl süpernatant ilave edildi. NADPH oksidasyonu 5 dakika boyunca 340 nm de azalmanın ölçülmesiyle belirlendi. GR aktivitesi U.mg^{-1} protein olarak ifade edildi.

2.3.8. Lipit peroksidasyon (LPO) miktarının belirlenmesi

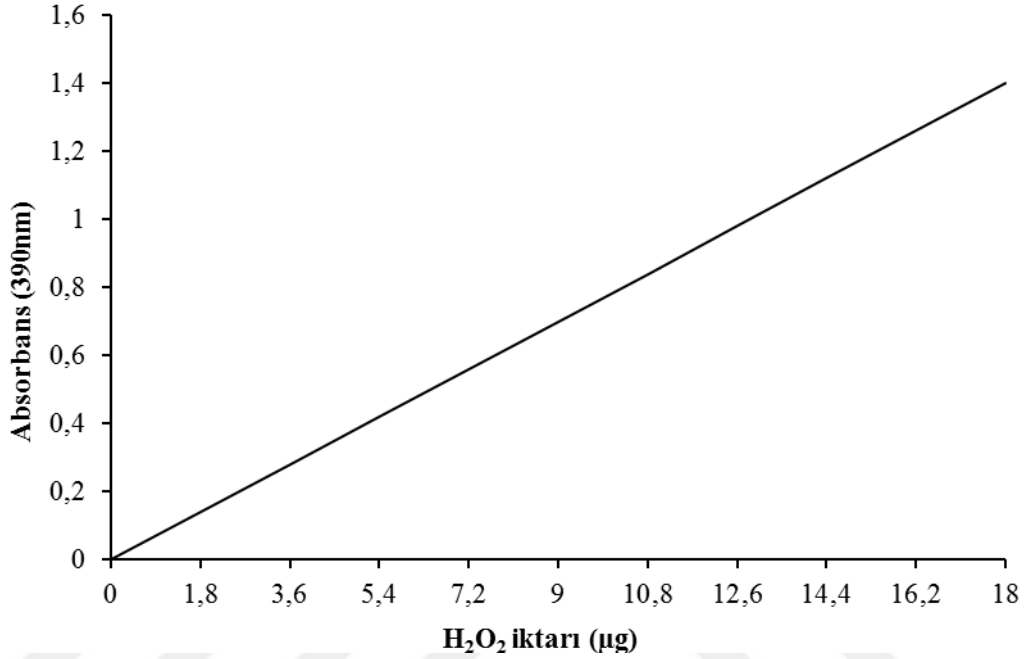
Lipid peroksidasyonunun belirlenmesi Heath and Packer (1968) metodunda ufak bir değişiklik yapıldı. LPO için 0,2 g yaprak dokusu alınarak % 0,1'lik 1,2 ml TCA (Trikloro asetik asit) içinde homojenizatörde 10 dakika 30 Hz. de homojenize edildikten sonra homojenat santrifüjde 12500 rpm' de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttan 500 µl alındı ve üzerine 1 ml %0,5'lik thiobaritirik asit (TBA) çözeltisi ilave edildi. Tüpler 40 dakika boyunca kaynar suda inkübasyona bırakıldıktan sonra buz alınıp reaksiyon durduruldu. Örnekler 12.000 rpm'de 5 dakika ve 4°C 'de santrifüj edildikten sonra mikrolpaka küvet spektrofotometresi ile 532 nm'de absorbans değeri ve 600 nm de spesifik olmayan absorbans için absorbans değeri okundu. Lipid peroksidasyonunun ölçülmesi; 532 nm de okunan absorbans değerinden 600 nm'de okunan absorbans değeri çıkarıldı ve 1 ml çözeltideki Malondialdehit (MDA) (nmol/µl): [(A532-A600)/155000] X 10⁶ formülüyle hesaplandı. Sonuçlar MDA (nmol. g⁻¹ doku) şeklinde verildi.

2.3.9. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Bitki yapraklarında H₂O₂ miktarı tespiti için Velikova *et al.*(2000)'ün metodu az modifiye edilerek kullanılmıştır. 0,2 g yaprak örnekleri alındı ve 1,2 ml 4°C % 0,1 TCA içinde 10 dakika ve 30 hz. de homojenize edildikten sonra karışım 12.500 rpm de 15 dakika boyunca santrifüj edildi. Tüplerden alınan süpernatantın 500 µl'sine 0,5 ml 10 mM KH₂PO₄ (pH: 7,0) tamponundan ve 1 ml KI çözeltisi ilave edildi. Absorbans değerlerinin tespiti için mikrolpaka küvet spektrofotometresi kullanıldı ve ölçüm 390 nm'de yapıldı. Elde edilen sonuçlar standart grafik ile oranlanıp gram doku başına düşen H₂O₂ miktarı (µg.g⁻¹ doku) olarak hesaplandı Absorbans değerleri 390 nm'de ölçölüp kaydedildi. Sonuçlar standart grafikle oranlanarak g doku başına düşen H₂O₂ miktarı (µg.g⁻¹ doku) olarak hesaplandı.

H₂O₂ 'nin standart grafiğini hazırlamak için, Hidrojen peroksit çözeltisinden farklı tüplere sırasıyla 0, 3, 6, 7.2, 10.8, 14.4, ve 18 mikrogram H₂O₂ olacak şekilde hesaplama yapılp aktarım yapıldı. Son hacim 10 mM KH₂PO₄ (pH: 7,0) tamponu ile 1 ml'ye tamamlandı. Daha sonra tüplere 1 ml KI eklenip

390 nm’de absorbans değerleri şahit numuneye karşı okundu. Absorbans değerlerine karşılık gelen mikrogram H₂O₂ değerleri kullanarak standart grafik elde edildi.



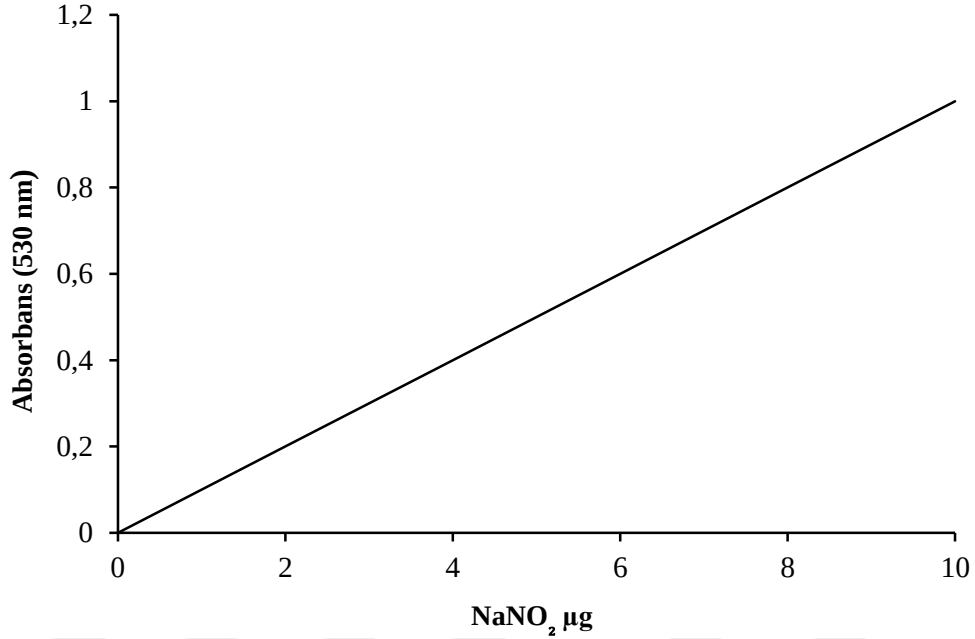
Şekil 3.3. H₂O₂ ölçümünde kullanılan standart grafik

2.3.10. Süperoksit (O₂⁻) miktarının belirlenmesi

Superoksit anyon içeriği Elnster and Heupel (1976) tarafından belirtilen metota küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Arpa bitkisi yapraklarından 0.2 g alındı ve 0,9 ml K₂HPO₄ (pH: 7.8) tamponu ile homojenizatörde 10 dakika boyunca 30 hz. de homojenize edildi. Homojenat 12 dakika 12500 rpm ‘de ve 4°C ‘de santrifüj edildikten sonra 350 µl süpernatant içeren ependorf tüplerine 35 µl 10 mM Hidroksilamin Hidroklorit eklendi.

Vorteks ile karıştırılan tüplere daha sonra 315 µl K₂HPO₄ tamponu eklendi (pH: 7,8). 60 dakika boyunca 25°C’de inkübasyona bırakılan örneklerden 350 µl alınıp sırasıyla 350 µl 17 mM Aminobenzen Sülfonik Asit ve 17 mM 350 µl α-naftilamin eklendi. Bu işlemten sonra çözelti oda sıcaklığında 20 dakika inkübasyona bırakıldı ve 530 nm’de mikropilaka küvet spektrofotometresi ile

spesifik absorbens değerleri belirlendi. Süperoksit anyonu içeriğini hesaplamak için NaNO_2 kullanılarak standart grafik hazırlandı. Sonuçlar $\text{nmol. min}^{-1}.\text{g}^{-1}$ doku olarak belirlendi.



Şekil.3.4. Süperoksit anyon ($\text{O}_2\cdot^-$) miktarını belirlemede kullanılan standart grafik

2.3.11. Fotosentetik Pigment miktarının belirlenmesi

Bitkideki klorofil a, klorofil b, karotenoid ve toplam pigment miktarlarını belirlemek için Withem *et al.* (1971) tarafından belirlenen metot kullanıldı. Arpa yapraklarından alınan 0,2 gram örnek % 80'lik 4°C'de 1.5 ml asetonda çözüldükten sonra homojenizatörde 10 dakika 30 Hz. de homojenize edildi ve son hacmi % 80'lik aseton ile 8 ml'ye tamamlandı. Homojenat 3500 rpm de, 7 dakika ve 4°C'de santrifüj edildikten sonra süpernatant alınıp mikropilaka küvet spektrofotometresi kullanılarak 450, 645 ve 663 nm 'de absorbens değerleri okundu.

Üç farklı dalga boyundan elde edilen sonuçlar aşağıda belirtilen eşitlikler aracılığı ile bitki yaprak dokusunun 1 g'da bulunan klorofil a, klorofil b, total klorofil ve karotenoid miktarları mg/doku olarak hesaplandı.

mg/klorofil a/g doku= $((12,7*(D663)-2,69*(D645)).(V/1000*W)$

mg klorofil b/g doku= $((22,9(D645)-4,68*(D663)).(V/1000*W)$

mg toplam klorofil/g doku= $((20,2*(D645)+8,02(D663)).(V/1000*W)$

mg toplam karotenoid / g doku= $(4,07*D450)-(0,0435*kl\ a\ miktarı +0,367*kl\ b\ miktarı)$

Eşitliklerde;

D: Klorofil ekstraktının belirtilen dalga boylarındaki absorbans değerini,

V: %80'lik asetonun son hacmini,

W: Ekstre edilen dokunun gram olarak yaş ağırlığını göstermektedir.

2.3.12. SDS-Poliakrilamid jel elektroforezi (SDS PAGE)

0,2 gram yaprak örnekleri 0,1 M 0,8 ml K_2HPO_4 tamponunda (pH: 6,75) homojenizatör ile 10 dakika 30 Hz.de homojenize edildi. 15.000 rpm de 15 dakika ve 4°C de santrifüj edilen örneklerde süpernatant enzim kaynağı olarak kullanıldı. Bitki yapraklarındaki protein profilinin tespiti için sodyum dodesilsülfat poliakrilamid jel elektroforezinde (SDS-PAGE) Laemmli (1970) yöntemi kullanıldı. Elektroforezin cam plakaları sırasıyla saf su ve alkol ile iyice yıkandı. Cam plakalar tamamen kuruduktan sonra bir birlerinin üstüne konuldu ve jel hazırlama cihazına kısıkaçları yardımıyla yerleştirildi. İki cam plaka arasına ince uçlu bir pipet yardımı ile ayırma jeli aktarıldıktan sonra jel üst yüzeyinin düzgün olması için birkaç ml izopropanol ilave edildi ve jelin polimerleşmesi beklenildi.

Yaklaşık 30 dakika sonra polimerleşme reaksiyonu gerçekleşen ayırma jelinin üzerindeki izopropil alkol saf su ile jele zarar verilmeden yıkanıp uzaklaşması sağlandı ve suyun kuruması içinde steril kurutma kağıtları yine jele zarar vermeden iki cam plaka arasına yerleştirildi. Daha sonra yağma jeli üst yüzeye kadar ilave edildi ve elektroforez cihazına ait taraklar hassas bir şekilde yerleştirildi. 45 dakika sonra taraklar jele zarar vermeden çok hassas bir şekilde çıkarıldı ve cam plakalar elektroforez tankına yerleştirildi. Jel kuyucuklarına 35 µl 1:1 oranında hazırlanan süpernatant ve örnek uygulama tamponundan oluşan karışım ilave edildi jelin üst kısmı tank tamponu ile yıkandı. Elektroforez tankının iç kısmı tamamen dış kısmı da tankta işaretli olan seviyeye kadar tank yürütme

tamponu ile dolduruldu. Tank kapağı kapatılarak (+) kablo (Anot) ve (-) kablo (katot) yerleştirildi. Önce 77 voltluk akım yarım saat geçirildi. Daha sonra akım 115 volta ayarlanarak yaklaşık 2 saat 4°C’de tatbik edildi. Akım kesilerek, cam plakalar arasındaki jel dikkatlice çıkarıldı. Yığma jeli hazırlanması sırasında 1 M’lık Tris-HCl (pH: 6,8)’den 380 µl, %30’luk akrilamid-%0,8’lik bisakrilamid’den 400 µl, %10’luk SDS’den 30 µl, %5’lik TEMED’den 3 µl, ve saf sudan 2,2 ml alınarak karıştırıldı. Son olarak yine günlük hazırlanmış %10’luk amonyum persülfat (NH₄)₂S₂O₈ (PER)’den 30 µl ilave edildi. Ayırma jeli şöyle hazırlandı: 2,03 ml 1M Tris-HCl (pH: 8,8), 2,67 ml %30’luk akrilamid, %0,8’lik bisakrilamid, 80 µl %10 SDS, 3,2 µl %5’lik TEMED (N,N,N’,N’-tetrametil etilen diamin) ve 3,15 ml su karıştırıldı. Bu karışımın üzerine en son olarak 80 µl %10’luk PER ilave edildi. Burada kullanılan PER kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlandı.

2.3.13. İstatistiksel analiz

Tez içerisinde sunulan sonuçlar ($\pm$ SE), her bir uygulamadan üç örnek (3 paralel) ve her bir örnekten 2 tekrür yapıldıktan sonra elde edilen 6 değer in ortalamasıdır. Sonuçların karşılaştırılması, SPSS 15 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılmış $p < 0.05$ önem seviyesinde Duncan’ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak belirlenmiştir.

3. KURAMSAL TEMELLER

3.1. Reaktif Oksijen Türleri

Elektronlar atomlarda orbital adı verilen bölgede çiftler halinde bulunurlar. Moleküllerin büyük bir çoğunluğu çift elektronludur; fakat az miktarda da olsa atomik ya da moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla elektron taşıyan moleküller de vardır ve bunlara serbest radikal denilir. Molekül ağırlığı düşük ve kararsız olan bu moleküller diğer moleküllerle çok kolay bir şekilde elektron alış verişi yapabilir. Diğer molekülün yük durumuna göre ondan ya elektron alır ya da elektron vererek kararlı hale geçmeye çalışan bu moleküller organizma için zararlı etkilere sahip olabilir. Bu radikallere reaktif oksijen partikülleri (ROP) de denilmektedir (Halliwell 1995). Yüksek aktivite gösteren serbest radikaller, kirli havalarda, radyasyonla, bitki koruma ilaçları nedeniyle veya normal metabolik faaliyetler sonucu da oluşabilir (Mehdy 1994). Serbest radikaller oksidatif fosforilasyon sonucu canlı hücrelerinde üretilerek; hücre ölümlerine, DNA ve protein hasarına ve lipid peroksidasyonuna neden olurlar (Çaylak 2011).

3.2. Bitkilerdeki Başlıca Serbest Radikaller

Serbest Radikaller yaşam için gereklidir. Elektron Transferi, enerji üretimi ve birçok farklı metabolik faktörlerde rol alırlar. Fakat reaksiyon kontrolsüz bir şekilde oluşur ve devam ederse hücrede çok çeşitli şekillerde hasarlar hatta hücre ölümleri meydana gelebilir (Coffey *et al.* 1995). Reaktif Oksijen Partikülleri (ROP) yükseltgenme-indirgenme olayları sırasında kloroplast, mitokondri gibi hücre organellerinde elektron taşınımı sonucu meydana gelmektedirler (Mittler 2002). Büyük ROP kaynakları; peroksidazlar, aminooksidazlar, NADP oksidazlar, mitokondri, kloroplast gibi çok farklı kaynaklar olabilir. Serbest radikaller genel bir tasnifle ile Radikaller, Radikal Olmayanlar ve Singlet Oksijen olarak sınıflandırılabilir (Wright *et al.* 2002).

3.3. Serbest Radikallerin Sınıflandırılması

Organizmada birçok ROP oluşabilir (Çizelge 3.1.). Bu parçacıklar çok çeşitli şekillerde meydana gelebilir. Doymamış yağ asitlerinden bir hidrojen kopması sonucu lipid radikali meydana gelir. Oksijen'in lipid radikaliyle reaksiyona girmesi sonucu Lipit Peroksi radikalleri oluşur. Lipit Peroksi radikalleri de diğer lipidlerle zincir reaksiyonlarına girerek Lipit Hidroperoksitleri oluşturur. Demir ve Bakır gibi iyonlarda bu süreci hızlandırır. Hidrojen peroksit membrandan kolayca geçip fizyolojik etkiler gösterebilir fakat yapısında çiftlenmemiş elektrondan yoksun olduğu için radikal olarak sınıflandırılmaz. Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Diğer ROP grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan Singlet Oksijen (1O_2) bulunmaktadır (Krause 1994).

Çizelge 3.1. Reaktif Oksijen Partiküllerinin Sınıflandırılması

Radikaller	Radikal Olmayanlar	Singlet Oksijen
Süperoksit radikal (O_2^-)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)	Singlet oksijen (1O_2)
Hidroksil radikal (OH^-)	Lipid hidroperoksit (LOOH)	
Alkoksi radikal (RO^-)	Hipoklorik asit ($HClO^-$)	
Peroksil radikal (LOO^-)		

3.3.1 Süper Oksit radikali ($O_2^{\cdot-}$)

Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) tüm oksijenli solunum yapan organizmalarda yüksüz oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile oluşan bir anyon olup enzimatik ve nonenzimatik yollarla oluşabilir. Bitkilerde Fotosistem I ve II de aktif olan Ferrodoksin oksijen molekülüne bir elektron vererek oksijenin indirgenmesine neden olur. Ayrıca mitokondri de elektron sızıntıları sonucunda da üretilir. Süperoksit, hücre içinde farklı radikallerin oluşum mekanizmalarını da tetikleyebilir. (Alscher *et al.* 1997; Arasimowicz *et al* 2009). Süperoksit radikali hücre içerisinde hem yükseltgen hem de indirgen gibi davranabilir; elektron vererek moleküler oksijene dönebileceği gibi bir elektron daha alarak peroksit

anyonu da olabilir. (Halliwell 1981). Süperoksit anyonu yüksek reaktiviteye sahiptir ve bundan dolayı lipit peroksidasyonundan hücre zarı hasarına, hücrede toksik etkilerden DNA molekülünde zincir kırıklarına kadar geniş bir olumsuz etki alanı olduğu rapor edilmiştir. Aslında radikalın doğrudan zararı yok denilecek kadar azdır; ama hidrojen peroksit kaynağıdır ve geçiş metallerine elektron verebilir. Süper oksit radikali hidrojen peroksitle demir ve bakır gibi elementlerin katalizörlüğünde reaksiyona girerek hücresel düzeyde toksisitesi oldukça fazla olan Hidroksil radikal ($\text{OH}^\cdot$) üretilmesine sebep olabilir ki bu reaksiyon aynı zamanda -Weiss reaksiyonu olarakta bilinir (Halliwell 1981; Fridovich 1995).

3.3.2 Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, moleküler oksijenin iki elektron alarak redükte olmasıyla veya süperoksitin parçalanmasıyla oluşur ve demir bakır gibi metal varlığında $\text{OH}^\cdot$ radikalinin öncül maddesidir. Özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek yüksek oksidasyon aktivitesine sahip demir formlarını oluşturur. Bu yapıdaki demirin oksitleyici özelliği yüksek düzeyde olup hücre membranında lipit hidroperoksidasyon tepkimelerini başlatabilir. Yüksek düzeyde toksisiteye sahip olan reaktif, DNA hasarlarına, proteinlerin tersiyer yapılarının bozunmasına ve tiyol içeren tiyooerodoksin gibi yapıların bozunmasına neden olur. Tiyol oksidatif stres oluşumunun engellenmesinde çok önemli bir görev üstlenen sülfidril grubu içeren organik yapıları bir bileşiktir. (Hagar *et al.* 1996; Becker *et al.* 1999; Chianeh and Prabhu 2014). Süperoksit anyonu hem enzimatik hem de enzimatik olmayan yolla parçalanıp H_2O_2 oluşturur. Süperoksit Dismutaz enzimi, anyonu enzimatik yollarla parçalarken; hafif asidik ve nötral pH'larda ise süperoksitin yıkımı kendiliğinden gerçekleşir. Ayrıca peroksizomlar, elektron transport sistemi, plazma membranı gibi süperoksit anyonunun önemli ölçüde meydana geldiği yerlerde hidrojen peroksitte üretilir. Radikalın önemli miktarda üretildiği bir diğer yerde fotorespirasyon esnasında glikolik asidin bir alfa-keto asit olan glioksilik aside dönüşmesi sırasında peroksizomlarda meydana gelir. (Mittler *et al.* 2004; Slesak *et al.* 2007). Yüksüz bir molekül olan hidrojen peroksit zayıf bir asittir; ama oksidasyon özelliğine sahiptir ve difüzyonla yer değiştirebilir.

Hidrojen peroksitin paylaşılmamış elektronu olmadığından radikal olmayan bir bileşiktir; fakat çeşitli metal iyonlarının varlığında hidroksil radikalının öncülü olarak görev yapar ki serbest oksijen radikalleri içersinde en yüksek düzeyde toksik etkiye sahip olan bileşik hidroksil radikalidir. (Halliwell 1981). H_2O_2 'nin parçalanma ürünleri H_2O ve O_2 olup parçalanma çeşitli enzimler tarafından ortamdan uzaklaştırılması gerçekleştirilebilir (Gechev *et al.* 2002).

3.3.3 Lipid hidroperoksit (LOOH)

Reaktif oksijen partikülleri hücrenin lipit, protein, karbohidrat gibi makro ve temel bileşenleri üzerinde negatif etkilere sahiptir. ROP lar çoklu doymamış yağ asitleriyle kolayca tepkimeye girebilirler. Lipit peroksidasyonu aktif oksijen türleriyle doymamış yağların açıl grubu arasında meydana gelen reaksiyonlardır. Bu esnada serbest bir radikalde oluşmaktadır. Peroksidasyonda hücre ve organel membranlarının fosfolipidlerinin yapısında bulunan poliansatüre yağ asitleri okside olur ve bu nedenle hücrenin yapı ve fonksiyonu da değişir (Thomasow 1999; Derviş 2011). Lipit hidroperoksidasyonu organizma için risk teşkil eder; çünkü zincir reaksiyon şeklinde kendiliğinden devam edebilen bir yapıya sahiptir. Lipit peroksidasyonu (LPO) nedeniyle oluşan hücre zarı hasarı tersinmez olup organizmada peroksidasyonu başlatan serbest radikallerin süperoksit anyonu ile hidroksil radikali olduğu kabul edilir. Serbest radikaller poliansantüre yağ asidi zincirindeki α - metilen gruplarından bir hidrojen koparması ile lipit peroksidasyonu başlar. Bu yeni oluşan yağ asidi radikal özelliği kazanır. Yağ asidi radikali aktif moleküler oksijenle tepkimeye girerek kararsız lipit peroksit radikalini oluşturur. Bileşik kararlı yapıya gelmek için reaksiyon esnasında açığa çıkan hidrojen atomları ile reaksiyona girer ve lipit hidroperoksitleri oluşturur. Ayrıca lipit peroksit radikali, hücre ve organellerin yapısında bulunan zardaki diğer çoklu doymamış yağ asidi zincirlerini etkiler (Akkus 1995; Spiteller 2000). Lipit hidroperoksitlerin degradasyonu sonucu biyoreaktif alehitler meydana gelir. Alehitler hücre içerisinde metabolize olabilecekleri gibi difüzyon yoluyla hücrenin farklı organellerinede zarar verebilirler. Üç ve daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu malondialdehit (MDA) bileşiği meydana gelir. MDA sadece lipit hidroperoksidasyonuna özgü oluşan bir bileşik değildir;

fakat LPO ile arasında doğru bir orantı söz konusudur. Bundan ötürü LPO seviyesini ölçmek için MDA düzeyi genelde kullanılır. Bileşik aynı zamanda membran bileşenlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmasına neden olabilir. Malondialdehit tiyobarbutirik asit ile pembe renkli yapılar meydana getirir ve MDA düzeyi ile renk koyuluğu arasında doğru orantı söz konusudur. Oluşan çözeltinin absorbans değerinin ölçülmesi ile organizamada meydana gelen LPO'nun derecesi saptanabilmektedir (Aebi 1984; Dascher *et al.* 1996).

3.4. Antioksidan Enzimler

3.4.1. Superoksit Dismutaz (SOD) (EC 1. 15. 1. 1)

SOD bir oksido-redüktazdır. Uluslararası Enzim Komisyonu numarası (EC) 1.15.1.1 dir. SOD organizmanın oksidanlara karşı savaşan ilk enzimidir ve yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve yapısında bir veya daha fazla metal bulundurabilir. Süperoksit radikalının Hidrojen Peroksit'e dismutasyonunu gerçekleştirirler.



Yukarıdaki reaksiyon bütün aerobik canlılarda ve bazı anaerobik canlılarda gerçekleşir. Enzim, aktif metal iyonunun pozisyonuna, aminoasit ünitelerinin formlarına, alt ünitelerinin sayısına ve kofaktörlerine bağlı olarak farklı izoformlara sahiptir. SOD içerdiği metal iyonuna göre farklı gruplara ayrılır. Bunlar Cu/Zn-SOD, Mn-SOD ve Fe SOD olmak üzere üç farklı gruptur. Cu/Zn-SOD sitoplazma ve kloroplastlarda, Fe-SOD kloroplast ile stromalarda ve Mn-SOD mitokondrilerde bulunur. SOD Bazı anaerobik canlılardan da izole edilmiştir. SOD'un tüm formları çekirdek tarafından kodlanır ve amino grup ucunun işaretlenmesi ile de gideceği hücre kompartımanı belirlenir (Marklund 1982; Moller 2001; Blokhina *et al* 2003). SOD, Mann and Keilin (1938) tarafından izole edilmiştir. Katalizleme özelliği ise McCord and Fridovich (1969) tarafından keşfedilmiştir. Bu sürece kadar indofenoloksidaz, tetrazoliumoksidaz, eritrocuprein gibi farklı isimlerle anılmıştır.

Haber-Weiss reaksiyonlarında süperoksit iyonu hidrojenperoksit ile reaksiyona girerek hidroksil radikalinin oluşmasına neden olur, SOD, süperoksit iyonunu bertaraf ederek bu reaksiyonun oluşma riskini azaltır. SOD'un organizmadaki düzeyi genelde oksidan stresine karşı artış şeklindedir (Bowler *et al.* 1991; Bowler *et al.* 1994).

3.4.2. L- Askorbat Peroksidaz (APX) (EC 1. 11. 1. 11)

L- APX bir oksido-redüktaz enzimi olup EC numarası 1. 11. 1. 11 dir. yüksek bitkilerden algelere kadar pek çok farklı türde bulunur. Kloroplastlarda stromatal sAPX, tilakoid membrana bağlı tAPX, peroksizom membranına bağlı mAPX, sitozolik cAPx ve mitokondri membranına bağlı olarak mitAPX bulunmuştur. APX iki molekül askorbat ile beraber hidrojen peroksiti suya dönüştürür ve reaksiyon sonucunda monodehidro askorbat (MDHA) açığa çıkar. Askorbatın dışında bazı aromatik substratlarında oksidasyonunu katalizler; ama enzimin fizyolojik substratı askorbattır (Chen and Asada 1989).



Askorbatın MDHA'ya dönüşümü reversible bir olaydır ve monodehidroaskorbat redüktaz enzimi MDHA'yı yeniden askorbata dönüştürür. (Kumar *et al* 2011) Sitoplazmada bulunan cAPX, sAPX'e benzer; ancak askorbik asit eksikliğinde kararlılık seviyesi daha yüksektir ve farklı elektron vericilerini de kullanabilir. (Ranieri *et al.* 1996). APX ler guaikol peroksidazlara benzer; ama H⁺ vericisi olarak askorbik aside karşı yüksek afinite göstermelerinden dolayı guaikol peroksidazlardan farklılık gösterirler (Nakano and Asada 1981).

3.4.3. Katalaz (CAT) (EC 1. 11. 1. 6)

CAT enzimi oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını katalizleyen oksido-redüktaz grubuna ait olup EC numarası EC 1. 11. 1. 6 dir. Enzim, aerobik mikroorganizmaların tamamında, omurgalı ve omurgasız canlılarda, bitki ve mantarlardan da izole edilmiştir. H₂O₂' yi bir ara ürüne dönüştürdükten sonra H₂O ve O₂' ye parçalayan önemli bir enzimdir. İlk basamakta ara ürün olarak katalaz- H₂O₂ oluşmakta daha sonra da Hidrojen Peroksit, su ve moleküler oksijene

parçalanmaktadır CAT enziminin aktif bölgesindeki hem (demir + porfirin grubu) grubunda hem grubu Fe^{+3} atomu içerir. Reaksiyon hızı oldukça yüksek olan CAT yaklaşık her birinde 500 aminoasit olan 4 polipeptit zincirinden oluşur (Bergmeyer *et al.* 1983; Baskin and Salem 1997). Katalaz enziminin en önemli fonksiyonu hücre ve organel membranında oluşabilecek tersinmez hasarları minimize etmektir. Bunu da hidrojen peroksit ve lipit hidroperoksit gibi bileşenlerin radikalliğine giderme etkisiyle yapar. Hidrojen peroksit, singlet oksijen ve hidroksil radikalının potansiyel kaynağıdır (Scandalios 1993; Chaudiere and Ferrari 1999). Katalaz, kararlı bir yapıya sahip değildir. Çeşitli stres faktörlerine maruz kalan organizmada oluşan yüksek konsantrasyonaki hidrojen peroksit ile inibe edilebilir. (Streb *et al.* 1993). CAT'ın sadece peroksizom ve çok az miktarda da mitokondri matriksinde bulunması ve hidrojen peroksitle olan zayıf ilgisi nedeniyle etkinlik düzeyi düşüktür. Askorbat, glutatyon, vitamin E ve K CAT'ın koruyucu özelliğini arttırmırlar (Asada 1992; Scandalios 1993).

3.4.4. Glutatyon Redüktaz (GR) EC 1. 6. 4. 2

GR oksido-redüktaz grubu enzimlerinden olup EC numarası 1.6.4.2 dir. Glutatyon peroksidaz (GPX), Glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG,) oksidasyonunu katalize eder. Glutatyon redüktaz (GR) ise okside glutatyonun (GSSG) glutatyona (GSH) indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir (Bozdemir 2007). GR askorbat döngüsünde önemli bir enzim olup, indirgenmiş hücresele GSH'ın hücrede yeterli seviyede kalmasını sağlar. Enzim, bu işlemi yaparken NADPH'ı elektron verici olarak kullanır (Ranieri *et al.* 2005; Maher *et al* 2008).



GR farklı enzimlerle beraber H_2O_2 'nin zarar verici etkilerinin ortadan kaldırılmasında görev alırken, dehidroaskorbatın (oksitlenmiş askorbik asit) askorbata indirgenmesi esnasında açığa çıkan GSSG'nin tekrar GSH'a indirgenmesini katalizler. Böylece hücresele GSH/GSSG oranının yüksek düzeyde kalmasını sağlar.

Bunun yanında GR, elektron verici olarak NADPH'ı kullandığından dolayı CO₂ fiksasyonu azaldığı zamanlarda NADPH/NADP⁺ oranının dengede kalmasına katkıda bulunur (Aono *et al.* 1995; Creissen *et al.* 1996).

3.4.5. Peroksidaz (POD) (EC 1.11.1.7)

Oksido-redüktaz enzim ailesine mensup olan Peroksidaz (POD) 'ın EC numarası 1.11.1.7 dir. POD enzimi, Süperoksit dismutaz ve Katalaz ile beraber koordineli çalışarak radikal oksijen parçacıklarının temizlenmesinde önemli görevler üstlenen, HEM prostetik grubuna sahip bir enzimdir (Banci 1997; Kim *et al.* 2000). POD H₂O₂ 'yi suya parçalarken bu esnadan hidrojen verici olarak fenoller ve hidrokinonlar gibi aromatik bileşenlerin dehidrojenizasyonunu sağlar, ayrıca inorganik substratları da kullanabilir (Bergmeyer *et al.* 1983). Bitki peroksidazlarında, enzim kararlılığına protein kısma bağlanan glikoproteinler önemli derecede rol alır ve glikoproteinlerin karakterize edilmesini sağlayan unsurda oligosakkarit zincirleridir (Hu and Huystee 1989). Fizyolojik birçok olayda rol alan peroksidazların organizmada önemli ve aktif görevleri olduğu belirtilmiş olup genel olarak stres faktörlerine maruz kalan bitkilerde POD aktivitesinin arttığı bildirilmiştir (Asada 1992; Durmuş ve Kadioğlu 2005). POD, kötü çevresel şartlardan ötürü oluşan reaktif oksijen türlerinin hücresel seviyesinin minimize edilmesinde çok önemli görev alır. Molekül ağırlıkları 35 ile 100 kDa arasında değişen enzimin hidrojen vericisi olarak aşağıda şematize edildiği gibi organik veya anorganik substratları kullandığı bilinmektedir (Bakardjieva *et al.* 1996).



POD izoenzimlerinin mekanizmaları tam olarak aydınlatılamasa da oksin yıkımında, hücre membranı proteinlerinin bağlanması ve pektinin çapraz bağlanması gibi birçok metabolik reaksiyonda görev aldığı bilinmektedir (Whetten *et al.* 1998; Amaya *et al.* 1999; Rout *et al.* 2000).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmamızda uygulama yapılacak olan SDS'nin en uygun konsantrasyonlarını bulmak için literatür verilerinden yararlanarak ön çalışmalar yapılmıştır. Ön çalışmalar da ilk olarak 0.5, 1, 1.5 ve 2 mM SDS uygulanmıştır. 4 farklı SDS dozu içeren gruplar oksijen pompaları ile sürekli havalandırılan Hoagland besi yerinde yetiştirilmiştir. Şekil 4.1 ve 4.2 de görüldüğü gibi 1 mM, 1.5 mM ve 2 mM SDS dozlarının kök ve koleptil uzunluklarında benzer etkiler gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca 0.5 mM SDS dozunun arpa bitkisinin kök ve koleptil uzunluklarına ciddi anlamda zararlar verdiği tespit edilmesiyle beraber 0.5 mM SDS dozundan daha düşük dozlarında arpa bitkisine zarar verebileceği düşünülmüştür. 0.5 mM SDS dozundan daha düşük dozların bitkiye uygulanmasının nedeni arpa bitkisine zarar veren en düşük SDS dozunun tespit edilmesidir.

Oksijen pompaları ile sürekli havalandırılan Hoagland besi yeri içeren arpa bitkisinin gelişme ortamına 0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulanmıştır. 12 gün boyunca yetiştirilen bitkilerin üzerinde SDS kaynaklı kök-gövde indirgenmesi sonuçlarına bakılarak en düşük doz tespit edilmiştir.

Ön çalışmalar neticesinde 0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS konsantrasyonlarının bitki üzerinde meydana getirmiş olduğu değişim fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerle belirlenmeye çalışılmıştır (Şekil 4.3 ve 4.4).



Şekil 4.1. Hasat öncesi (0.5, 1, 1.5 ve 2 mM SDS uygulamaları)

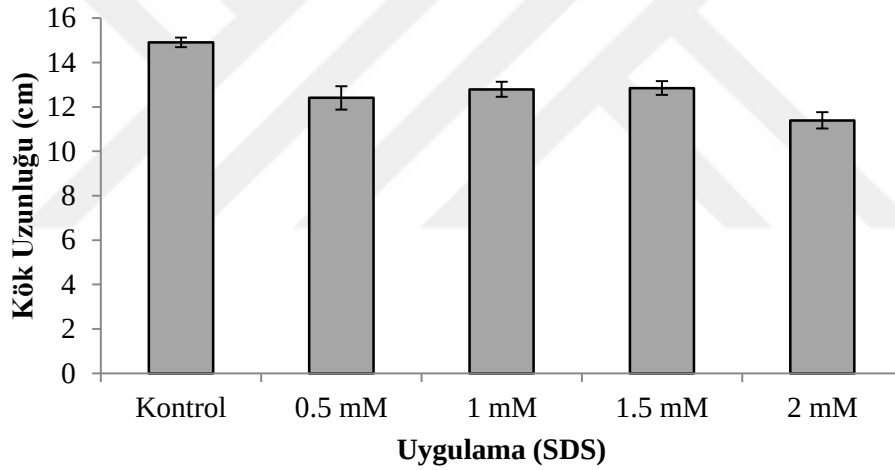


Şekil 4.2. Hasat sonrası (0.5, 1, 1.5 ve 2 mM SDS uygulamaları)

Çizelge 4.1. Konsantrasyon aralığı belirlemek için yapılan ön denemelerin kök uzunluğu sonuçları

Uygulamalar	Kök Uzunluğu (cm)
Kontrol	14.91 ± 0.2149a
0.5 mM SDS	12,41 ± 0.5252bc
1 mM SDS	12,79 ± 0.3396b
1.5 mM SDS	12,85 ± 0.3134b
2 mM SDS	11,39 ± 0.3695c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.

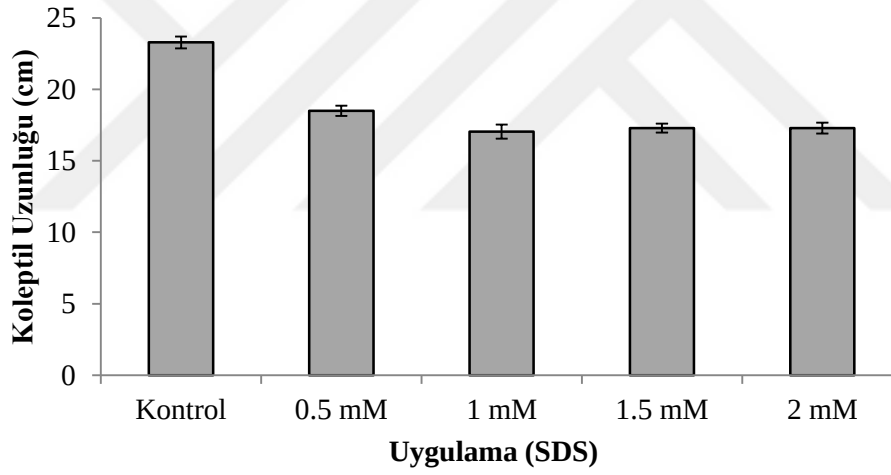


Şekil 4.3. Konsantrasyon aralığı belirlemek için yapılan ön denemelerin kök uzunluğu üzerine etkisi

Çizelge 4.2. Konsantrasyon aralığı belirlemek için yapılan ön denemelerin koleptil uzunluğu sonuçları

Uygulamalar	Koleptil Uzunluğu (cm)
Kontrol	23.29 ± 0.4202a
0.5 mM SDS	18.50 ± 0.3535b
1 mM SDS	17.04 ± 0.4902c
1.5 mM SDS	17.32 ± 0.3131c
2 mM SDS	17.29 ± 0.3831c

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.4. Konsantrasyon aralığı belirlemek için yapılan ön denemelerin koleptil uzunluğu üzerine etkisi



Şekil 4.5. Hasat öncesi (0.1, 0.2, 0.3 0.4 ve 0.5 mM uygulamaları)



Şekil 4.6. Hasat sonrası (0.1, 0.2, 0.3 0.4 ve 0.5 mM uygulamaları)

4.1. Ortalama Kök-Gövde Uzunluğu Sonuçları

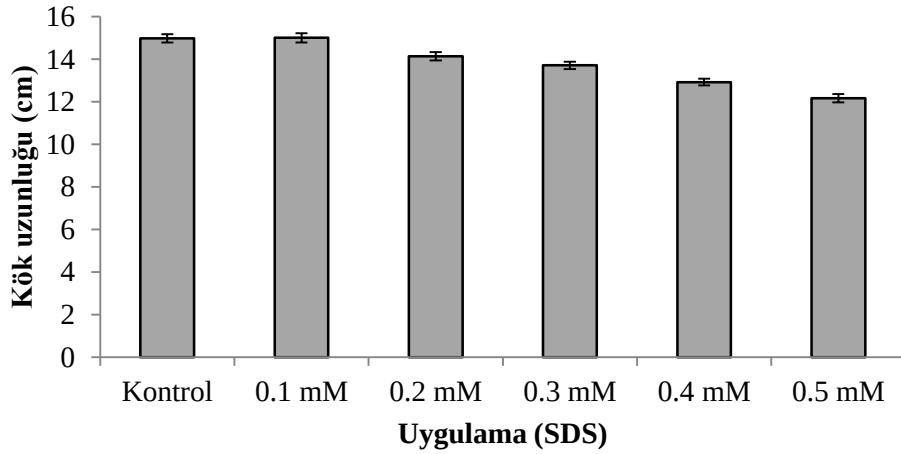
SDS'nin arpa bitkisinde meydana getirmiş olduğu fizyolojik değişimi belirlemek için kök-gövde uzunluklarına bakılmıştır. 0.1 mM SDS uygulanan grupta kök uzunluğu kontrol grubuna göre % 0.2 artarken istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. 0.2 mM SDS uygulanan gruptaki kök uzunluğu ise % 5.48 oranında indirgenmiştir.

0.3 mM SDS, 0.4 mM SDS ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre kök indirgemesi sırasıyla % 8.41, %13.76 ve % 18.77 olduğu yapılan ölçümlerle tespit edilmiştir (Çizelge 4.1), (Şekil 4.5), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.3. SDS uygulamalarıyla ortalama kök uzunluğundaki değişim.

Uygulamalar	Kök Uzunluğu (cm)
Kontrol	$14.96 \pm 0.1973a$
0.1 mM SDS	$14.99 \pm 0.2146a$
0.2 mM SDS	$14.14 \pm 0.1954b$
0.3 mM SDS	$13.71 \pm 0.1718b$
0.4 mM SDS	$12.91 \pm 0.1620c$
0.5 mM SDS	$12.16 \pm 0.1926d$

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.7. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde kök uzunluğu üzerindeki değişimi

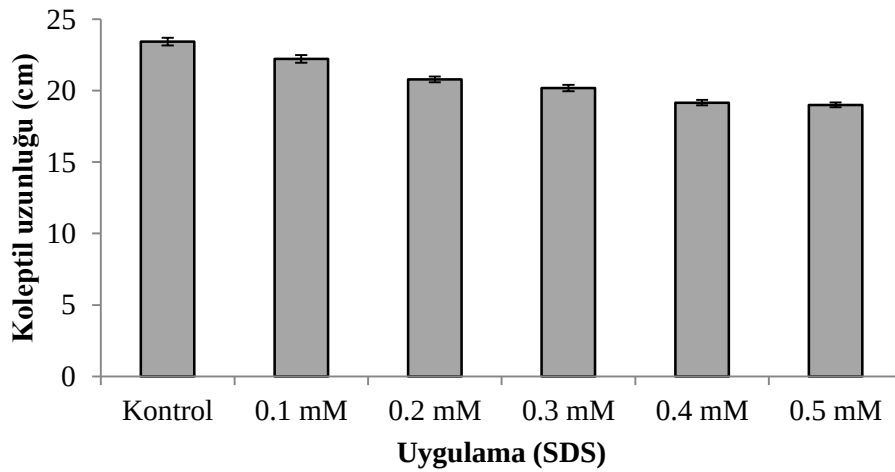
SDS arpanın koleptil uzunluğunda da değişimler meydana getirmiştir. 0.1 mM SDS uygulanan grup, kontrol grubuna göre % 5.34 oranında azalma gösterirken, 0.2 mM SDS uygulanan arpa bitkisinde koleptil uzunluğundaki indirgenme kontrol grubuna göre % 11.47 olmuştur ($P < 0.05$). 0.3 mM, 0.4 mM ve

0.5 mM SDS uygulanan gruptaki koleptil uzunlukları kontrol grubuna göre sırasıyla % 13.99, % 18.37 ve % 19.06 indirgenmiştir. 0.3 mM uygulanan grup ile 0.2 mM uygulanan grup arasındaki fark anlamsızdır. 0.4 mM ve 0.5 mM gruplarının koleptil uzunluğundaki farklar bir birlerine göre istatistiksel olarak anlamsız iken kontrol grubuna ve 0.1 mM, 0.2 mM ile 0.3 mM SDS uygulanan gruplara göre fark anlamlıdır. (Çizelge 4.2), (Şekil 4.6), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.4. SDS uygulamalarıyla koleptil uzunluğundaki değişim

Uygulamalar	Koleptil Uzunluğu (cm)
Kontrol	$23.44 \pm 0.2721a$
0.1 mM SDS	$22.22 \pm 0.2660b$
0.2 mM SDS	$20.78 \pm 0.2023c$
0.3 mM SDS	$20.19 \pm 0.2283c$
0.4 mM SDS	$19.16 \pm 0.1903d$
0.5 mM SDS	$19.00 \pm 0.1693d$

* Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.8. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde koleptil uzunluğu üzerindeki değişim

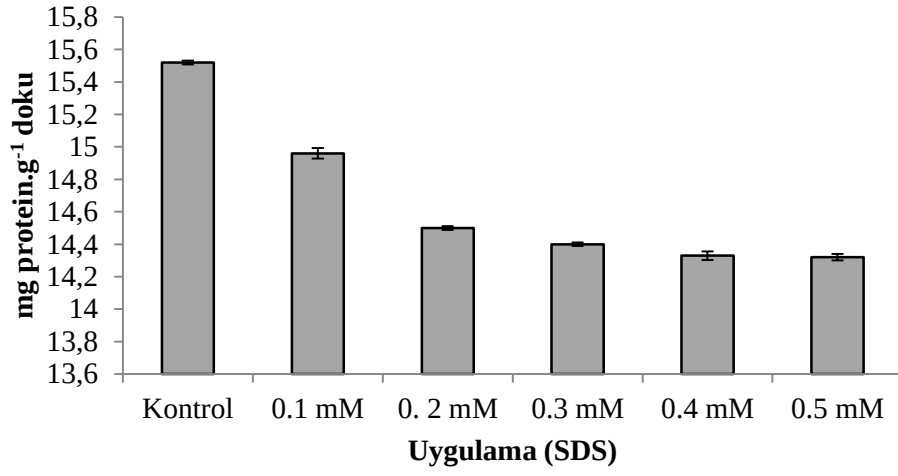
4.2. Çözülebilir Protein İçeriği Sonuçları

Arpa bitkisinin kontrol grubunda protein miktarı 6.92 mg protein.g⁻¹ doku bulunurken; 0.1 mM SDS uygulanan grupta % 3.61 azalma ile 6.67 mg protein.g⁻¹ doku olarak bulunmuştur. 0.2 mM SDS, 0.3 mM SDS, 0.4 mM SDS ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda ise protein miktarları sırasıyla % 6.65 oranında azalmayla 6.46 mg protein.g⁻¹ doku, %7.23 oranında azalmayla 6.42 mg protein.g⁻¹ doku, %7.66 oranında azalmayla 6.39 mg protein.g⁻¹ doku ve % 7.80 oranında azalmayla 6.38 mg protein.g⁻¹ doku olarak bulunmuştur. Bütün gruplarda kontrol grubuna göre farklar önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3), (Şekil 4.7), (Şekil 4.8), (P<0,05).

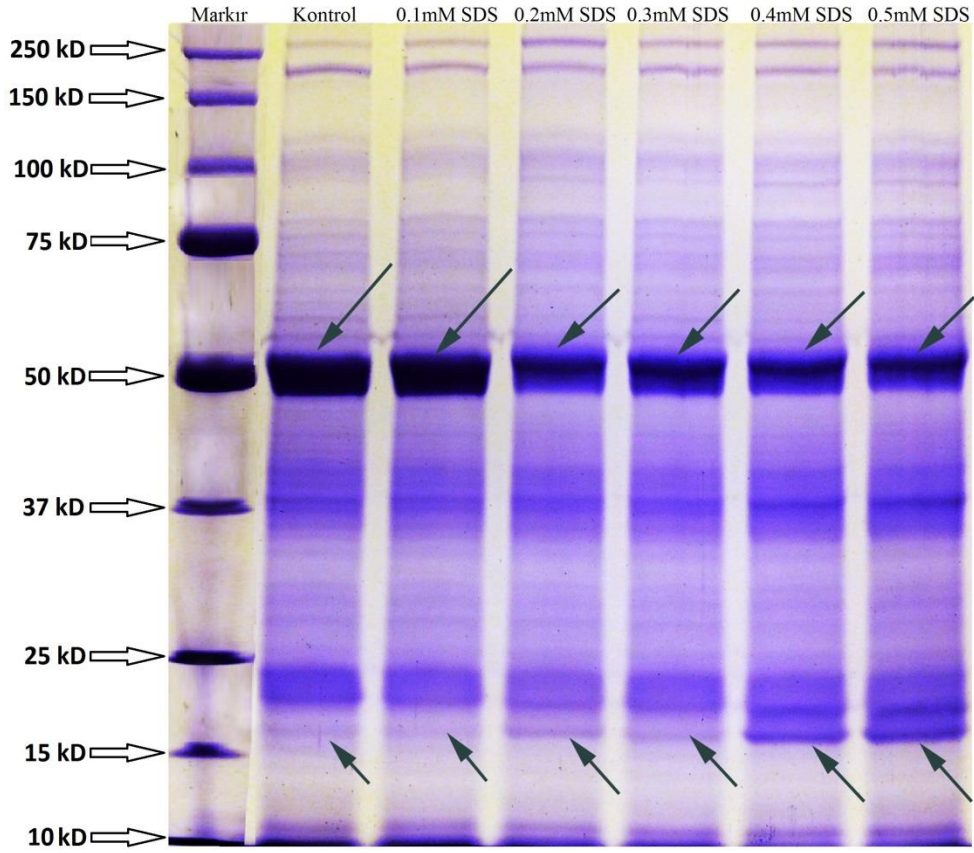
Çizelge 4.5. SDS uygulamalarıyla protein miktarındaki değişim

Uygulamalar	Protein miktarı (mg.g ⁻¹ doku)
Kontrol	15.52 ± 0.0115a
0.1 mM SDS	14.96 ± 0.03180b
0.2 mM SDS	14.50 ± 0.01252c
0.3 mM SDS	14.40 ± 0.01395d
0.4 mM SDS	14.33 ± 0.02646e
0.5 mM SDS	14.32 ± 0.02028e

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.9. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde çözülebilir protein miktarları üzerindeki değişimi



Şekil 4.10. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde protein profili üzerine etkisi

4.3. Fotosentetik Pigment İçeriği Sonuçları

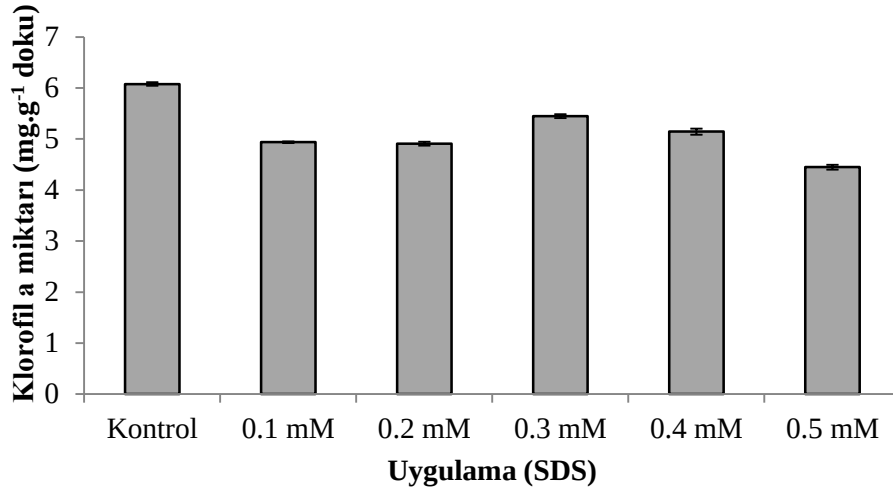
4.3.1. Klorofil a pigmenti sonuçları

Arpa bitkisinin kontrol grubunda klorofil *a* miktarı 6.078 mg.g⁻¹ doku olarak bulunurken 0.1 mM SDS uygulanan grupta % 18.75 azalma ile 4.938 mg.g⁻¹ doku bulunmuştur. Klorofil *a* pigment sonuçları, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulamalarında sırasıyla % 19.28 azalma ile 4.906 mg.g⁻¹ doku, % 10.36 azalma ile 5.448 mg.g⁻¹ doku, %15.37 azalma ile 5.144 mg.g⁻¹ doku ve %26.21 azalma ile 4.485 mg.g⁻¹ doku olduğu tespit edilmiştir. Klorofil *a* sonuçları diğer gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik göstermişlerdir (Çizelge 4.4), (Şekil 4.9), (P<0.05).

Çizelge 4.6. SDS uygulamalarıyla klorofil *a* miktarındaki değişim

Uygulamalar	klorofil <i>a</i> miktarı (mg.g ⁻¹ doku)
Kontrol	6.078 ± 0.034a
0.1 mM SDS	4.938 ± 0.017d
0.2 mM SDS	4.906 ± 0.037d
0.3 mM SDS	5.448 ± 0.037b
0.4 mM SDS	5.144 ± 0.059c
0.5 mM SDS	4.485 ± 0.046e

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.11. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde klorofil *a* miktarları üzerindeki değişimi

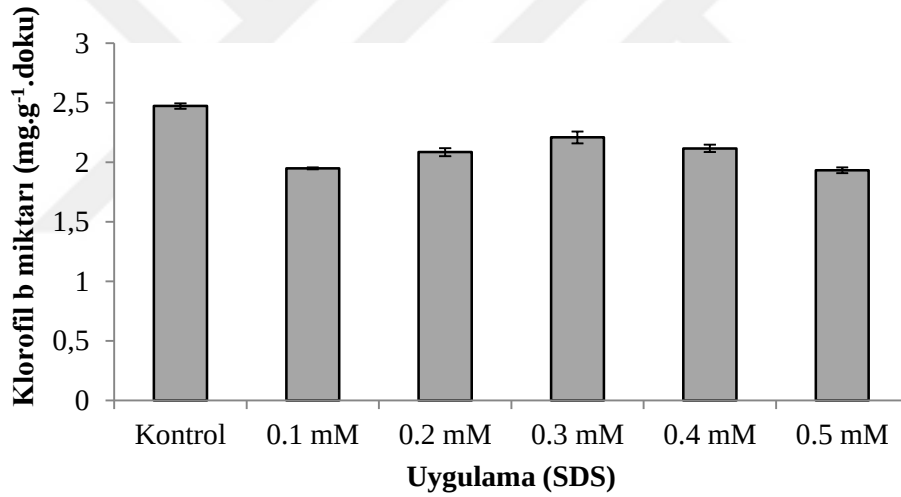
4.3.2. Klorofil *b* pigmenti sonuçları

Arpa bitkisinde yapılan analiz sonuçlarına göre en yüksek klorofil *b* içeriği 2.472 mg.g⁻¹ doku ile kontrol grubunda bulunmuştur. 0.1 mM, 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarında ise sırasıyla %21.19 azalma ile 1.948 mg.g⁻¹ doku, % 15.66 azalma ile 2.085 mg.g⁻¹ doku, % 10.64 azalma ile 2.209 mg.g⁻¹ doku, % 14.40 azalma ile 2.116 mg.g⁻¹ doku ve % 21.81 azalma ile 1.933 mg.g⁻¹ doku olarak tespit edilmiştir. Kontrol grubuna göre SDS uygulanan bütün gruplarda fark önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5), (Şekil 4.10), (P<0.05).

Çizelge 4.7. SDS uygulamalarıyla klorofil *b* miktarındaki değişim

Uygulamalar	klorofil <i>b</i> miktarı (mg.g ⁻¹ doku)
Kontrol	2.472 ± 0.022a
0.1 mM SDS	1.948 ± 0.083d
0.2 mM SDS	2.085 ± 0.033c
0.3 mM SDS	2.209 ± 0.049b
0.4 mM SDS	2.116 ± 0.030c
0.5 mM SDS	1.933 ± 0.024d

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.12. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde klorofil *b* miktarları üzerindeki değişimi

4.3.3. Toplam klorofil içeriği sonuçları

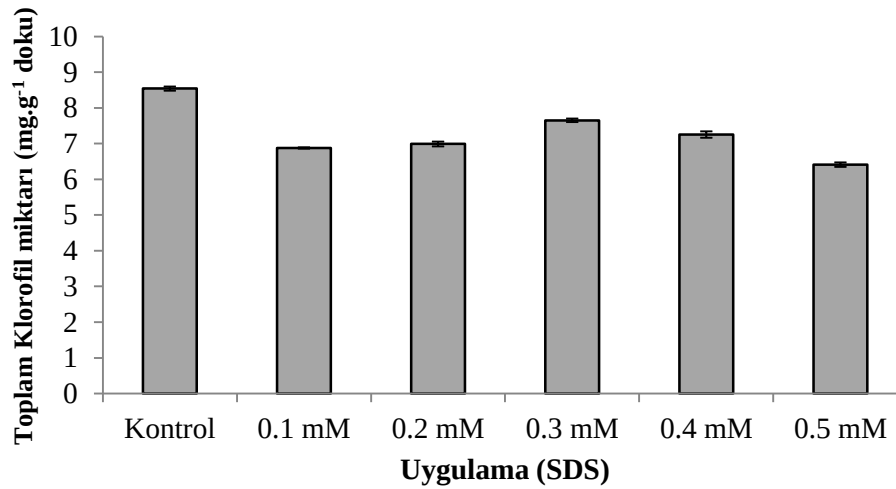
Yapılan ölçümler sonucunda toplam klorofil miktarı en yüksek kontrol grubunda 8.54 mg.g⁻¹ doku olarak tespit edilmiştir. 0.1 mM SDS uygulanan grupta toplam klorofil içeriği % 19.43 azalarak 6.88 mg.g⁻¹ doku olarak tespit edilmiştir. 0.2 mM SDS uygulanan grupta ise bu azalış % 18.22 ile 6.99 mg.g⁻¹ doku olarak tespit edilmiştir. 0.1 mM ve 0.2 mM SDS uygulanan gruplarda

toplam klorofil içeriğindeki fark kendi aralarında kıyasla anlamsızdır; fakat kontrol grubuna göre fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. 0.3 mM SDS, 0.4 mM SDS ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda ise toplam klorofil miktarı sırasıyla 7.65 mg.g⁻¹ doku, 7.25 mg.g⁻¹ doku ve 6.41 mg.g⁻¹ doku olarak bulunmuştur. Bu gruplardaki azalış sırasıyla % 10.49, % 15.18 ve % 25 olarak bulunmuştur. Bütün gruplarda fark kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4.6), (Şekil 4.11), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.8. SDS uygulamalarıyla toplam klorofil miktarındaki değişim

Uygulamalar	Toplam klorofil miktarı (mg.g ⁻¹ doku)
Kontrol	8.54 ± 0.057a
0.1 mM SDS	6.88 ± 0.018d
0.2 mM SDS	6.99 ± 0.068d
0.3 mM SDS	7.65 ± 0.049b
0.4 mM SDS	7.25 ± 0.089c
0.5 mM SDS	6.41 ± 0.062e

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.13. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde toplam klorofil miktarları üzerindeki değişimi

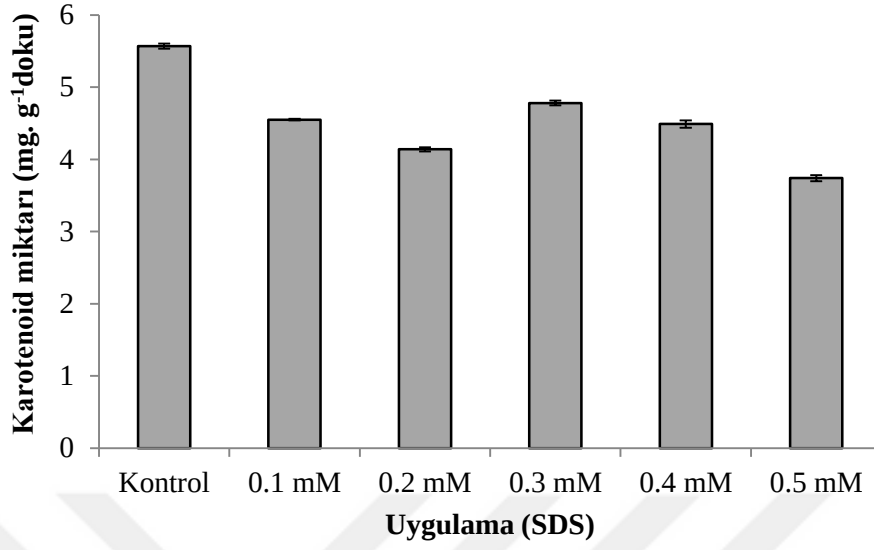
4.3.4. Karotenoid içeriği sonuçları

Arpa bitkisinde yapılan ölçümler neticesinde en yüksek karotenoid miktarı 5.57 mg.g⁻¹ doku ile kontrol grubunda bulunurken 0.1 mM SDS uygulanan grupta % 18.32 azalma 4.55 mg.g⁻¹ doku, 0.2 mM SDS uygulanan grupta % 25.69 azalma ile 4.14 mg.g⁻¹ doku olarak bulunmuştur. Her iki grupta hem kontrole hem de bir birlerine göre aradaki fark önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Toplam karotenoid miktarı 0.3 mM SDS, 0.4 mM SDS ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda ise sırasıyla 4.78 mg.g⁻¹ doku, 4.49 mg.g⁻¹ doku ve 3.74 mg.g⁻¹ doku olarak tespit edilmiştir. Bu gruplarda azalmalar ise sırasıyla % 14.20, % 19.40 ve % 32,87 olarak gerçekleşmiştir. Bu uygulamalardaki farklar ise hem kontrole göre hem de bir birlerine göre önemli bulunmuştur (Çizelge 4.7), (Şekil 4.12), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.9. SDS uygulamalarıyla karotenoid miktarındaki değişim

Uygulamalar	Karotenoid miktarı (mg.g ⁻¹ doku)
Kontrol	5.57 ± 0.034a
0.1 mM SDS	4.55 ± 0.010c
0.2 mM SDS	4.14 ± 0.028d
0.3 mM SDS	4.78 ± 0.033b
0.4 mM SDS	4.49 ± 0.051c
0.5 mM SDS	3.74 ± 0.042e

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.14. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde karotenoid miktarları üzerindeki değişimi

4.4. Reaktif Oksijen Türlerinin Sonuçları

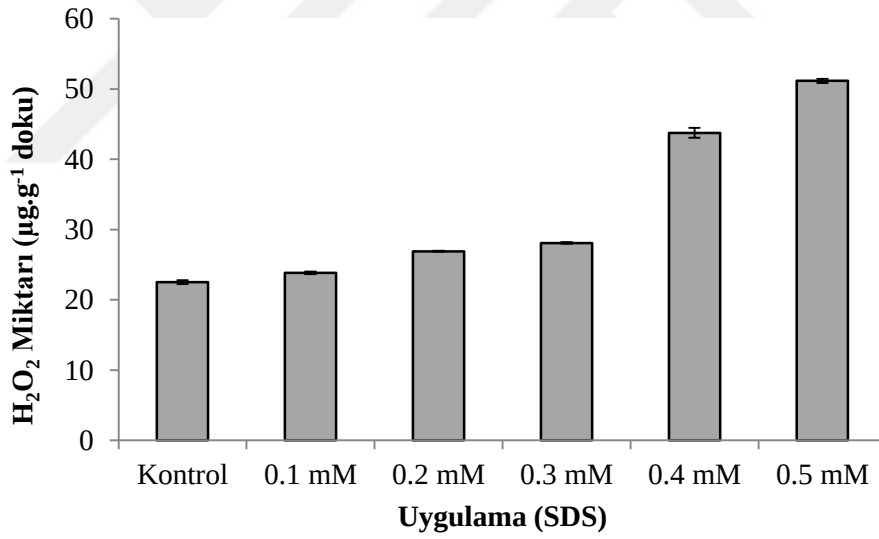
4.4.1. H₂O₂ içeriği sonuçları

Arpa bitkisinde yapılan ölçümler neticesinde kontrol grubunun H₂O₂ miktarı 22.52 µg.g⁻¹ bulunurken 0.1 mM SDS uygulanan grupta bu miktar % 5.81 artışla 23.83 µg.g⁻¹, 0.2 mM SDS uygulanan grupta ise %19.48 artışla 26.91 µg.g⁻¹ bulunmuştur. 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda ise sırasıyla % 24.76 artışla 28.10 µg.g⁻¹, % 94.33 artışla 43.77 µg.g⁻¹ ve % 127.10 artışla 51.15 µg.g⁻¹ olarak bulunmuştur. Bütün sonuçlar kontrol grubuna ve kendi aralarında kıyasla anlamlıdır (Çizelge 4.8), (Şekil 4.13), (P < 0.05).

Çizelge 4.10. SDS uygulamalarıyla H₂O₂ miktarındaki değişim

Uygulamalar	H ₂ O ₂ miktarı (µg.g ⁻¹)
Kontrol	22.52 ± 0.2841f
0.1 mM SDS	23.83 ± 0.1765e
0.2 mM SDS	26.91 ± 0.0739d
0.3 mM SDS	28.10 ± 0.1155c
0.4 mM SDS	43.77 ± 0.6893b
0.5 mM SDS	51.15 ± 0.2821a

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.15. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde H₂O₂ miktarı miktarları üzerindeki değişimi

4.4.2. Süperoksit anyonu (O₂⁻) içeriği sonuçları

Arpa bitkisinde yapılan ölçümler sonucu O₂⁻ miktarı kontrol grubunda 24.27 µg.g⁻¹ olarak bulunurken, bu miktar 0.1 mM SDS uygulanan grupta kontrol

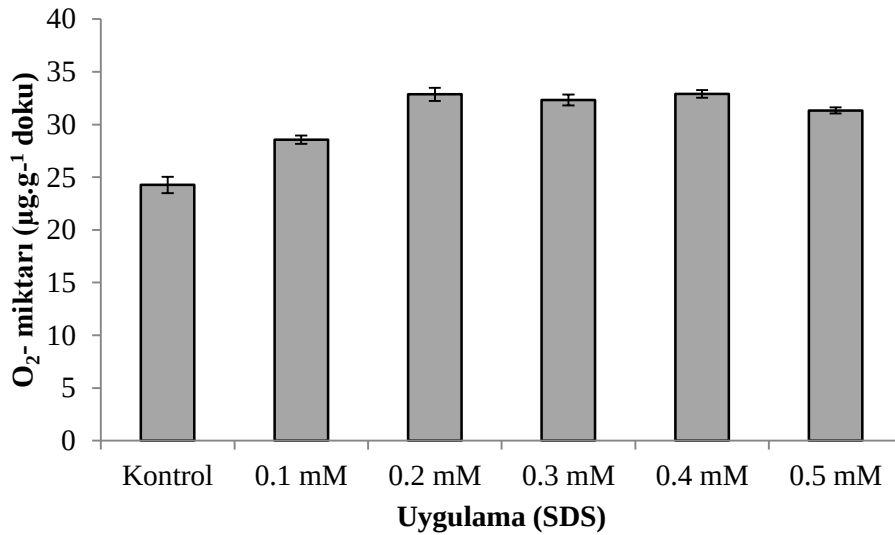
grubuna göre % 17.62 artışla 28.55 $\mu\text{g.g}^{-1}$, 0.2 mM SDS uygulanan grupta ise % 35.34 artışla 32.85 $\mu\text{g.g}^{-1}$ bulunmuştur.

0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda O_2^- miktarları sırasıyla kontrol grubuna göre % 33.16 artışla 32.32 $\mu\text{g.g}^{-1}$, % 35.55 artışla 32.90 $\mu\text{g.g}^{-1}$ ve % 29.08 artışla 31.33 $\mu\text{g.g}^{-1}$ olarak bulunmuştur. (Çizelge 4.9), (Şekil 4.14), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.11. SDS uygulamalarıyla O_2^- miktarındaki değişim

Uygulamalar	O_2^- miktarı ($\mu\text{g.g}^{-1}$ doku)
Kontrol	$24.27 \pm 0.7679\text{c}$
0.1 mM SDS	$28.55 \pm 0.4073\text{b}$
0.2 mM SDS	$32.85 \pm 0.6132\text{a}$
0.3 mM SDS	$32.32 \pm 0.5067\text{a}$
0.4 mM SDS	$32.90 \pm 0.3660\text{a}$
0.5 mM SDS	$31.33 \pm 0.2812\text{a}$

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır.



Şekil 4.16. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde O_2^- miktarı miktarları üzerindeki değişimi

4.5. Antioksidan Enzim Aktivite Sonuçları

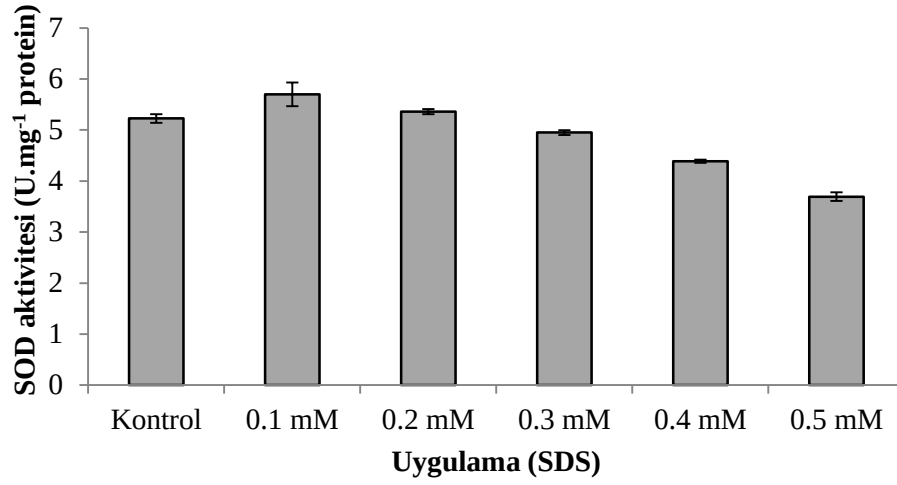
4.5.1. SOD enzimi sonuçları

Arpa bitkisinin kontrol grubunda SOD aktivitesi $5.2257 \text{ U.mg}^{-1}\text{protein}$ olarak bulunurken 0.1 mM SDS uygulanan grupta SOD aktivitesi % 9.04 artışla $5.6986 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$ olarak bulunmuştur. Daha sonra düşüşe geçen SOD aktivitesi 0.2 mM SDS uygulanan grupta kontrol grubuna göre % 2.036 artışla $5.3648 \text{ U.mg}^{-1}\text{protein}$ olarak bulunmuştur; fakat fark anlamsızdır ($P > 0.05$). 0.3 mM , 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda ise kontrol grubuna göre sırasıyla % 5.23 azalışla $4.9521 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$, % 16.04 azalışla $4.872 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$ ve % 29.34 azalışla $3.6923 \text{ U.mg}^{-1} \text{ protein}$ olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna kıyasla 0.3 mM SDS uygulanan gruptaki fark önemsiz bulunurken ($P > 0.05$), 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulan gruplardaki değişim önemli bulunmuştur (Çizelge 4.10), (Şekil 4.15), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.12 SDS uygulamalarıyla SOD aktivitesi değişimi

Uygulamalar	SOD aktivitesi (U.mg protein^{-1})
Kontrol	$5.2257 \pm 0.0846\text{bc}$
0.1 mM SDS	$5.6986 \pm 0.2328\text{a}$
0.2 mM SDS	$5.3648 \pm 0.0491\text{ab}$
0.3 mM SDS	$4.9521 \pm 0.0471\text{c}$
0.4 mM SDS	$4.3872 \pm 0.0295\text{d}$
0.5 mM SDS	$3.6923 \pm 0.0849\text{e}$

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.17. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde SOD aktivitesi üzerindeki değişimi

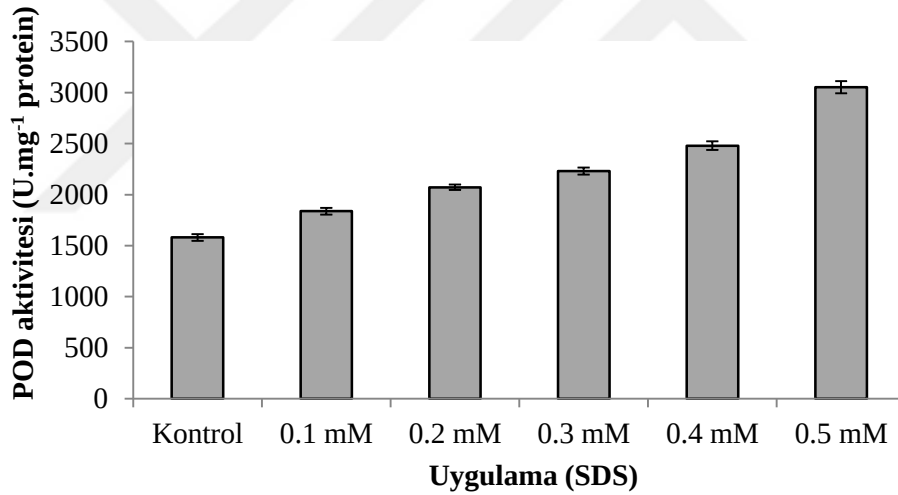
4.5.2. POD enzimi sonuçları

Arpa bitkisinin kontrol grubunda POD aktivitesi 1580.217 U.mg⁻¹ protein olarak bulunurken 0.1 mM SDS uygulanan grupta % 16.29 artışla 1837.606 U.mg⁻¹ protein, 0.2 mM SDS uygulanan grupta ise % 31.078 artışla 2071.319 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. 0.3 mM SDS uygulanan gruptaki POD aktivitesi % 41.18 artış oranı ile 2230.921 U.mg⁻¹ protein olarak hesaplanırken 0.4 mM SDS ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplarda ise enzim aktivitesi sırasıyla %56.91 artışla 2479.510 U.mg⁻¹ protein ve % 93.28 artışla 3054.209 U.mg⁻¹ protein olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.11), (Şekil 4.16), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.13. SDS uygulamalarıyla POD aktivitesi değişimi

Uygulamalar	POD aktivitesi (U.mg protein ⁻¹)
Kontrol	1580.217 ± 32.2127f
0.1 mM SDS	1837.606 ± 32.7805e
0.2 mM SDS	2071.319 ± 26.6936d
0.3 mM SDS	2230.921 ± 35.4767c
0.4 mM SDS	2479.510 ± 42.1366b
0.5 mM SDS	3054.209 ± 59.6539a

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.18. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde POD aktivitesi üzerindeki değişimi

4.5.3. CAT enzimi sonuçları

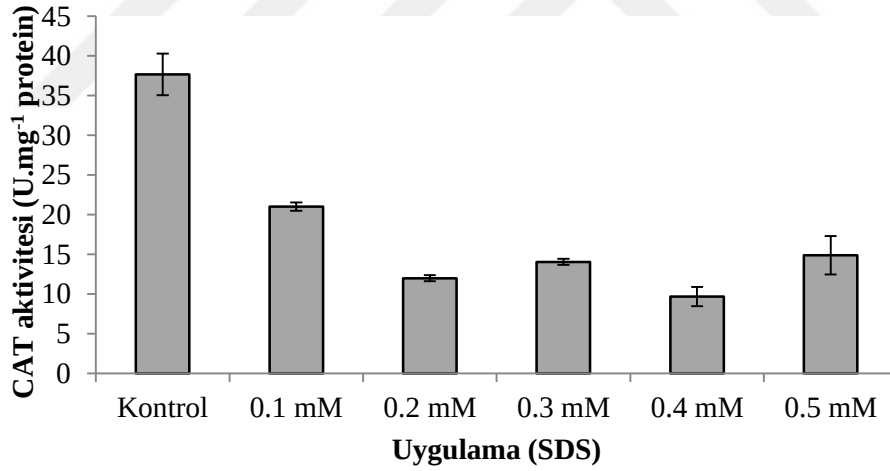
Arpa bitkisinin kontrol grubunda CAT enzimi aktivitesi 39.062 U.mg⁻¹ protein olarak bulunurken bu miktar 0,1 mM SDS grubunda % 47.24 azalma ile 20.61 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur ($P < 0,05$). CAT enzimi aktivitesi, kontrol grubuna göre 0.2 mM, 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS gruplarında sırasıyla % 69.48 azalarak 11.92 U.mg⁻¹ protein, % 64.80 azalarak

13.75 U.mg⁻¹protein, % 76.19 azalarak 9.30 U.mg⁻¹ protein ve % 67.59 azalarak 12.66 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur (Çizelge 4.12), (Şekil 4.17), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.14. SDS uygulamalarıyla CAT aktivitesi değişimi

Uygulamalar	CAT aktivitesi (U.mg ⁻¹ protein)
Kontrol	39.062 ± 2.6191a
0.1 mM SDS	20.61 ± 0.5296b
0.2 mM SDS	11.92 ± 0.3835c
0.3 mM SDS	13.75 ± 0.3810c
0.4 mM SDS	9.30 ± 1.2025c
0.5 mM SDS	12.66 ± 2.4228c

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.19. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde CAT aktivitesi üzerindeki değişimi

4.5.4. APX enzimi sonuçları

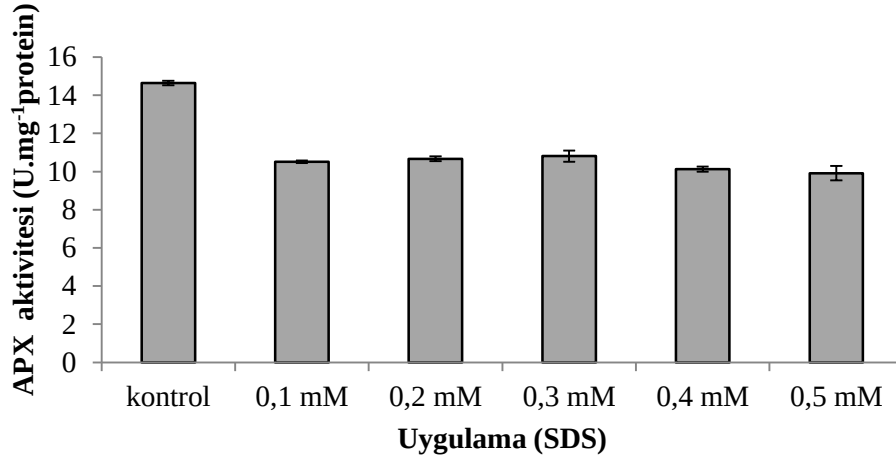
Kontrol grubunun APX aktivitesi 5.22 U.mg⁻¹ protein olarak bulunurken 0.1 mM SDS uygulanan grupta % 27.97 azalma ile 3.76 U.mg⁻¹ protein, 0,2 mM SDS uygulanan grupta ise % 27 azalma ile 3.81 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur ($P < 0.05$). 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS uygulanan gruplar ise

kontrol grubuna göre % 26.04 azalma ile 3.86 U.mg⁻¹ protein, %30.64 azalma ile 3.62 U.mg⁻¹ protein ve % 32.17 azalarak 3.54 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM gruplarındaki değişim kontrol grubuna göre anlamlıdır (Çizelge 4.13), (Şekil 4.18), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.15. SDS uygulamalarıyla APX aktivitesi değişimi

Uygulamalar	APX aktivitesi U.mg ⁻¹ protein
Kontrol	5.23 ± 0.0407a
0.1 mM SDS	3.76 ± 0.0311bc
0.2 mM SDS	3.81 ± 0.04517b
0.3 mM SDS	3.86 ± 0.1093b
0.4 mM SDS	3.62 ± 0.0480bc
0.5 mM SDS	3.54 ± 0.1312c

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.20. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde APX aktivitesi üzerindeki değişimi

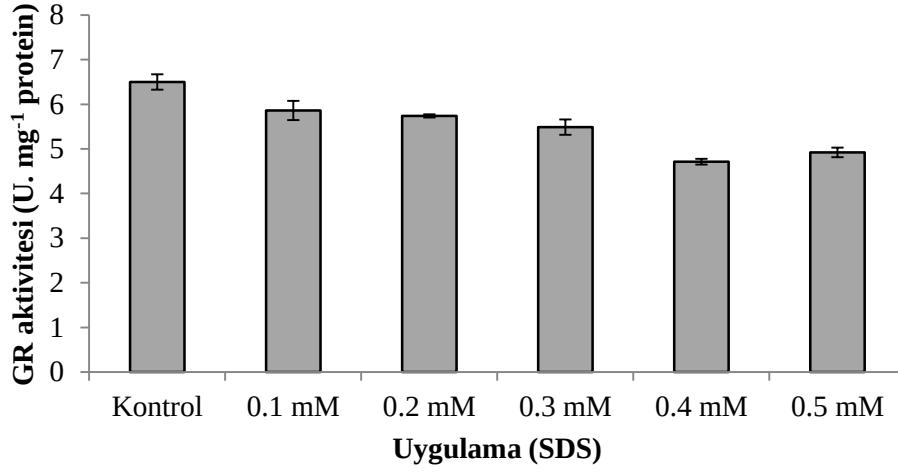
4.5.5. GR enzimi sonuçları

Yapılan ölçümler neticesinde arpa bitkisinin kontrol grubunda GR aktivitesi 6.50 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre; 0.1 mM SDS grubunda bu aktivite % 9.87 azalışla 5.86 U.mg⁻¹ protein, 0.2 mM SDS uygulanan grupta % 11.72 azalışla 5.74 U.mg⁻¹ protein, 0.3 mM SDS uygulanan grupta ise % 15.56 azalışla 5.49 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. GR aktivitesi 0.4 mM SDS uygulanan grupta kontrol grubuna göre % 27.56 azalarak 4.71 U.mg⁻¹ protein olurken; 0.5 mM SDS uygulanan grupta ise aktivite kontrol grubuna nazaran % 24.33 azalarak 4.92 U.mg⁻¹ protein olarak bulunmuştur. SDS uygulanan bütün gruplar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aradaki değişim önemlidir (Çizelge 4.14), (Şekil 4.19), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.16. SDS uygulamalarıyla GR aktivitesi değişimi

Uygulamalar	GR aktivitesi U.mg ⁻¹ protein
Kontrol	6.50 ± 0.1709a
0.1 mM SDS	5.86 ± 0.2179b
0.2 mM SDS	5.74 ± 0.0348b
0.3 mM SDS	5.49 ± 0.1733b
0.4 mM SDS	4.71 ± 0.0642c
0.5 mM SDS	4.92 ± 0.1071c

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.21. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde GR aktivitesi üzerindeki değişimi

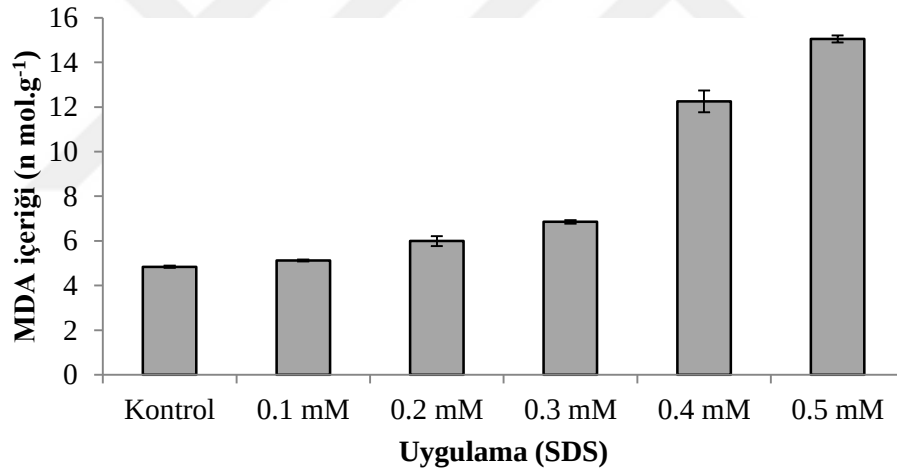
4.6. Lipit Peroksidasyon (MDA içeriği) Seviyesi Sonuçları

Arpa bitkisinde yapılan ölçümler sonucu MDA, en düşük seviyede kontrol grubunda 4.84 nmol.g^{-1} olarak bulunurken, 0.1 mM SDS grubunda kontrol grubuna kıyasla % 5.78 artarak 5.19 nmol.g^{-1} ($p > 0.05$) ve 0.2 mM SDS grubunda ise kontrol grubuna göre % 23.76 artışla 5.99 nmol.g^{-1} olarak bulunmuştur. 0.3 mM, 0.4 mM ve 0.5 mM SDS gruplarında kontrol grubuna göre sırasıyla % 41.52 artışla 6.85 nmol.g^{-1} , % 153.09 artışla $12.25 \text{ nmol.g}^{-1}$ ve % 210.95 artışla $15.05 \text{ nmol.g}^{-1}$ olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.15), (Şekil 4.20), ($P < 0.05$).

Çizelge 4.17. SDS uygulamalarıyla MDA seviyesindeki değişim

Uygulamalar	MDA seviyesi nmol.g ⁻¹
Kontrol	4.84 ± 0.0498e
0.1 mM SDS	5.12 ± 0.0433e
0.2 mM SDS	5.99 ± 0.2246d
0.3 mM SDS	6.85 ± 0.0801c
0.4 mM SDS	12.25 ± 0.4904b
0.5 mM SDS	15.05 ± 0.1582a

Bir sütun içinde aynı harflerin bulunduğu gruplar arasındaki farklılıklar $P < 0.05$ önem seviyesine göre anlamsızdır



Şekil 4.22. SDS uygulamalarının arpa bitkisinde MDA içeriği üzerine değişimi

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Arpa (Hordeum vulgare L.) buğdaygillerden taneleri malt ve yem olarak kullanılan, tahıllar içerisinde üretim miktarı olarak dünyada üçüncü ülkemizde ise ikinci sırada yer alan ekonomik değeri yüksek bir bitkidir (Anonim 2012). Diğer taraftan çevresel stres bitki sağlığına zarar veren ve üretimi sınırlandıran en önemli faktörlerden biridir (Benlioğlu ve Özkan 2015). Sucul ortama evsel ve endüstriyel atık sularla bulaşan kirleticiler arasında bulunan deterjanlar, önemli bir çevresel stres faktörüdür. Deterjanlar sulardaki biyolojik aktiviteyi ve organizmalara oksijen taşınımını etkiler (Minareci vd. 2008). En çok kullanılan deterjanlar anyonik özellikte olanlardır ve bu deterjanlara anyonik özelliği kazandıran ham madde ise sodyum dodesil sülfat (SDS) tır (Atıcı 2006).

Mevcut araştırmada, SDS'nin bitkiye fizyolojik ve biyokimyasal yönden verdiği zararlar ortaya konulmaya çalışılmıştır. Böylece SDS'nin bitki üzerindeki zararlarının tespit edilmesi ve ayrıca meydana gelen kayıplar için alınması gereken tedbirlere de dolaylı olarak bilimsel bir destek sağlanması amaçlanmıştır. Bu amaç için farklı dozlarda bitkiye SDS uygulanmış olup, SDS'nin bitki üzerinde meydana getirdiği hasarlar fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerle ortaya konmaya çalışılmıştır.

SDS'nin kullanımı her geçen gün daha da artmaktadır. Yüzey aktif maddeler içerisinde istenilen özellikleri en iyi karşılayan maddelerden biri olduğu için sadece temizlik, kozmetik vb alanlarda değil gıda sanayisinden deri endüstrisine kadar oldukça geniş bir yelpazede kullanılmaktadır. Bu kadar geniş ölçeklerde kullanılan bir ürünün özellikle atık sular üzerinden tarımsal alanlara ve meralara bulaşmaması neredeyse imkânsızdır. Nitekim deniz ve baraj göllerinde yapılan ölçümler, deterjanın dolayısıyla deterjanda kullanılan hammadde olan SDS'nin bulaştığını ve gün geçtikçe arttığını gözler önüne sermektedir (Bozkurt vd. 2004; Peker 2007).

Bütün canlılara zarar verici özellikte olan SDS'nin elbette bitkiler üzerine de zararlı etkileri bulunmaktadır (Dirilgen and İnce 1995; Forni *et al* 2012); fakat bu etkileri açıklayan çalışma sayısı son derece sınırlıdır. Bizim bildiğimiz

kadarıyla Arpa üzerine SDS'nin etkilerini açıklayan çalışma olmadığı gibi bitkiler üzerine yapılan çalışmalarda son derece azdır. Bu nedenle mevcut çalışmamız SDS'nin bitkiler üzerindeki etkilerini aydınlatma anlamında bu alandaki literatürdeki boşluğu dolduracağı gibi SDS'nin arpa bitkisi üzerine etkilerini ortaya koyması yönüyle de önem arz etmektedir.

5.1. SDS Uygulamalarının Bitkinin Kök ve Gövde Gelişimi Üzerine Etkileri

SDS uygulaması arpa fidelerinin kök-gövde uzunluklarında ciddi düşüslere neden olmuştur. SDS'nin meydana getirmiş olduğu kök-gövde indirgenmesi ile uygulama dozu arasında pozitif bir korelasyon olduğu çalışmamız ile tespit edilmiştir.

SDS'nin buğday üzerinde meydana getirmiş olduğu etkinin incelendiği bir çalışmada, SDS'nin buğday fidelerinde indirgenmeye neden olduğu rapor edilmiştir (Chang *et al* 2015). Bu araştırma bizim çalışmamız ile benzer sonuçlar göstermiştir. Kök ve gövde uzunluğunun ksalmasının olası nedenleri arasında SDS'nin sentez reaksiyonlarına zarar vermesinin yanı sıra mitoz bölünme üzerine olan olumsuz etkileriyle bağdaştırılabilir. Çalışmamızda SDS'nin protein miktarında düşüşe yol açması bu görüşü desteklemektedir.

SDS'nin bir bileşeni olan Na⁺ iyonunun bitkiler için toksik olduğu çalışmalarda bildirilmiştir (Siegel *et al* 1980). Fakat çalışmamızda uyguladığımız SDS konsantrasyonu Na⁺ iyonunun bitkiye toksik olarak etki edeceği dozun çok altındadır. Bundan dolayı SDS zararının Na⁺ katyonundan kaynaklandığını düşünmemekteyiz. Zira bazı arpa çeşitlerinin çimlenme dönemlerinde farklı dozlardaki tuz stresine tepkilerinin belirlendiği bir çalışmada, kök-gövde indirgenmesine etki eden dozun 3 g/l olduğu rapor edilmiştir (Benlioğlu ve Özkan 2015). Bu araştırma görüşümüzü desteklemektedir.

SDS'nin diğer bir bileşeni de sülfattır (SO₄²⁻). Sülfat hücrenin kolloidal yapısını bozmaktadır. Ayrıca sülfat birikmesi bitkide akut zararların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu da bitki büyümesini büyük oranda ekiler (Pell 1979; Çepel 1980).

Hücre kolloidal yapısı bozulursa sentez reaksiyonlarının ve hücre bölünme aşamalarının etkilenmesi kaçınılmaz olarak gerçekleşecektir. Dolayısıyla kök ve gövde gelişmesinde meydana gelen indirgenmenin olası nedenlerinde biri de sülfatın yaptığı tahribat olabilir. Dirilgen and İnce (1995) su mercimeğinde yaptıkları çalışmada SDS birikmesinin yapraklarda arttığını bildirmişlerdir. Bu durum sülfatın hücrede birikebileceğini gösterirken SO_4^{2-} 'ın hücre yapısını bozup, zarar verebileceği görüşümüzü de desteklemektedir.

5.2. SDS Uygulamalarının Çözülebilir Protein İçeriği Üzerine Etkileri

Proteinler organizmada en fazla bulunan makromoleküllerdir. Hareketten savunmaya, iletişime kadar proteinlerin birçok işlevi bulunmaktadır (Nelson 2005).

SDS'nin bakterilerde protein denatürasyonunu arttırdığı bildirilmiştir. (Rajagopal *et al.* 2002). SDS'nin bitkiler üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise bu maddenin buğday gövdesindeki proteinleri azalttığı (Chang *et al.* 2015), ayrıca aminoasitleri birbirine bağlayan peptit bağlarının parçalanmasına neden olduğu rapor edilmiştir (Fainerman *et al.* 2010).

Çalışmamızda genel itibariyle çözülebilir protein miktarında, kontrol grubuna göre ciddi azalmalar olduğu tespit edilmiştir. Bu azalmanın nedenini sadece hücredeki bir metabolik olayın, bir enzimin, bir molekülün yapısının bozulmasına bağlamak için yeterli bulgu mevcut değildir. Zira protein sentezi, çekirdekte ilgili gen bölgelerinin uyarılması, söz konusu genden mRNA sentezi (transkripsiyon), sentezlenen mRNA'nın sitoplazmaya geçerek translasyona uğraması, translayondan sonra sentezlenen zincir halindeki polipeptidin özel bir üç boyutlu yapı kazandırılması gibi hayli uzun ve karmaşık bir süreçtir. Bu nedenle protein sentezinde herhangi bir azalma veya aksamanın yaşanmaması için bu süreçte görev alan tüm yapısal ve işlevsel elemanların doğal yapısının en azından üzerine düşeni yapabilecek kadar bozulmamış olması gerekir. Nitekim bitkinin maruz kaldığı madde SDS gibi doğal olmayan sentetik bir madde olduğundan, protein sentezinde görülen azalmanın, birden fazla noktaya etki ederek de bu sonucu ortaya çıkarabileceğini akla getirmektedir. Bu konuda

bitkiler üzerine yapılan az sayıda çalışma olup, bu çalışmalarda SDS'nin neden olduğu protein sentezindeki azalma, SDS'nin peptit bağlarını parçalayarak protein sentez reaksiyonlarını inhibe ettiği şeklinde izah edilmiştir. (Dirilgen and İnce 1995; Chang *et al* 2015). Mevcut sonuçlarımız ile yapılan çalışmalar uyumludur.

Spektrofotometrik yöntemlerle protein miktarında belirlediğimiz azalma, gerçekleştirdiğimiz SDS-PAGE protein profili görüntüleri ile de teyit edilmiştir. Görüntülerden de anlaşılaacağı üzere protein miktarında önemli bir azalma söz konusudur. Özellikle 50-60 kDa aralığındaki bant görüntüleri protein miktarındaki azalmayı çok açık bir biçimde ortaya koymuştur. Bu aralık ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz oksijenaz (RUBİSCO) enziminin olduğu aralıktır ki bu enzim, bitkilerin en önemli metabolik süreçlerinden fotosentezin anahtar ve elzem enzimlerindendir (Yıldız ve Terzi 2007).

SDS-PAGE görüntülerinden protein miktarının genel olarak azaldığı tespit edilmesi ile beraber düşük molekül ağırlığına sahip protein miktarlarında artış olduğu görülmektedir. Düşük molekül ağırlığına sahip bu proteinlere stres proteinleri de denilmektedir. Bu proteinler stres faktörü söz konusu olduğunda bitkide sentezlenen savunma amaçlı proteinlerdir. Stres proteinlerinin oluşmasında hormonal faktörlerin de rol aldığı düşünülmektedir (Mayer and Bukau 2005; Bukau *et al.* 2006). SDS bitkide hormon üretimini de etkilemektedir (Forni *et al* 2012).

Mevcut çalışmamızda 0,4 mM ve 0,5 mM SDS uyguladığımız gruplarda 20 kDa ve daha düşük molekül ağırlığına sahip proteinlerin artışı çok açık bir şekilde görülmektedir. Ayrıca 0,2 mM SDS uygulanan gruptan itibaren stres proteinlerinin artışı, SDS-PAGE görüntülerinden net biçimde anlaşılmaktadır.

SDS'nin çevresel bir stres faktörü olması nedeniyle bu stres proteinlerinin varlığında artış meydana gelmesi, bitkinin savunmaya geçtiğini ortaya koymaktadır. Buna ek olarak hormonal değişimlerin de stres proteinlerinin varlığında artış olmasına neden olabileceğini düşünmekteyiz. Savunma mekanizmasında rol alan stres proteinlerinin artışına rağmen, bu proteinler

SDS'nin bitki üzerinde meydana getirmiş olduğu hasarı tam olarak engelleyememiştir.

5.3. SDS Uygulamalarının Fotosentetik Pigment İçeriğı Üzerine Etkileri

Çeşitli stres faktörlerinin fotosentez olayı üzerine etkileri olduğu bilinmektedir. Fotosentez doğrudan bitki dolaylı olarak hayvan ve insan yaşamı ile ekolojik dengenin devamı için gerekli temel mekanizmalarından biridir (Geçkil 2012). Kloroplastta bulunan klorofil *a* ve klorofil *b* fotosentez olayında, ışığın yakalanmasında görev alan pigmentlerdir (Havaux and Tardy 1997). Su mercimeğı bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada, SDS'nin bu bitkide klorofil pigmentlerinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Forni *et al.* 2008).

Yapılan bir diğerk çalışmada ise SDS'nin klorofil-protein kompleksini bozduğı ve ayrıca magnezyum mineralini de klorofilden ayırdığı bildirilmiştir (Smith 1941). Magnezyum, klorofilin yapı taşı olmasının yanı sıra CO₂ fiksasyonunun ilk basamağını katalizleyen, net fotosentez oranı ile doğrudan ilişkisi bulunan ribuloz 1-5 bifosfat karboksilaz oksijenaz (RUBİSCO) enziminin de kofaktörüdür (Vance ve Miller 1998; Yıldız ve Terzi 2007).

Bu araştırmada elde ettiğimiz bulgular, daha önceki araştırmalarda bulunanlarla paralellik arz etmektedir. Sonuçlarımıza göre SDS bileşiğinin bitkide klorofil *a*, klorofil *b* ve toplam klorofil içeriğı miktarlarında azalmaya neden olduğı tespit edilmiştir.

Fotosentetik pigment miktarlarında meydana gelen bu azalışlar SDS kaynaklı klorofil-protein etkileşiminin ve/veya magnezyum ile klorofil molekülleri arasında meydana gelen bütünlüğün bozulması nedeniyle olabilir. Çalışma sonuçlarımızdan da anlaşılacağı üzere bitkinin çözülebilir protein içeriğindeki azalma görüşümüzü destekler niteliktedir.

Mevcut sonuçlarımızdaki çözülebilir protein miktarındaki düşüşe ek olarak SDS-PAGE görüntüleri RUBİSCO'nun da bulunduğı aralık olan 50-60 kDa aralığındaki proteinlerin net bir şekilde azaldığını göstermektedir. Ayrıca

Rubisco'nun kofaktörü olan Mg'un klorofil pigmentinin yapısından uzaklaşması sonucu enzim aktivitesinin de bozulacağı kanaatindeyiz.

Karotenoidler fotosentez sürecinde yardımcı pigment olarak görev yaparlar Ayrıca lineer moleküller olup çok sayıda çift bağ içerirler Karotenoidler antioksidan özelliğe de sahiptirler. Bu özellik çift bağlarının reaktif oksijen partikülleri ile reaksiyona girebilmelerinden kaynaklanmaktadır (Geçkil 2012).

Çalışmamızın sonuçlarına göre toplam karotenoid miktarında azalmalar meydana gelmiştir. Bitkinin antioksidan mekanizmasında, non-enzimatik antioksidanlardan olması nedeniyle karotenoidlerin azalışı, bitkinin antioksidan savunma kapasitesinde azalmalara neden olmuştur. Karotenoidlerin azalışının SDS kaynaklı ROT hasarlarının daha fazla artmasına dolaylı olarak etki yapması muhtemeldir.

5.4. SDS Uygulamalarının Bitkinin Reaktif Oksijen Türlerine Etkileri

Çeşitli stres faktörleri metabolik yollarda hasarlar meydana getirebilir. Bu stres faktörleri endojen yada eksojen kaynaklı olabilir. Metabolik süreçlerde oksijenin 4 elektronla suya indirgenmesinin yerine 3, 2, veya 1 elektronla indirgenmesi sonucu reaktif oksijen türleri (ROT) ortaya çıkabilmektedir. Oksijen bir elektron alarak redüklenirse süperoksit anyon radikali (O_2^-), iki elektron kazanması sonucu hidrojen peroksit radikali (H_2O_2) ve üç elektron kazanarak redüklenmesi sonucunda hidroksil radikali (OH^-) oluşur ve bunlara aynı zamanda serbest oksijen radikalleri de denilmektedir. Kısaca serbest radikal, eşlenmemiş en az bir elektronu olan molekül ya da atomdur (Vural 2003; Geçkil 2012). ROT'lar diğer moleküllerle çok kolay bir şekilde elektron alış veriş yapabilirler (Deneke and Fanburg 1980). ROT'lar yükseltgenme-indirgenme olayları sırasında kloroplast, mitokondri gibi hücre organellerinde elektron taşınımı sonucu meydana gelip organizmada toksik etkiler yaratabilir. Süperoksit radikali, ROT ların kaynağıdır ve ilk oluşan radikaldir. ROT'lar; lipitler, proteinler, karbohidratlar, DNA vb. makromoleküllere etki ederek yapılarının bozulmasına sebep olur (Mehdy 1994; Mittler 2002).

Çalışmamızda reaktif oksijen partiküllerinden olan süperoksit anyonunun arttığı tespit edilmiştir. SDS uygulama dozu ile oluşan süperoksit anyonu miktarı arasında pozitif bir korelasyon görülmüştür. Bu nedenle, SDS'nin olumsuz etkisi nedeniyle kloroplast ve mitokondrinin elektron transport sisteminde elektron kaçakları meydana geldiğini ve bundan dolayı süperoksit oluşumunun artmış olduğunu düşünmekteyiz.

H₂O₂, süperoksit radikalinden daha az zarar vericidir ve esasında serbest elektron taşımadığından radikal değildir. Fakat OH⁻ radikalinin öncül maddesi olması nedeniyle bu partikülün kısa bir süre içerisinde parçalanması gerekmektedir. H₂O₂'nin düşük konsantrasyonları savunma sisteminin aktifleşmesini sağlar. Bu etkiyi Ca⁺² kanallarını aktive ederek veya önemli sinyal rolleri oynayarak sağlar (Hagar *et al.* 1996; Becker *et al.* 1999; Bolwell *et al.* 2002; Slesak *et al.* 2007). Yüksek H₂O₂ miktarı hücrede protein denatürasyonuna, DNA kırılmalarına ve lipit peroksidasyonu gibi zararlı durumlara yol açar (Bergmeyer *et al.* 1983; Asada 1992; Hagar *et al.* 1996).

Yüksek H₂O₂ miktarı hücrede protein denatürasyonuna, DNA kırılmalarına ve lipit peroksidasyonu gibi zararlı durumlara yol açar (Bergmeyer *et al.* 1983; Asada 1992; Hagar *et al.* 1996).

SDS'nin bitkilerde H₂O₂ üzerine etkisini belirten bir çalışmaya rastlanılmamıştır. ancak sonuçlarımızdan anlaşılmaktadır ki; SDS, OH⁻ öncülü bu nonradikal artışına sebep olmaktadır. Mevcut çalışma sonuçları, SDS uygulama dozu ile H₂O₂ arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermiştir.

SDS kaynaklı sitozolik kolloidal yapının bozulması metabolik süreçlerin bozulmasına (Pell 1979), dolayısıyla ROT oluşumunun tetiklenmiş olmasına neden olabilir. ROT'lar fizyolojik düzeyin çok üstünde olduğu için hücrede toksik etkilere sebep olmuştur. Bu toksik etkiler hücre zarı hasarlarında da açıkça görülmektedir.

5.5. SDS Uygulamalarının Bitkinin Antioksidan Enzimleri Üzerine Etkileri

Antioksidanlar organizmanın reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı savaşan mekanizmasıdır. Bu radikaller fizyolojik şartlarda kontrollü şekilde antioksidan sistem ve antioksidan maddelerle bertaraf edilirler. Ancak bu radikallerin çeşitli stres faktörleri nedeniyle aşırı artışı protein denatürasyonu, lipid peroksidasyonu gibi organizma için zararlı olan çeşitli reaksiyonlara neden olabilir. ROT'ların yükselmesi aslında savunma mekanizmasının uyarılması için sinyal görevi görür. Çeşitli stres faktörleri, reaktifler ile onları pasifize eden mekanizma arasında dengesizlikler meydana getirir. Çeşitli stres faktörleri nedeniyle zarar gören bitkilerin ROT türlerinde artışlar görülür, bunun sonucunda organizmanın savunma sistemi devreye girer. ROT'ları etkisiz hale getirip pasifize eden mekanizma, antioksidan savunma sistemidir. Bu sistem enzimatik ya da non enzimatik olabilir. Enzimatik Antioksidanlar Katalaz (CAT), Askorbat Peroksidaz (APX), Peroksidaz (POD), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutasyon Redüktaz (GR), gibi çeşitli enzimlerdir (Özcan vd. 2001; Harinasut *et al* 2003; Çaylak 2011).

Mevcut kaynaklarda SDS'nin antioksidan enzimler üzerine etkisini belirten çalışmalar çok azdır. Mikroorganizmalarda yapılan çalışmalarda SDS'nin enzimleri inhibe ettiği rapor edilmiştir (Demirel 2013). Ayrıca su mercimeği, bakla ve fasulye bitkilerinde yapılan çalışmalarda SDS'nin üreaz ve ATPaz enzimlerini inhibe ettiği ve gıdalarda enzimatik esmerleşme yapması nedeniyle inaktive edilen polifenol oksidaz aktivitesini ise arttırdığı rapor edilmiştir. Fakat aktivasyon belirli bir düzeye kadar olup daha sonra enzimin inaktive olduğu bildirilmiştir (Pekyardımcı 1992; Doige *et al.* 1993; Hirai *et al.* 1993).

Çalışmamız da genel itibariyle SOD aktivitesinde düşüşler meydana gelmiştir. Sadece 0,1 mM SDS grubunda SOD aktivitesi kontrol grubundan yüksektir. SOD süperoksit anyonunu H_2O_2 'ye indirger ve antioksidan enzim sisteminin ilk hattını oluşturur. 0,1 mM SOD aktivitesindeki bu artış süperoksit radikalindeki artışa bağlı olarak bitkinin antioksidan savunma mekanizmasını harekete geçirdiğini göstermektedir. Her ne kadar enzim aktivitesinde artış olsa da, O_2^- radikalinin de artış göstermesi, enzimin SDS varlığında bu radikali pasifize

etmekte yetersiz kaldığını gösterir. Diğer bütün gruplarda SOD aktivitesinde ciddi düşüşler meydana gelmiştir. SDS'nin bitki üzerinde meydana getirmiş olduğu toksik etki muhtemelen enzimin sentez reaksiyonlarına zarar vermiştir. Çünkü enzimler protein yapıdadır ve SDS'nin aminoasitlerin peptit bağlarına zarar verdiği bilinmektedir (Fainerman *et al* 2010).

H₂O₂ esasında radikal değildir; fakat bu reaktif oksijen türü OH⁻ radikaline indirgenebildiği için bertaraf edilmesi gerekir. Bunun için bitki bazı enzimatik antioksidanları harekete geçirir. POD, CAT ve APX bu enzimlerden bazılarıdır (Hagar *et al.* 1996).

Çalışmamızda H₂O₂'yi parçalayan önemli bir enzim olan Peroksidaz (POD) aktivitesinde, SDS uygulama dozunun artmasıyla beraber önemli derecede artışlar görülmüştür. POD aktivitesinde artış görülmesi antioksidan savunmanın harekete geçmesinden kaynaklanmaktadır. POD hücreyi H₂O₂'nin zararlı etkilerinden korumak için aktivite göstermişse de SDS'nin toksik etkisini gidermeyi başaramamıştır.

Diğer taraftan Katalaz (CAT) H₂O₂ 'nin hidroksil radikale dönüşmesini engelleyen, hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştüren önemli bir enzimdir. H₂O₂ 'nin düşük seviyelerde artışı CAT'ın aktifleşmesini sağlar. Enzimin aktivite gösterebilmesi için protein yapısında olan Hem grubunun bağlanması gerekir. (Kremer 1970; Lardinois 1995; Switala and Loewen 2002).

Chang *et al.* (2015), çalışmasında buğday fidelerinde SDS kaynaklı CAT aktivitesinde düşüşler olduğunu bildirmiştir. Bizim sonuçlarımıza göre de SDS, CAT aktivitesini ciddi manada düşürmüştür. Bu çalışma ile araştırmamızın sonuçları paralellik arz etmektedir.

Sonuçlarımızdaki CAT aktivitesindeki SDS kaynaklı düşüş ile H₂O₂ miktarındaki artışlar uyumlu görülmektedir. Ayrıca Hem'in protein yapıda olması nedeniyle SDS'nin bu yapıyı bozma ve dolayısıyla enzimi inaktive etmiş olma ihtimali de bulunmaktadır.

H₂O₂'yi parçalayan bir diğer önemli enzim de APX tir. Bu enzim mitokondri, kloroplast, sitozol, ve peroksizomlarda bulunan ve H₂O₂'yi suya indirgeyen askorbat-glutasyon döngüsünün ilk enzimidir. APX'in H₂O₂'ye yüksek afinitesinin olması ve askorbat-glutasyon döngüsünün hemen hemen her hücre sel yapıda gerçekleşiyor olması, bu döngünün ROT seviyesinin kontrolünde hayati önem taşıdığını göstermektedir (Mittler 2002).

Çalışmamızın sonuçlarına göre SDS, APX aktivitesi üzerinde ciddi düşüşler meydana getirmiştir. Bu durum askorbat-glutasyon döngüsünün biyoregülasyonunu bozabilir. SDS, bu etkiyi peptit bağlarını parçalamak suretiyle enzim yapısına zarar vererek ve/veya APX enzimine bağlanmak suretiyle de gerçekleştirmiş olabilir. Yapılan bir çalışmada, SDS varlığında enzimlerin moleküler ağırlıklarında artış olduğunun kaydedilmiş olması görüşümüzü destekler mahiyettedir (Moore and Flurkey 1990).

Askorbat-glutasyon döngüsünün son enzimi olan GR, okside glutasyonun (GSSG) glutatyon (GSH) indirgenmesini katalizleyen bir enzimdir. Bu enzim, Oksidatif stres sırasında askorbat havuzunu indirgenmiş halde tutmada önemli bir role sahiptir. Bu nedenle de inaktivasyonu H₂O₂'nin ortamdan uzaklaştırılmasını sınırlar (Mittler 2002; Bozdemir 2007).

Mevcut çalışmada GR enziminin aktivitesinde ciddi düşüşler meydana gelmiştir. Bu durum askorbat-glutasyon zincirinin yeterince çalışmadığını, askorbat-glutasyon çemberinin bir diğer enzimi olan APX'in de aktivitesinde düşüş olması çemberin aktifleşmediği görüşünü desteklemektedir. Askorbat-glutasyon döngüsü temelde H₂O₂ 'nin suya indirgenmesini sağlar. Bu çemberin yeterince aktifleşmemesi H₂O₂ seviyesinin de arttığını göstermektedir ki, mevcut çalışmamız H₂O₂ seviyesinin arttığını göstermektedir.

5.6. SDS Uygulamalarının Hücre Zarına Etkileri

Plazma membrandaki fosfolipitlerin, kolesterolün veya yağ asitlerinin doymamış bağları hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen partikülleri ile reaksiyona girerek lipid hidroperoksit (LPO) gibi radikaller

oluşturabilir. Poliansantüre yağ asitleri ROT'lara karşı hassastırlar ve oluşan radikaller zincirleme reaksiyonlarla devam edebilir. Hidroperoksitlerin akümüasyonu, membran fonksiyonu ile akışkanlığını bozabilir ve son ürün olarak sitotoksik biyoaktif aldehitler oluşturabilir. Oluşan aldehitlerin en iyi bilineni Malondialdehit (MDA)'tir. MDA çeşitli stres faktörleriyle oluşan LPO hasarının iyi bir indikatörüdür ve geri dönüşümsüz hasarı gösterir. Çeşitli stres faktörlerine karşı meydana gelen ilk ve en önemli hasarlardan biri de hücre membranının hasarındır. Membran bütünlüğünün kaybolması, akışkanlığının zarar görmesi diğer birçok hasarın da oluşmasına neden olur. Hücre membran hasarı ile radikaller arasında doğrudan bir ilişki bulunmaktadır. Radikal miktarı arttıkça hasarda artar. Kırmızı algler üzerinde yapılan bir çalışmada SDS'nin glikolipitlerin yağ asidi kompozisyonunu değiştirdiği bildirilmiştir (Weiss 1986; Sinclair *et al.* 1990). Glikolipitler hücre zarının önemli bileşenlerinden biridir. Koyunların dermis lipitlerinde yapılan bir çalışmada, SDS'nin dermis lipitlerinde kayıplar meydana getirdiği belirtilmiştir (Eker ve Ercan 2000; Geçkil 2012). Bildiğimiz kadarıyla bitkiler üzerinde LPO ve SDS ilişkisini açıklayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan çalışmamız, bu ilişkiyi ortaya koyma anlamında, ilk çalışma niteliğindedir.

Bildiğimiz kadarıyla bitkiler üzerinde LPO ve SDS ilişkisini açıklayan herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu açıdan çalışmamız bu alanda ilk çalışma niteliğindedir.

Sonuçlarımız plazma membranında SDS'nin düşük dozda dahi çok ciddi şekilde hasar oluşturduğunu ve dozun artmasıyla beraber hasarın da arttığını göstermektedir. Bu durum, SDS'nin membran viskozitesinin ve fonksiyonunun bozulmasına yol açtığı anlamına da gelmektedir. Bunun olası nedenlerinden biri, membrandaki fosfolipitlerin, kolesterolün vb bileşenlerin doymamış bağlarının hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen partikülleri ile reaksiyona girmeleri olabilir. Sonuçlarımızdan da görüleceği üzere SDS, ROT'larda artış meydana getirmiştir. SDS'nin glikolipitlere ve dermis lipitlerine verdiği hasar, bu hipotezi destekler niteliktedir.

Hücre membran yapısında en çok bulunan biyomolekül proteinlerdir. Membran yapısında bulunan integral proteinlerin plazma membranından ayrılması periferel proteinlere göre daha zordur. İntegral proteinler lipidlerin hidrokarbon zincirleriyle etkileştiklerinden, bunların yıkımı plazma membranına çok daha ciddi anlamda zarar verir. Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalar periferel proteinlerin integral proteinlerinin yüzeylerine de bağlandıklarını göstermişlerdir. Dolayısıyla integral proteinlerin yıkımı, hem membrandaki lipidlerin hidrokarbon zincirlerinin bozulmasına, dolayısıyla lipid yapılarının bozulmasına, hem de periferel proteinlerin parçalanmasına neden olmaktadır. İntegral proteinleri parçalamak için SDS kullanılmaktadır. Ayrıca SDS'nin, aminoasitlerin bağlanmasını sağlayan peptit bağlarını da parçalayıcı etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Fainerman *et al* 2010; Keha ve Küfrevioğlu 2014).

Elde ettiğimiz bulgular, MDA miktarının çok açık bir şekilde arttığını gösterir niteliktedir. Bu durum, SDS uygulamalarının hücre zarında ciddi hasarlara yol açtığını ortaya koymaktadır. Kanaatimizce bu hasar artış nedenlerinden biri de, SDS'nin plazma membranındaki aminoasitlerin peptit bağlarını parçalaması ve integral proteinlere zarar vermiş olmasıdır. Zira bu proteinlerin parçalanması nedeniyle, hücre ve hücredeki kloroplast ve mitokondri gibi diğer tüm organel zarlarının yapısının bozulmasına, bu bozulmalara ardışık olarak tüm hücrede gerçekleşen redoks tepkimelerinde görülen hataların düzeyinin artmasına, bu hatalar sonucu oluşan oksidan maddelerin de hücredeki tüm kompartımanlara etki etme riskinin artmasıyla hücredeki homeostatik denge bozulma sürecine girmiş olur. Bu bilgiler ışığında, SDS'nin genel anlamda protein yapısında bozulmaya yol açabiliyor olmasının, dozuna bağlı olarak zincirleme reaksiyonlar sonucunda bir canlıda ölüme varan çok trajik sonuçlar doğurabileceğini söylemek mümkün gözükmektedir.

5.7. Sonuçlar

1. SDS çok geniş kullanım alanı olan yüzey aktif bir maddedir. Çok geniş kullanılması nedeniyle tüm canlılar üzerinde etkilerinin belirlenmesini zorunlu kılmaktadır.
2. SDS arpa bitkisinde kök ve gövde indirgenmesine neden olmuş olup bu durum protein ve mitoz sentez reaksiyonlarının zarar görmesinden kaynaklanıyor olabilir.
3. Protein miktarlarında azalmanın olması biyokütle azalmasına da neden olur. Ayrıca protein miktarındaki düşüş protein sentez reaksiyonlarında bozulmaların olduğunu gösterir. Protein miktarındaki düşüş bitkinin kök ve gövde kısılmasının olası nedenlerinden olan protein sentez reaksiyonlarının bozulduğu hipotezini de desteklemektedir.
4. SDS fotosentez verimliliğini düşürmüştür. Dolayısıyla bitkinin ürettiği besin ve oksijen miktarında da azalmalar olmuştur. SDS'nin uygulanması sonucu fotosentetik pigment miktarlarında düşüşler görülmüş ve aynı zamanda enzimatik olmayan bir antioksidan grup olan karotenoid bileşiklerde de azalma meydana gelmiştir.
5. Oksidan moleküller organizmanın stresle karşılaştığı durumlarda bir sinyal verici olarak görev yaparlar. Bu etki, düşük konsantrasyon miktarındaki radikaller için geçerlidir. Yüksek düzeyde radikal, hücre ve organizma için toksik etki yapar. Mevcut alışmada ROT seviyesinde artışlar grlmştr. Bu durum bitkiye ciddi anlamda zarar vermiştir.
6. Antioksidanlar canlıların savunma mekanizmalarından biridir. Organizmanın stresle karşılaşması durumunda antioksidan savunma harekete geçer ve stres faktörünü zararsız hale getirmek için uğraşır. Yüksek düzeyde stres faktörüne maruz kalan organizmaların antioksidan aktivitelerinde azalmalar olur. Mevcut çalışmada genel itibariyle antioksidan enzim aktiviteleri azalma

göstermiştir. Enzimler, protein yapısında olan gruplardır. Protein sentezinin azalması enzim sentez reaksiyonlarının da bozulduğunu gösterir.

7. Lipit peroksidasyonu hücrede istenmeyen bir reaksiyondur. Bu olayın en önemli indikatörü de Malondialdehit (MDA) bileşiğinin seviyesidir. Mevcut çalışmada SDS dozunun artmasıyla beraber MDA seviyesi artış göstermiştir. MDA plazma membranında bozulma indikatörüdür.

Mevcut araştırma sonuçlarına göre; SDS stresinin başta hücre zarı hasarı olmak üzere birçok organeli ve metabolizmayı olumsuz etkileyerek aşırı miktarda ROT üretimini arttırmasının yanı sıra fotosentetik pigmentlerde, antioksidan enzimlerde, protein miktarında düşüslere neden olmuştur. SDS çok geniş bir alanda kullanılan önemli bir sürfaktandır. Gıdadan kozmetiğe, kâğıt sanayiinden deterjan endüstrisine kadar her alanda kullanılan bu maddenin ne yazık ki zararlı etkileri hakkında çalışmalar çok kısıtlıdır. Mevcut çalışmalar bazı mikroorganizmalar üzerinde gerçekleştirilmiş ve buna ek olarak egzamalı bireylerde etkileri çok az sayıda çalışma ile gösterilmeye çalışılmıştır. Bitkiler üzerine etkileri ne yazık ki yeterince irdelenmemiştir. Oysaki SDS etkileri çok ciddi olan, tarım arazilerinin ve bitkilerin yapısına zarar verebilen bir maddedir. Dolayısıyla hem sağlık üzerine hem de ekonomik anlamda zararlı olan bu bileşiğin bitkiler üzerindeki etkileri, SDS-Gen Etkileşimi üzerine odaklanacak şekilde moleküler tekniklerle ayrıntılı olarak araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

- Abboud, M. M., Khleifat, K. M., Batarseh, M., Tarawneh, K. A., Al-Mustafa, A., Al-Madadhah, M. 2007. Different Optimization Conditions Required For Enhancing The Biodegradation of Linear Alkylbenzosulfonate and Sodium Dodecyl Sulfate Surfactants by Novel Consortium of *Acinetobacter Calcoaceticus* and *Pantoea Agglomerans*. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(4), 432-439.
- Aebi, H. 1984. Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*, 105 (13), 121-126.
- Agarwal, S. and Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.
- Ahlers, J., Riedhammer, C., Vogliano, M., Ebert, R. U., Kühne, R., Schüürmann, G. 2006. Acute To Chronic Ratios in Aquatic Toxicity—Variation Across Trophic Levels and Relationship with Chemical Structure. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(11), 2937-2945.
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri. Mimoza Yayınları, 157 s, Konya
- Alscher, R. G., Donahue, J. L., and Cramer, C. L. 1997. Reactive Oxygen Species and Antioxidants: Relationships in Green Cells. *Physiologia Plantarum*, 100 (2), 224-233.
- Amaya, I., Botella, M. A., De La Calle, M., Medina, M. I., Heredia, A., Bressan, R. A., Valpuesta, V. 1999. Improved Germination Under Osmotic Stress of Tobacco Plants Overexpressing A Cell Wall Peroxidase. *Febs Letters*, 457(1), 80-84.
- Anonim. 2010. Sular - İnsanî Tüketim Amaçlı Sular. TS 266 sayılı Yönetmelik., Ankara
- Anonim. 2012. Tahıl Raporu / Nüsha 1. Gaputaem Güncel, T.C Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Retrieved From <https://Arastirma.Tarim.Gov.Tr/Gaputaem/Belgeler/Tar%C4%B1msal%20Overiler/Gaputaem%20güncel/Tah%C4%B1l%20Raporu.Pdf>.
- Aono, M., Saji, H., Fujiyama, K., Sugita, M., Kondo, N., Tanaka, K. 1995. Decrease in Activity of Glutathione Reductase Enhances Paraquat Sensitivity in Transgenic *Nicotiana Tabacum*. *Plant Physiology*, 107(2), 645-648.
- Arasimowicz, M., Floryszak-Wieczorek, J., Milczarek, G., Jelonek, T. 2009. Nitric Oxide, Induced by Wounding, Mediates Redox Regulation in *Pelargonium* Leaves. *Plant Biology*, 11(5), 650-663.
- Asada, K., Miyake, C., 1992. Thylakoid-Bound Ascorbate Peroxidase in Spinach Chloroplasts and Photoreduction of Its Primary Oxidation Product Monodehydroascorbate Radicals in Thylakoids. *Plant and Cell Physiology*, 33(5), 541-553.
- Atıcı, O. G., 2006. Yüzey Aktif Maddeler: İTÜ Vakfı Yayınları, 294 s, İstanbul.

- Ayaz, A., Yurttagül, M., 2012. Besinlerdeki Toksik Öğeler-II. Sağlık Bakanlığı Yayın No: 27, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, 40s, Ankara.
- Bakardjieva, N., Ccristovhristova, N., and Christov, K. 1996. Effect of Calcium and Zinc İons on The Sensitivity of Peroxidase From Mosses (Mnium Sp.) and Ferns (Polypodium Vulgare) to High Temperature. Canadian Journal of Botany, 74(10), 1665-1670.
- Bakır Ateşlier, Z. B. 2009. Termofilik Anoxybacillus Flavithermus Hbb 134'ün Lipaz Enziminin Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın
- Banci, L. (1997). Structural Properties of Peroxidases. Journal of Biotechnology, 53(2), 253-263.
- Bantseev, V., Mccanna, D., Banh, A., Wong, W. W., Moran, K. L., Dixon, D. G., Sivak, J. G. 2003. Mechanisms of Ocular Toxicity Using the in Vitro Bovine Lens and Sodium Dodecyl Sulfate as a Chemical Model. Toxicological Sciences, 73(1), 98-107.
- Baran, İ., Nalçacı, R. 2007. Dış Hekimliğinde Kullanılan Materyaller ve Alerjik Reaksiyonlar. Atatürk Üniversitesi Dış Hekimliği Fakültesi Dergisi, 2(1), 26-32
- Baskin, S., Salem, H. 1997. Oxidants, Antioxidants and Free Radicals, Taylor and Francis Publishers (CRC Press), 450 p, USA
- Bayram, H., Dörtbudak, Z., Fişekçi, F. E., Kargın, M., Bülbül, B. 2006. Hava Kirliliğinin İnsan Sağlığına Etkileri, Dünyada, Ülkemizde ve Bölgemizde Hava Kirliliği Sorunu Paneli Ardından. Dicle Tıp Dergisi, 33(2), 105-112.
- Becker, L. B., Vanden Hoek, T. L., Shao, Z.-H., Li, C.-Q., Schumacker, P. T. 1999. Generation of Superoxide in Cardiomyocytes during İschemia before Reperfusion. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 277(6), 2240-2246.
- Behçet, R., Oral, C. İ. F. 1995. Malatya İlinde Oluşan Eysel Katı Atıklardaki Enerji Potansiyeli, 2nd International Symposium on Innovative Technologies in Engineering and Science, Karabük
<http://www.isites.info/PastConferences/ISITES2014/ISITES2014/papers/A12-ISITES2014ID333.pdf>
- Benlioğlu, B., Özkan, U. 2015. Bazı Arpa Çeşitlerinin (Hordeum Vulgare L.) Çimlenme Dönemlerinde Farklı Dozlardaki Tuz Stresine Tepkilerinin Belirlenmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi, 24(2).
- Bergmeyer, H.U, Grabl M, Walter H.E., 1983. Biochemical Reagents for General use. in H.U Bergmeyer, ed, Methods of Enzymatic Analysis. Verlag Chemie, Weinheim, pp 126-328
- Blokhina, O., Virolainen, E., Fagerstedt, K. V. 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress, A Review. Annals of Botany, 91(2), 179-194.

- Boeije, G., Cano, M., Marshall, S., Belanger, S., Van Compernelle, R., Dorn, P., Wind, T., 2006. Ecotoxicity Quantitative Structure–Activity Relationships for Alcohol Ethoxylate Mixtures Based on Substance-Specific Toxicity Predictions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 64(1), 75-84.
- Bolwell, G. P., Bindschedler, L. V., Blee, K. A., Butt, V. S., Davies, D. R., Gardner, S. L., Minibayeva, F. 2002. The Apoplastic Oxidative Burst in Response to Biotic Stress in Plants, A Three-Component System. *Journal of Experimental Botany*, 53(372), 1367-1376.
- Bowler, C., Slooten, L., Tsang, E. W., Van Camp, W., Van Montagu, M., Inzé, D. 1991. Oxidative Stress in Plants *Plant Molecular Biology* 2, 695-705
- Bowler, C., Van Camp, W., Van Montagu, M., Inze, D., Asada, K. 1994. Superoxide Dismutase in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 13(3), 199-218.
- Boyraz, C., Cangir, D., 2008. İklim Değişikliği ve Çölleşme veya Toprak/Arazi Bozulmasının Türkiye’deki Boyutları ve Çölleşme ile Mücadele. *JOTAF/Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5(2), 169-186.
- Bozdemir, Y. 2007. Keten Tohumu (*Linum Usitatissimum*) Ekstraktında Katalaz ve Süperoksit Düşmutaz Enzim Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Adana
- Bozkurt, A., Dural, M., Yılmaz, A. B. 2004. Yarseli Baraj Gölü’nün (Hatay/Türkiye) Bazı Fiziko-Kimyasal özellikleri ve Zooplankton (Rotifer, Cladocer Ve Copepod) Faunası.
- Bradford, M. M., 1976, A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding, *Analytical Biochemistry*, 72 (1-2), 248-254
- Bukau, B., Weissman, J., Horwich, A. 2006. Molecular Chaperones and Protein Quality Control. *Cell*, 125(3), 443-451.
- Carrasco, C., Ribelles, A., Ordóñez Muñoz, F., Rosety, J., Rosety-Rodriguez, M., Rosety, M., Rosety, I. 2001. Comparative Study of the Acute Toxicity of Anionic Surfactants Alky Benzene Sulphonate (ABS) and Sodium Dodecyl Sulphate (SDS) on Gilthead, *Sparus Aurata L.*, Eggs. *Histology and Histopathology*.
- Castro-Ochoa, L. D., Rodríguez-Gómez, C., Valerio-Alfaro, G., Ros, R. O. 2005. Screening, Purification and Characterization of the Thermoalkalophilic Lipase Produced by *Bacillus Thermoleovorans* CCR11. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(6), 648-654.
- Chang, G., Zhang, Q., Zhang, L., Lü, Y., Gao, T. 2015. Effects of Sodium Dodecyl Sulfate on Wheat (*Triticum Aestivum L.*) Seedlings. *Environmental Progress Sustainable Energy*, 34(4), 1142-1147.
- Chaudière, J., Ferrari-Iliou, R. 1999. Intracellular Antioxidants from Chemical to Biochemical Mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9), 949-962.

- Chen, G.-X., Asada, K. 1989. Ascorbate Peroxidase in Tea Leaves: Occurrence of two Isozymes and the Differences in Their Enzymatic and Molecular Properties. *Plant and Cell Physiology*, 30(7), 987-998.
- Chianeh, Y. R., Prabhu, K. 2014. Oksidatif Stresin Bir Göstergesi Olarak Protein Thioller. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 23(3), 443-456
- Coffey, M. D., Cole, R. A., Colles, S. M., and Chisolm, G. M. 1995. in Vitro Cell Injury by Oxidized Low Density Lipoprotein Involves Lipid Hydroperoxide-Induced Formation of Alkoxy, Lipid, and Peroxyl Radicals. *Journal of Clinical Investigation*, 96(4), 1866-1873
- Creissen, G., Broadbent, P., Stevens, R., Wellburn, A., Mullineaux, P. 1996. *Manipulation of Glutathione Metabolism in Transgenic Plants*, Portland Press Limited.
- Çaylak, E. 2011. Hayvan ve Bitkilerde Oksidatif Stres ile Antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, 9(1), 73-83.
- Çepel, N., DüNDAR, M., Ertan, E. 1980. Samsun Gelemen Orman Fidanlığında Görülen Duman Zararları Üzerine Araştırmalar. *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, A 30, 6-42.
- Daschner, M., Lenhartz, H., Böttcher, D., Schaefer, F., Wollschläger, M., Mehls, O., Leichsenring, M. 1996. Influence of Dialysis on Plasma Lipid Peroxidation Products and Antioxidant Levels. *Kidney International*, 50(4), 1268-1272.
- Demirel, H. F. 2013. Levulinik Asit ve Sodyum Dodesil Sülfat'ın ayrı ayrı ve Bunların Kombinasyonunun Gıda Endüstrisi Açısından Önemli Bazı Bakteriler Üzerine Olan Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi. *Doktora Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*
- Deneke, S. M., Fanburg, B. L. 1980. Normobaric Oxygen Toxicity of the Lung. *New England Journal of Medicine*, 303(2), 76-86.
- Derviş, E. 2011. Oral Antioksidanlar. *Dermatoz*, 2(1), 263-267.
- Dımişki, E., Ünal, S. 1999. UNESCO. UNEP Himayesinde Çevre Eğitiminin Gelişimi ve Türkiye'de Ortaöğretim Çevre Eğitimi. *Hacette Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 16(17), 142-154.
- Dirican, S. ve Barlas, M., 2005. Dipsiz ve Çine (Muğla-Aydın) Çayı'nın Fizikokimyasal Özellikleri ve Balıkları. *Ekoloji* 14-54, 25-30.
- Dirilgen, N., İnce, N. L. (1995). Inhibition Effect of The Anionic Surfactant SDS On Duckweed, *Lemna Minor* with Considerations of Growth and Accumulation. *Chemosphere*, 31(9), 4185-4196.
- Dodson, S. I., Arnott, S. E., Cottingham, K. L. 2000. The Relationship in Lake Communities between Primary Productivity and Species Richness. *Ecology*, 81(10), 2662-2679.
- Doğan, F., Tokgöz, M., Tarımcı, A. 1986 İzmir Şehri İçme ve Kullanma Sularında Deterjan Araştırması, *Anadolu Tıp Dergisi*, 8, 93-102
- Doğancı, M. D., Sesli, B. U., Erbil, H. Y. 2010. Sodyum Dodesil Sülfat Çözeltisi ile Hazırlanan Grafit Sıvı Bilya Damlasının Buharlaşıma Hızı. 3. Ulusal

- Polimer Bilim ve Teknoloji Kongresi ve Sergisi, Kocaeli Üniversitesi, Kocaeli,
- Doige, C. A., Yu, X., Sharom, F. J. 1993. The Effects of Lipids and Detergents On Atpase-Active P-Glycoprotein. *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1146(1), 65-72.
- Dunphy, J. C., Pessler, D. G., Morrall, S. W., Evans, K. A., Robaugh, D. A., Fujimoto, G., Negahban, A. 2001. Derivatization LC/MS for the Simultaneous Determination of Fatty Alcohol and Alcohol Ethoxylate Surfactants in Water and Wastewater Samples. *Environmental Science and Technology*, 35(6), 1223-1230.
- Durmuş, N., Kadioğlu, A. 2005. Spermine and Putrescine Enhance Oxidative Stress Tolerance in Maize Leaves. *Acta Physiologiae Plantarum*, 27(4), 515-522.
- Eker, E. A., M.Ercan. 2000. Deri Teknolojisi Açısından Gazyağı ve Sodyum Lauryl Sülfatın Deri Yağlarında Etkisi Üzerinde Histolojik ve Kimyasal Bir Çalışma. *İstanbul Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 26(1), 189-200.
- Elstner, E.F. and Heupel, A., 1976. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Anal. Biochem*, 70, 616-620.
- Erbil, H. Y. 2006. *Surface Chemistry of Solid and Liquid Interfaces*, 368 p, Blackwell Publishing, Oxford, England
- Fainerman, V., Lylyk, S., Aksenenko, E., Petkov, J., Yorke, J., Miller, R. 2010. Surface Tension Isotherms, Adsorption Dynamics and Dilational Visco-Elasticity of Sodium Dodecyl Sulphate Solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 354(1), 8-15.
- Feyzioğlu, E. 2011. *Ekoloji, İnsan ve Din. Yüksek Lisans Tezi*, Selçuk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Konya,Türkiye
- Forni, C., Braglia, R., Harren, F., Cristescu, S. 2012. Stress Responses of Duckweed (*Lemna Minor* L.) and Water Velvet (*Azolla Filiculoides* Lam.) to Anionic Surfactant Sodium-Dodecyl-Sulphate (SDS). *Aquatic Toxicology*, 110, 107-113.
- Forni, C., Giordani, F., Pintore, M.,Campanella, L. 2008. Effects of Sodium Dodecyl Sulphate On The Aquatic Macrophytes *Azolla* and *Lemna*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing With All Aspects of Plant Biology*, 142(3), 665-668.
- Foyer, C.H.,Barry Halliwell, B., 1976. The presence of Glutathione and Glutathione Reductase in Chloroplasts: A proposed Role in Ascorbic acid Metabolism, *Planta*, 133 (1), 21-25
- Fridovich, I. 1995. Superoxide Radical and Superoxide Dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 64(1), 97-112.
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., Minkov, I. 2002. Hydrogen Peroxide Protects Tobacco from Oxidative

- Stress by İnducing a Set of Antioxidant Enzymes. Cellular and Molecular Life Sciences, 59(4), 708-714.
- Geçkil, H. 2012. Biyokimya I. İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, 284 s, Malatya
- Gong, Y., Toivonen, P.M.A., Lau, O.L., Wiersma, P.A., 2001. Antioxidant system level in 'Braeburn' apple in related to its browning disorder. Bot. Bull. Acad. Sin, 42, 259-264
- Gündüz, T. 1994. Çevre Sorunları: Bilge Yayıncılık. 200 s, Ankara, Türkiye
- Güler, Ç., Çobanoğlu, Z. 1997. Toprak kirliliği. TC Sağlık Bakanlığı Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi (40).Ankara, Türkiye
- Hacıoğulları, İ., Ulusoy, N., Faruk, E. 2015. Dentin Aşırı Hassasiyeti: Tanı ve Tedavi Yöntemleri. Atatürk Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 25(1).
- Hagar, H., Ueda, N., Shah, S. V. 1996. Role of Reactive Oxygen Metabolites in DNA Damage and Cell Death in Chemical Hypoxic Injury to LLC-PK1 Cells. American Journal of Physiology-Renal Physiology, 271(1), F209-F215.
- Haliki, E. 2011. Sodyum Dodesil Sülfat (SDDS) + Oktanol + Su Üçlü Liyotropik Sistemindeki Faz Hallerinin Belirlenmesi ve Mezofazların Fiziksel Özelliklerinin İncelenmesi Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye
<https://tez.yok.gov.tr/Ulusaltezmerkezi/Tezsorgusonucyeni.jsp>.
- Halliwell, B. 1981. Chloroplast Metabolism the Structure and Function of Chloroplasts in Green Leaf Cells, 270 p, Clarendon Press. Oxford, England,
- Halliwell, B., Aeschbach, R., Löliger, J., Aruoma, O. 1995. The Characterization of Antioxidants, Food and Chemical Toxicology, 33(7), 601-617.
- Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K., Charoensataporn, R. 2003. Salinity Effects on Antioxidant Enzymes in Mulberry Cultivar. Science Asia, 29(10).
- Havaux, M., Tardy, F. 1997. Thermostability and Photostability of Photosystem II in Leaves of the Chlorina-F2 Barley Mutant Deficient in Light-Harvesting Chlorophyll A/B Protein Complexes. Plant Physiology, 113(3), 913-923.
- Heath, R.L. and Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 25, 189-198.
- Hirai, M., Kawai- Hirai, R., Hirai, T., Ueki, T., 1993. Structural Change of Jack Bean Urease İnduced by Addition Surfactants Studied with Synchrotron-Radiation Small-Angle X-Ray Scattering. European Journal of Biochemistry, 215(1), 55-61.
- Hu, C., Huystee, R. B. V. 1989. Immunochemical Relatedness of two Peroxidase Isozymes from Peanut Cell Culture. Biochemistry and Cell Biology, 67(7), 371-376.

- Iizumi, T., Nakamura, K., Fukase, T. 1990. Purification and Characterization of A Thermostable Lipase from Newly Isolated *Pseudomonas* Sp. KWI-56. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(5), 1253-1258.
- Karol, S., Suludere, Z., Ayvalı, C., 1998. *Biyoloji Terimleri Sözlüğü* (Vol. 699): Türk Dil Kurumu. Ankara, Türkiye
- Keha, E. E., Küfrevioğlu, Ö. İ. 2014 *Biyokimya: Aktif Yayın Dağıtım.*, 641 s, İstanbul, Türkiye
- Kelly, M., Altria, K., Clark, B. 1997. Quantitative Analysis of Sodium Dodecyl Sulphate by Capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 781(1-2), 67-71.
- Kim, K.-Y., Kwon, H.-K., Kwon, S.-Y., Lee, H.-S., Hur, Y., Bang, J.-W., Kwak, S.-S. , 2000. Differential Expression of Four Sweet Potato Peroxidase Genes in Response to Absciscic Acid and Ethephon. *Phytochemistry*, 54(1), 19-22.
- Kocataş, A. 1992. *Ekoloji ve Çevre Biyolojisi*, Ege Üniversitesi Matbaası Yayınları, 564 s, İzmir,
- Krause, G. H. 1994. The Role of Oxygen in Photoinhibition of Photosynthesis. Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense Systems in Plants, 43-76.
- Kremer, M. L. 1970. Peroxidatic Activity of Catalase, *Biochimica and Biophysica Acta (BBA)-Enzymology*, 198(2), 199-209.
- Kristensen, P., Hansen, H. O. 1994. *European Rivers and Lakes: Assessment of Their Environmental State: European Environment Agency Copenhagen.*
- Kuleli, S., 1989, T.C Bayındırlık ve İskan Bakanlığı Devlet Su İşleri Genel Müdürlüğü Su Kalitesi Gözlem ve Denetim Semineri, İçme Suyu ve Kanalizasyon Dairesi, Ankara.
- Kumar, R., Goswami, S., Kumar, N., Pandey, S., Pandey, V., Sharma, S., Rai, R. 2011. Expression of Novel Ascorbate Peroxidase Isoenzymes of Wheat (*Triticum Aestivum* L) in Response to Heat Stress. *Int J Plant Physiol Biochem*, 3(11), 188-194.
- Kumar S., Thejasenuo J. K., Tsipila T., 2014. Toxicological Effects of Sodium Dodecyl Sulfate. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(5), 488-1492.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Heat of Bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
- Lardinois, O. M. 1995. Reactions of Bovine Liver Catalase with Superoxide Radicals and Hydrogen Peroxide. *Free Radical Research*, 22(3), 251-274.
- Löffler, H., Effendy, I. 1999. Skin Susceptibility of Atopic Individuals Contact Dermatitis, 40(5), 239-242.
- Maher, P., Lewerenz, J., Lozano, C., Torres, J. L. 2008. A Novel Approach to Enhancing Cellular Glutathione Levels. *Journal of Neurochemistry*, 107(3), 690-700.

- Mann, T., Keilin, D. 1938. Haemocuprein and Hepatocuprein, Copper-Protein Compounds of Blood and Liver in Mammals. *Proceedings of The Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 126(844), 303-315.
- Mariani, L., De Pascale, D., Faraponova, O., Tornambe, A., Sarni, A., Giuliani, S., Magaletti, E. 2006. The Use of a Test Battery in Marine Ecotoxicology the Acute Toxicity of Sodium Dodecyl Sulfate. *Environmental Toxicology*, 21(4), 373-379.
- Marklund, S. L. 1982. Human Copper-Containing Superoxide Dismutase of High Molecular Weight. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(24), 7634-7638.
- Mayer, M., Bukau, B. 2005. Hsp70 Chaperones: Cellular Functions and Molecular Mechanism. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(6), 670.
- Mccord, J. M., Fridovich, I. 1969. Superoxide Dismutase and Enzymic Function for Erythrocuprein (Hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 244(22), 6049-6055.
- Mehdy, M. C. 1994. Active Oxygen Species in Plant Defense Against Pathogens. *Plant Physiology*, 105(2), 467.
- Minareci, O. 2008. Manisa Belediyesi Evsel Atıksu Arıtma Tesisi Çıkış Sularının, Gediz Nehrine Olan Etkilerinin Anyonik Deterjan ve Fosfat Parametreleri Açısından Değerlendirilmesi. *Süleyman Demirel üniversitesi Fen Dergisi*, 3(1).
- Mittler, R. 2002. Oxidative Stress, Antioxidants and Stress Tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., Van Breusegem, F. 2004. Reactive Oxygen Gene Network of Plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490-498.
- Moller, I. M. 2001. Plant Mitochondria and Oxidative Stress Electron Transport, NADPH Turnover, and Metabolism of Reactive Oxygen Species. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1), 561-591.
- Moore, B. M., Flurkey, W. 1990. Sodium Dodecyl Sulfate Activation of a Plant Polyphenoloxidase. Effect of Sodium Dodecyl Sulfate on Enzymatic and Physical Characteristics of Purified Broad Bean Polyphenoloxidase. *Journal of Biological Chemistry*, 265(9), 4982-4988.
- Nakano, Y., Asada, K. 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
- Nawani, N., Dosanjh, N. S., Kaur, J. 1998. A Novel Thermostable Lipase From a Thermophilic *Bacillus* Sp. Characterization and Esterification Studies. *Biotechnology Letters*, 20(10), 997-1000.
- Nelson, D. 2005. *Lehninger Principles of Biochemistry*, Lehninger Biyokimyanın İlkeleri Çeviri: Kılıç N, Palme Yay. Ankara S, 363-388.
- Nisbet, M., Verneaux, J. 1970. Composantes Chimiques Des Eaux Courantes. Discussion Et Proposition De Classes En Tant Que Bases D'interprétation Des Analyses Chimiques. Paper Presented at the *Annales De Limnologie*.

- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M. 2001. Bitki Biyoteknolojisi Genetik Mühendisliği ve Uygulamaları. SÜ Vakfı Yayınları, 456s. Isparta,
- Özkalp, B., Özçelik, S. 1998. Türkiye'de. Üretilen Bazı Deterjanların Biyolojik Yolla Parçalanabilme Durumlarının Araştırılması. IX. Ulusal Biyoloji Kongresi. Genel Biyoloji. Numerik Taksonomi ve Kantitatif Ekoloji Paneli Bildirileri, 1, 217-226.
- Öztürk, M. A., Türkan, İ. 1989. Canlılar ve Çevre, Ofset Basımevi, 221 s, İzmir
- Peker, F., 2007. İstanbul Boğazı Deniz Kirliliğine Sebep Olan Kirleticiler Kaynaklar ve Su Kalitesinin Değişimleri. Yüksek Lisans tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul
- Pekyardımcı, Ş. 1992. Polifenol Oksidaz Enzimi ve Esmerleşme Reaksiyonlarının Gıda Endüstrisi Uygulamaları. Gıda Teknolojisi, 17(3), 181-186.
- Pell, E. J. 1979. How Air Pollutants Induce Disease in J.G. Horsfall and E.B. Cowling (Eds.) Plant Disease an Advanced Treatise Academic Press, New York (Vol. IV), 273-292, Academic Press, New York USA
- Rajagopal, S., Sudarsan, N., Nickerson, K. W. 2002. Sodium Dodecyl Sulfate Hypersensitivity of Clpp and Clpb Mutants of Escherichia Coli. Applied and Environmental Microbiology, 68(8), 4117-4121.
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., Di Toppi, L. S. 2005. Oxidative Stress and Phytochelatin Characterisation in Bread Wheat Exposed to Cadmium Excess. Plant Physiology and Biochemistry, 43(1), 45-54.
- Ranieri, A., D'urso, G., Nali, C., Lorenzini, G., Soldatini, G. 1996. Ozone Stimulates Apoplastic Antioxidant Systems in Pumpkin Leaves. Physiologia Plantarum, 97(2), 381-387.
- Rocha, A. J., Gomes, V., Ngan, P. V., Passos, M. J., Furia, R. R. 2007. Effects of Anionic Surfactant and Salinity on The Bioenergetics of Juveniles of Centropomus Parallelus (Poey). Ecotoxicology and Environmental Safety, 68(3), 397-404.
- Rout, G., Samantaray, S., Das, P. 2000. in Vitro Rooting of Psoralea Corylifolia Linn Peroxidase Activity as a Marker. Plant Growth Regulation, 30(3), 215-219.
- Rua, M. L., Schmidt-Dannert, C., Wahl, S., Sprauer, A., Schmid, R. D. 1997. Thermoalkalophilic Lipase of Bacillus Thermocatenulatus Large-Scale Production, Purification and Properties: Aggregation Behaviour and Its Effect On Activity. Journal of Biotechnology, 56(2), 89-102.
- Saxena, R., Davidson, W., Sheoran, A., Giri, B. 2003. Purification and Characterization of an Alkaline Thermostable Lipase From Aspergillus Carneus. Process Biochemistry, 39(2), 239-247.
- Scandalios, J. G. (1993). Oxygen Stress and Superoxide Dismutases. Plant Physiology, 101(1), 7.
- Siegel, S., Siegel, B., Massey, J., Lahne, P., Chen, J. 1980. Growth of Corn in Saline Waters. Physiologia Plantarum, 50(1), 71-73.

- Sinclair, A., Barnett, A., Lunec, J. 1990. Free Radicals and Antioxidant Systems In Health and Disease. *British Journal of Hospital Medicine*, 43(5), 334-344.
- Singh, S., Banerjee, U. 2007. Purification and Characterization of Trans-3-(4-Methoxyphenyl) Glycidic Acid Methyl Ester Hydrolyzing Lipase From *Pseudomonas Aeruginosa*. *Process Biochemistry*, 42(7), 1063-1068.
- 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 Biochimivca Polonica-English Edition-*, 54(1), 39-50
- Smith, E. L. 1941. The Action of Sodium Dodecyl Sulfate on the Chlorophyll-Protein Compound of the Spinach Leaf. *The Journal of General Physiology*, 24(5), 583-596
- Spiteller, G. 2001. Peroxidation of Linoleic Acid and its Relation to Aging and Age Dependent Diseases. *Mechanisms of Ageing and Development*, 122(7), 617-657.
- Stahl, W., Sies, H. 2002. Introduction: Reactive Oxygen Species. *Research Monographs: Reactive Oxygen Species*, 1-2.
- Streb, P., Michael-Knauf, A., Feierabend, J. 1993. Preferential Photoinactivation of Catalase and Photoinhibition of Photosystem II are Common Early Symptoms Under Various Osmotic and Chemical Stress Conditions. *Physiologia Plantarum*, 88(4), 590-598.
- Sultan, N. S., Bilge. 2007. Temizlik Ürünleri ve Dezenfektanların Ürün Güvenliği. in M. Ö. Günaydın, Recep; Ulusoy,Sercan; Güntekin, Meral (Ed.), *DAS Kongre Kitabı* (Vol. 5, Pp. 400-410). 5. Ulusal Sterilizasyon Dezenfeksiyon Kongresi Dezenfeksiyon Antisepsi Sterilizasyon Derneği.
- Switala, J., Loewen, P. C. 2002. Diversity of Properties Among Catalases. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 401(2), 145-154.
- Thomashow, M. F. 1999. Plant Cold Acclimation Freezing Tolerance Genes and Regulatory Mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 50(1), 571-599.
- Toroğlu, E.,Toroğlu, S., Alaeddinoğlu, F. 2006. Aksu Çayı'nda (Kahramanmaraş) Akarsu Kirliliği. ,4 (1), 93-103
- Utaş, S. Kozmetiklere Bağlı İstenmeyen Reaksiyonlar.,2003. *Turkderm*, 1(37), 161-169.
- Vance, C. K., Miller, A.-F. 1998. Spectroscopic Comparisons of the Ph Dependencies of Fe-Substituted (Mn) Superoxide Dismutase and Fe-Superoxide Dismutase. *Biochemistry*, 37(16), 5518-5527.
- Vural, A. 2003. Gıda Muhafaza Tekniği Olarak Işınlamanın Kanatlı Etlerinde Neden Olduğu Değişiklikler. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi* (4).
- Weiss, S. 1986. Oxygen, İschemia and İnflammation. *Acta Physiol. Scand.*, 548, 9-37.

- Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants protective role of exogenous polyamines. *Plant Sci*, 151, 59–66.
- Witham, F.H., Blayles, D.F. and Devlin, R.M., 1971. *Experiments in Plant Physiology*. Van Nostrand Reinhold Company, 55-56. New York.
- Whetten, R.W., Mackay, J.J., Sederoff, R.R. 1998. Recent Advances in Understanding Lignin Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 49(1), 585-609.
- Wolkoff, P., Schneider, T., Kildesø, J., Degerth, R., Jaroszewski, M., Schunk, H. 1998. Risk in Cleaning Chemical and Physical Exposure. *Science of the Total Environment*, 215(1), 135-156.
- Wright, A., Bubb, W. A., Hawkins, C. L., Davies, M. J. 2002. Singlet Oxygen–Mediated Protein Oxidation: Evidence For The Formation of Reactive Side Chain Peroxides on Tyrosine Residues. *Photochemistry and Photobiology*, 76(1), 35-46.
- Yaramaz, Ö. 1992 Çevre ve Su Kirliliği. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova-İzmir.
- Yee, Y., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., Lu, C.Y., 2002. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguiera gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environ. Exp. Bot*, 1-13.
- Yıldız, M., Terzi, H. 2007. Bitkilerin Yüksek Sıcaklık Stresine Toleransının Hücre Canlılığı ve Fotosentetik Pigmentasyon Testleri ile Belirlenmesi/Determination of Toleranceto High Temperature Stress of Plants With Cell Viability and Photosynthetic Pigmentation Tests. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 23(1-2).
- Yordanova, R.Y., Christov, K.N., Popova L.P., 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environ. and Exp. Botany*, 51, 93-101.
- Yruela, I., Pueyo, J. J., Alonso, P. J., Picorel, R. 1996. Photoinhibition of Photosystem II From Higher Plants Effect of Copper İnhibition. *Journal of Biological Chemistry*, 271(44), 27408-27415.
- Yu, M., Qin, S., Tan, T. 2007. Purification and Characterization of The Extracellular Lipase Lip from *Yarrowia Lipolytica*. *Process Biochemistry*, 42(3), 384-391.
- Yurdakul, İ., Kalınbacak, K., Gedikoğlu, İ. 2014. Farklı Yüzey Aktif Maddelerin Domatesin Gelişimine Etkileri, *Bahri Dağdaş Bitkisel Araştırma Dergisi*, 3 (1):19-25
- Zeyrek, Y. 1996. Su Kirliliği ve Ülkemizde Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği'nin Uygulanışı. *Trakya'da Sanayileşme ve Çevre Sempozyumu Bildiriler Kitabı* (Vol. 1, Pp. 548-552) Makine Mühendisleri Yayınları Odası, Ankara

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Osman EREN
Doğum Yeri ve Tarihi	23/12/1987
Eğitim Durumu	
Lisans Öğrenimi	Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği
Yüksek Lisans Öğrenimi	Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Kimya A.B.D/ Biyokimya B.D
Bildiği Yabancı Diller	
Bilimsel Faaliyetler	Effect of Sodium Dodecyl Sulphate on Growth of Barley Seedlings. Sözlü sunum. 2nd International Conference on Advances in Natural and Applied Sciences. 18 Apr -21 Apr 2017. Antalya, Turkey
İş Deneyimi	
Stajlar	1-Şanlıurfa İl Gıda Tarım ve Hayvancılık Müdürlüğü 2- Temo Dondurmaları
Projeler	
Çalıştığı Kurumlar	1- Adana Kardeşler Unlu Mamülleri- Seyhan/Adana 2- CEYES Yemekçilik-Ceyhan/Adana 3- Harranova Salça (Tat Salça) Fabrikası Bozova/Şanlıurfa 4- Taşlıçay Kaymakamlığı Aşevi Sorumlu Mühendisi Taşlıçay/Ağrı
İletişim	
E-posta Adresi	Osmaneren2@gmail.com
Mezuniyet Tarihi	