



**BAKIR OKSİT NANOPESTİSİTİNE MARUZ KALAN
MISIR (*Zea mays* L.) FİDELERİNE UYGULANAN
TAVUK TÜYÜ PROTEİN HİDROLİZATININ AZOT
METABOLİZMASI, ANTİOKSİDAN SİSTEM VE ASA-
GSH DÖNGÜSÜ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
ANALİZLERLE BELİRLENMESİ**

Aykut KARAMAN

Danışman: Prof. Dr. Özkan AKSAKAL

Doktora Tezi

Biyoloji Ana Bilim Dalı

2023

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

**BAKIR OKSİT NANOPESTİSİTİNE MARUZ KALAN MISIR (*Zea mays* L.)
FİDELERİNE UYGULANAN TAVUK TÜYÜ PROTEİN HİDROLİZATININ AZOT
METABOLİZMASI, ANTİOKSİDAN SİSTEM VE ASA-GSH DÖNGÜSÜ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
ANALİZLERLE BELİRLENMESİ**

(Determination of the Effects of Chicken Feather Protein Hydrolyzate Applied to Maize (*Zea mays* L.) Seedlings Exposed to Copper Oxide Nanopesticide on Nitrogen Metabolism, Antioxidant System and ASA-GSH Cycle by Physiological, Biochemical and Molecular Analysis)

DOKTORA TEZİ

Aykut KARAMAN

Danışman: Prof. Dr. Özkan AKSAKAL

Erzurum
Temmuz, 2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

**BAKIR OKSİT NANOPESTİSİTİNE MARUZ KALAN MISIR (*Zea mays* L.)
FİDELERİNE UYGULANAN TAVUK TÜYÜ PROTEİN HİDROLİZATININ AZOT
METABOLİZMASI, ANTİOKSİDAN SİSTEM VE ASA-GSH DÖNGÜSÜ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER
ANALİZLERLE BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Özkan AKSAKAL danışmanlığında, Aykut KARAMAN tarafından hazırlanan bu çalışma, 10/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Özlem BARIŞ <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Özkan AKSAKAL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Melda ŞİŞECİOĞLU <i>Atatürk Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Doç. Dr. İsmail BEZİRGANOĞLU <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Özlem ÖZDEMİR TOZLU <i>Erzurum Teknik Üniversitesi</i>	Aslı Islak İmzalıdır

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof.Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN

Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak *Prof. Dr. Özkan AKSAKAL* danışmanlığında sunulan “**Bakır Oksit Nanopestisitine Maruz Kalan Mısır (*Zea mays* L.) Fidelerine Uygulanan Tavuk Tüyü Protein Hidrolizatının Azot metabolizması, Antioksidan Sistem ve ASA-GSH Döngüsü Üzerine Etkilerinin Fizyolojik, Biyokimyasal ve Moleküler Analizlerle Belirlenmesi**” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	10	30
Kuramsal Temeller	23	30
Materyal ve Metot	27	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	4	20
Sonuçlar ve Öneriler	0	20
Tezin Geneli	13	25

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Sunulan bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ettiğimizi beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Aykut KARAMAN	Prof. Dr. Özkan AKSAKAL
21.6.2023	21.6.2023
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

* Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

- ☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.
- ☐ Enstitü Yönetim Kurulunun/....../.... tarih ve sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak hazırlanan bu araştırma, Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Bitki Fiziyojisi Araştırma Laboratuvarı'nda yapılmıştır.

Öncelikle çalışmalarında büyük emeği olan her türlü bilgi, deneyim, tecrübesi ile bana destek olan değerli ve çok kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Özkan AKSAKAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tezin gerçekleştirilmesinde desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Özlem BARIŞ ve Prof. Dr. Melda ŞİŞECİOĞLU'na teşekkür ederim.

Her türlü bilgi ve deneyimleri ile bana destek veren ve beni sürekli motive edip güvenimi kat ve kat arttıran saygı değer hocam Doç. Dr. Derya EFE'ye çok teşekkür ederim.

Doktora eğitimim sırasında gösterdikleri sonsuz sevgi, sabır ve anlayışları ile her an yanımda olup her türlü maddi ve manevi desteklerini üzerimden eksik etmeyen kıymetli annem Ayfer KARAMAN, abim Erkut KARAMAN, ablam Sevim KESER, kardeşlerim Ertürk KARAMAN ve Emre KARAMAN, ayrıca hep destekçim olan canım teyzem Ayten HINISLI'ya sonsuz teşekkür ederim.

Manevi olarak desteğini biran olsun eksik etmeyen değerli dostlarım Halil İbrahim UZUN ve Abdullah Ahmet ÖZBAYRAKTAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Son olarak da çalışmada kullanılan tohumları temin eden SAKARYA TARIMSAL ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ'ne teşekkür ederim.

Aykut KARAMAN

ÖZET

DOKTORA TEZİ

BAKIR OKSİT NANOPESTİSİTİNE MARUZ KALAN MISIR (*Zea mays* L.) FİDELERİNE UYGULANAN TAVUK TÜYÜ PROTEİN HİDROLİZATININ AZOT METABOLİZMASI, ANTİOKSİDAN SİSTEM VE ASA-GSH DÖNGÜSÜ ÜZERİNE ETKİLERİNİN FİZYOLOJİK, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER ANALİZLERLE BELİRLENMESİ

Aykut KARAMAN

Danışman: Prof. Dr. Özkan AKSAKAL

Amaç: Bakır içeren nanopestisitler ($\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP), bitki koruma ürünlerinin etkinliğini artırmak için modern tarımda fungusitler olarak popülerlik kazanmıştır. Bununla birlikte, bu nanopestisitlerin kültür bitkileri üzerindeki etkileri ve toksisitesi tam olarak bilinmemektedir. Tavuk tüyü protein hidrolizatları (TTH), yüksek azot, protein ve amino asit içerikleriyle tanınmaktadır. Bu çalışmada, mısır fidelerinde $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresinin neden olduğu oksidatif hasarın azaltılmasında fidelere eksojen olarak uygulanan TTH'nin potansiyelinin araştırması amaçlanmıştır.

Yöntem: Bu çalışmada model bitki olarak mısır kullanılmıştır. Hidroponik olarak yetiştirilen mısır fidelerinin yapraklarına, 500 mg/L $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ve 500 mg/L TTH püskürtüldükten sonra fidelere kök ve gövde uzunluğu, klorofil, protein, prolin ve toplam fenolik madde miktarlarının yanı sıra malondialdehit (MDA), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit ($\text{O}_2^{\bullet-}$) seviyeleri ölçülmüştür. Ayrıca askorbat-glutasyon (ASA-GSH) döngüsünde yer alan enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların aktiviteleri ve miktarları analiz edilmiştir. Yine, antioksidan enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikler ve azot metabolizması ile ilişkili enzimlerin aktivitelerinin yanı sıra antioksidan sistem, ASA-GSH döngüsü ve azot metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonlarındaki değişiklikler RT-PCR kullanılarak belirlenmiştir.

Bulgular: Çalışmada $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresinin aşırı ROS üretimine yol açtığı, bitki büyümesini engellediği ve doğal savunma sistemine zarar verdiği gözlenmiştir. Bununla birlikte, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere TTH uygulamasının lipid peroksidasyonunun yanı sıra $\text{O}_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 birikimini azaltarak stresin etkilerini hafiflettiği görülmüştür. TTH'nin bunu hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan aktivitelerini artırarak, gen ekspresyonunu düzenleyerek ve ASA-GSH döngüsünü modüle ederek başardığı tespit edilmiştir. Ayrıca, mısır fidelerinin kök ve gövdesindeki Cu konsantrasyonunun, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulaması ile önemli ölçüde arttığı kaydedilmiştir. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında, eksojen TTH uygulamasının, ilgili genlerinin ekspresyonu ile birlikte nitrat redüktaz, nitrit redüktaz, glutamin sentaz, glutamat sentaz ve glutamat dehidrogenaz enzimlerinin aktivitelerini artırdığı belirlenmiştir.

Sonuç: Bu çalışma, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresinin kültür bitkilerinde olumsuz koşulları tetiklediğini, bitki büyümesini engellediğini ve Cu içeriğini ve oksidatif stres belirteçlerini artırdığını ortaya koymuştur. Öte yandan, TTH uygulamasının, önemli antioksidan moleküllerin konsantrasyonlarını artırarak ve oksidatif savunma sistemi enzimlerini aktive ederek bu olumsuz etkileri hafiflettiği gözlenmiştir. Yine, TTH'nin bitkilerde azot metabolizmasını olumlu yönde etkilediği tespit edilmiştir. Bu bulgular, TTH'nin $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP'nin zararlı etkilerine karşı koymak için umut verici bir madde olarak kullanılabileceğini ve böylece tarımda bitki sağlığını ve üretkenliğini artırabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: antioksidan sistem, ASA-GSH döngüsü, azot metabolizması, gen ekspresyonu, nanopestisit, tavuk tüyü protein hidrolizatı

Temmuz 2023, 112 Sayfa

ABSTRACT

Ph. D. DISSERTATION

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF CHICKEN FEATHER PROTEIN HYDROLYZATE APPLIED TO MAIZE (*Zea mays* L.) SEEDLINGS EXPOSED TO COPPER OXIDE NANOPESTICIDE ON NITROGEN METABOLISM, ANTIOXIDANT SYSTEM AND ASA-GSH CYCLE BY PHYSIOLOGICAL, BIOCHEMICAL AND MOLECULAR ANALYSIS

Aykut KARAMAN

Supervisor: Prof. Dr. Özkan AKSAKAL

Purpose: Copper-based nanopesticides ($\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP) have gained popularity as fungicides in modern agriculture. However, there is limited research on the behavior, movement, and toxicity of these nanopesticides in crop plants. Chicken Feather Protein hydrolysates (CFPH) are known for their high nitrogen, protein, and amino acid content. This study aimed to investigate the potential of CFPH in mitigating oxidative damage induced by $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stress in maize seedlings.

Method: In this study, maize was selected as the model plant. Hydroponically grown maize seedlings were subjected to leaf spraying of 500 mg/L $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP and 500 mg/L CFPH. The effects on root and stem length, chlorophyll content, protein content, proline content, total phenolic content, as well as levels of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H_2O_2), and superoxide ($\text{O}_2^{\bullet-}$) were evaluated. Additionally, the activities of enzymatic and non-enzymatic antioxidants involved in the ascorbate-glutathione (ASA-GSH) cycle were analyzed. Changes in the activities of antioxidant enzymes, enzymes related to nitrogen metabolism, and the transcription of genes associated with the antioxidant system, nitrogen metabolism, and ASA-GSH cycle were determined using RT-PCR.

Findings: $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stress led to excessive ROS production, hindered plant growth, and damaged the natural defense system. However, the application of CFPH mitigated these effects by reducing $\text{O}_2^{\bullet-}$ and H_2O_2 accumulation, as well as lipid peroxidation. CFPH achieved this by enhancing both enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities, regulating gene expression, and modulating the ascorbate-glutathione cycle. Furthermore, Cu concentration in the root and stem of maize seedlings increased significantly with $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP treatment. Under $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stress, exogenous CFPH administration improved the activities of nitrate reductase, nitrite reductase, glutamine synthase, glutamate synthase, and glutamate dehydrogenase enzymes, along with the expression of their related genes.

Results: The study revealed that $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stress induces adverse conditions, impeding plant growth and increasing Cu content and oxidative stress markers. However, the application of CFPH alleviated these negative effects by boosting the concentrations of crucial antioxidant molecules and activating oxidative defense system enzymes. Moreover, CFPH positively influenced nitrogen metabolism in plants. These findings suggest that CFPH could serve as a promising supplement to counteract the harmful impacts of $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP, thereby enhancing plant health and productivity in agricultural settings.

Keywords: antioxidant system, ASA-GSH cycle, chicken feather protein hydrolyzate, gene expression, nanopesticide, nitrogen metabolism

July 2023, 112 Pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI.....	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
GİRİŞ.....	1
KURAMSAL TEMELLER.....	11
Nanopartiküller	12
Geleneksel Tarım İlaçları İle İlgili Sorunlar	13
Nanopestisitlerin Yararları	14
Nanopestisitlerin Sınıflandırılması	15
Nanoemülsiyonlar	15
Nanosüspansiyonlar/Nanodağılımlar	16
Polimer Bazlı Nanopestisit Formülasyonları	16
Polimer Nanokapsüller.....	17
Nanoküreler.....	18
Miseller	18
Nanorejeller.....	18
Nanolifler	19
Kitosan Nanoparçacık Bazlı Formülasyonlar	19
Lipid bazlı Nanopestisit Formülasyonları	20
Nanolipozomlar.....	20
Katı Lipid Nanoparçacıkları.....	21
Kil Bazlı Nanopestisit Formülasyonları.....	21
Gözenekli Silika Bazlı Nanopestisit Formülasyonları	22
Aktif bileşenler Olarak Metal Nanopartiküller Ve Nanoformülasyonları	23
Gümüş Nanopartiküller	23

Titanyum dioksit (TiO ₂) Nanopartikülü.....	24
Bakır ve Bakır oksit (CuNPs) Nanopartikülleri	24
Diğer Metaller ve Metal Oksitler	25
Nanopestisitlerin Çevre Üzerine Etkileri	25
MATERYAL VE YÖNTEM	28
Materyaller	28
Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	28
Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanma Şekilleri	28
Yöntemler.....	32
Tavuk tüyü protein hidrolizatının hazırlanması	32
Bitkilerin büyütülmesi.....	34
Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	35
Lipid peroksidasyon (MDA) miktarının belirlenmesi	36
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının belirlenmesi	36
Süperoksit anyonunun (O ₂ ⁻) miktarının belirlenmesi.....	37
Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi	38
Askorbat ve glutatyon tayini için ekstraksiyon.....	41
Askorbat tayini	41
Glutatyon tayini.....	41
Protein miktarının belirlenmesi.....	42
Prolin miktarının belirlenmesi	43
Klorofil miktarı tayini	44
Azot metabolizmasında rol alan enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi	44
Gen Ekspresyonu Çalışmaları	47
İstatistiksel Analiz.....	48
ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	49
Araştırma Bulguları.....	49
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde büyüme üzerine etkisi.....	49
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam klorofil, protein, prolin ve toplam fenolik madde üzerine etkisi.....	49
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerindeki bakır miktarı üzerine etkisi	52
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde lipid peroksidasyon (MDA), hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) ve süperoksit anyonu (O ₂ ⁻) miktarları üzerine etkisi	52

Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde antioksidan sistemle ilişkili enzimlerin aktiviteleri üzerine etkisi	54
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA-GSH döngüsü ile ilişkili enzimler ve enzimatik olmayan antioksidanlar üzerine etkisi	56
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili enzimler üzerine etkisi	58
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde antioksidan sistemle ilişkili genler ve ZmMpk-17 geninin ekspresyonu üzerine etkisi	59
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA-GSH sistemi ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerine etkisi	60
Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerine etkisi	61
Tartışma.....	63
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	70
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ.....	98

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan TTH'nin Aminoasit İçeriği	34
Tablo 2. PCR İçin Kullanılan Primerler	48



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Azot döngüsünün şematik gösterimi.....	2
Şekil 2. Askorbat-glutasyon döngüsünün şematik gösterimi.....	6
Şekil 3. Nano boyut aralığının yaygın olarak bilinen malzemelerle karşılaştırılması.....	12
Şekil 4. Geleneksel pestisitlere kıyasla nanopestisitlerin avantajları.....	15
Şekil 5. Etken maddenin nanotaşıyıcı sistemlere yüklenme yöntemleri.....	17
Şekil 6. Tavuk tüyü protein hidrolizati elde etme aşamaları.....	33
Şekil 7. Tavuk tüyü hidrolizatının hazırlanma aşamaları.....	34
Şekil 8. Hidroponik ortamda yetiştirilen mısır fidelerinin görünümü.....	35
Şekil 9. Fenolik madde miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	36
Şekil 10. H ₂ O ₂ seviyesini belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	37
Şekil 11. O ₂ •- seviyesini belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	38
Şekil 12. Katalaz aktivitesini belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	39
Şekil 13. Askorbat miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	41
Şekil 14. Glutasyon miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	42
Şekil 15. Protein tayini için kullanılan standart grafiği.....	43
Şekil 16. Prolin miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği.....	44
Şekil 17. Nitrat Redüktaz miktarını belirlemede kullanılan grafik grafiği.....	45
Şekil 18. Nitrit Redüktaz miktarını belirlemede kullanılan standart grafiği.....	46
Şekil 19. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde kök ve sürgün uzunluğu üzerine etkisi.....	49
Şekil 20. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam klorofil miktarı üzerine etkisi.....	50
Şekil 21. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde protein miktarı üzerine etkisi.....	50
Şekil 22. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde prolin miktarı üzerine etkisi.....	51
Şekil 23. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi.....	51
Şekil 24. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam bakır üzerine etkisi.....	52

Şekil 25. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde lipid peroksidasyonu (MDA) üzerine etkisi	53
Şekil 26. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) üzerine etkisi	53
Şekil 27. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde süperoksit anyonu (O ₂ ^{•-}) üzerine etkisi	54
Şekil 28. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi	55
Şekil 29. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi	55
Şekil 30. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde POD enzim aktivitesi üzerine etkisi	56
Şekil 31. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde APX, GR, DHAR ve MDHAR enzim aktiviteleri üzerine etkisi	57
Şekil 32. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA, DHA, GSH, GSSG, ASA/DHA ve GSH/GSSG üzerine etkisi	58
Şekil 33. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde NR, NİR, GS, GOGAT ve NAD-GDH enzim aktivitesi üzerine etkisi	59
Şekil 34. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde Sod, Cat, Pod, ve ZmMpk-17 genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi	60
Şekil 35. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA-GSH sistemi ile ilişkili genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi	61
Şekil 36. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi.	62
Şekil. 37. Cu(OH) ₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde antioksidan sistem, ASA-GSH sistemi ve azot metabolizması ile ilgili çeşitli genlerin ekspresyonlarına etkisini gösteren ısı haritası.....	63

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APX	: Askorbat Peroksidaz
ASA	: Askorbik Asit
CAT	: Katalaz
Cu(OH)₂	: Bakır Hidroksit
DHAR	: Dehidroaskorbat Redüktaz
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
dsDNA	: Çift Zincirli Deoksiribo Nükleik Asit
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu
GOGAT	: Glutamat Sentaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GS	: Glutasyon Sentaz
GSH	: Glutasyon
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
MDHAR	: Monodehidroaskorbat Redüktaz
N₂	: Moleküler Azot
NH₄⁺	: Amonyum
NiR	: Nitrit Redüktaz
Nm	: Nanometre
NO₂	: Nitrit Oksit
NO₃⁻	: Nitrat
NP	: Nanopestisit
NR	: Nitrat Redüktaz
O₂⁻	: Süperoksit Anyonu
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
POX	: Peroksidaz
ROT	: Reaktif Oksijen Türevleri
RT PCR	: Real-Time PCR
SOD	: Süperoksit Dizmutaz
TTH	: Tavuk Tüyü Hidrolizatı
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
µm	: Mikrometre
µM	: Mikromolar

GİRİŞ

Bitkiler dünya ekosistemindeki varlıkları, işlevleri, yapıları ve birincil üreticileri olmaları nedeniyle yaşamın devamı için vazgeçilmez unsurlardan biridir. Bitkiler çevreden su ve bazı inorganik maddeleri alarak ışık enerjisi yardımıyla hem kendileri hem de diğer canlılar için gerekli besin maddelerini üretirler. Bu işlemi gerçekleştirirken ekosistemdeki mevcut karbondioksit ve oksijen dengesinin sağlanmasına, azot ve fosfor döngülerinin ayarlanmasına son derece önemli katkı sağlarlar. Öte yandan heyelan, sel ve erozyonun önlenmesinde bitkilerin önemli işlevleri vardır. Buna ilaveten, bitkiler toprak için organik gübre olarak kullanılırlar, birçok canlıya ev sahipliği yaparlar ve canlıların temel besinlerini oluştururlar. Bitkiler ayrıca kimya, tıp, kozmetik, mobilya, ilaç gibi birçok sektörde hammadde olarak kullanılırlar (Mahajan and Tuteja 2005).

Tüm canlılar gibi bitkiler de büyüme ve gelişmelerini sürdürebilmek ve yaşamlarını devam ettirebilmek için optimum ışık, ısı, minarel madde, nem ve sıcaklık şartlarına ihtiyaç duymaktadır. Ancak günümüzde giderek artan olumsuz çevre koşulları bitkilerin büyüme, gelişme ve verimliliklerini büyük oranda sınırlandırmaktadır (Gallego *et al.* 1996). Bitkilerin fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonlarını bozarak hasar oluşturan, ürün kayıplarına neden olan etkenlerin başında biyotik (rekabet, patojenler vs.) ve abiyotik (sıcaklık, tuzluluk, kuraklık, ağır metaller vb.) stres faktörleri gelmektedir (Büyük vd 2012). Yeryüzünde ürün veriminin düşük olmasının ana nedeni olarak ise kuraklık ve tuzluluk gibi abiyotik stres faktörleri gösterilmektedir (Bray *et al.* 2000). Bitki büyümesi ve üretkenliği büyük ölçüde azot metabolizması tarafından belirlenmektedir (Xie *et al.* 2019). Çok sayıda çalışmada abiyotik stres faktörlerinin azot metabolizmasını güçlü bir biçimde etkilediği, azot alınımlı ve taşınımını kesintiye uğrattığı bildirilmiştir (Heldt and Piechulla 2011). Bilindiği gibi azot metabolizmasında gerçekleşen olaylar bitkilerin yaşamında, veriminde ve en temel biyokimyasal süreçleri içermesinden dolayı azot metabolizmasındaki en küçük bir bozulma yada aksaklık, protein sentezinden hücre bölünmesine, enzim aktivitesinden büyüme ve gelişmeye, nihayetinde bitki verimine kadar bütün bitki proseslerini doğrudan veya dolaylı olarak etkilemektedir. Bir makro element olarak azot (N) karbon (C), hidrojen (H) ve oksijenden (O) sonra bitki yapısında en fazla bulunan elementtir. Bu element fotosentetik pigmentler dahil proteinler, nükleik asitler gibi çeşitli hücresel metabolitlerin önemli bir bileşenidir. Bununla birlikte, dünya atmosferinin %78'ni oluşturan moleküler azot, (N₂; N-N)

1. Moleküler azotun (N_2) havadan fiksasyonu ile bitkiye alınması;
2. Su veya toprakta bulunan amonyumun (NH_4^+) veya nitrat (NO_3^-) asimilasyonudur.

The diagram illustrates the Nitrogen Cycle (Azot Döngüsü) as a continuous loop of nitrogen transformation. At the top, 'Atmosferde Serbest Azot (N_2)' is shown. Arrows indicate the flow of nitrogen through various stages: 'Yıldırım ve Şimşek' (lightning and thunder) leads to 'Azot bileşikleri' (nitrogen compounds) in the soil. 'Serbest yaşayan Baklagil köklerinde bakteri ve algler yaşayan bakteriler' (free-living bacteria and algae in legume roots) and 'Organik artıklar ve ölümler' (organic waste and deaths) contribute to 'Organik azotlu bileşikler' (organic nitrogen compounds). 'Pütrifikasyon bakterileri' (putrefaction bacteria) break these down into 'Amonyak (NH_3)' (ammonia). 'Nitrifikasyon bakterileri' (nitrification bacteria) then convert ammonia into 'Nitrit (NO_2)' (nitrite) and finally 'Nitrat (NO_3^-)' (nitrate). 'Bitki kökleri' (plant roots) absorb nitrate, which is used by plants like corn. 'Denitrifikasyon bakterileri' (denitrification bacteria) convert nitrate back into atmospheric nitrogen (N_2), completing the cycle. A chicken is also shown, representing the role of animals in the cycle.

2

Kara bitkilerinin çoğunda, kökler yoluyla alınan nitrat, hem köklerde hem de yapraklarda asimilasyona uğrayarak organik maddenin bir parçası haline gelir. Tek yıllık otsu bitkilerde nitrat asimilasyonu, kök ve gövde yapılarından dolayı ağırlıklı olarak otsu gövde veya yapraklarda gerçekleşir. Bununla birlikte, bazı otsu bitkiler, özellikle erken büyüme aşamalarında önemli olan nitrata köklerinde özümseyebilirler. Öte yandan, pek çok odunsu bitki (örneğin, ağaçlar, çalılar, makiler), soya fasulyesi, nohut ve fasulye gibi baklagiller nitrata öncelikle kökleri yoluyla alırlar. Genel olarak nitrat, kök hücrelerine girdikten sonra üç farklı yolu takip eder. Bunlardan biri vakuolde nitratin geçici olarak depolanması veya kökün epidermal ve kortikal hücrelerinde NH_4^+ 'ye dönüştürülmesidir. Bu hücrelerde oluşan NH_4^+ , öncelikle glutamin ve asparagin gibi amino asitlerin sentezlenmesi için kullanılır. Bu amino asitler veya amidler, ksilem kanalları yoluyla yapraklara taşınabilir. Öte yandan, kökün nitrat asimilasyon kapasitesi maksimuma ulaştığında, emilen fazla nitrat ksilem yoluyla köklerden yapraklara taşınır. Yapraklarda taşınan nitrat ya doğrudan mezofil hücrelerinde NH_4^+ 'a dönüştürülür ya da daha sonra kullanılmak üzere aynı hücrelerin vakuollerinde depolanır (Heldt and Piechulla, 2011). Nitrat, bitkilerin farklı doku ve organları arasında kolayca taşınabilir veya kofullarda uzun süre depolanabilir. Bununla birlikte, belirli proteinlerin ve organik bileşiklerin biyosentezinde kullanılması için NO_3^- 'ün NH_4^+ 'e indirgenmesi gerekir.

Azot (N), diğer birçok canlı organizma için gerekli olduğu kadar bitkiler için de hayati bir elementtir. Bitkiler azotu topraktan NO_3^- ve NH_4^+ formlarında alırlar. Azot kaynağı olarak kullanılan NO_3^- eksikliğinde bitki büyümesi azalır veya tamamen durur. Bu etkinin kapsamı bitkinin tipine, fizyolojisine ve biyokimyasal bileşimine bağlıdır. NO_3^- bitkiye alındıktan sonra hemen organik madde yapısına entegre olamaz. NO_3^- 'ün asimile edilmeden ve organik madde yapısına dahil edilmeden önce NH_4^+ 'e indirgenmesi gerekir. Dört temel enzim, yani Nitrit Redüktaz (NiR), Nitrat Redüktaz (NR), Glutamin Sentaz (GS) ve Glutamat Sentaz (GOGAT), nitratin (NO_3^-) asimilasyonunda rol oynar. Bu enzimlerin aktivitelerinin izlenmesi, bitkilerde azot asimilasyonunun mevcut durumu hakkında bilgi sağlar. Ayrıca, stres esnasında azot metabolizmasındaki enzimlerin aktivitelerinin düzenlenmesi, stresin neden olduğu hasarı önemli ölçüde azaltabilir veya ortadan kaldırabilir (Sangwan *et al.* 2014).

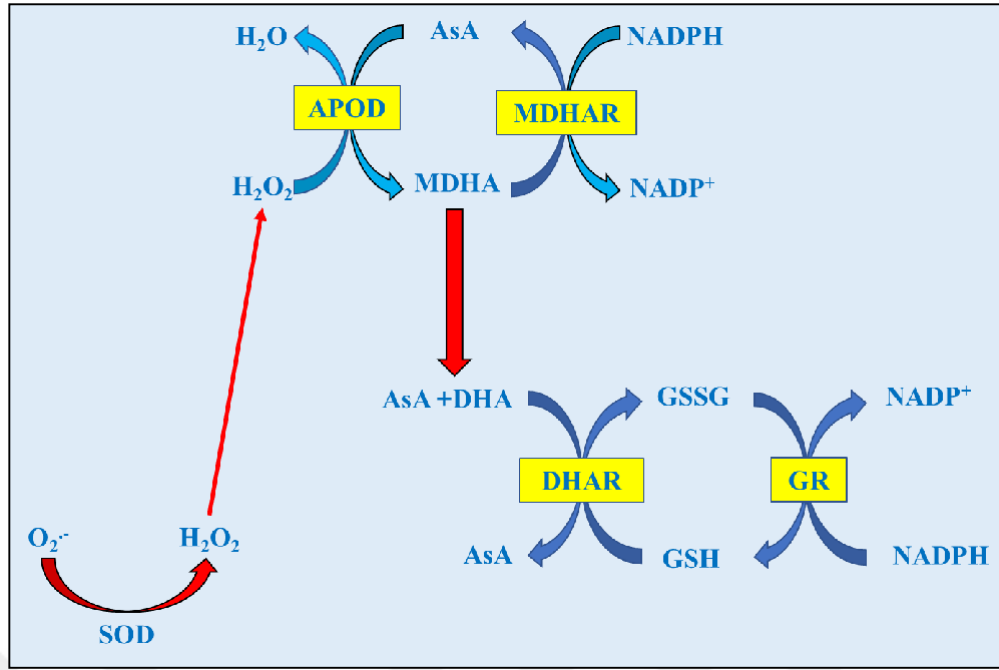
Günümüzde meydana gelen doğal afetler, hızla gelişen sanayileşme, değişen iklim şartları ve insanoğlunun çevreyi kirletmesinin doğal bir sonucu olarak bitki gelişimi ve verimliliği ciddi zarar görmektedir (Chopra and Selote 2007). Dünya nüfusunun 1900'lü yıllardan bu yana hızla artması ve günümüzde bu rakamın 7 milyarı geçmiş olması gelecek 30 yıl içerisinde yani 2050 yıllarında 9.7 milyara ulaşmasını öngörmektedir (Ezeh *et al.* 2012). Mahajan and Tuteja (2010) nüfus artışına paralel olarak ekilebilir alanların giderek azaldığını

bildirmiştir. FAO (Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Organizasyonu) verilerine göre de yeryüzündeki toplam işlenebilir tarım arazisi alanları giderek azalmakta ve artan nüfusun gıda talebini karşılayamamaktadır. Gerek olumsuz çevre koşulları, gerekse artan nüfus oranı göz önünde bulundurulduğunda yakın gelecekte insanoğlunun kıtlıkla karşı karşıya kalacağı ciddi bir sorun olarak karşımızda durmaktadır. Günümüzde dünya nüfusunun önemli bir bölümünün kronik açlıkla karşı karşıya olması, bu gerçeği oldukça kuvvetlendirmektedir (Tilman *et al.* 2011).

Tarımda sürdürülebilirlik; arazi dönüşümü, su kullanımı, ekosistemlerin zirai kimyasallar tarafından kontaminasyonu açısından kabul edilebilir çevresel etkileri olan, yüksek verimli tarımsal uygulamaları ifade etmektedir (Tilman *et al.* 2002). Son zamanlarda, tarımda sürdürülebilirlik ve doğal kaynakların daha verimli kullanımını sağlamak amacıyla çeşitli nanoteknolojik uygulamalar yapılmakta, bu uygulamalarda nanoemülsiyonlar, nanopartiküller ve nanopestisitler kullanılmaktadır. Nanopestisitler; agrokimyasal ürünlerin dezavantajlarını ortadan kaldırmak amacıyla ticari pestisitlerin kayıtlı aktif bileşenlerinin yeniden yapılandırılmasını içeren nanomateriyallerdir (Kah *et al.* 2013; Kah *et al.* 2014). Bir çok inorganik nanopartikülün (Si, TiO₂, Ag, Cu, CuO, Al) antifungal ve antibakteriyel özellik taşıdığı ve nanopestisit olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Zhao *et al.* 2017a). Nanopestisitlerin yapımında kullanılan nanomalzemeler çoğunlukla aktif bileşenlerin etkinliğini artırmakta, canlı dokulara nüfuzu kolaylaştırmakta ve pestisit kullanım miktarını azaltmaktadır. Ticari kimyasal pestisitlere kıyasla nanopestisitler hedef organizmalar üzerine düşük konsantrasyonlarda bile daha fazla etki göstermektedir (Kah *et al.* 2018). Üretilen ve kullanılan nanopestisitlerin sayısı arttıkça bu pestisitlerin kültür bitkileri ve hedef olmayan diğer organizmalar üzerine olası etkilerini anlamak, insan ve çevre sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Zhao *et al.* 2017b). Yine, nanopestisitler doğrudan insanoğlu vasıtasıyla çevreye salındığından bu pestisitlerin biyoakümülyasyonu ve kültür bitkileri üzerine etkilerinin çalışılması nanomateriyallerin çevredeki dağılımı hakkında oldukça önemli bilgiler vermektedir.

Son yıllarda bakır bazlı nanopestisitlerin kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır. Piyasada bakır oksit aktif bileşenine sahip 200'den fazla pestisit bulunmaktadır (Zhao *et al.* 2017c). Bakır bazlı nanopestisitler toprakların çoğunda bakır bulunduğundan dolayı diğer organik kimyasal pestisitlerden daha az toksik olarak kabul edilirler. Bununla birlikte, bakır iyonları bitki hücrelerinde reaktif oksijen türevlerinin (ROT) oluşumunu indüklemekte ve ROT birikimi membran lipidleri, DNA zincirlerinin kırılmasına, enzimlerin inaktivasyonuna, proteinler ve nükleik asitler üzerinde oksidatif hasara yol açmaktadır. Oksidatif stres boyunca,

ROT'lar bitki hücrelerinin mitokondri, kloroplast, peroksizom ve nukleus gibi farklı kısımlarında oluşarak hücrede düzeltilemez boyutta zarara sebep olur ve hatta ölüme bile neden olabilir. Aynı zamanda, ROT'lar hücre içerisinde savunma mekanizması olan antioksidan sistemini harekete geçiren redoks tepkimelerini başlatan sinyal molekülleridir. ROT'lar kolayca elektron alış-verişine giren, kısa ömürlü, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kararsız ve çok reaktif moleküller olarak tanımlanabilir. Başlıca ROT 'lar; Bunlardan biri oksijenin yüksek enerjili formu olan singlet oksijendir. Süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$) moleküler oksijen (O_2) bir elektronunu transferi sonucu kararsız bir yapı olan superoksit ($O_2^{\cdot-}$) anyonu oluşmaktadır. H_2O_2 orta derecede reaktif ve daha uzun ömürlü bir serbest radikaldir. Oksijenin enzimatik olarak iki elektron ile indirgenmesiyle ya da süperoksitlerin enzimatik veya enzimatik olmayan tepkimeleri sonucu oluşur. Hidroksil radikali ($\bullet OH$) oksijen radikalleri içerisinde en aktif ve en toksik olanıdır. En reaktif radikal molekülü olan hidroksil radikali ($\bullet OH$) H_2O_2 'den metal katalizörlerin kullanıldığı HaberWeiss veya Fenton reaksiyonları ile oluşmaktadır. Çok sayıda çalışmada CuO bazlı nanopestisitlerin mısır, biber, marul, fesleğen, salatalık gibi çeşitli mahsül türlerinde oksidatif strese neden olduğu ortaya konmuştur (Zhao *et al.* 2016; Zhao *et al.* 2017b; Zhao *et al.* 2017c; Zhao *et al.* 2017d; Zhao *et al.* 2018a; Zhao *et al.* 2018b). Bitkiler yüksek ROT miktarını azaltmak için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşan etkili savunma sistemlerine sahiptir. Enzimatik antioksidanlar arasında peroksidaz (POX), süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), askorbat peroksidaz (APX) bulunur (Chawla *et al.* 2013). Enzimatik olmayan antioksidanlar arasında ise fenolik maddeler, flavonoidler, tokoferoller, askorbik asit (ASA) ve glutatyon (GSH) bulunur (Rico *et al.* 2013). Bitkilerde, ASA – GSH döngüsü hücrel redoks ve ROT ile indüklenen oksidatif strese karşı korumada önemli bir düzenleyici olarak rol oynar (Shan *et al.* 2018; Guo *et al.* 2020). GSH ve ASA'nın rejenerasyonu, yüksek indirgenmiş AsA / [AsA + oksitlenmiş askorbat, DHA] ve indirgenmiş GSH / [GSH + oksitlenmiş glutatyon, GSSG] oranlarının korunması ve oksidatif strese bitki toleransının belirlenmesi için çok önemlidir. ASA–GSH döngüsünün işlevi, APX, monodehidroaskorbat redüktaz (MDHAR), glutatyon redüktaz (GR) ve dehidroaskorbat redüktaz (DHAR) gibi ilgili antioksidan enzimlere bağlıdır (Apel *et al.* 2004).



Şekil 2. Askorbat-glutasyon döngüsünün şematik gösterimi (APOD: askorbat peroksidaz; MDHA: monodehidro askorbat; AsA: askorbik asit; DHA: dehidro askorbat; MDHAR: monodehidroaskorbat redüktaz; DHAR: dehidroaskorbat redüktaz; GSSG: oksitlenmiş glutasyon; GSH: indirgenmiş glutasyon; GR: glutasyon redüktaz) (Doğru, 2006).

Kloroplastlarda, mitokondrilerde, peroksizomlarda ve sitozolde aktif bir şekilde işlev gören askorbat-glutasyon döngüsü ROT'lara karşı geliştirilmiş en temel savunma mekanizması olarak görev alır (Edrewa, 2005). Bu döngü herhangi bir ROT oluşumuna yol açmadan H_2O_2 'nin su ve oksijene kadar parçalanarak detoksifikasyonunu sağlar (Şekil 2).

Askorbat-glutasyon döngüsünde bulunan enzimler APOD, MDHAR, DHAR ve GR'dir. Bu enzimlerden APOD, indirgeyici molekül olarak askorbatı kullanarak hidrojen peroksidi parçalarken; MDHAR ve DHAR enzimleri askorbatın rejenerasyonunu sağlar. Askorbatın rejenerasyonunun sağlanması için görev yapan enzimlerden MDHAR indirgeyici molekül olarak NADPH'yi, DHAR ise glutasyonu kullanmaktadır. Elektronunu vererek oksitlenen glutasyon ise GR enziminin katalizlediği bir reaksiyonla yeniden indirgenir.

Zhao *et al.* (2017) 100 mg $Cu(OH)_2$ nanopestisiti uygulanmış mısır bitkisinde kontrole kıyasla klorofil a ve klorofil b miktarının, yaprak biyomasının önemli oranda azaldığını rapor etmiştir. Yine aynı çalışmada antioksidan savunma sistemi ile ilişkili CAT, GST1 ve POD genlerinin ekspresyonlarının önemli ölçüde azaldığı, SOD1A geninin ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir. Aynı yazarlar tarafından yapılan bir başka çalışmada $Cu(OH)_2$ nanopestisiti uygulanmış marul bitkisinde total antioksidan kapasitenin düştüğü, askorbik asit, kafeik asit, GABA ve oksoprolin, alanin ve aspartik asit gibi aminoasitlerin miktarının önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir. $Cu(OH)_2$ nanopestisiti uygulanmış ıspanak bitkisi üzerinde

yapılan metabolomik analizler askorbik asit, tokoferol, ferulik asit gibi antioksidanların miktarında azalmanın olduğunu, şeker konsantrasyonlarının ve bitkideki mineral kompozisyonunun önemli ölçüde değiştiğini ortaya koymuştur (Zhao *et al.* 2017) .

Nanoteknolojiyi tarıma entegre etmek henüz yeni bir alan olsada $\text{Cu}(\text{OH})_2$ aktif bileşenleri taşıyan ve halihazırda ticarileştirilmiş mantar ilaçları ve bakterisitler piyasada bulunmaktadır. Kocide 3000, nanopartiküller ve mikron büyüklüğünde Cu parçacıkları ve $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 'den oluşan nanotabakalar içeren ticari bir nanopestisit (Adeleye *et al.* 2014). Bu nanopestisit suda çözündürüldükten sonra çeşitli mantar ve bakteri hastalıklarını önlemek için bitkilere püskürtülmektedir. Kocide 3000 yem bitkileri, sebzeler, meyveler ve ağaçlar dahil olmak üzere çeşitli bitkilere uygulanmakta ve organik tarım içinde kullanılabilmektedir (Simonin *et al.* 2018). Kocide 3000'in antifungal ve antibakteriyel özelliği temel olarak $\text{Cu}(\text{OH})_2$ partiküllerin çözünmesini takiben ortama sürekli Cu iyonu salınımından kaynaklanmaktadır (Keller *et al.* 2017). Kocide 3000 bitkileri mantar ve patojenik bakteri hastalıklarından korumakla birlikte bitki beslenmesinde önemli rol oynayan (mikoriza ve azot fikse eden bakteriler gibi) mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir (Simonin *et al.* 2018). Ayrıca toprak verimliliğini sağlayan mikroorganizmalar geniş spektrumlu etki gösteren bu nanopestisite karşı duyarlıdır (Simonin *et al.* 2018). Bu nedenle tekrarlanan Kocide 3000 uygulamaları uzun vadede bitki ve toprak verimliliği üzerinde istenmeyen etkilere neden olabilmektedir.

Tarımda ürün verimini ve kalitesini artırmak için uygulanan yöntemlerden biri çeşitli büyüme regülatörlerinin veya kimyasalların eksojen olarak bitkilere uygulanmasıdır. Bu uygulamalar bitkide verim ve ürün artışını bir dereceye kadar artırmakla birlikte, bitkisel hastalıklara direnci yeterince sağlayamamakta ve kullanılan kimyasalların çevreye ve insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır. Buna ilaveten, bitkilere eksojen olarak uygulanan bu maddeler bitkilerin çeşitli doku ve organlarında birikmekte ve onları tüketen organizmalarda sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. Diğer taraftan bu maddelerin çevreye salınması çevre kirliliğine ve hedef olmayan organizmalarda toksik etkiye neden olabilmektedir. Bu yüzden sürdürülebilir tarım için çevreyle dost organik maddelerin kullanımı giderek önem kazanmaktadır (Lisiecka *et al.* 2011). Tarımda yeni, ucuz ve sürdürülebilir organik maddelerin bitki büyütülmesinde kullanılması verimliliği artırmanın yanı sıra, toprağın biyolojik, kimyasal ve fiziksel yapısını da önemli ölçüde geliştirmektedir (Colla *et al.* 2015). Son yıllarda bitki büyüme ve gelişmesinde kullanılan alternatif organik maddelerin bir grubu hemen hemen tüm bitkisel dokular tarafından kolayca alınabilen, düşük moleküler ağırlıklı peptidler ve amino asitlerden oluşan protein hidrolizatlarıdır (Kunicki *et*

al. 2010). Genellikle bitki yapraklarına fide döneminde uygulanan bu hidrolizatlar, topraktan mineral maddelerin ve suyun alınımını uyarmakta, fotosentez, protein sentezi ve abiyotik stresle ilişkili bazı biyokimyasal mekanizmaları etkileyerek bitkilerde büyüme, gelişme ve ürün verimini artırabilmektedir (Ertani *et al.* 2014). Bu hidrolizatlardan bazıları bitkilerde çeşitli katyonları şelatlayabilmekte ve strese toleransı teşvik etmektedir. Ancak strese tolerans bitkinin yaşam evresine, protein hidrolizatının uygulandığı döneme, çevresel koşullara, uygulanan konsantrasyona ve bitki türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Kunicki *et al.* 2010; Ertani *et al.* 2014).

Protein hidrolizatı kaynağı olarak kullanılabilen amino asit içeriği çeşitli, protein oranı yüksek ve çevrede bol miktarda bulunan atık ürünlerden biri tavuk tüyüdür (Colla *et al.* 2015). Bilindiği gibi her yıl gıda amacıyla yüzbinlerce ton tavuk kesilmekte ve yaklaşık 7.7×10^8 kg tavuk tüyü atık olarak kalmaktadır. Tavuk tüyünün içerisinde protein kaynağı olarak bol miktarda keratin bulunmaktadır. Ancak, keratini parçalayan keratinaz enzimi sadece bazı bakteriler ve mantarlarda bulunmaktadır. Dolayısıyla tavuk tüyü keratininin işlenmeden canlılar tarafından doğrudan protein kaynağı olarak kullanılması mümkün değildir. Bu yüzden tavuk tüyünün sanayide kullanımı son derece azdır (Taskin, 2012). Tavuk tüyü buhar basıncında, kimyasal maddeler uygulanarak veya enzimatik olarak hidroliz edilebilmektedir. Bu yöntemlerle tavuk tüyünde bulunan keratinin içerdiği aminoasitlerin sindirilebilirliği arttırılmakta ve böylece canlıların kullanabileceği besin formuna dönüştürülebilmektedir. Tavuk tüyü hidrolizatının tavuk ve balık yemlerinin içeriğine zengin protein kaynağı olarak ilave edilebileceği çeşitli araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Onifade *et al.* 1998; Taskin *et al.* 2012). Yine tavuk tüyü protein hidrolizatının biyogübre olarak kullanılması da mümkündür. Tavuk tüyü protein hidrolizatının, tohum çimlenmesi ve fide büyümesi üzerine olumlu etki yaptığı bildirilmiştir. Örneğin, Gurav and Jadhav (2013) muz bitkisine uygulanan tavuk tüyü protein hidrolizatının demet ağırlığını artırdığını, kolza bitkisinde ise biyokütle artışına neden olduğunu rapor etmiştir. Tavuk tüyü hidrolizatının içerdiği inorganik madde miktarının hidroliz yöntemine göre değiştiği (Taskin *et al.* 2012) tarafından rapor edilmiştir. Tavuk tüyü protein hidrolizatında prolin, sistein, glutamik asit, glisin ve diğer amino asitler önemli oranda bulunmaktadır. Bu amino asitler antioksidan savunma sisteminin bir parçası olan GSH'ın öncül bileşenleridir. Bilindiği gibi GSH, reaktif oksijen türevlerinin etkilerini doğrudan azaltabilecek potansiyele sahip, kükürt metabolizmasından fitoşelatin üretimine kadar çeşitli metabolik süreçlerde rol alan önemli bir antioksidandır (Taskin, 2012). GSH'ı oluşturan aminoasitler tavuk tüyü protein hidrolizatı içeriğinde oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. Dolayısıyla tavuk tüyü kullanılarak hazırlanan hidrolizatların nanopestisitlere maruz kalan bitkilerde AsA-GSH döngüsü ve azot

metabolizmasını etkileyerek bitkilerin strese olan direncini artırması kuvvetle muhtemeldir.

Nanoteknoloji doku mühendisliği, ilaç, kozmetik, biyomedikal sistemler, farmakoloji, elektroniği, eczacılık ve tarım alanlarında yaygın bir şekilde kullanım alanına sahiptir. Nanopartiküller, nanoemülsiyonlar ve nanopestisitler günümüzde tarımda geniş bir kullanım alanı bulmaya başlamıştır. Nanomateryallerin kullanımındaki artışa paralel olarak bu materyallerin çevreye olan etkisi giderek önem kazanmıştır. Tarımda nanopestisitler gibi nanoemülsiyonların geliştirilmesi için oldukça umut vadeci çözümler gelişmiştir. Geleneksel pestisitlerle kıyaslandığında nanopestisitler canlı dokularına daha fazla nüfus ederek veya pestisiti ucucu hale getirerek daha az pestisit kaybı ve daha fazla biyoyararlanım gibi avantajlar sağlar. Çözünmez ya da az çözünür pestisitler ile karşılaştırıldığında çözünabilirlik artar; abiyotik ve biyotik koşullar altında hızlı bozunma ve pestisit salınımı kontrol edilebilir. Bu durum hem pestisit salınımını hemde tekrarlanma işlemleri azaltır. Bununla birlikte nanopestisitlerin kullanımı fizikokimyasal ve toksikolojik özellikleri bilinmeyen kimyasallar üzerine etkilerinin çevreye vereceği olumsuzlukların tam olarak bilinmemesi güvenilir olmayan sonuçlar doğurabilir.

Örneğin daha yüksek oranda biyoyararlanımdan faydalanmak için kullanılan nanopestisitler hedef olmayan organizmaların üzerinde olumlu ya da olumsuz etki oluşturabilir. Benzer biçimde nanopestisitlerin daha düşük oranda bozunması ve sinerjik etkiye neden olması beklenmedik toksisiteye ve hedef olmayan organizmalarda zarara neden olabilir. Bitkilerde ve hayvanlarda nanopestisitlerin metabolik faaliyetleride bilinmemektedir. Dahası nanopestisitlerin çözünürlüğündeki bir artış doğal su kaynaklarını kirletme potansiyelini artırabilir. Bu bağlamda nanopestisitlerin hedef olmayan organizmalar üzerine etkisinin değerlendirilmesi güncel ve önü açık araştırma alanıdır ve öncelikli alanlar arasında yer almaktadır.

Bu çalışmada, Cu(OH)_2 nanopestisitine maruz kalan mısır fidelerine eksojen olarak uygulanan tavuk tüyü hidrolizatının etkisi fizyolojik, biyokimyasal ve gen transkripsiyonu seviyesinde değerlendirilecektir. Bu amaçla,

- i Mısır fidelerinde kök uzunluğu ve gövde uzunluğu ölçülecek,
- ii Malondialdehit miktarı, H_2O_2 seviyesi ve süperoksit anyon miktarlarındaki değişime bakılacak,
- iii Klorofil miktarı, fenolik madde miktarı, protein ve prolin miktarları, AsA ve GSH miktarları belirlenecek,
- iv Antioksidan enzimlerin ve azot metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivitesinde oluşan değişimler ölçülecek,

- v RT-PCR kullanılarak antioksidan sistem, azot metabolizması ve AsA-GSH döngüsü ile ilişkili genlerin transkripsiyonlarında meydana gelen değişimler tespit edilecektir.



KURAMSAL TEMELLER

Küresel olarak nüfusun büyük bir bölümü geçimini tarımdan sağlamakta ve gıda, yem ve lif bitkileri üretimi ile uğraşmaktadır. Dünya nüfusunun 2050 yılına kadar 10 milyara ulaşması beklenmekte ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde nüfus artış hızının yoğun olacağı tahmin edilmektedir (Carvalho 2006).

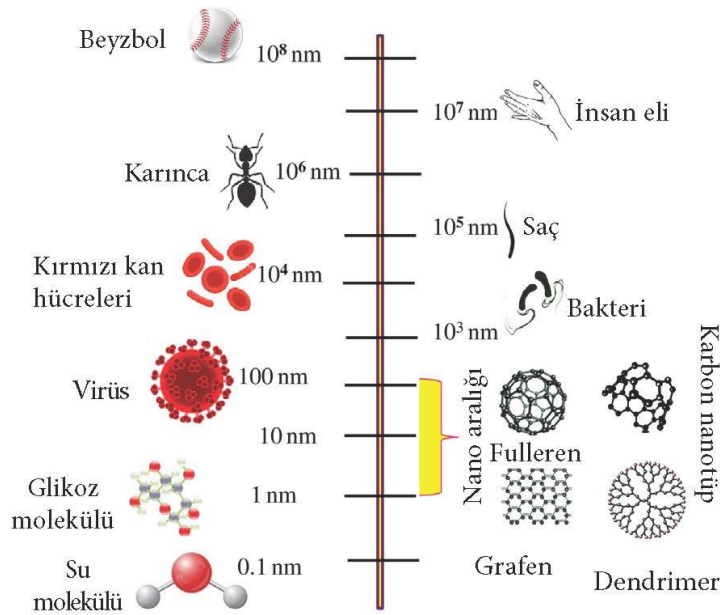
Teknolojik yenilikler ürün kalitesi ve verimini artırsa da, gelecekte doğal kaynakların bozulması, biyoçeşitliliğin kaybı, bitki hastalıklarının yaygınlaşması, böceklerin bir bölümünün pestisitlere dirençli hale gelmesine bağlı olarak ürün veriminin düşeceği tahmin edilmektedir. Bazı araştırmalara göre dünya çapında haşerelerin %14'lük bitki patojenleri ve yabancı otların ise %13'lük ürün kaybına neden olduğu tahmin edilmektedir (Dhawan and Peshin 2009). Bilindiği gibi böcekler, patojenler ve yabancı otlarla başa çıkmak için en uygun strateji pestisit ve herbisit uygulamalarıdır. Pestisitler, kolay bulunabilirlikleri, etkinlikleri ve uygulama kolaylıkları nedeniyle tarımsal ekosistemlerde verimi ve kaliteyi artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Pestisitlerin yaygın kullanımına bağlı olarak, çevre kirliliği, haşere direnci, biyolojik birikim ve sağlık sorunları ortaya çıkmaktadır. Bu sorunların üstesinden gelmek için tarımda kullanılan pestisit miktarının azaltılması gerekmektedir. Son yıllarda pestisit kullanımını azaltmak için nanoteknoloji oldukça çekici bir araç haline gelmekte ve her geçen gün bu teknolojiye bağlı yeni ürünler piyasaya sürülmektedir. Nanoteknolojinin kullanımı, pestisit etkinliğini artırarak, aktif bileşenlerin stabilitesini iyileştirerek, gerekli pestisit dozunu azaltarak ve tarımsal girdileri koruyarak geleneksel pestisitlerle ilişkili sınırlamaların üstesinden gelmektedir (Jasrotia vd. 2018). Yeni geliştirilen nano tabanlı formülasyonlardan ise hedefe özel, kararlı, farklı ortamlarda aktif olması, formüle edilmesi, uygun maliyetle üretilmesi ve tercihen yeni bir teknolojiye sahip olması beklenmektedir (Smith *et al.* 2008). Nanopestisitler tarımda yaygın kullanılan nanoteknolojik ürünler arasında yer almaktadır (Sasson *et al.* 2007; Hayles *et al.* 2020; Kashyap *et al.* 2020). Nanopestisit formülasyonları düşük toksisite, biyouyumluluk ve daha yüksek biyoyararlanım göstermiş olsa da, uygulama alanları hala sınırlıdır çünkü nanoteknolojinin veya nanoparçacıkların (NP'ler) kullanımı, toprak ve su kontaminasyonu ile bağlantılı olası toksik etkilerin araştırılmasını gerektirmektedir.

Nanopartiküller

Nanopartiküller, nano ölçekli dış boyutlara veya iç yapılara sahip malzemeleri ifade eder. Nano ölçek, yaklaşık 100 nm'lik bir üst sınırı olan boyut olarak tanımlanabilir (Şekil 3). Parçacık boyutuna bağlı olarak, nanoparçacıklar üç kategoride sınıflandırılır: 1) çapı 100 nm'den küçük olan ultra ince parçacıklar, 2) çapı 100 nm ile 2,5 µm arasında olan biriktirme modu parçacıkları, 3) çapı 2,5 µm'den büyük olan iri modlu parçacıklar (Sioutas vd. 2005). Bununla birlikte Keck ve Müller (2013) nanopartikülleri partikül boyutlarına ve biyolojik olarak parçalanabilirliklerine göre dört sınıfa ayırmıştır. Bunlar 1) 100 nm'den büyük ve biyolojik olarak parçalanabilir olanlar, 2) 100 nm'den büyük ve biyolojik olarak parçalanamaz olanlar, 3) 100 nm'den küçük ve biyolojik olarak parçalanabilir olanlar ve 4) 100 nm'den küçük ve biyolojik olarak parçalanamaz olanlardır.

Bir nanosistem ise, aktif bir bileşen ve bir taşıyıcı olmak üzere iki temel bileşenden oluşur. Nanoformülasyonlar ise;

- 1) inorganik bazlı, katı ve biyolojik olarak parçalanamayan nanopartiküller (altın, gümüş, bakır, demir ve silika bazlı nanopartiküller)
- 2) organik bazlı biyolojik olarak parçalanabilen nanopartiküller (lipozomlar, katı lipid ve polimerik nanopartiküller)
- 3) hibrit (hem inorganik hem de organik bileşenlerin kombinasyonu) nanopartiküller olmak üzere üç sınıfa ayrılmıştır.



Şekil 3. Nano boyut aralığının yaygın olarak bilinen malzemelerle karşılaştırılması

Geleneksel Tarım İlaçları İle İlgili Sorunlar

Pestisitler, önemli bitki koruma ürünlerinden biri olarak kabul edilir ve tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Yeşil devrim döneminde kullanımları, yüksek verimli ürün çeşitlerinin kullanılmasının yanı sıra, ürün verimini artırmaya yönelik önemli ölçüde katkıda bulunmuştur (Popp *et al.* 2013). 1960'ların başında Rachel Carson'ın "Sessiz Bahar" kitabının yayınlanmasına kadar pestisit kullanımına bağlı çevresel tehlikelerin gerçekten fark edilmesi mümkün değildi (Köhler & Trieb-skorn 2013). O zamandan beri, insanlar ve hayvanlar üzerindeki potansiyel toksisiteleri ve yaşamın hassas ekolojik dengesi üzerindeki etkileri dahil olmak üzere pestisit kullanımıyla ilişkili riskleri değerlendirmek için devam eden küresel araştırmalar yürütülmektedir. Bu alan günümüzde en çok araştırılan konulardan biri olarak kabul edilmektedir (Laborde 2008). Çeşitli yöntemlerle (püskürtme, toprak, tohum ilaçlama vb.) uygulanan pestisitlerin sadece %0,1'inin hedefe ulaştığı, kalan %99,9'unun ise çevreye sızarak toprak ve yeraltı sularının kirlenmesine neden olduğu bildirilmiştir (Goulson *et al.* 2015; Kumar *et al.* 2018). Buna ilaveten, seçici olmayan pestisitlerin kullanımının, hedef dışı organizmaların zarar görmesine sebep olduğu ve ekolojik dengeyi bozduğu kaydedilmiştir.

Zirai uygulamalarda (örn. Islatılabilir Tozlar), püskürtme için aktif bileşenin sıvı fazda uygun şekilde dağılması gerekmektedir. Su, düşük maliyeti, kolay bulunabilmesi ve ekolojik uyumluluğu nedeniyle pestisit uygulamaları için en uygun ortamdır, ancak birçok pestisit suda az çözünür, hatta çözünmez. Bu nedenle, pestisitleri çözmek için büyük miktarda organik çözücü kullanmak gerekir. Organik çözücü kullanımı ise, maliyet artışına, çevre kirliliğine yol açar (Stackelberg vd. 2001). Öte yandan, sprey etkinliği, pestisit formülasyonundaki aktif bileşenlerin stabilitesinde bağlıdır. Çevresel faktörler, pestisitleri hedef bölgelerine ulaşmadan önce bozabilir. Bir pestisit kimyasal yapısı, kalıcılığını ve hedef organizmalar üzerine toksisitesini belirler. Bilindiği gibi kararlı bileşikler, suda az çözünürler ve çevrede kolayca parçalanamazlar ve bu nedenle yüzey sularını akması ile aquatik organizmalara kadar ulaşabilirler. Kimyasal pestisitlerin bir bölümü lipofiliktir ve sudaki organizmaların yağ dokularında birikme ve böylece besin zincirine girme eğilimindedir. Pestisit konsantrasyonu, biyoakümüülasyonu her besin zinciri seviyesinde artarak hayvan ve insan sağlığı üzerinde toksik etkilere neden olmaktadır. Bazen, pestisitlerin birbirleri ile etkileşimleri mahsulün bozulmasına yol açabilen fitotoksik etkiler de ortaya çıkarabilir (Rizzati vd. 2016). Geleneksel pestisitlerin kullanımıyla ilgili sorunların üstesinden gelmek için, dünya çapında araştırmacılar, nanoteknoloji ilkelerine dayalı yeni bir pestisit türü, yani bir "nanopestisit" geliştirmek için çalışmalara başlamıştır. Nanoteknoloji, kimyasal pestisitlerle ilişkili sakıncaları azaltma potansiyeline sahiptir. Malzeme boyutunun nano seviyeye düşürülmesi

verimliliğin ve dayanıklılığın artışına, hedef dışı etkilerin ise azalmasına yol açarak bitki koruma ürünleri için çeşitli avantajlar sağlar.

Nanopestisitlerin Yararları

Kimyasal pestisitlerden farklı olarak, nanoformülasyonlar, çözünmeyen veya az çözünen aktif bileşenlerin çözünürlüğünü artırmak ve biyosidi kontrollü ve hedefli bir şekilde serbest bırakmak için özel olarak tasarlanmıştır (Margulis-Goshen & Magdassi 2013). Bu nedenle, alan başına uygulama için daha az miktarda aktif bileşen yeterlidir ve aktif bileşenler uzun süre etkili kalabilir. Buna bağlı olarak kullanılan doz azalır, üretim maliyeti düşer, hedef dışı organizmalar az etkilenir ve fitotoksosite düşer (Şekil 4). Ayrıca, kontrollü salım formülasyonları için, aktif bileşen salınana kadar pestisit aktif kalmaması önemlidir.

Nanokapsüller, nanoküreler, nanojeller ve miseller en sık sentezlenen kontrollü salım formülasyonlarıdır. Nanoformülasyonların hazırlanması bazı fiziksel ve kimyasal yöntemler geliştirilmiştir. Bunun bir örneği, su bazlı solüsyonlarda hidrofobik aktif bileşenlerin dağılımını artırmak için bir polimer matrisin kullanıldığı nanokapsüllemedir. Bu teknik, pestisitlerin biyosidal aktivitelerini korurken yüksek seçicilikle kontrollü salınımını sağlar (Peteu *et al.* 2010). Bir aktif bileşenin salım modeli, polimerik matrisin kimyasal özellikleri, kimyasal bağların gücü ve pestisit moleküllerinin boyutu gibi faktörlerden etkilenir. Su ile temas ve belirli uyaranlara maruz kalmanın ardından, aktif maddeyi içeren polimerin difüzyonu veya bozunması başlar.

Kontrollü kapsülleme tarımsal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Kontrollü kapsülleme teknolojisi kullanılarak hazırlanan salım formülasyonlarında, hidrofobik veya hidrofilik biyoaktif bileşikler, örneğin lesitin tarafından oluşturulan lipozomlar ve misellerde tutulabilirler. Bunlar, kullanılan pestisit miktarını azaltabilir, kararsız çekirdek malzemelerin stabilitesini artırabilir, salınan kimyasalların keskin kokularını bastırabilir ve taşıyıcı sistemlere biyouyumluluğu güvence altına alabilir. Kitosan, biyolojik olarak parçalanabilirliği, toksik olmaması ve adsorpsiyon yeteneği nedeniyle kontrollü dağıtım için değerli bir taşıyıcı olmaya adaydır. Bir kitosan matrisi kapsüllenmiş aktif bileşenler için koruyucu bir rezervuar olarak işlev görebilir, onları çevreleyen ortamdan korur ve salınımlarını kontrol eder. Geleneksel formülasyonlar ile karşılaştırıldığında polimer kapsüllü nanoformülasyonlar kontrollü salım, azaltılmış buharlaşma, bozunma ve süzme kayıplarının az olması gibi avantajlara sahiptir. Bununla birlikte, nanoformülasyonlar geleneksel pestisitlere kıyasla önemli ölçüde farklı özelliklere sahip olduğundan solunum yolu ile teneffüs edilmesi veya deriye nüfuz etme potansiyeli araştırılmalıdır (Cao *et al.* 2015).



Şekil 4. Geleneksel pestisitlere kıyasla nanopestisitlerin avantajları

Nanopestisitlerin Sınıflandırılması

Pestisitlerin nanoformülasyonları kullanım amaçlarına göre;

- 1) Suda çözünmeyen aktif bileşenlerin çözünürlüğünü artıran formülasyonlar
 - 2) Aktif bileşenlerin salım hızını yavaşlatan formülasyonlar
 - 3) Hedeflenen teslimatı ve artırılmış kimyasal stabiliteyi sağlayabilen formülasyonlar
- (Kah *et al.* 2013).

Nanoemülsiyonlar

Nanoemülsiyon pestisit formülasyonları, gelişmiş biyoyararlanım, gelişmiş kimyasal stabilite ve kontrollü salım mekanizmaları dahil olmak üzere çeşitli avantajlara sahiptir. Kullanılan yüzey aktif maddenin miktarına ve türüne bağlı olarak nanoemülsiyonlar (i) termodinamik olarak kararlı ve (ii) kinetik olarak kararlı nanoemülsiyonlar olarak sınıflandırılabilir. Termodinamik olarak kararlı nanoemülsiyonlar, polar olmayan pestisit sulu fazda kısmen çözünürken ve kritik misel konsantrasyonundan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunan daha güçlü bir aktif maddeye sahip olduğunda oluşur. Bu tür nanoemülsiyonlar, uygun kimyasal özellikleri ve basit hazırlama teknikleri nedeniyle ticari formülasyonlar için tavsiye edilir (Tomlin 2009). Bununla birlikte, bu tür nanoemülsiyonların, yüksek miktarda sürfaktan gereksinimi, maliyetinin yüksek olması ve fitotoksisiteye neden

olması gibi dezavantajları bulunmaktadır (Katagi 2008). Diğer taraftan, kinetik olarak kararlı nanoemülsiyonlar, pestisit sulu fazda tamamen çözünmediğinde ve yüzey aktif maddenin zayıf iticiliği nedeniyle yüzey aktif madde molekülleri misellerde minimum düzeyde toplandığında oluşur (Mason *et al.* 2006; Song *et al.* 2009). Buradaki ana avantaj, daha geniş bir yüzey aktif madde yelpazesinin kullanılabilmesidir (Mc Clements 2012), ancak bu tür formülasyonların en büyük dezavantajı, yüzey aktif madde stabilizasyon için kaplanmadan önce pestisit moleküllerinin nano boyutlu damlacıklara bölünmesinin gerekmesidir. Sonuç olarak, bu yaklaşım, büyük ölçekte ticari pestisit üretimi için kullanışsızdır (Anton *et al.* 2008).

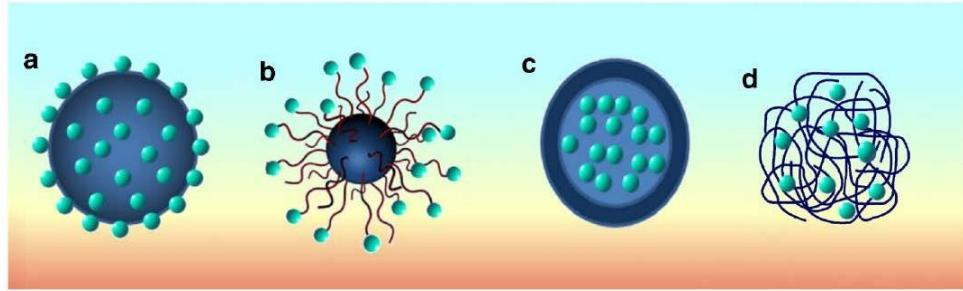
Nanosüspansiyonlar/Nanodağılımlar

Nanosüspansiyonlar veya nanodağılımlar, sıvı bir ortamda dağılmış kristal veya amorf katı nanopartiküller formunda aktif bileşenler içeren pestisit formülasyonlarıdır (Kah *et al.* 2013). Bu formülasyonların stabilitesi, nanoparçacıklar üzerinde adsorbe edilmiş sürfaktan gibi yüzey aktif madde moleküllerinin varlığında suda karıştırılarak sağlanır. Sürfaktan molekülleri, polar kısım sulu çözeltiye uzanırken polar olmayan kısım katı pestisit nanoparçacıkları ile etkileşime girecek şekilde stratejik olarak düzenlenir (Acosta 2009). Nanoemülsiyonların aksine, nanodispersiyonlar yalnızca kinetik olarak stabil formülasyonlar olarak hazırlanabilir, bu da geliştirilmiş pestisit çözünürlüğü ve 50 nm ila 200 nm çap aralığında parçacık boyutları ile sonuçlanır (Müller & Junghanns 2006). Bu nanosüspansiyon formülasyonları, gelişmiş biyoyararlanım, gelişmiş kimyasal stabilite ve kontrollü salım mekanizmaları gibi avantajlar sunar.

Polimer Bazlı Nanopestisit Formülasyonları

Günümüzde, foto-labil aktif bileşenlerin korunmasına ve haşere yönetimi programları için polimerler kullanan herbisitler, fungusitler ve insektisitlerin kontrollü salım formülasyonlarının geliştirilmesine odaklanılmaktadır. Nanoemülsiyonlar gibi, polimer bazlı dağıtım sistemi, aktif bileşenlerin sulu ortamdaki dağılımını artırır, koruyucu bir rezervuar örtüsü görevi görür ve pestisitlerin kontrollü salınımını kolaylaştırır. Aktif bileşenlerin yavaş salınımı, nanotaşıyıcının bozunma özelliklerine, aktif bileşenler ile taşıyıcı arasındaki bağa ve hava koşullarına bağlıdır. Polimer bazlı nanoformülasyonların kullanılması, ekosistem üzerindeki olumsuz etkilerini en aza indirirken aktif bileşenlerin etkinliğini artırmak için umut verici bir yaklaşım sunar. Bu, formülasyonlardaki organik çözücülere ve yüzey aktif maddelere olan bağımlılığı da azaltır (Li *et al.* 2018). Polimer bazlı kontrollü formülasyonlar sayesinde doz azaltılıp, stabilite ve etkinlik artırılıp kayıplar en aza indirilir (Chen & Yada

2011). Bu formülasyonlar farklı etki modları, biyoyumluluk ve biyobozunurluk ile birden fazla aktif bileşeni bir araya getirerek karmaşık dağıtım sistemleri oluştururlar. Nanopestisit formülasyonları için kullanılan polimerler esas olarak polisakkaritlerden (ör. kitosan, aljinatlar ve nişasta) ve poliesterlerden oluşur (ör. poli-e-kaprolakton ve polietilen glikol). Günümüzde bal mumu, mısır yağı, lesitin (Nguyen *et al.* 2012) ve kaju sakızı (Abreu *et al.* 2012) gibi çevre dostu ve biyolojik olarak parçalanabilir doğal malzemelerin kullanımına yönelik artan bir eğilim vardır. Son yıllarda nanojeller, miseller, nanokapsüller, nanolifler, nanosferler ve kitosan bazlı nanoformülasyonlar gibi çeşitli polimer nanoformülasyonlar geliştirilmiştir.



Şekil 5. Etken maddenin nanotaşıyıcı sistemlere yüklenme yöntemleri a) nanoparçacık yüzeyine adsorpsiyon b) Nanoparçacık çekirdeğine ligandlar vasıtasıyla tutturma c) Polimerik kabuğun içine kapsülleme d) Polimerik matris içine hapsedme (Athanassiou *et al.* 2018)

Polimer Nanokapsüller

Polimer nanokapsüller, özellikle nanokapsüller, hidrofilik veya hidrofobik bir merkezi boşluğu çevreleyen bir polimer kaplama ile karakterize edilen nano yapılardır (Soppimath *et al.* 2001; Balaure & Grumezescu, 2014). Bu nanokapsüller, önceden oluşturulmuş polimer üretimi yoluyla veya uygun monomerlerin polimerizasyonu sırasında pestisitlerle yüklenebilirler. Aktif bileşenlerin kapsüllemesi için polimerik malzemelerin kullanımı, çevre dostu ve biyolojik olarak parçalanabilir yapıları nedeniyle yaygındır (Kumar *et al.* 2017; Ramasamy *et al.* 2017). Araştırmacılar son zamanlarda polietilen glikol (PEG), poli-ε-kaprolakton (PCL), selüloz, kitosan ve aljinat-jelatin gibi çeşitli sentetik ve doğal polimerleri kullanarak aktif olarak nanokapsül formülasyonları geliştiriyorlar (Rani *et al.* 2017; Kumar *et al.* 2018).

Bu polimer nanokapsüllerin dikkate değer bir avantajı, ticari formülasyonlara kıyasla önemli ölçüde daha yavaş olan, suda aktif bileşenlerin kontrollü salımıdır. Salım oranları, polimerin moleküler ağırlığı ile doğru orantılıdır (Shakil *et al.* 2010). Bu farklı polimerik nanokapsüller, düşük maliyetlerini, seçici toksisitelerini ve biyolojik olarak parçalanabilirliklerini korurken pestisit tüketiminde azalmaya katkıda bulunan özellikler sergiler.

Nanoküreler

Nanoküreler, tipik olarak 10 nm ila 200 nm çapında değişen, daha büyük kürelerle karşılaştırıldığında benzersiz boyuta bağlı özellikler sergileyen küresel parçacıkları ifade eder (Singh *et al.* 2010). Bu nanosferler, amorf veya kristal formda bulunabilir ve aktif bileşen için enzimatik ve kimyasal bozunmaya karşı etkili koruma sağlar (Lee & Kim, 2005; Mohanraj & Chen, 2006). Nanokürelerin hazırlanması, emülsiyon-çözücü difüzyon yöntemi kullanılarak kolloidal süspansiyonların oluşturulmasını içerir. Bu yöntem, suyla karışabilen bir organik çözücünün yağlı bir fazdan sulu bir faza difüzyonunun bir sonucu olarak meydana gelen polimerin ara yüzey çökmesine dayanır. Ek olarak, kolloidal süspansiyonun dondurularak kurutulması yoluyla nanokürelerin toz formları elde edilebilir. Bu toz haline getirilmiş nanosferler, aktif içeriği UV bozunmasına karşı korur (Costa *et al.* 2014).

Miseller

Polimerik miseller, tipik olarak amfifilik blok kopolimerlerin kendiliğinden bir araya gelmesiyle oluşan, önemli bir polimer bazlı nanopestisit kategorisini temsil eder (Kataoka *et al.* 2001). Bu miseller, sudaki amfifilik blok kopolimerlerin agregasyonundan kaynaklanan, çekirdek-kabuk yapısına sahip kolloidal parçacıklardır. Hidrofobik çekirdek, pestisit için bir rezervuar görevi görürken, hidrofilik dış kabuk, aktif bileşenin stabilitesine, sulu çözünürlüğüne ve etkisizleştirilmesine katkıda bulunur (Pérez Quiñones *et al.* 2018). Hidrofilik blokların montajı, çekirdeği ve aktif bileşenlerini bozunmadan, opsonizasyondan koruyan ve suda çözünürlüğü kolaylaştıran koruyucu bir misel kabuğu oluşturur (Croy & Kwon, 2006).

Miseller, yüksek yükleme kapasitesi, hidrofobik aktif bileşenlerin çözünmesi, nano ölçekli parçacık boyutları, geniş yüzey alanı/kütle oranı ve hedeflenen dağıtım kapasiteleri dahil olmak üzere dikkate değer özellikleri nedeniyle diğer polimerik nano boyutlu dağıtım sistemleri arasında önemli ölçüde ilgi görmüştür (Xu vd. 2013). Ayrıca miseller, aktif bileşenlerin sürekli ve talebe dayalı olarak salınmasına izin vererek çeşitli dış uyaranlara yanıt verir. Örneğin, misellerin ışığa duyarlı özellikleri, belirli ışık koşullarına yanıt olarak kontrollü salımı mümkün kılar (Jiang *et al.* 2006).

Nanojeller

Nanojeller, nano ölçekte var olan ve hidrofilik veya amfifilik polimer ağların fiziksel veya kimyasal çapraz bağlanmasıyla oluşan, yüksek su tutma kapasitesi sergileyen hidrojel bileşimleridir (Soni *et al.* 2016). Bu nanojeller, çeşitli doğal veya sentetik polimerler veya

bunların bir kombinasyonu kullanılarak geliştirilebilir. Eşsiz fiziksel özellikleri, pestisit uygulamalarında diğer nanomalzeme türlerine göre belirgin avantajlar sağlar.

Nanosferlerle karşılaştırıldığında, nanojeller birkaç üstün özellik sunar. Birincisi, suda çözünmezler, bu da onları nemdeki değişikliklerle şişmeye veya büzülmeye daha az duyarlı hale getirir (Bhagat *et al.* 2013). İkinci olarak, nanojeller gelişmiş yükleme ve kontrollü salım kapasiteleri sergilerler (Paula *et al.* 2011). Hidrofilik yapıları nedeniyle, nanojeller yüksek biyouyumluluk sergilerler ve önemli bir yükleme kapasitesi ile aktif bileşenleri verimli bir şekilde kapsülleyebilirler. Aktif bileşenlerin nanojel formülasyonlarından salınması, su polimerik ağa nüfuz ettiğinde gerçekleşir, bu da pestisitlerin şişmesine ve çözünmesine ve ardından yüzeye difüzyonuna yol açar. Sonuç olarak, pestisitlerin salınması, formülasyonların kimyasal bileşiminden etkilenen nanojellerin şişme özelliklerine yakından bağlıdır.

Nanojeller, yalnızca pestisitleri bozulmaya karşı korumakla kalmaz, aynı zamanda uyaranlara duyarlı davranış sergileme, yumuşaklık ve şişme gibi benzersiz özelliklere sahiptir ve hedef bölgede kontrollü ve kademeli salım sağlar. Son yıllarda, organik tarım standartlarını karşılamak için bitki koruma kimyasallarında feromonlar, uçucu yağlar ve bakır içeren nanojel formülasyonları kullanılmaktadır (Oh *et al.* 2008; Motornov *et al.* 2010; Mura, 2013; Torchilin, 2014).

Nanolifler

Nanolifler, çok çeşitli polimerik malzemeler kullanılarak sentezlenebilir ve küçük boyutlu lifler olarak benzersiz özellikleri ve polimerlerin kendi özellikleri sayesinde gelişmiş pestisit uygulamaları için istenen özelliklere sahiptir. Nanolifler, kontrollü dağıtım formülasyonları olarak çeşitli avantajlar sunar. Nanosferlere ve nanokapsüllere göre sahip oldukları en önemli avantajlardan biri, aktif bileşenler polimerik matris içinde eşit olmayan bir şekilde dağıldığında meydana gelebilecek salım patlamalarını önleme yetenekleridir (Xiang vd. 2013). Nanoliflerin salım profili, morfolojileri, gözenekli yapıları ve bileşimleri ayarlanarak kontrol edilebilir. Kullanılan polimerlerin türü, aktif bileşenlerin ve polimerlerin hidrofilikliği ve hidrofobikliği, çözünürlük, katkı maddelerinin varlığı ve tampon çözeltideki enzimlerin varlığı dahil olmak üzere çeşitli faktörler nanoliflerin kontrollü salım performansını etkiler.

Kitosan Nanoparçacık Bazlı Formülasyonlar

Kitinin deasetilasyonundan türetilen kitosan, bol miktarda bulunabilen doğal polisakkaritler grubuna ait biyoaktif bir polimerdir (Badawy & Rabea 2011). Kitosan, antimikrobiyal ve böcek öldürücü aktivitesi, toksik olmaması, modifikasyon kolaylığı ve

biyolojik olarak parçalanabilirliği nedeniyle biyomedikal endüstrisinde, tarımda, genetik mühendisliğinde, gıda endüstrisinde çok çeşitli uygulama alanlarına sahiptir (Divya & Jisha 2018).

Kitosan, biyouyumluluğu, yüksek geçirgenliği, çözünürlüğü, toksik olmaması, mükemmel film oluşturma kabiliyeti, katyonik özellikleri ve maliyet etkinliği nedeniyle ağırlıklı olarak nanotaşıyıcı sistemler şeklinde kullanılmaktadır (Shukla *et al.* 2013). Kitosanın nanoformülasyonlarda kullanılması, daha geniş yüzey alanı, daha küçük parçacık boyutu ve artan mobiliteden yararlanarak etkinliği artırır (Sasson *et al.* 2007; Kah *et al.* 2013). Aktif bileşenler içeren kitosan nanoparçacıkları, hücre zarından kolayca geçerek, aktif bileşenlerin biyoyararlanımını artırır (Rodrigues vd. 2012). Ayrıca kitosan, bitki yüzeylerine kolayca yapışarak yüzey ve pestisidal aktif bileşenler arasındaki temas süresini uzatır (Kashyap *et al.* 2015).

Lipid bazlı Nanopestisit Formülasyonları

Lipid bazlı nanotaşıyıcılar, sulu fazı sınırlandıran birçok çift tabakaya kendiliğinden birleştirebilen fosfolipitlerden oluşur (Sala vd. 2018). Bunlar, fizyokimyasal depolama kararlılığı, çevresel güvenlik, yüksek yükleme kapasitesi ve hedef odaklı akıllı salım sistemi gibi spesifik özelliklerinden dolayı kontrollü aktif içerik salımı için oldukça verimli nanotaşıyıcılardır (Zheng vd. 2013). Bitki korumada lipid nanomalzemelerin kullanımı nispeten yeni bir araştırma alanı olmasına rağmen, birkaç çalışma bunların pestisit nanotaşıyıcıları olarak etkinliğini göstermiştir. Nanopolimerler ve nanoemülsiyonlar gibi aktif bileşenler için diğer dağıtım sistemleriyle karşılaştırıldığında, lipid bazlı nanomalzemeler çeşitli avantajlar sunar. Lipid bazlı nanomalzemeler kimyasal bozunmayı azaltabilir, hem hidrofobik hem de hidrofilik aktif bileşenleri barındırabilir ve büyük ölçekli ticari üretimi kolaylaştırabilir (Wei *et al.* 2017; Li vd. 2018). Ayrıca, lipid nanotaşıyıcılar, UV soğuruculara ihtiyaç duymadan aktif bileşenlerin foto-bozunmasını önleyebilir (Nguyen vd. 2012).

Nanolipozomlar

Nanolipozomlar, sulu bir çekirdeği kapsayan bir fosfolipid çift tabakasına sahip küçük vesiküler yapılardır. Nanolipozomların boyutları tipik olarak 71 ile 350 nm arasında değişir ve gelişmiş fiziksel stabilite ve düşük polidispersite sergilerler. Aktif bileşenlerin etkinliği büyük ölçüde nanotaşıyıcıların bozundurucu maddeler yoluyla difüzyona karşı direncine bağlıdır. Nanolipozomlar, mekanik veya mekanik olmayan yöntemler kullanılarak üretilir. Mekanik yöntemler, diğerlerinin yanı sıra sonikasyon, yüksek basınçlı homojenleştirme, ekstrüzyon, mikro-akışkanlaştırma ve kolloid öğütmeyi içerir. Mekanik olmayan yöntemler

öncelikle ters fazlı buharlaşmayı ve karışık deterjan-lipit misellerinin tükenmesini içerir (Nuruzzaman *et al.* 2016).

Lipozomların sulu dispersiyonlardaki fiziksel ve kimyasal kararsızlıkları nedeniyle, bu nanotaşıyıcıların uzun süreli depolanması önerilmez. Liyofilizasyon, nanolipozomların raf ömrünü uzatmak için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Chen *et al.* 2010). Pestisitlerin kontrollü salınımı için nanolipozomların hazırlanması ilk olarak (Bang *et al.* 2009) tarafından tarif edilmiştir. (Kang *et al.* 2012), geleneksel ve nanoformüle edilmiş aktif bileşenlerin aynı anda uygulanmasının, uygulama sıklığını azaltabileceğini ve sonuç olarak üretim maliyetlerini düşürebileceğini öne sürmüştür.

Katı Lipid Nanoparçacıkları

Katı lipid nanoparçacıkları, su veya sulu bir çözelti içinde dağılmış, yüksek bir erime noktasına ve küresel bir yapıya sahip bir lipid matrisinden oluşan yenilikçi nanotaşıyıcılardır. Fiziksel kararlılık, mükemmel biyouyumluluk, düşük toksisite ve lipofilik aktif bileşenlerin geliştirilmiş iletimi dahil olmak üzere diğer nanoformülasyonlara göre çok sayıda avantaja sahiptirler. Katı lipid parçacıkların üretimi için, özellikle hidrofilik aktif bileşenler yüklü katı lipid parçacıkların üretilmesi için uygun olan yüksek basınçlı homojenleştirme, emülsifikasyon-sonikasyon, solvent emülsifikasyon-buharlaştırma, solvent difüzyon, solvent enjeksiyonu ve çift emülsiyon gibi çeşitli teknikler kullanılmaktadır. (Das & Chaudhury, 2011).

Katı lipid parçacıklar, zirai kimyasalların büyük ölçekte verimli bir şekilde dağıtılması için polimer bazlı nanoformülasyonlara bir alternatif olarak geliştirilmiştir (Pardeshi *et al.* 2012). Yükü artırmak ve hızlı foto bozunmayı ve aktif bileşenlerin sızmasını önlemek amacıyla, (Nguyen *et al.* 2012), sıvı lipidleri katı matrise dahil eden ikinci nesil katı lipid nanoparçacıkları geliştirmiştir.

Kil Bazlı Nanopestisit Formülasyonları

Kil bazlı nanoformülasyonlar olarak da bilinen nanokiller, genellikle volkanik külde bulunan montmorillonite killeri gibi tabakalardan oluşan ince silikat malzemelerdir. Bu tabakalar yaklaşık 1 nm kalınlığa ve 70 ile 150 nm arasında değişen genişliğe sahiptir (Hakamy vd. 2015; Saba vd. 2016). Nanokillerin amacı, nötr ve hidrofobik aktif bileşenlerin adsorpsiyonunu ve kontrollü dağıtımını iyileştirmektir. Ekonomik uygulanabilirlikleri ve biyouyumlulukları nedeniyle tarımsal uygulamalarda potansiyel nanotaşıyıcılar olarak kabul edilirler. Kil bazlı nanomalzemelerin, çevre dostu aktif bileşen dağıtım sistemleri için yenilikçi bir yaklaşım olduğu kanıtlanmıştır (Choudhary *et al.* 2006), kontrollü bir salım

sisteminde karboksimetilselüloz ile kombinasyon halinde üç kil malzemesinin, yani bentonit, kaolinit ve Fuller toprağının kullanımını araştırmışlardır. Akıllı ve kontrollü bir aktif bileşen salınımı elde etmek için uyaranlara duyarlı silika nanokapsüller geliştirmek için büyük çaba sarf edilmiştir (Chen *et al.* 2017). Kil bazlı nanotaşıyıcılar, boyutsal ve termokimyasal kararlılıkları sayesinde aktif bileşenlerin yavaş ve kontrollü salınımı açısından avantajlar sunar (Rani *et al.* 2014). Son araştırmalar, yenilenebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir bitki kaynaklarından türetilen kil nanotaşıyıcıların geliştirilmesine odaklanmıştır (Mattos vd. 2017). Bununla birlikte, kil nanotaşıyıcılarda kristal safsızlıkların varlığı ve iyi kurulmuş sentez prosedürlerine ve uygun yüzey modifikasyon tekniklerine duyulan ihtiyaç dahil olmak üzere ele alınması gereken belirli sınırlamalar vardır.

Gözenekli Silika Bazlı Nanopestisit Formülasyonları

Gözenekli silika bazlı nanopestisit formülasyonları, biyomedikal sektöründe yerleşik kullanımlarından, kolay ve uygun maliyetli ticari üretim avantajlarından yararlanarak, tarımda yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır. Bu nanoformülasyonlar, belirli yüzey özellikleri, gözeneklilik, biyouyumluluk ve artırılmış yükleme kapasitesi ile daha güvenli bir ekolojik etki sağlayan yüksek verimli dağıtım sistemleri olarak hizmet ederler (Liu *et al.* 2014; Vaculikova *et al.* 2015). Polimerik malzemelerle karşılaştırıldığında, gözenekli silika bazlı nanoformülasyonlar üstün mekanik kararlılık ve yapısal esneklik sergilediği için tarımsal uygulamalar için uygundur (Lou *et al.* 2008).

Silikon nanopartiküllerin dahil edilmesi, bir bitkinin hem abiyotik hem de biyotik streslere karşı toleransını artırma potansiyelini geliştirir (Barik *et al.* 2008). Yüzey yüklü hidrofobik silis nanoparçacıkları kullanılarak, tarımsal açıdan önemli çeşitli haşerelerin başarılı bir şekilde kontrol edildiği bildirilmiştir (Ulrichs *et al.* 2006). Silis nanoparçacıklar ayrıca mantar enfeksiyonlarını azaltmak için tohumlar üzerine ince bir kaplama olarak uygulanmıştır. 3 nm çapında birbirine bağlı gözeneklere sahip tek dağılmış mezogözenekli silika nanopartiküller, tohum çimlenmesi üzerinde hiçbir olumsuz etki göstermemiştir (Robinson & Salejova-Zadrazilova, 2010). Bu nanoparçacıklar, simplastik ve apoplastik yollar vasıtasıyla farklı bitki organlarına taşınabilir ve değişen boyutlardaki pestisitler için yeni bir dağıtım sistemi görevi görür (Sun vd. 2014). Ayrıca, silika nanoparçacıkların yaprak ve gövde dokularına uygulanması, çok sayıda ekin ve bahçe bitkisinin fotosentez ve solunum kapasitelerini artırmıştır. Bu nedenle, silika bazlı nanoparçacık formülasyonları, haşere kontrolü için umut vaat etmektedir.

Aktif bileşenler Olarak Metal Nanopartiküller Ve Nanoformülasyonları

Metal ve metal oksit nanopartiküller, tıp, eczacılık, mühendislik, çevre ve tarımsal uygulamalar başta olmak üzere pek çok alanda geniş kullanım yelpazesine sahip nanomalzemelerdir. Bu nanopartiküller, diğer geleneksel formülasyonlar ve mikropartiküllerle karşılaştırıldığında çok yüksek bir yüzey-hacim oranına, yüksek gözenek yapısına, esnek gözenek boyutuna, etkili yüzey özelliklerine ve yüksek termal kararlılığa sahiptir (Vellingiri *et al.* 2017; Nehra *et al.* 2019). Metal ve metal oksit nanopartiküllerin sahip olduğu bu özellikler, hedef dışı eylem, zayıf çözünürlük ve ekosistem toksisitesi gibi geleneksel formülasyonların toksik ve zararlı etkilerini hafifletebilir (He *et al.* 2011; Pinto *et al.* 2017). Metal ve metal oksit nanopartiküller mikroorganizmaların moleküler yapılarını tahrip eden süperoksit radikallerinin salınmasına bağlı olarak fotokataliz yoluyla antimikrobiyal aktivite gösterebilirler, hücrede birikerek membranların yırtılmasına sebep olabilir veya metalik iyonların hücrelere alınmasını takiben DNA replikasyonunun bozulmasına yol açabilir (Chatterjee *et al.* 2014).

Bu nanoparçacıklar ya tek başlarına aktif bileşenler olarak işlev görürler ya da geleneksel pestisitlerle güvenli bir şekilde yeniden formüle edilebilirler. Söz konusu nanoformülasyonlar, gelişmiş iyon değiştirme yetenekleri, yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve mükemmel elektronik özellikler sergileyerek, aktif bileşenlerin salınımı için birden fazla aktif bölge sağlar (Masoomi *et al.* 2016). Tarımsal uygulamalarda, gümüş, titanyum dioksit ve bakır nanopartiküller oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır.

Gümüş Nanopartiküller

Gümüş nanopartiküller (AgNP'ler), nanopestisit elde etmek için en etkili nanomalzemelerden biri olarak kabul edilir ve önemli zirai kimyasal ürünlerin saha hedefli teslimatı için ve bitki patojenlerinin erken tespiti için teşhis araçları olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Kim *et al.* 2012; Kashyap *et al.* 2016). Bu nanoformülasyonlar oldukça güçlü antifungal, pestisidal, bakterisidal ve antiviral etkiler gösterir (Chen & Schluesener 2008), bu da onları fitopatojenlerle mücadelede oldukça umut verici kılar. Gümüş, mikroorganizmalara karşı çeşitli inhibe edici mekanizmalar sergiler ve sentetik fungusitlere kıyasla üstün etkinlik gösterir (Aziz vd. 2016). Ayrıca, gümüş nanoparçacıklara dayalı pestisit formülasyonları, geleneksel formülasyonlara göre hedef türlere daha yüksek konsantrasyonlarda aktif bileşenler sağlar (Ragaei & Sabry 2014).

Etkili doz seviyelerinde geleneksel sentetik böcek ilaçlarına kıyasla, bu nanoformülasyonlar, insanlar üzerine daha az toksiktir. Ayrıca bu nanoformülasyonlar

haşerelerin direncini azaltmakta ve maliyetleride düşük olmaktadır. (Jo vd. 2009; Jung vd. 2010). Bu nanoformülasyonların memelilerin, tatlı su ve deniz canlılarının biyolojik fonksiyonlarını bozmaları için oldukça yüksek dozda kullanılması gerekir. Dolayısıyla, gümüş nanoformülasyonların mikromolar konsantrasyonlarda insanlarda dahil hedef olmayan organizmalar üzerine zararlı etkileri son derece sınırlıdır. Diğer taraftan, nano boyutlu gümüş parçacıklarının antimikrobiyal ajanlar olarak kullanımı, üretimlerini daha uygun maliyetli hale getiren teknolojik gelişmeler sayesinde giderek daha yaygın hale gelmiştir. Bununla birlikte bu nanoformülasyonların topraktaki nihai akıbetleri tam olarak bilinmemekte ve çevrede birikimlerine bağlı olarak hedef olmayan organizmalar üzerine etkilerinin araştırılması gerekmektedir. Bu nanoemülsiyonların dezavantajları arasında başlangıçta geliştirme maliyetinin yüksek olması, hedef dışı organizmalar üzerindeki toksisitesi, düzenleyici mevzuatlar ve olumsuz kamuoyu algıları gösterilebilir.

Titanyum dioksit (TiO₂) Nanopartikülü

Titanyum dioksit, düşük toksisite ve minimal hedef dışı biyolojik etkiler sergileyen, doğal olarak oluşan bir titanyum oksittir. Gıda endüstrisinde geniş uygulama alanı bulmuştur. Ayrıca güneş kremleri ve diş macunu dahil olmak üzere çeşitli farmasötik ürünlerde ve kozmetiklerde yaygın bir bileşen olarak kullanılır. TiO₂ nanoparçacıklarının antimikrobiyal özellikleri geniş çapta kabul görmüştür ve çok sayıda çalışmada, bunların ekinlerdeki bakteri ve mantar patojenlerini baskılamadaki etkinliği gösterilmiştir (Norman & Chen 2011). Nano ölçekli titanyum dioksit, ister tek başına ister gümüş veya çinko katkılı olarak kullanılsın domateslerde (Paret *et al.* 2013a) ve güllerde (Paret *et al.* 2013b) bakteriyel patojenlere karşı başarılı bir şekilde test edilmiştir. Bu nanomalzemelerin etkinliği, boyut, kristal yapı ve fotoaktivasyon gibi kimyasal ve fiziksel özelliklerine dayanır. Birincil etki mekanizması, oksidatif strese, genotoksisiteye ve metabolik değişikliklere yol açan reaktif oksijen türlerinin üretimini içerir. Titanyum dioksit formülasyonlarının önemli bir avantajı, şu anda kullanılan gümüş ve bakır bazlı tedavilerin aksine, hedef olmayan organizmalara yönelik ekolojik ve toksikolojik riskleri azaltma potansiyelleridir. Bununla birlikte, bu nanopartiküllerin insan ve hayvanlar üzerindeki biyolojik etkileri ve hücresel yanıt mekanizmaları hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu nedenle, TiO₂ NP'lerin insan bitki ve hayvanlar üzerine toksisitesinin daha fazla araştırılması gerekmektedir.

Bakır ve Bakır oksit (CuNPs) Nanopartikülleri

Bakır nanopartiküller (CuNP'ler), boyutları 1 nm ile 100 nm arasında değişen, bakırdan oluşan küçük parçacıklardır ve doğal süreçlerle veya kimyasal yöntemlerle

sentezlenebilirler (Heiligtag & Niederberger 2013). Bakır nanopartiküller, renklendirici maddeler olarak tarihsel kullanımları ve özellikle nanosensörler olarak biyotıp ve tarımdaki çağdaş uygulamaları nedeniyle oldukça önemlidir. Çok yönlülükleri ve benzersiz özellikleri, bakır nanopartikülleri çok çeşitli bilimsel çalışmalar için değerli kılar (Kashyap *et al.* 2017). CuNP bazlı pestisitler, geleneksel biyositlere göre ucuz ve verimli olduğundan bitki koruma sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır (Timmer *et al.* 2008). Bununla birlikte, bu nanopartiküllerin toprak ve çevrede birikmesinin insan ve çevre sağlığını nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. CuNP'lerden bakır iyonlarının salınması, diğer moleküllerle tipik olarak kompleksler oluşturmaz, bu da mahsul bitkilerinde potansiyel olarak fitotoksik etkilere neden olabilir (Kurnik *et al.* 2012).

Diğer Metaller ve Metal Oksitler

Çalışmalar, nanoyapılı alümina tozunun veya alüminyum nanopartiküllerin, depolanan tahılları haşerelerden koruduğunu göstermiştir. Yine, alüminyum nanoparçacıkların böcek öldürücü aktivitesinin, piyasada bulunan böcek öldürücü tozlarla karşılaştırıldığında daha yüksek olduğunu rapor edilmiştir (Stadler *et al.* 2010). Boyutu 100 nm'den küçük olan çinko oksit (ZnO) nanoparçacıklarında nanopestisit formülasyonları geliştirmek için kullanılmıştır. Ancak ZnO nanoparçacıkların kök büyümesini inhibe ettiği, bitki gelişimini geciktirdiği, klorofil sentezini bozduğu hücre zarına ve kromozomlara zarar verdiği görülmüştür. Bu nedenle ZnO parçacıkların pestisit olarak kullanılabilmesi için daha fazla araştırmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Nanopestisitlerin Çevre Üzerine Etkileri

Nanopestisitler geleneksel pestisitlere göre daha düşük konsantrasyonda uygulandığından kontaminasyon riskleri daha düşüktür. Bununla birlikte nanopestisitler, çevrede daha uzun kaldıkları ve atmosferde daha uzun süre taşındıkları için aquatik ve karasal ekosistemler için yeni bir kirlenme sorunu oluşturabilirler (Jasrotia *et al.* 2018). Nanopestisit yapımında kullanılan nanopartiküller geniş yüzey alanı nedeniyle güneş ışığında hızla bozunabilir ve bu da aktif bileşenlerin etkinliğinin düşmesine yol açabilir. Benzer şekilde, bu nanopestisitlerin küçük damlacık boyutları hedefe ulaşmadan önce buharlaşabilir. Nanoformülasyonların farklı trofik seviyelerde mikroorganizmalar, bitkiler ve diğer hayvanlarla etkileşimini anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Ek olarak, pestisit nanoformülasyonlarının toprak, yeraltı suyu ve hedef olmayan organizmalar üzerindeki etkileri açısından çevresel kaderi büyük ölçüde bilinmemektedir. Nano taşıyıcıların özellikleri ve aktif bileşenlerin nanoformülasyon matrisi içindeki dağılımı, bunların çevreye salınmasının

belirlenmesinde çok önemli bir rol oynamaktadır. Odak noktası öncelikle doğal polimerler, polisakkaritler ve lipitler gibi biyolojik olarak parçalanabilen nano taşıyıcılar olmasına rağmen, nanopartiküllerin gecikmeli salınımının hedef olmayan organizmalar üzerindeki potansiyel etkilerine ilişkin endişeler ortaya çıkmıştır. Metal ve metal oksitler gibi biyolojik olarak parçalanamayan nanotaşıyıcılara sınırlı ilgi gösterilmiştir (Kah *et al.* 2018). Ayrıca, sentezlenen nanotaşıyıcıların çoğu, insan vücudunun sınırlı bir şekilde nanoformülasyonlara maruz kalmasına neden olan ve böylece kapsüllenmemiş pestisitlere kıyasla sağlık risklerini azaltan kontrollü salım içindir. Nanoformülasyonların çevre üzerindeki etkilerini belirlemeye yönelik çalışmaların büyük çoğunluğunun laboratuvar düzeyinde yapıldığı ve nanoformülasyonların çevresel etkilerinin saha koşullarında değerlendirilmesine yönelik kapsamlı çalışmaların eksik olduğu görülmektedir (Kah *et al.* 2018). Nanopartiküllerin çeşitli bitki sistemleri üzerinde fitotoksik etkiler gösterdiği bulunmuştur. Örneğin, pirinç mahsullerinde, nanopartiküllerin uygulanması tohum çimlenmesinde ve fide büyümesinde azalmaya neden olmuştur (Thuesombat *et al.* 2014). Benzer şekilde, AgNP'lerin kullanımı domateslerde kök uzamasında önemli bir azalma ile ilişkilendirilmiştir (Song *et al.* 2013). Mısır fidelerine TiO₂ nanopartiküllerin uygulanması kök hidrolik iletkenliğini, yaprak büyümesini ve terlemeyi inhibe etmiştir (Aslı & Neumann 2009). Cvjetko *et al.* (2018) gümüş nanopartiküllerin tütün (*Nicotiana tabacum*) bitkileri üzerinde fitotoksisteye yol açtığını rapor etmiştir. Nanoparçacıkların bitkilerle etkileşimleri sonucu bitki mekanizmalarındaki değişimleri gösteren ve etkilerini kısmen anlatan çalışmalar olmakla birlikte, nanoparçacıkların ekin bitkileri üzerindeki potansiyel risklerinin daha iyi anlaşılması için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Nanoparçacıkların çevredeki akıbetini belirlemede önemli rol oynayan topraktaki mikroorganizmalarla karmaşık bir etkileşimi vardır. Toprakta bulunan faydalı mikroorganizmalar, topraktaki organik maddenin ayrışmasına, besin döngüsüne, hastalıkların baskılanmasına ve bitkilerin büyümene yardımcı olmaktadır. Ancak, nanoformülasyonların uygulamalarının, topraktaki mikrobiyal topluluğu olumsuz etkileyerek toprak kalitesini ve tarımsal sürdürülebilirliğini bozabileceği bildirilmiştir (Sweet & Singleton; 2015). AgNP'lerin toprağa uygulanmasından sonra çam ağaçlarının ince kök gelişiminde ve sürgün biyokütlesinde bir azalma olduğu gözlenmiştir ve bu durum AgNP'lerin topraktaki mikorizayı bozmasına atfedilmiştir (Sweet & Singleton; 2015). Toprak yapısı ve tipide nanoparçacıkların topraktaki mikroorganizmalarla etkileşimini etkilemektedir. Örneğin AgNP'lerin kumlu topraklara uygulanmasının *Pseudomonas chlororaphis* için toksik olduğu, tınlı toprakta ise bakteri ölümünün gözlenmediği kaydedilmiştir (Calder *et al.* 2012). Bu nanoparçacıkların toprakta zirai kimyasallar olarak uygulanması potansiyel olarak toprak mikrobiyal popülasyonu üzerinde olumsuz etkilere

neden olabilir ve başlıca baklagillerde çok önemli olan simbiyotik azot fiksasyonu sürecini bozabilir.

Bu noktalar göz önüne alındığında, pestisit aktif bileşenleri veya nanoformülasyonlarının, etkinliklerini, fizikokimyasal özelliklerini, davranışlarını, çevresel akıbetlerini ve toksisitelerini anlamak için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca nanopestisitlerin geleneksel pestisitlerle her yönüyle karşılaştırılması nanopestisitlerin çevresel risklerine ilişkin daha fazla kanıt ortaya koyacaktır. Yakın gelecekte, aktif bileşenlerin salınımı üzerinde gelişmiş kontrol sunan ve böylece toksik maddelerin çevreye yayılmasını en aza indiren akıllı nanoformülasyonların geliştirilmesine odaklanmak çok önemlidir. Akıllı nanoformülasyonlar, geleneksel sentetik pestisitlere kıyasla daha düşük dozlarda aktif bileşen gerektirirken etkinliği artırma potansiyeline sahiptir. Ayrıca bu formülasyonlar, geleneksel formülasyonlarla bağlantılı olarak yüksek toksisiteye ve olumsuz çevresel etkilere sahip olduğu bilinen zararlı organik çözücülerin kullanımını en aza indirir (Novikov *et al.* 2010).

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyaller

Kullanılan Alet ve Cihazlar

Buzdolabı	: Bosch
Derin dondurucu (-80°C)	: NUAIRE
Hassas terazi	: Mettler Toledo
Karıştırıcı	: Vevor Vortex Mixer
Manyetik karıştırıcı	: PCE Instruments
Elektroforez	: BIORAD
Masa santrifüjü	: Hettich EBA 21
Otomatik pipetleme cihazı	: Qiagen (QiAgility)
Soğuk su banyosu	: Huber Polystat CC1
Kuru blok inkübatör	: Allsheng
pH metre	: Mettler Toledo
Sıcak su banyosu	: WiseBath Fuzzy Control System
Nükleik asit izolasyon robotu	: Qiagen (Qiacube)
Spektrofotometre	: Shimadzu UV mini-1240
PCR cihazı	: SensoQuest
Soğutmalı santrifüj	: Hettich Micro 22 R
Real-Time PCR cihazı	: Qiagen

Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanma Şekilleri

Bu çalışmada kullanılan çözeltiler ve hazırlanış biçimleri aşağıda özetlenmiştir. Deneylerde kullanılan kimyasalların büyük çoğunluğu Sigma-Aldrich'den alınmıştır.

- 1 Protein tayini için 3.4 gr potasyum fosfat 200 ml distile suda çözündükten sonra pH'sı 6.5'e ayarlandı ve en son hacim distile su ile 250 mL'ye tamamlandı.
- 2 Protein tayini için BCA reaktifi 15 mL Bicionchonic asit ve 0.3 mL CuSO₄ karıştırılarak hazırlandı. Karışım bozulmayı önlemek için buzdolabında saklandı.
- 3 Antioksidan enzimler için homojenizasyon tamponu 0.1 M potasyum fosfat (pH: 6.75), %1 polivinilpirolidon, 1 mM EDTA'dan oluşmaktadır. Bu tamponu hazırlamak için 3.4 gr potasyum fosfat 200 mL distile suda çözündü ve 1 N sodyum

hidroksit ile pH'sı 6.75'e ayarlandı. Nihai hacim daha sonra distile su ile 250 mL'ye tamamlandı. Ayrıca çözeltiye 2.5 gr polivinilpirolidon ve 0.073 gr EDTA eklendi.

- 4 Katalaz aktivitesi ölçmek için 103.5 mM potasyum fosfat (pH 7.5) tamponu kullanıldı. Bu tamponu hazırlamak için 1.41 gr KH_2PO_4 , 70 ml distile su içinde çözüldü. 1 N sodyum hidroksit kullanılarak pH 7.5'e ayarlandı ve son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- 5 Katalaz aktivitesinin ölçümü için 40 mM H_2O_2 substrat solüsyonu hazırlandı. Bu solüsyonu yapmak için 346 μL %35'lik hidrojen peroksit alınıp hacmi distile su ile 100 mL'ye tamamlandı.
- 6 Katalaz aktivitesini ölçmek için standart grafik hazırlamakta 5 mM H_2O_2 çözeltisi kullanıldı. Bu solüsyonu yapmak için 43 μL %35'luk hidrojen peroksit alındı ve distile su ile hacmi 100 mL'ye tamamlandı.
- 7 Peroksidaz aktivitesini ölçmek için 0,1 M disodyum fosfat (pH 5.5) içeren bir tampon solüsyonu hazırlandı. Bu 3.55 gr disodyum fosfat'ın 200 mL distile suda çözülmesi ve pH 5.5'e ayarlanması ile yapıldı. Daha sonra son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.
- 8 Peroksidaz aktivitesini ölçmek için kullanılan substrat solüsyonu 100 mL 0.1 M fosfat tamponunda (pH= 5.5) çözünmüş 5 mM guaikol + 5 mM hidrojen peroksitten oluşuyordu. İstenen konsantrasyonları elde etmek için çözeltiye quaikol (54 μL) ve H_2O_2 (15 μL) (d: 1.13 g/mol) eklendi.
- 9 SOD aktivitesini ölçmek için 50 mM potasyum fosfat (pH 7.8) tampon çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltiyi yapmak için 1.7 gr KH_2PO_4 200 ml distile suda çözüldü ve pH= 7.8'e ayarlandı. Son hacim saf su ile 250 mL'ye tamamlandı.
- 10 SOD reaksiyon karışımının bir bileşeni olarak 13 mM metiyonin solüsyonu hazırlandı. Bu 0.586 gr metiyonin, madde 9'da hazırlanan 250 mL 50 mM KH_2PO_4 tamponunda çözülerek yapıldı.
- 11 SOD reaksiyon karışımı için 63 μM NBT-Nitroblue Tetrazolium Klorür çözeltisi hazırlandı. Bu 9. Maddede hazırlanan 250 mL 50 mM KH_2PO_4 tamponunda 0.0128 gr NBT çözülmesini içeriyordu.
- 12 SOD reaksiyon karışımı için madde 9'da hazırlanan 250 mL 50 mM KH_2PO_4 tamponunda 0.073 gr EDTA çözülerek 0.1 mM EDTA çözeltisi hazırlandı.
- 13 SOD aktivitesini ölçmek için ikinci solüsyon olarak 13 μM riboflavin solüsyonu hazırlandı. Bu çözeltiyi yapmak için 0.019 gr riboflavin, 500 ml saf suda çözüldü.

- 3 mL'lik reaksiyon karışımının 13 μ M riboflavin içermesi için 390 μ L riboflavin alındı.
- 14 %0.1 lik TCA 100 ml saf su içinde çözülerek lipid peroksidasyonunu ölçmek için bir homojenizasyon çözeltisi hazırlandı.
 - 15 Lipid peroksidasyon için reaksiyon solüsyonu, 20 gr TCA'nın 100 mL distile suda çözünmesi ve ardından %0.5 TBA (tiobarbutirik asit) eklenmesiyle hazırlandı. Çözelti kullanımdan önce iyice çözüldü.
 - 16 GR aktivitesini ölçmek için 0.0022 gr NADPH 10 mL saf suda çözündürülerek 0.25 mM NADPH çözeltisi hazırlandı.
 - 17 GR aktivitesini ölçmek için 1 mM oksitlenmiş glutatyon (GSSG) çözeltisi, 0.0061 gr GSSG'nin 10 mL saf su içersinde çözülmesi ile hazırlandı.
 - 18 GR aktivitesini ölçmek için 0.0014 gr EDTA 10 mL distile suda çözündürüldü ve 0,5 mM EDTA çözeltisi hazırlandı.
 - 19 GR aktivitesini ölçmek için 50 mM Tris-HCl'den (pH 7.8) oluşan bir tampon solüsyonu hazırlandı. Bu 0.06 gr Trisin saf suda çözülmesini ve nihai hacmin 10mL'ye tamamlanmasını içeriyordu.
 - 20 10 mL distile suda 1 gr TCA çözündürülerek %5'lik solüsyonu hazırlandı.
 - 21 GSH miktarını belirlemek için 200 mM Na_2HPO_4 solüsyonu (pH 7.5) hazırlandı. Bu 0.238 gr disodyum fosfat'ın distile su içerisinde çözülmesi ve son hacmin 10 mL'ye tamamlanmasıyla yapıldı.
 - 22 GSH miktarını tayin etmek için 0.186 gr $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 10 mL distile suda çözülerek 50 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ çözeltisi hazırlandı.
 - 23 GSH miktarını belirlemek için 2 mM β -NADPH çözeltisi, 0.016 g 10 mL distile suda çözülerek hazırlandı.
 - 24 GSH içeriğini belirlemek için 0,023 g distile suda çözülerek 6 mM DTNB çözeltisi hazırlandı.
 - 25 Süperoksit miktarını belirlemek için homojenizasyon solüsyonu 60 mM KH_2PO_4 kullanılarak hazırlandı. Bu, 0,081 g KH_2PO_4 'ün suda çözülmesi, pH'ın 7,8'e ayarlanması ve nihai hacmin 10 mL'ye tamamlanmasıyla sağlandı.
 - 26 Süperoksit anyonu miktarını belirlemek için 10 mM hidroksilamin çözeltisi, 0.0069 g 10 mL distile su içinde çözülerek hazırlandı.
 - 27 Süperoksit anyonu miktarını belirlemek için 0,029 g 10 mL distile suda çözülerek 17 mM sülfamid çözeltisi hazırlandı.
 - 28 Süperoksit anyonu miktarını belirlemek için kullanılan 7 mM naftilamin çözeltisi, 0.01 g 10 mL distile su içinde çözülerek hazırlandı.

- 29** Prolin miktarını belirlemek için homojenizasyon solüsyonu %3 sülfosalisilik asit kullanılarak hazırlandı. Bu, 0.3 g sülfosalisilik asidin 10 mL distile suda çözülmesiyle yapıldı.
- 30** Prolin miktarını belirlemek için kullanılan asit ninhidrin çözeltisi, 1.25 g ninhidrinin 20 mL H_3PO_4 ve 30 mL CH_3COOH içinde çözülmesiyle hazırlandı.
- 31** Antron çözeltisi, 200 mg Antron'un 100 mL soğuk %95 sülfürik asit içinde çözülmesiyle hazırlandı.
- 32** PBST tamponu 137 mM sodyum klorür, 2.37 mM potasyum klorür, 10 mM disodyum fosfat, 2 mM potasyum fosfat (pH= 7.4), $1\times$ PBS'ye %2 süt tozu ve %0.1 Tween-20 eklenerek hazırlandı. Çözelti kullanımdan önce iyice homojenize edildi.
- 33 a)** Protein analizi için homojenat tamponu (50 mM, pH 7.5), 2.738 g KH_2PO_4 'ün yaklaşık 300 mL distile suda çözülmesiyle hazırlandı. Daha sonra 0,35 gr EDTA, 4 gr bovin serum albumin, 0,4 gr polivinilpirolidon ve 0,24 gr sistein eklendi. pH 7,5'e ayarlanıp son hacim 400 mL'ye tamamlandıktan sonra solüsyon kullanıma hazır hale getirildi.
- b)** NR aktivitesini ölçmek için kullanılan çözelti, 0,68 g KH_2PO_4 'ü yaklaşık 150 mL distile su içinde çözüp, 3,4 g $NaNO_3$ ilave ederek, pH'yı 7,4'e ayarlayarak ve son hacmi 200 mL'ye tamamlayarak hazırlandı. 2 mM NADH NR aktivitesi için 0,07 g NADH 40 mL distile suda eritildi ve son hacim 50 mL'ye tamamlandı. Çinko sülfat çözeltisi için 100 μ L 1 M çinko sülfat ve 7,2 g çinko sülfat 20 mL distile suda eritilerek son hacmi 25 mL'ye tamamlandı. NiR aktivitesini ölçmek için kullanılan solüsyonlar arasında potasyum fosfat (0,5 M, pH 7,4, 1,5 mL), 100 μ L sodyum nitrit (15 mM), 200 μ L metil viyole (5 mM) ve 200 μ L 190 mM $NaHCO_3$ (86 mM sodyum ditionit içerir) yer alır. Bu solüsyonları hazırlamak için 10,2675 g potasyum fosfat 100 mL distile suda eritildi ve pH 7,4'e ayarlanarak nihai hacim 150 mL'ye tamamlandı. Ayrıca 0,015 g sodyum nitrit 10 mL distile suda, 0,038 g metilviolet 20 mL distile suda ve 0,235 g sodyum bikarbonat 10 mL distile suda eritildi. Bu solüsyondan 10 mL alınarak 0,224 gr sodyum ditionit (10 M) içerisinde çözüldürüldü ve birinci hazırlanan sodyum bikarbonat solüsyonu (10 mL: 0,235 gr) ile nihai hacim 15 mL'ye tamamlandı. **c)** NR ve NiR aktivitesi için 20 mL HCl'e (1,5 M) 2 gr sülfanilamid ilave edilerek son hacmi 150 mL'ye tamamlanarak %1'lik sülfanilamid solüsyonu hazırlandı. %0,02 N-(1-Naptif etilen diamin dihidroklorür (NED-HCl)) solüsyonu, 20 ml HCl'ye (1,5 M) 0,04 g NED ilave edilerek nihai hacim 150 mL'ye tamamlanarak hazırlandı.
- 34 a)** Ekstraksiyon solüsyonunu (250 mL) hazırlamak için 6 g HEPES yaklaşık 200 mL

distile suda çözüldü. Çözeltiye 0,19 g ditiotreitol, 0,07 g EDTA, 18 µL 2-Mercaptoetanol ve 0,24 g magnezyum klorür eklenip tamamen çözünmesi sağlandı. pH 7,6'ya ayarlandı ve hacmi distile su ile 250 mL'ye tamamlandı.

b) Reaksiyon karışımının (100 mL) ölçümü için, 12,15 g Tris-HCl yaklaşık 80 mL distile suda çözüldü. Çözeltiyi karıştırırken yavaş yavaş 0,5 g ATP, 0,24 g sistein, 0,96 g MgSO₄, 0,55 g hidroksilamin hidroklorür eklendi ve (NH₂OH.HCl) eklenerek pH 7,6'ya ayarlandı. Son olarak 0,95 g Glutamat eklenip hacmi 100 mL'ye tamamlandı.

c) %10 FeCl₃ reaktifini (80 mL) hazırlamak için iki ayrı solüsyon hazırlandı.

Önce 12 g FeCl₃ alındı ve 30 mL 0,2 M HCl içinde çözüldü ve hacmi 40 mL'ye tamamlandı. Sonra 14,4 gr TCA alındı ve 30 mL saf suda çözüldü ve son hacmi 40 mL'ye tamamlandı. Çözeltiler birbirleri ile yavaşça karıştırıldı ve kullanıldı.

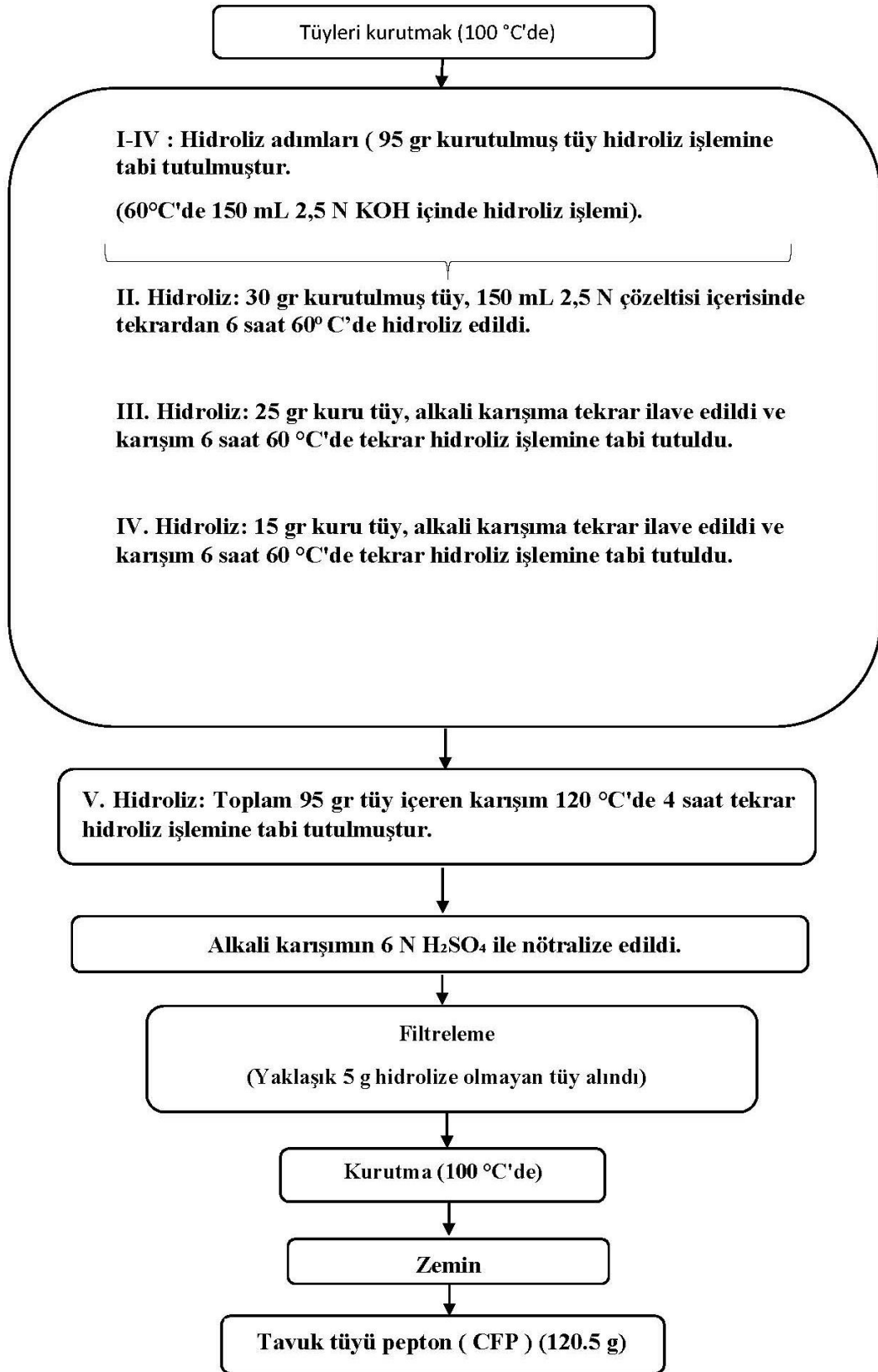
35 a) Ekstraksiyon Solüsyonu (100 mL) için, 1,19 g HEPES 70 mL distile suda çözüldü. Üzerine 0,015 g ditiotreitol, 0,037 g Na-EDTA, 0,11 g KCl, 0,1 g polivinilpirolidon ve son olarak 0,0174 g PMSF eklendi. pH'ı 7,6'ya ayarlandı ve hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Çözelti karanlık bir ortamda saklandı.

b) Reaksiyon karışımını (100 mL) hazırlamak için 0,6 g HEPES 70 mL distile suda çözüldü. Üzerine 0,146 g Oxoglutarate (α-Ketoglutarate), 0,145 g Glutamin, 0,01 g NADH, 0,075 g potasyum klorür, 0,037 g Na-EDTA ve 500 µL merkaptoetanol eklendi. İyice karıştırıldı ve pH 7,6'ya ayarlandı. Son hacmi 100 mL'ye tamamlandı. Bu solüsyon her ölçümden önce taze olarak hazırlanmalıdır. Hemen kullanılmıyorsa +4°C'de 3-8 saate kadar saklanmalıdır. Ölçüm sırasında kullanılıyorsa 30°C'de tutulmalı ve direkt ışıktan korunmalıdır.

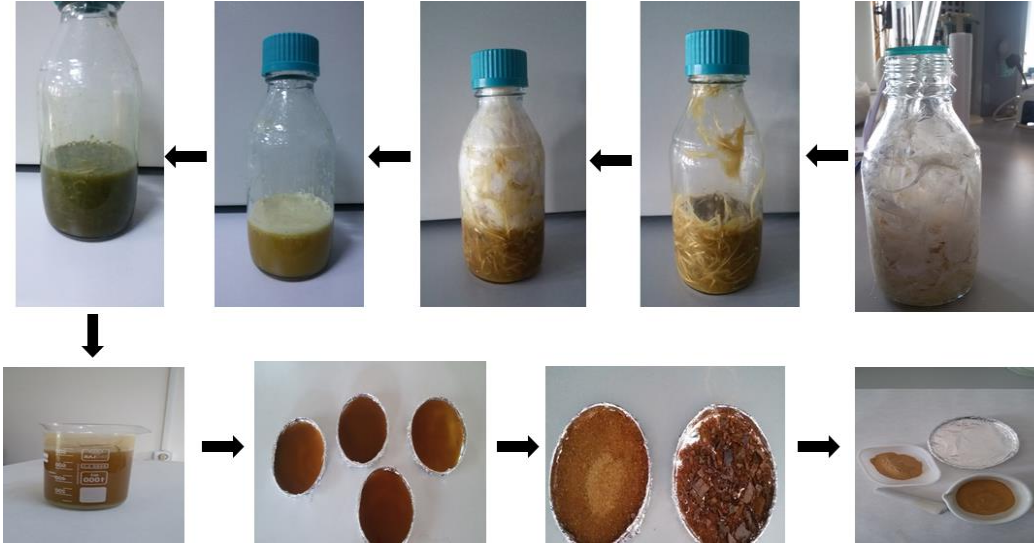
Yöntemler

Tavuk tüyü protein hidrolizatının hazırlanması

Bu hidrolizat Orak *et al.* (2018) tarafından kullanılan yöntemle yapıldı. Tavuk tüyleri saf su ile iyice yıkandı ve daha sonra 100°C'de kurutuldu. 95 gram tavuk tüyü tartılarak hidroliz edildi. Bu işlem için 95 gramı tavuk tüyü bir cam kaba kondu ve üzerine 150 mL 2,5 N potasyum hidroksit eklendi (60°C'de 6 saat). Elde edilen bazik karışım 6 N H₂SO₄ eklenerek nötrale edildi. Nötralizasyon aşamasından sonra hidrolizat süzülerek 100 °C'de kurutuldu ve öğütülerek hazır hale getirildi (Şekil 6 ve 7).



Şekil 6. Tavuk tüyü protein hidrolizatı elde etme aşamaları



Şekil 7. Tavuk tüyü hidrolizatının hazırlanma aşamaları

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan TTH'nin Aminoasit İçeriği (Orak *et al.*, 2018)

Amino-asitler (mg/100 g)	Pepton (100 g)
TTH	
Valin	7090
Glutamik asit	6768
Glisin	5900
Lösin	4897
Alanin	4618
Serin	4491
Prolin	3494
Aspartik asit	3217
İzolösin	3174
Fenialanin	2950
Sistein	1206
Treonin	2323
Lizin	2117
Hidroksi-L-prolin	1914
Tirozin	1622
Histidin	0.331
Metiyonin	—
Triptofan	—

Bitkilerin büyütülmesi

Çalışmada model bitki olarak mısır kullanıldı. Mısır (*Zea mays* L. cv. *Arifiye-2*) tohumları Sakarya Tarımsal Araştırma Merkezinden alındı. Tohumlar, ekim yapılmadan önce etanol (%96) ile kısa süreli yıkanarak saf sudan geçirildi daha sonra %5'lik çamaşır suyunda 5 dakika sterilize edildi ve 5 kez saf su ile durulandı. Tohumlar çimlendirme kabinde 72 saat 26°C'de tutularak çimlendirildi ve ¼ oranında seyreltilmiş Hoagland çözeltisi içeren hidroponik ortama aktarıldı. Dokuzuncu günde (2. yaprakların çıktığı dönemde) yapraklara

seçilmiş konsantrasyonlarda nanopestisit ve TTH püskürtüldü (Çalışmada kullanılan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nanopestisiti ve TTH konsantrasyonları yaptığımız ön denemeler sonucunda 500 mg/L Kocide 3000 ve 500 mg/L TTH olarak belirlendi, ön denemelerde 100, 250, 500 ve 1000 Kocide 3000 ve 250, 500, 750 ve 1000 mg/L TTH kullanıldı en iyi sonuçlar 500 mg/L Kocide 3000 ve 500 mg/L TTH uygulama gruplarında elde edildi.), kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı, 12. günde mısır fidelerinin kök ve yaprakları ayrı ayrı hasat edildi. Hasadı yapılan bitki kısımlarından taze olarak ölçüm yapılması gerekenler hemen kullanılmak üzere ayrıldı, kalan örnekler $-86\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Fidelerin kök ve gövde uzunlukları cetvel ile ölçülüp kaydedildi (Şekil 8).



Şekil 8. Hidroponik ortamda yetiştirilen mısır fidelerinin görünümü (Uygulama grupları)

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

Mısır fidelerindeki total fenolik madde miktarı Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlendi. 0.2 g ağırlığındaki yaprak örnekleri alındı ve sıvı azot içinde donduruldu. Bu numuneler daha sonra 3 ml %80'lik aseton ile ekstrakte edildi ve $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 12 saat karanlıkta inkübe edildi. $905\times\text{g}$ 'de 2 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatant alındı. 50 μl numuneye 135 μl saf su, 750 μl %10 Folin-Ciocalteu reaktifi ve 600 μl %7.5 Na_2CO_3 eklendi. Karışım 20 saniye vortekslenildi ve 15 dakika 45°C 'lik su banyosunda tutuldu. Reaksiyonun kesilmesinin ardından karışımın absorbansı spektrofotometre kullanılarak 765 nm dalga boyunda ölçüldü. Aynı işlem ile hazırlanan bir gallik asit çözeltisi kullanılarak standart eğriler oluşturuldu ve sonuçlar gallik asit eşdeğerleri olarak rapor edildi.



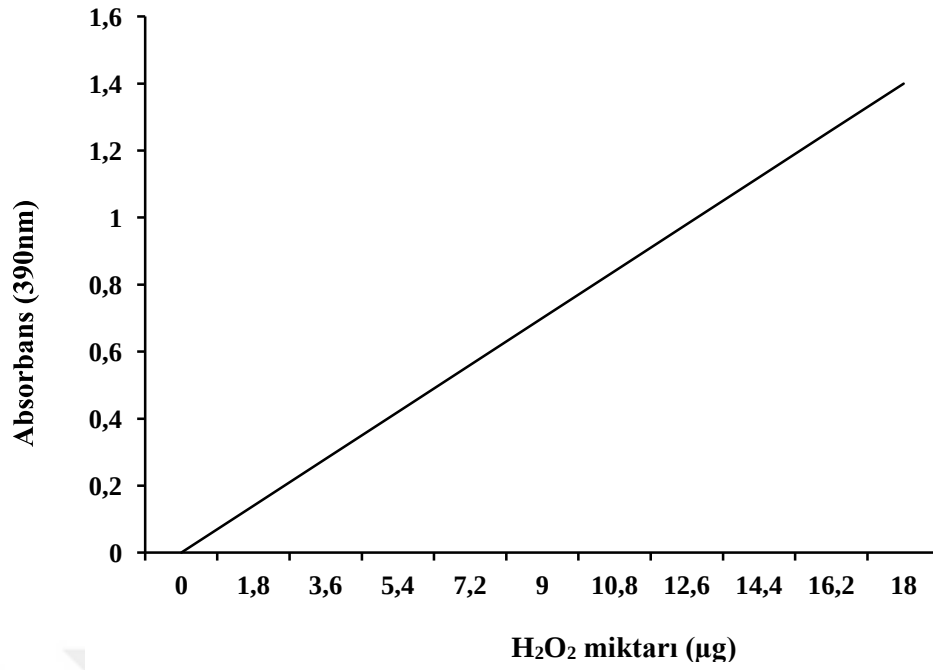
Şekil 9. Fenolik madde miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği

Lipid peroksidasyon (MDA) miktarının belirlenmesi

Lipid peroksidasyon hesaplaması için 0,5 g bitki 4 mL %1 TCA içinde homojenleştirildi. Homojenat daha sonra 13,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatandan 1 mL alındı ve 1 mL %0.5 TBA ile karıştırıldı. Karışımı 40 dakika sıcak suda bekletildi ve örnekler buz üzerine alınarak reaksiyon durduruldu. 12.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra 532 nm ve 600 nm'de absorbans değerleri kaydedildi. 600 nm'deki absorbans değeri, 1 ml'lik bir solüsyonda MDA'yı (nmol/ml) hesaplamak için 532 nm'deki değerden çıkarıldı. Sonuçlar MDA ng g⁻¹ doku olarak ifade edildi (Velikova *et al.* 2000).

Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

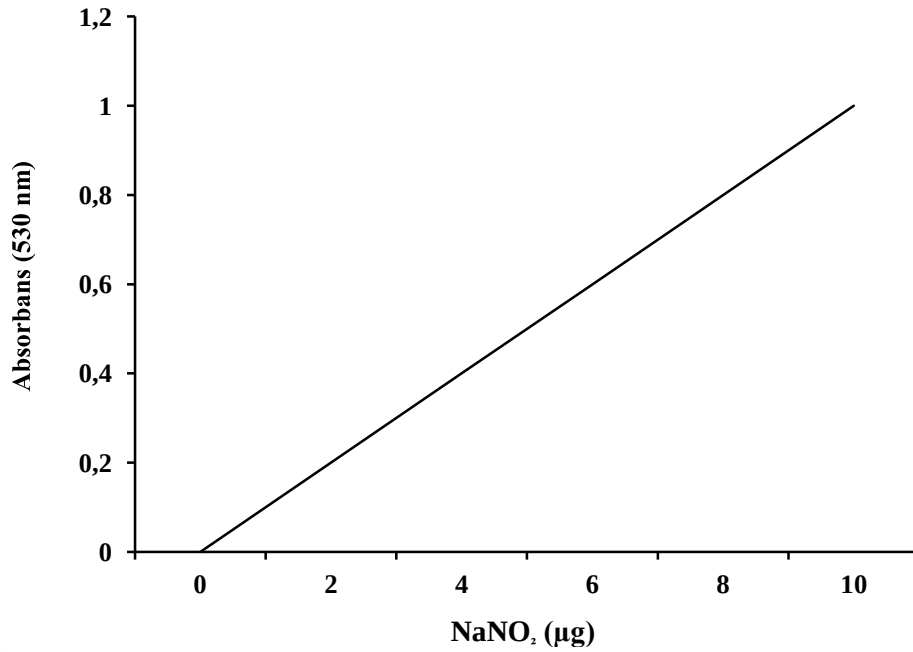
Hidrojen peroksit miktarını belirlemek için 0.5 gram bitki 5 mL %1 TCA içinde homojenize edildi. Karışım, 10.000 x g'de 10 dakika santrifüjlendi ve 0.5 mL süpernatant, 0.5 mL 10 mM potasyum fosfat (pH 7) ve 1 mL KI ile karıştırıldı. Karışım tekrar 10 dakika 10,000 x g'de santrifüjlendi. Absorbans 390 nm'de ölçüldü ve sonuçlar, Velikova *et al.* (2000) tarafından açıklanan metodoloji izlenerek ug g⁻¹ doku olarak ifade edildi.



Şekil 10. H₂O₂ seviyesini belirlemek için kullanılan standart grafiği

Süperoksit anyonunun (O₂⁻) miktarının belirlenmesi

Süperoksit anyon seviyesini belirlemek için 0,5 g bitki dokusu 2 mL 65 mM soğuk fosfat tamponunda (pH 7.8) homojenize edildi. 10,000 xg'de 10 dakika santrifüjlendikten sonra 0,5 mL süpernatant alındı ve 0,5 mL potasyum fosfat tamponu ve 0,1 mL 10 mM hidroksilamin hidroklorür ile karıştırıldı. Solüsyon 25°C'de 60 dakika inkübe edildi. Homojenattan 1 mL alınarak 1 mL 17 mM sülfonamid ve 1 mL 7 mM alfa-naftilamin eklendi. Karışım, 25°C'de 20 dakika daha inkübe edildi ve absorbans, bir spektrofotometre kullanılarak 530 nm'de ölçüldü. Sodyum nitrit kullanılarak standart bir grafik oluşturuldu. Süperoksit anyonu (O₂⁻) miktarı tarafından açıklanan dokuda µg g⁻¹ olarak ifade edildi (Eltner and Huepel, 1976).



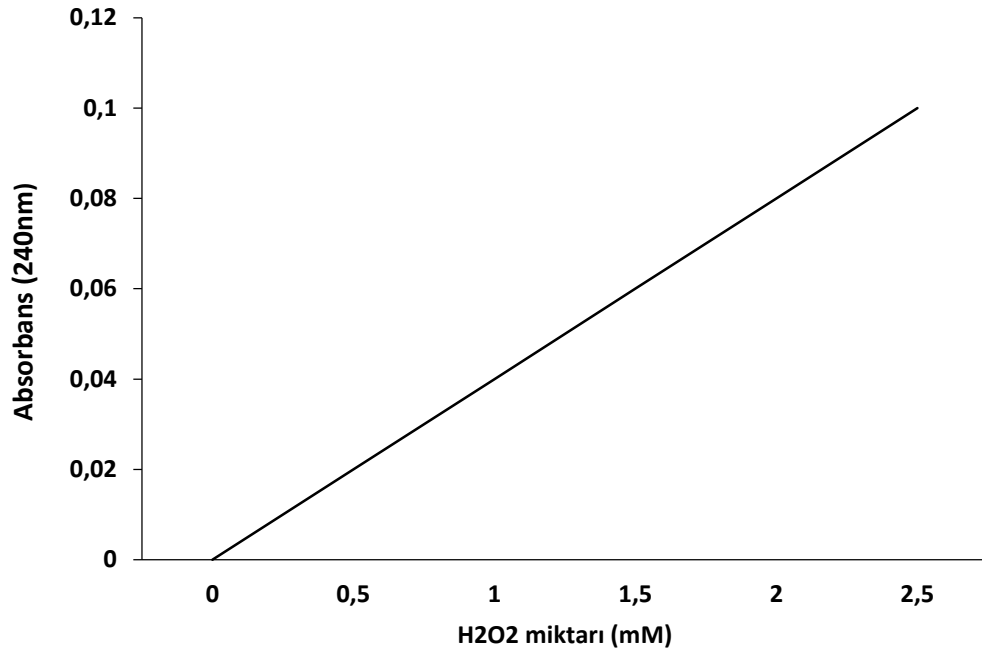
Şekil 11. O₂•- seviyesini belirlemek için kullanılan standart grafiği

Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

0.5gr doku tartılarak bir tüpe alındı üzerine 5 mL soğuk homojenat tamponu (%1 PVP ve 1 mM EDTA ihtiva eden 0.1 M KH₂PO₄ pH: 7.0) ilave edilip elde edilen karışım 12000xg de ve 15 dakika santrifüj edildi. Daha sonra karışımın süpernatant kısmı antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesinde kullanılmak üzere +4 °C de muhafaza edildi.

Katalaz aktivitesinin belirlenmesi

Katalaz (CAT) aktivitesini belirlemek için Havir and Mchale (1987) yöntemi kullanıldı. Bu yöntem, H₂O₂'nin O₂ ve H₂O'ya dönüşümü sırasında 240 nm'de absorbansın ölçülmesine dayanır. Enzim aktivitesini ölçmek için, 25 µL enzim özütü, 1.475 mL 103 mM KH₂PO₄ tamponu ve 1.5 mL 40 mM H₂O₂ substrat çözeltisi, 3 mL'lik bir spektrofotometre küvetine yerleştirildi. Küvet, spektrofotometreye yerleştirildi ve absorbans, 1 dakikalık aralıklarla 3 dakika boyunca 240 nm'de ölçüldü. Dakika başına absorbans düşüşü, absorbans düşüşünün lineer aralığından hesaplandı. Ölçülen ve hesaplanan ortalama absorbans değerleri, standart bir grafik kullanılarak µmol hidrojen peroksit dönüşürüldü. 25°C'de 1 dakikada absorbansı 1 µmol azaltan enzim miktarı doku gram başına 1 enzim ünitesi (Umg⁻¹ protein) olarak kabul edildi ve sonuçlar buna göre sunuldu.



Şekil 12. Katalaz aktivitesini belirlemek için kullanılan standart grafiği

Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivitesinin belirlenmesi, guaiacol ve H_2O_2 'nin substrat olarak kullanımına dayanır. Bu reaksiyon sırasında oluşan nihai renkli bileşik, absorbanstaki artış veya azalmayı değerlendirmek için 470 nm'de ölçülür (Angelini *et al.* 1990). Peroksidaz aktivitesini ölçmek için bir spektrofotometre (plastik veya cam) kullanıldı ve 100 mL 0,1 M NaH_2PO_4 (pH: 5,5) ve 5 mM guaiakolden oluşan 3 mL substrat solüsyonu bu küvete eklendi. Daha sonra 10 μ L enzim ekstraktı eklendi. 470 nm'de absorbans 5 dakikalık periyotta 1'er dakikalık aralıklarla kaydedildi ve bu süre boyunca lineer artış veya azalış sergileyen absorbans değerleri 1 dakika ile orantılı kabul edildi. 25°C'de 1 dakikada 0,01 absorbans artışına neden olan enzim miktarı 1 enzim ünitesi (EU) olarak tanımlandı ve sonuçlar EU/mg doku olarak ifade edildi (Esim 2011).

Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

SOD enziminin aktivitesi Agarwal and Pandey (2004) tarafından bildirilen nitroblue tetrazolyum klorürün (NBT) süperoksit radikalleri ile SOD enzimi tarafından mavi formazana fotokimyasal indirgenmesinin inhibisyonuna göre spektrofotometrik olarak belirlendi. 3 mL'lik spektrofotometre küvetine 30 μ L süpernatant ve 2,58 mL reaksiyon karışımı (50 mM potasyum fosfat (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 μ M NBT ve 0.1 mM EDTA) konulup üzerine 390 μ L 13 μ M'lık riboflavin eklendi, elde edilen bu karışım karıştırıldıktan hemen sonra, daha önceden tasarlanmış beyaz bir ışık yayan kaynak önüne yerleştirilerek reaksiyon başlatıldı. Küvet içerisindeki bu karışım, ışık kaynağı altında 15 dk. tutuldu ve reaksiyon ışık

kaynağının uzaklaştırılması veya kapatılmasıyla durduruldu. Bu 15 dakika zaman içerisinde NBT'nin renginin açıklık koyuluk yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okundu. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm absorbans değerinde gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilerek değerler Umg^{-1} protein olarak verildi.

Askorbat Peroksidaz aktivitesi

Askorbat peroksidaz aktivitesi Nakano and Asada (1981)'nin yöntemine göre belirlendi. Reaksiyon karışımı 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH:7), 250 μM askorbik asit, 5 mM H_2O_2 ve 0.1 mL enzim ekstraktı içerdi. Askorbat oksidasyonu 290 nm'de ölçüldü. Oksitlenmiş askorbat konsantrasyonu, sönme katsayısı kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar Umg^{-1} protein olarak verildi.

Glutasyon redüktaz aktivitesinin belirlenmesi

GR enzim aktivitesi Halliwell and Foyer (1976) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlendi. Karışım (toplam 1 mL) 0.025 mM sodium fosfat tamponu (pH:7.8), 0.5 mM GSSG, 0.12 mM NADPH. Na_4 ve 0.1 mL enzim ekstraktı içeren karışımın NADPH'nin oksidasyonu 340 nm'de belirlendi. Sonuçlar EU/mg doku olarak sunuldu.

Dehidroaskorbat redüktaz aktivitesinin belirlenmesi

Dehidroaskorbat aktivitesinin belirlenmesinde Nakano ve Asada (1981) tarafından önerilen protokol kullanıldı. Numuneler ekstaksiyon tamponunda (50 mM Tris-HCl (pH 7.4), 100 mM NaCl, 2 mM EDTA ve 1 mM MgCl_2) öğütüldü ve $18.000 \times \text{g}$ 'de 20 dakika 4°C 'de santrifüj edildi. Elde edilen bu reaksiyon karışımının içeriği 50 mM potasyum fosfat tamponu (pH 7.0), 2.5 mM GSH, 0.1 mM DHA ve 50 μM ekstraktan oluşuyordu. Aktivite 265 nm'de 1 dakika içerisinde absorbansta meydana gelen değişime göre hesaplandı. Sonuçlar EU/mg doku olarak sunuldu.

Monodehidroaskorbat redüktaz aktivitesinin belirlenmesi

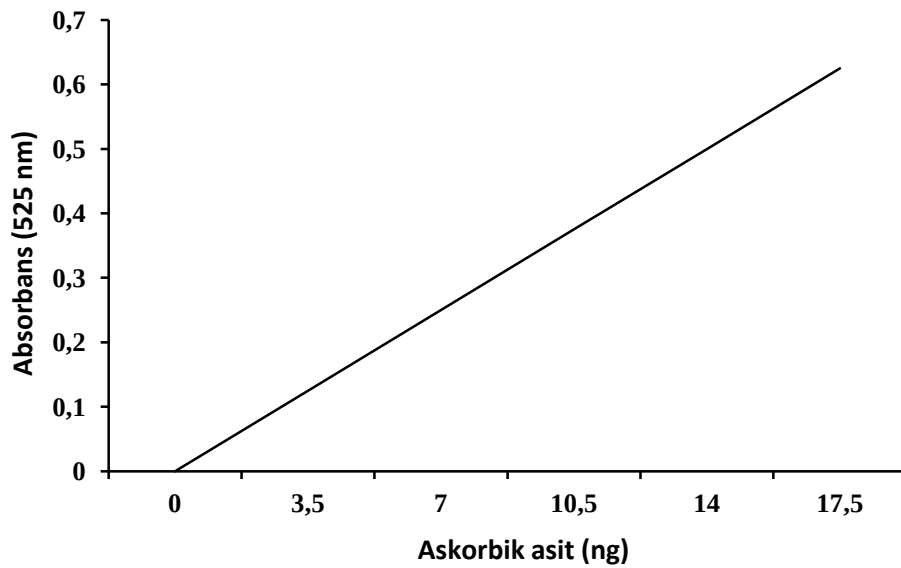
Monodehidroaskorbat redüktaz aktivitesi (Hossain *et al.* 1984) tarafından önerilen metoda göre NADH'nin 340 nm'de 1 dakika oksidasyonu izlenerek belirlendi. Reaksiyon karışımı (1 ml), 50 mM TRIS-HCl tamponu (pH 7.5), 200 μM NADPH, 2500 μM ASA, 0.5 U askorbat oksidaz ve 50 μl ekstrakt içeriyordu. Reaksiyon askorbat oksidazın ilave edilmesiyle başladı. Sonuçlar EU/mg doku olarak sunuldu.

Askorbat ve glutatyon tayini için ekstraksiyon

Kök ve yaprak örnekleri sıvı azotta iyice öğütüldükten sonra 0.2 gr doku 2 mL %5'lik TCA içinde homojenize edilerek 12.000 x g'de 4°C'de 10 dakika santrifüjlendi. Oluşan süpernatant askorbat ve glutatyon miktarının belirlenmesi için kullanıldı.

Askorbat tayini

Askorbat tayini Wu *et al.* (2009)'e göre yapıldı. 250 gr bitki dokusu 2.5 mL %5'lik TCA içinde homojenize edilerek 12000 x g' de 10 dk süre ile santrifüjlendi. Süpernatanttan 200 µL alınıp 800 µl 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7,4), 3 mM EDTA, 1 mM ditiotreitol ilave edilip karıştırıldı ve etüvde 25 °C'de 10 dakika inkübe edildi. Elde edilen bu reaksiyon karışım içerisine sırasıyla 100 µl N- etilmaleimid, 400 µl 0,61 M TCA, 400 µl ortofosforik asit ve 400 µl α-bipiridil eklenerek iyice karıştırıldı. Reaksiyon karışımına 200 µl demir (III) klorür ilave edildikten sonra 40 °C'lik su banyosunda 60 dakika bekletildi ve 525 nm'de absorbans ölçüldü. Toplam askorbat ve indirgenmiş askorbat konsantrasyonları standart askorbat eğrisinden hesaplandı. Dihidroaskorbat (DHA) konsantrasyonu toplam askorbat değerinden indirgenmiş askorbat değeri çıkarıldıktan sonra hesaplandı.

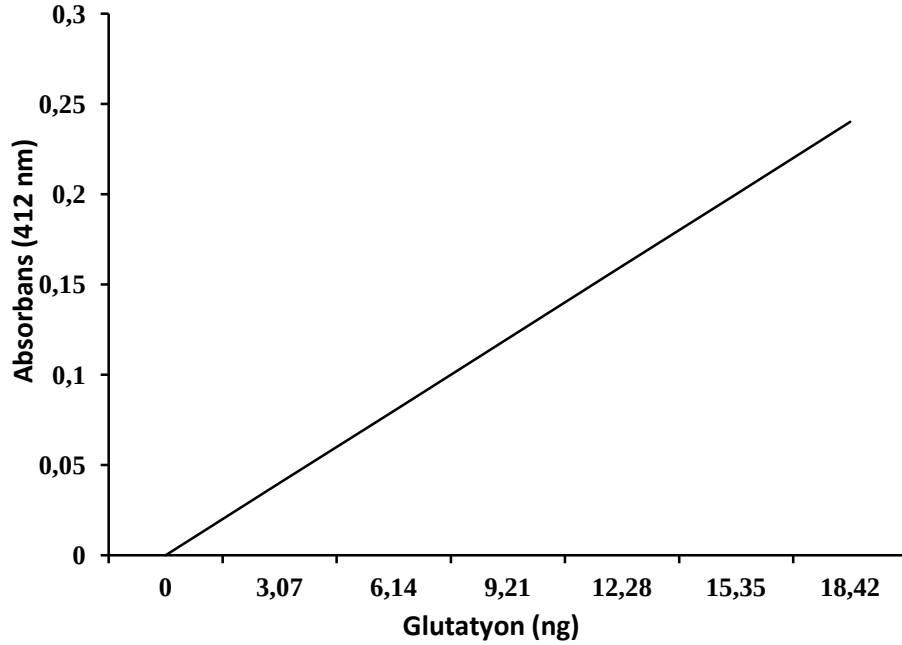


Şekil 13. Askorbat miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği

Glutatyon tayini

Glutatyon ve GSSG tayini Wu *et al.* (2009)'e göre yapıldı. Glutatyon miktarını belirlemek için 0.1 mL süpernatant %5'lik TCA ile üç kat seyreltildikten sonra 38.7 µL K₂CO₃ eklendi ve 12.000 x g'de 4°C'de 10 dakika santrifüjlendi. Oluşan süpernatanttan 0.1 mL alınarak üzerine 0.5 mL sodyum fosfat (200 mM pH:7.5), 0.1 mL Na₂ EDTA (50 mM), 0.1 mL β-NADPH (2 mM), 0.1 mL DNTB (6 mM), 0.1 mL GR konularak karıştırıldı, 30

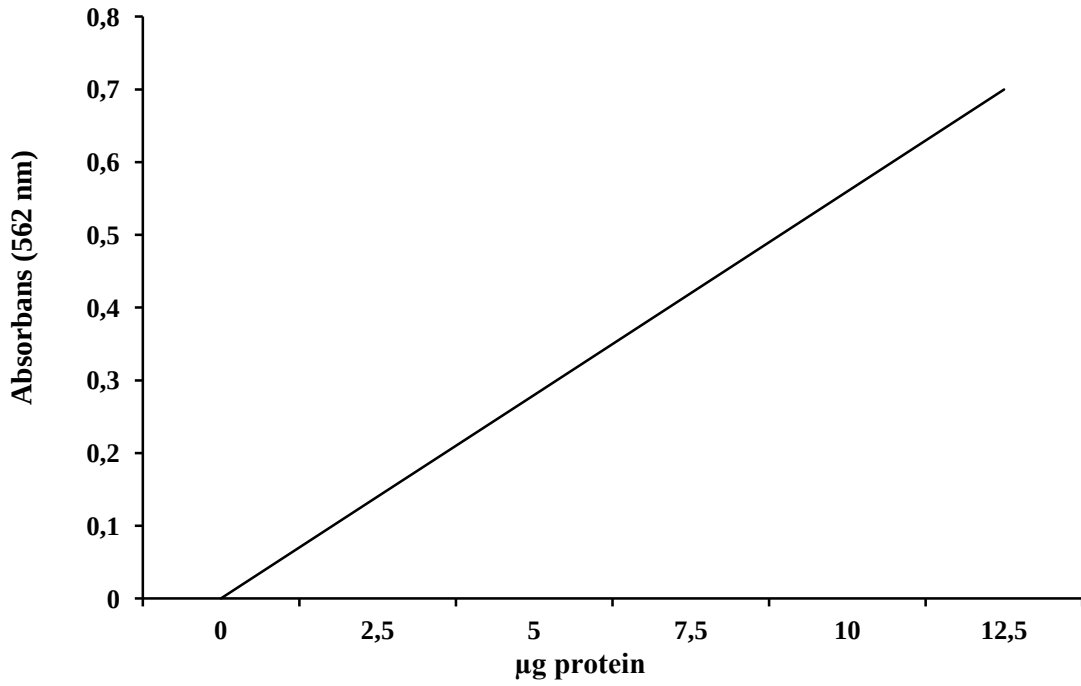
°C’de 5 dakika 412 nm’de absorbans değışim değeri kaydedildi. GSSG miktarını belirlemek için 0.1 mL nötrale edilmiş süpernatant 1 µl 2-Vinylpyridine (VDP) ile inkübe edildi (30 dk, 25 °C). İnkübasyondan sonra artık VDP bırakmamak için örnekler 2 kez santrifüjlenecek daha sonra 20 µL süpernatant alınarak yukarıda belirtilen deney tekrarlandı. 412 nm’de absorbans ölçülerek glutatyon miktarı hesaplandı.



Şekil 14. Glutatyon miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiğı

Protein miktarının belirlenmesi

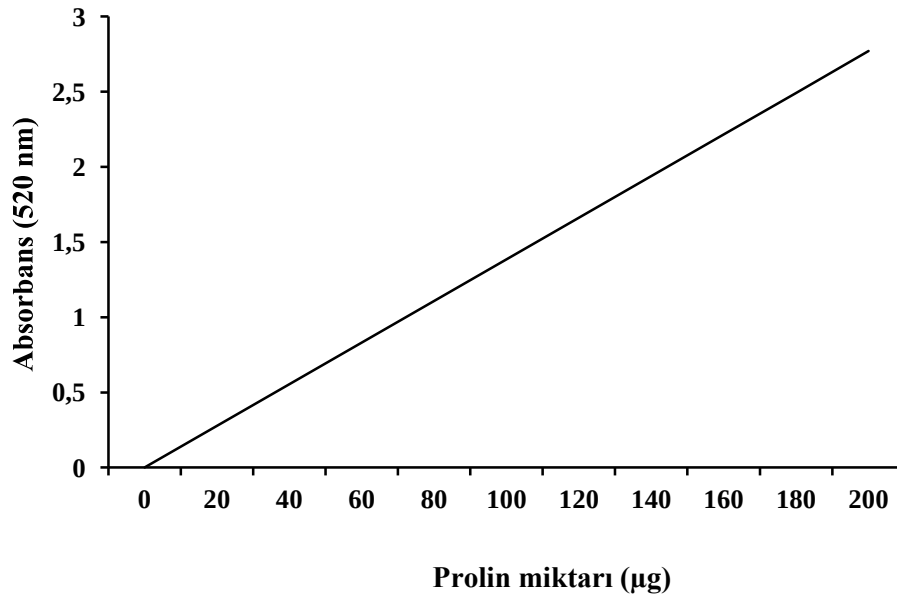
Bradford (1976) yöntemi kullanılarak protein miktarı tayin edildi. Bu amaçla önce Coomassie Brilliant Blue G-250 ile hazırlanan Bio-Rad çözeltisi ¼ sulandırıldı, 5 ml tampon çözelti içerisine protein içeren süpernatant kısmından 0.1 ml ilave edildi. Kör için ise 5 ml tampon içerisine 0.1 ml distile su eklendi. Bu yöntemle hazırlanan örnekler karanlık bir ortama alınarak 20 dakika süre boyunca bekletildi ve daha sonra 595 nm dalga boyundaki ölçümleri yapılarak okunan değeri kaydedildi. Bu yöntemde bovin serum albuminin (BSA) kullanılarak farklı konsantrasyonlardaki miktarı 595 nm dalga boyunda ölçülerek elde edilen absorpsiyon değeri ile standart protein eğrisi çizilerek total çözünebilir protein miktarları belirlendi ve µg /gr doku cinsinden ifade edildi.



Şekil 15. Protein tayini için kullanılan standart grafiği

Prolin miktarının belirlenmesi

Prolin miktarı prolinin ninhidrin ile reaksiyonuna dayalı olarak belirlendi (Bates *et al.*, 1973). 0.5 g bitki numunesi sıvı azotla iyice öğütüldükten sonra numune üzerine daha önce hazırlanmış 10 ml %3'lük sülfosalisilik asit ilave edilerek karıştırıldı. Elde edilen homojenat kısım mavi bant filtre kağıdıyla ($391,80\text{g/m}^2$) filtre edildi. Filtreden geçirilen süzüntüden 2 ml alınıp, üzerine 2 ml asit ninhidrin (Asit ninhidrin çözeltisinin hazırlanışı: 1.25 g ılık ninhidrinle 30 ml glasiyal asetik asit ve 20 ml 6 M fosforik asidin çözülüne kadar karıştırılmasıyla hazırlanır) ilave edildi. 24 saat boyunca bekletilen reagent soğukta ($+4^{\circ}\text{C}$) korunur ve 2 ml glasiyal asetik asit ilave edildikten sonra etüvde 100°C 'de 1 saat boyunca inkübe edildi. Bu bekletme işlemi reaksiyonun başlayıp devam edilmesini sağladı. Daha sonra sıcakta bekletilen bu karışım buz banyosuna alınarak reaksiyonun durması için iyice soğuyuncaya kadar soğuk su banyosunda tutuldu. Bu reaksiyon karışımı 4 ml tolue ile ekstrakte edilerek yeni bir karışım oluşturuldu. Toluen sulu fazdan aspire edildi ve oda sıcaklığında soğutulduktan sonra absorbans değerleri UV spektrofotometresinde 520 nm dalga boyunda okundu. 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 mmol/prolin içeren standartlar hazırlandı. Örnekler ((mg prolin/ml tolue)/115.5mmol)/((g örnek)/5)= mmol prolin/g taze materyalin ağırlığı olarak hesaplandı.



Şekil 16. Prolin miktarını belirlemek için kullanılan standart grafiği

Klorofil miktarı tayini

Toplam klorofil miktarı Witham *et al.* (1971) tarafından önerilen protokole göre belirlendi. 0.2 gr taze yaprak dokusu %80'lik soğuk asetonda homojenize edildi (10 mL), süzüldü ve 3000 x g'de santrifüjlendi. Süpernatantların absorbans değerleri 645 ve 663 nm'de kaydedildi ve klorofil miktarları hesaplandı.

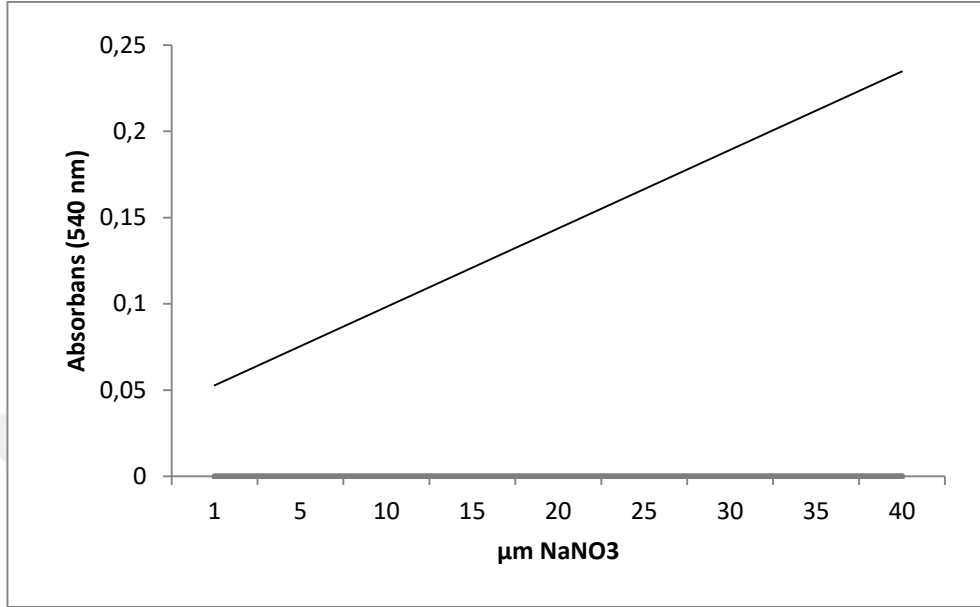
Azot metabolizmasında rol alan enzimlerin aktivitelerinin belirlenmesi

Enzimlerin ekstraksiyon çözeltisi için mısır fidelerinin yapraklarından 0.25 gr alındı, sıvı azotla toz haline getirildikten sonra üzerine daha önce hazırlanmış 2.5 mL, 0.2 mM EDTA, %0.1 PVP ve 1 mM ditiotritol içeren 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7) eklenerek homojenize edildi. Homojenizasyon sonucunda elde edilen homojenatlar 12000xg'de 15 dakika süre de santrifüj edildi (+4 °C). Süpernatant enzim aktivitelerini belirlemek için kullanıldı (Khan 1996; Zheng-xun *et al.* 2007).

Nitrat redüktaz (NR) aktivitesinin belirlenmesi

NR aktivitesi, Barro *et al.* (1991) metoduna göre belirlendi. Doku örnekleri 0.1 M Tris-HCL tamponu (pH:7.5), 1 mM EDTA, 10 mM sistein ve 5 µM FAD içeren ekstraksiyon tamponu (4 mL) içerisinde öğütüldü. Örnekler 15000 x g'de 25 dakika santrifüjlendi (+4 °C). Elde edilen üst sıvı kısımdan yani süpernatanttan 0.2 mL alınarak üzerine 0.8 mL aktivite tamponu [0.1 M KH₂PO₄ (pH:7.5), 10 mM KNO₃, 1 mM EDTA, 300 µM NAD] eklenip iyice karıştırıldı ve 30 °C'de 20 dakika süre ile etüvde inkübe edildi. İnkübasyondan sonra reaksiyon, 100 µl baryum asetat (1 M) ve 1.9 mL %96 etanol eklenerek durduruldu. Karışım

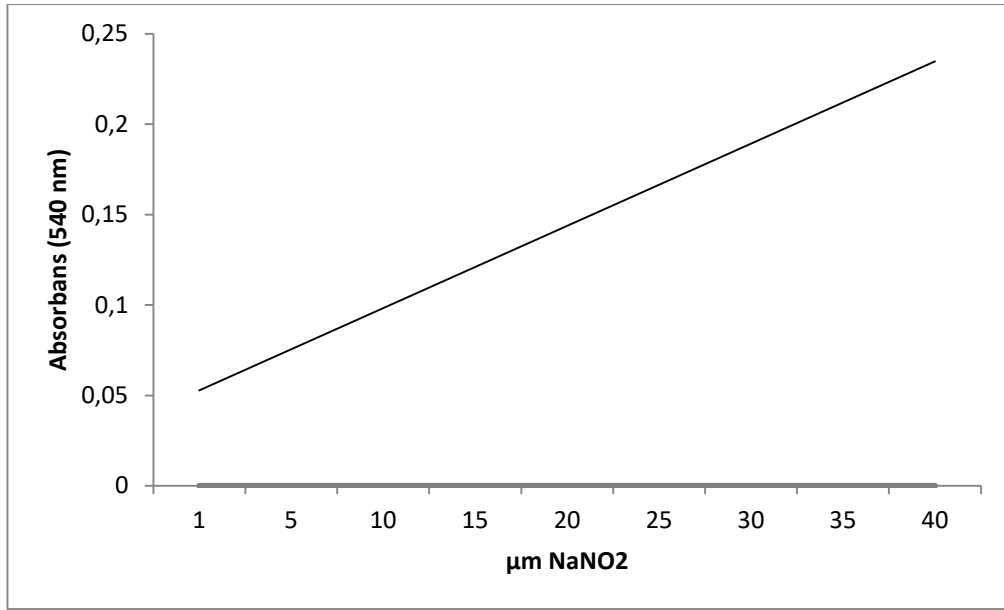
2300 x g'de 5 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası elde edilen sıvı kısım yani süpernatanttan 1 mL alınarak üzerine 1 mL %1'lik sülfanilamid reaktifi (2N HCl içinde) ve 1 mL %0.02'lik N-(1-naftil) etilendiamin reaktifi eklenerek 0. 15. Ve 30. dakikada 540 nm'de absorbans değerleri kaydedildi.



Şekil 17. Nitrat Redüktaz miktarını belirlemede kullanılan grafik grafiği

Nitrit redüktaz (NiR) aktivitesinin belirlenmesi

Nitrit redüktaz aktivitesinin ölçümü Ida and Morita (1973) tarafından önerilen protokole göre nitritin amonyuma indirgenmesiyle belirlendi. Doku örnekleri homojenizasyon tamponunda [0.1 M KH_2PO_4 (pH:7.5), 10^{-3} M sistein, 10^{-3} M EDTA] ekstrakte edilerek 16000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi (4°C). Elde edilen süpernatanttan 100 µl alınarak üzerine 600 µl saf su, 1 mL Trisin-KOH (0.1 M, pH:7.5), 200 µl NaNO_2 (5 mM) ve 100 µl metil viologen (20 mM) ilave edilerek karıştırıldı, reaksiyonu başlatmak için reaksiyon karışımına 0.2 mL 0.12 M sodyum sülfat (0.2 M sodyum bikarbonat içinde) ilave edildi. Reaksiyon karışımı 15 dakika 30°C'de inkübe edildikten sonra metil viologenin mavi rengi kaybolana kadar karıştırıldı ve reaksiyon durduruldu. Reaksiyon çözeltisinden 0.1 mL alınıp üzerine 1 mL %1'lik sülfonamid (1.5 N HCl içinde) ve 1 mL 0.02 NED ilave edildi ve nihai karışım 2.9 mL saf su ile tamamlandı. 20 dakika inkübasyondan sonra 540 nm'de absorbans değişiklikleri kaydedildi.



Şekil 18. Nitrit Redüktaz miktarını belirlemede kullanılan standart grafiği

Glutamin sentaz (GS) aktivitesi ölçümü

Glutamin sentaz aktivitesi Oneal and Joy'un (1973) yöntemi kullanılarak ölçüldü. 0.2 gr doku üzerine 1 mL tampon [0.1 M Tris-HCl (pH:7.9), 200 mM MgSO_4 , 1 mM EDTA, 1 mM β -merkaptoetanol] ilave edildikten sonra doku homojenize edildi ve homojenat 20 dakika boyunca $10000 \times g$ 'de 4°C 'de santrifüjlendi. Santrifüj sonunda elde edilen sıvı kısımdan 0.25 mL alınarak üzerine 0.2 mL reaksiyon tamponu (265 mM glutamat ve 60 mM hidroksilamin) ilave edildi. Bu karışıma 50 μL ATP (80 mM) eklenerek reaksiyon başlatıldı ve reaksiyon karışımı 30 dakika 30°C 'de inkübe edildi. İnkübasyon bitince reaksiyon karışımına 125 μL TCA eklenerek $10000 \times g$ 'de 10 dk santrifüjlendi. Elde edilen süpernatanttan 0.5 mL alınarak üzerine 0.25 mL FeCl_3 eklendi ve 20°C 'de 15 dakika inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde 540 nm'de absorbans değişiklikleri kaydedildi.

Glutamat sentaz (GOGAT) aktivitesi ölçümü

GOGAT aktivitesi, Groat and Vance (1981) tarafından önerilen yönteme göre 2-ketoglutaratın glutamata indirgenmesiyle ölçüldü. Kısaca 0.3 g doku sakkaroz (100 mM), 2 merkaptoetanol (%2 (h/h)), etilen glikol (%15 (h)) içeren 3 mL MES-OH tamponunda (100 mM, pH: 6.8) 4°C 'de homojenleştirildi, homojenat 4°C 'de $10000 \times g$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Reaksiyon karışımı KH_2PO_4 tamponu (100 mM pH:7.6), 2-merkaptoetanol (%0.1(v/v)), 100 μM NADH, 2-oxoglutarat ve glutamin (2.5 mM) içerdi. GOGAT aktivitesi NADH oksidasyonu nedeniyle 340 nm'de absorpsiyondaki azalma ölçülerek kaydedildi. 1 μmol dk-1 NADH'ın oksidasyonu bir birim GOGAT aktivitesi olarak tanımlandı.

Glutamat dehidrogenaz (NAD-GDH)

Glutamat dehidrogenaz (NAD-GDH) aktivitesi, Sukalovic'in (1990) tarafından önerilen yönteme göre NAD'nin indirgenmesi ve NADH'nin oksidasyonu ile ölçüldü. Kısaca 0.2 g doku, MgCl₂ (3.3 mM), EDTA (1 mM),  -merkaptoetanol (1 mM), ditiyotritol (1 mM) ve fenilmetils lfonil florür (1 mM) içeren 5 ml Tris-HCl tamponu (10 mM (pH 8.0) içinde homojenize edildi ve elde edilen homojenat 4 C'de 22000 x g'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi. NADH-GDH için süpernatanttan 0.2 mL alınarak  zerine Tris-HCl tamponu (76 mM, pH 8.1),  -ketoglutarat (20 mM), (NH₄)₂SO₄ (150 mM), NADH (0.2 mM), MgCl₂ (1 mM) eklenerek karıştırıldı ve 340 nm'de absorbans kaydedildi. NAD-GDH için süpernatanttan 0.2 mL alınarak  zerine Tris-HCl tamponu (100 mM, pH 9), NAD⁺(0.6 mM), L-glutamat (50 mM) eklenerek karıştırıldı ve absorbans değerlerindeki değişiklikler 340 nm'de kaydedildi. Bir birim GDH aktivitesi, dakikada bir mikromol NAD'nin azalması ve bir mikromol NADH'nin oksidasyonunun ölçülmesiyle belirlendi.

Gen Ekspresyonu  alışmaları

Gen ekspresyonu çalışmalarında önceki çalışmalarımızda kullandığımız protokol takip edildi (Aksakal *et al.* 2017. Aysin *et al.* 2020). Mısır fidelerinden RNA izole etmek için RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Almanya) kullanıldı. Üretici firmanın  nerileri doğrultusunda RNA izolasyonu yapıldı. RNA miktarı ve saflığı nanodrop ND-1000 spektrofotometre kullanılarak belirlendi. Elde edilen RNA numunelerinden cDNA elde etmek için RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas katalog no: K1622) kullanıldı. cDNA sentezinden sonra Quantitect SYBR Green kiti kullanılarak üretici firma tarafından önerilen protokol doğrultusunda qRT-PCR reaksiyonları yapıldı (PCR döngüsü: 95 C 10 dakika, 40 döngü olacak şekilde (95 C 10 saniye, 52 C 15 saniye, 72 C 20 saniye) ve 72 C 5 dakika). Tüm qRT-PCR reaksiyonları Rotor-Gene Q (Corbett, Qiagen) cihazında yapıldı. qRT-PCR reaksiyonları için kullanılacak primerler Tablo 2'de verildi. Referans gen olarak aktin kullanıldı, çalışılacak genlerin ekspresyon seviyeleri referans gene karşı normalleştirildi. GenGlobe'ye ait veri analiz yazılımı sistemi (Qiagen-<https://www.qiagen.com/en/geneglobe>) tarafından sağlanan Student t testi, kontrol grubu ve deney gruplarında eksprese edilen genlerin kat değişiminin istatistiksel önemini değerlendirmek için kullanıldı.

Tablo 2. PCR İçin Kullanılan Primerler

GEN	Forward	Reverse	Referans
<i>β-actin</i>	AGCAACTGGGATGACATGGA	GGGTTGAGAGGTGCCTCAGT	Zhao et al. (2017)
<i>Pod</i>	CTGCTGAGTGACCCTGTCTTC	GGATAGGGTCTATTTAAGCATCA	Zhao et al. (2017)
<i>Cat</i>	TGTTCTAACAGGCTGTCGTGAG	TGTCAGTGCGTCAACCCATC	Zhao et al. (2017)
<i>Sod</i>	GTTGTTGGGAGAGCATTGTG	GAGCAACCTACAATGGAGTCAG	Zhao et al. (2017)
<i>Gr</i>	CACCAAAGCAGACTTCGACA	AAGTTCGTCTTTGGCTTGGA	Zhao et al. (2017)
<i>Apx</i>	GCCCTCTTGTTGGAGAAATATG	GGATATGGACCATTTAAGCATCA	Zhao et al. (2017)
<i>ZmMpk-17</i>	CTCCGGTTGCTAGAGGGTTT	TGGATCAGCTAAAGCCTCTTCAG	Silva-neta et al. (2015)
<i>Dhar</i>	CAAAGCTCATGGCCCCTACA	GCTCCTCGGATGGCTTAGTC	Guo et al. (2020)
<i>Mdhar</i>	GAGTTAAGCCTGGGGAGCTT	AGGCAATAGCTTCTCTCCACC	Guo et al. (2020)
<i>Nr</i>	TCCTCGCTACATGCAGAAC	GGTAGTAGCTGTCGGACTCG	Ren et al. (2020)
<i>Nir</i>	CATATCTGCCTGCCCTCTTC	GAGCGTTGCGGTTGTTTATTA	Erdal and Türk (2016)
<i>Gs</i>	GGAACCGGCATAGACCTCAG	ACGGGTCCTTGAAAATGGCT	Ren et al. (2020)
<i>Gogat</i>	CTGATCGTTCTGAAGCACCT	AGCAGACATACGGAGACCAT	Erdal and Türk (2016)
<i>Nad-Gdh</i>	GTCATAAACAAGGATAATGCTAAC	CCAGTATGTCGGGGAGGAT	Erdal and Türk (2016)

İstatistiksel Analiz

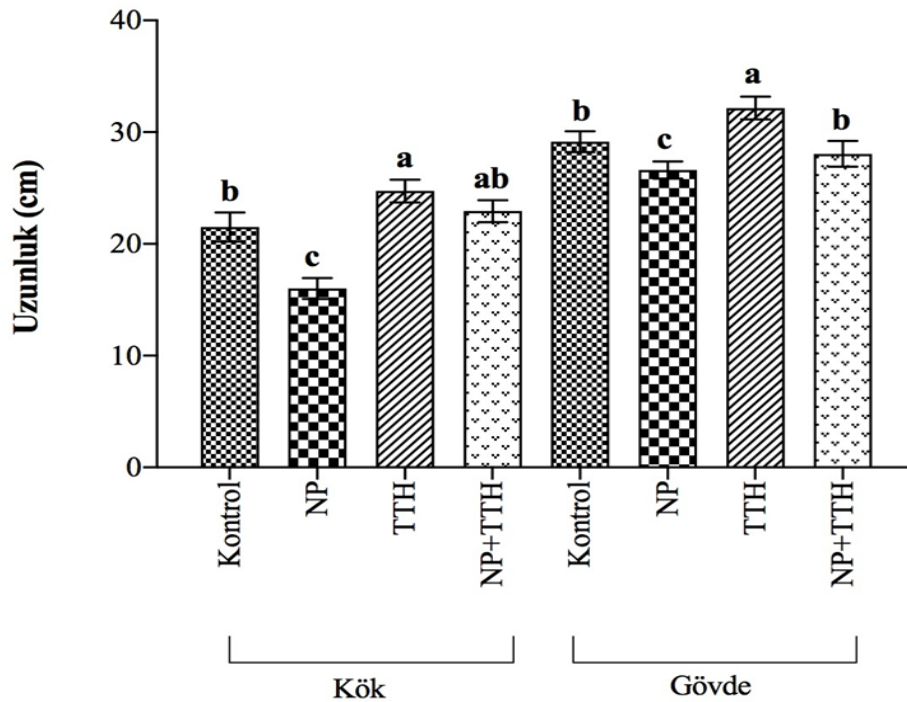
Deneyler en az 3 tekerrür olacak şekilde gerçekleştirildi ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (SD) olarak sunuldu. Verileri analiz etmek için, tek yönlü bir varyans analizi (ANOVA) ve ardından Duncan'ın çoklu karşılaştırma testleri gerçekleştirildi. *P < 0.05 anlamlı kabul edildi. Tüm istatistiksel analizler GraphPad Prism sürüm 8.4 kullanılarak yapıldı.

ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Araştırma Bulguları

Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde büyüme üzerine etkisi

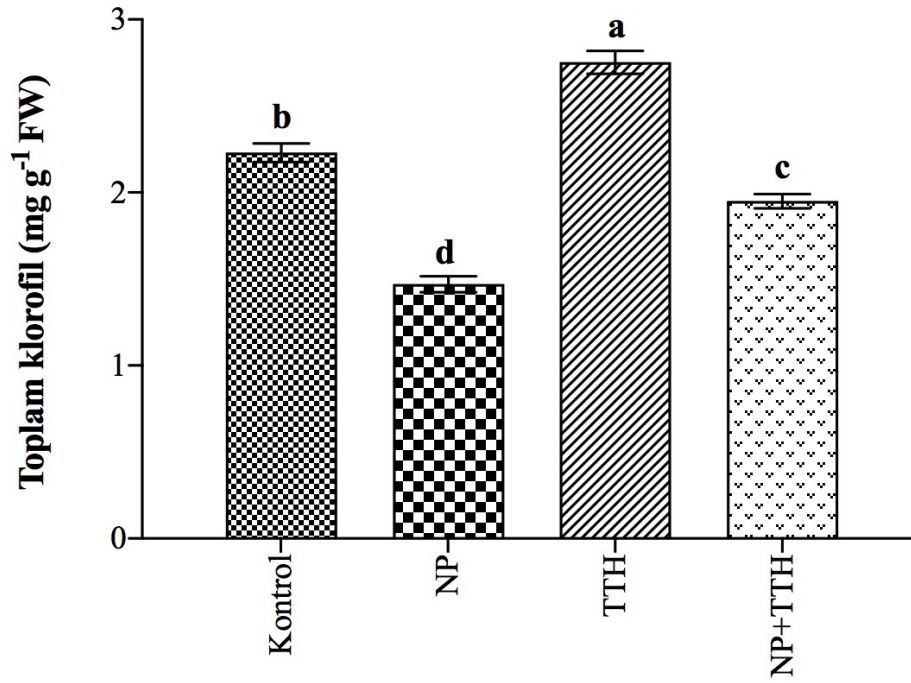
Bitki büyümesi sürgün ve kök uzunluğu ölçülerek belirlendi. Kontrol bitkileriyle karşılaştırıldığında mısır fidelerine uygulanan bakır oksit nanopestisiti (Cu(OH)₂ NP) hem kök hemde sürgün uzunluğunu önemli ölçüde inhibe etti. Bununla birlikte, fidelere eksojen olarak uygulanan tavuk tüyü protein hidrolizatı (TTH) hem kontrol gruplarına göre hem de yalnızca nanopestisit uygulanan fidelere göre bitki büyümesini önemli ölçüde indükledi (Şekil 19). Yine Cu(OH)₂ NP uygulanan fidelere TTH uygulaması yalnızca Cu(OH)₂ NP gruplarına göre kök ve gövde uzunluğunu önemli ölçüde artırdı.



Şekil 19. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde kök ve sürgün uzunluğu üzerine etkisi

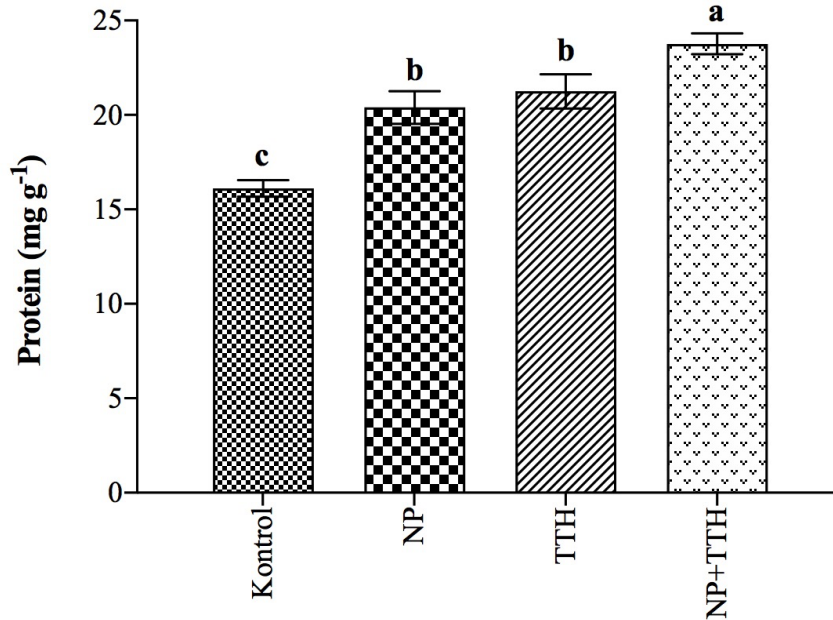
Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam klorofil, protein, prolin ve toplam fenolik madde üzerine etkisi

Cu(OH)₂ NP uygulaması mısır fidelerinde klorofil miktarını önemli ölçüde azalttı. Fidelere eksojen olarak uygulanan TTH ise kontrol grubuna kıyasla klorofil miktarını önemli ölçüde artırdı. Buna ilaveten, yalnızca Cu(OH)₂ NP verilen fidelere kıyasla Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması klorofil miktarını istatistiksel olarak önemli oranda artırdı (Şekil 20).



Şekil 20. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam klorofil miktarı üzerine etkisi

Mısır fidelerine hem Cu(OH)₂ NP hem de TTH uygulaması kontrol grubuna göre protein miktarını artırdı. Buna ilaveten fidelere Cu(OH)₂ NP ve TTH'ın birlikte uygulanması hem kontrole göre hemde ayrı ayrı uygulamalara göre protein miktarını önemli ölçüde stimüle etti (Şekil 21).

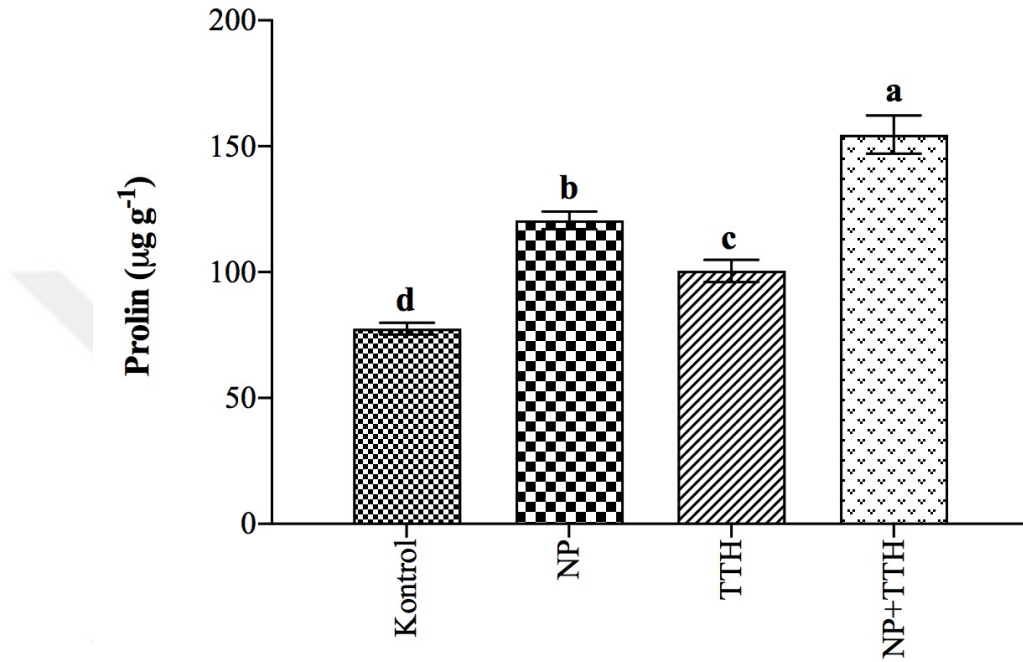


Şekil 21. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde protein miktarı üzerine etkisi

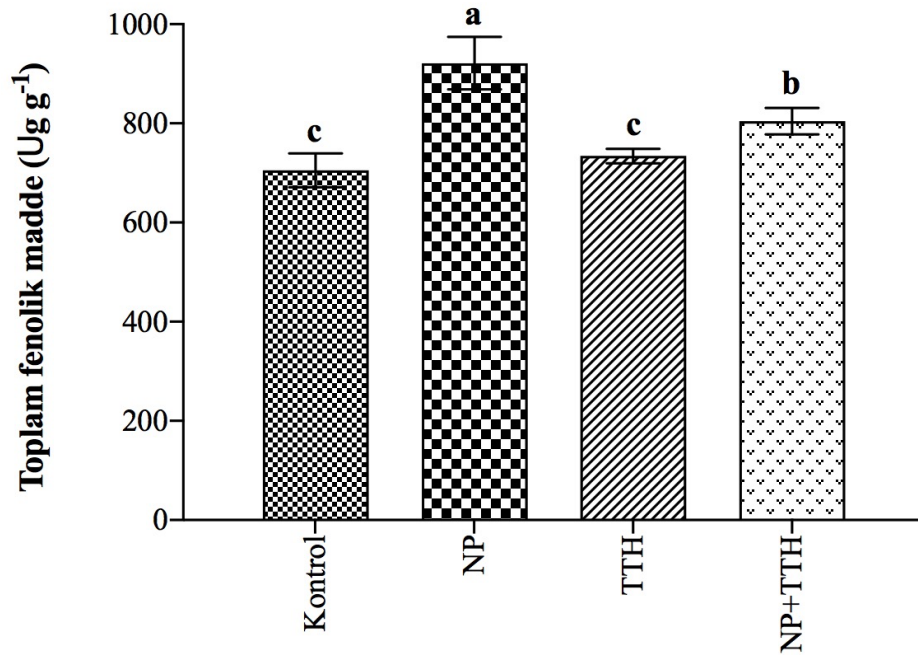
Kontrol grubu ile kıyaslandığında mısır fidelerine uygulanan Cu(OH)₂ NP veya TTH prolin miktarında artışa yol açtı. Buna ilaveten, Cu(OH)₂ NP ve TTH'ın birlikte uygulanması

hem kontrol grubuna göre hemde tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP veya TTH uygulamasına göre prolin miktarını önemli ölçüde artırdı.

Mısır fidelerine uygulanan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP toplam fenolik madde miktarını artırırken tek başına fidelere uygulanan TTH kontrol grubuna göre fenolik madde miktarını değiştirmedi. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ile birlikte TTH uygulaması yalnız $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulamasına göre fenolik madde miktarını azalttı (şekil 22).



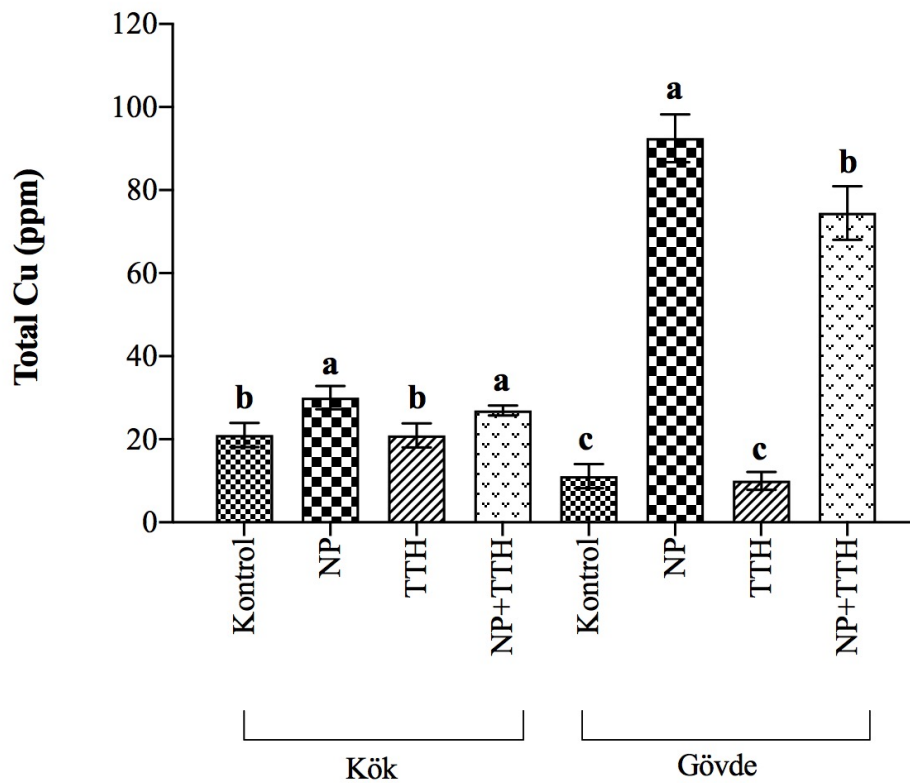
şekil 22. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde prolin miktarı üzerine etkisi



şekil 23. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisi

Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerindeki bakır miktarı üzerine etkisi

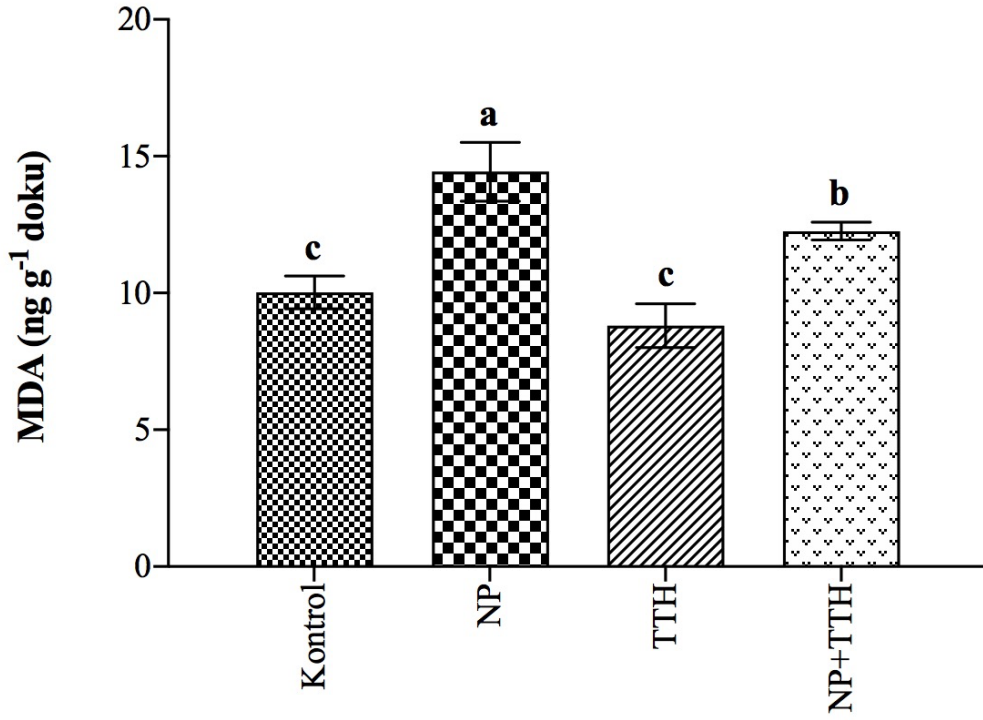
Mısır fidelerine eksojen olarak uygulanan Cu(OH)₂ NP ve TTH'nin fidelerin kök ve gövdelerindeki bakır konsantrasyonuna etkisi Şekil 24'de görülmektedir. Kontrol grupları ile kıyaslandığında fidelere uygulanan Cu(OH)₂ NP hem köklerdeki hemde gövdelerdeki bakır miktarını önemli ölçüde artırdı. Özellikle gövdedeki bakır miktarı kontrole göre yaklaşık 5 kat arttı. Fidelere tek başına uygulanan TTH bakır miktarında önemli bir değişikliğe neden olmadı. Yalnız Cu(OH)₂ NP uygulaması ile kıyaslandığında fidelere Cu(OH)₂ NP ile birlikte TTH uygulaması gövdedeki bakır miktarını önemli ölçüde azalttı.



Şekil 24. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde toplam bakır üzerine etkisi

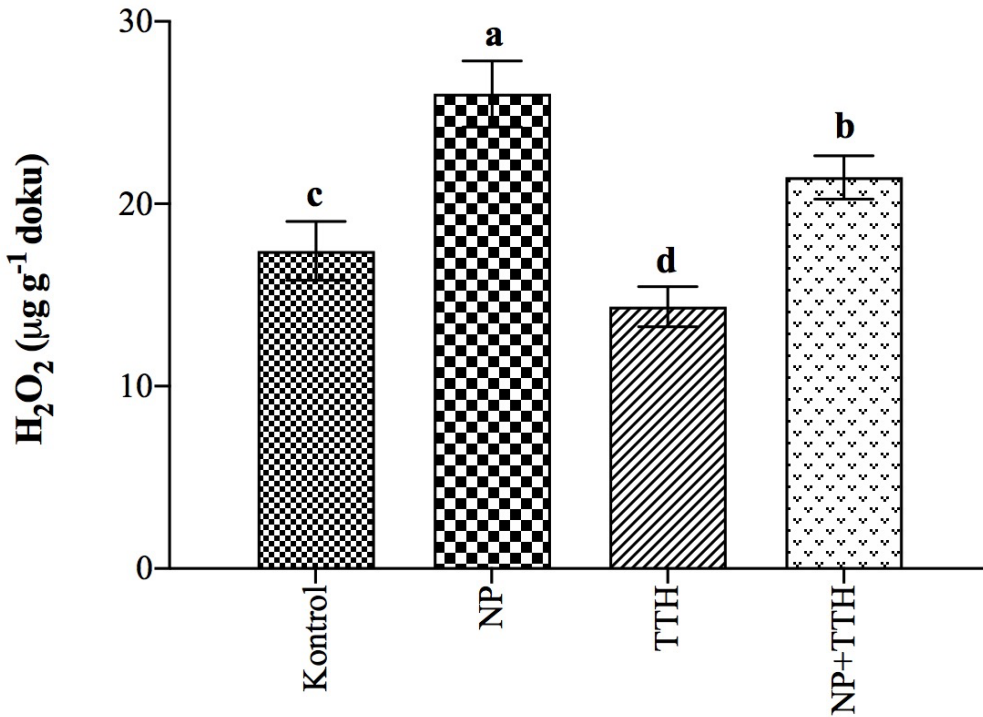
Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde lipid peroksidasyon (MDA), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit anyonu (O₂⁻) miktarları üzerine etkisi

Şekil 25'de görüldüğü gibi TTH uygulaması kontrole kıyasla MDA miktarında artışa yol açmadı. Öte yandan, Cu(OH)₂ NP uygulaması mısır fidelerinde MDA miktarını kontrole göre önemli ölçüde artırdı. Cu(OH)₂ NP uygulaması ile birlikte fidelere TTH uygulaması tek başına Cu(OH)₂ NP uygulamasına göre MDA miktarını önemli ölçüde azalttı.



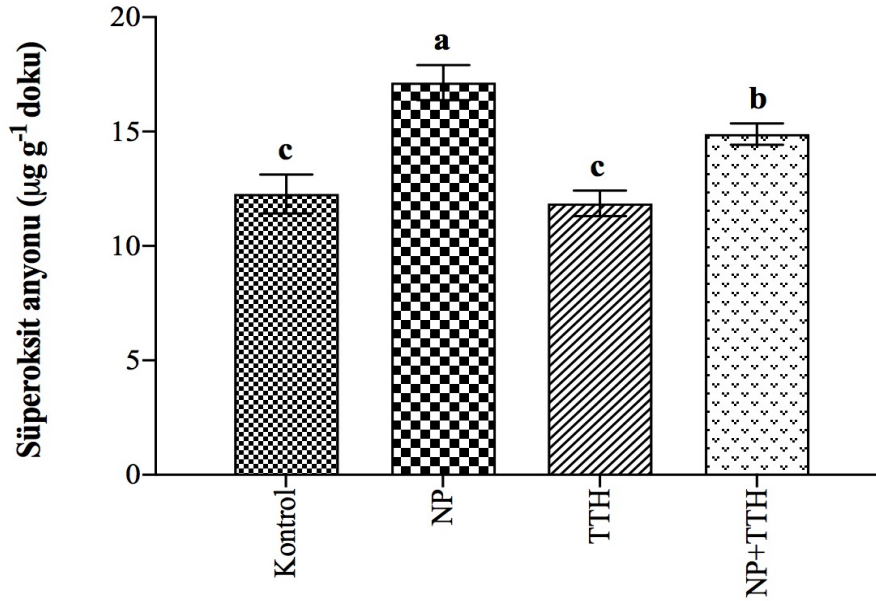
Şekil 25. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde lipid peroksidasyonu (MDA) üzerine etkisi

Mısır fidelerine uygulanan TTH kontrole göre H₂O₂ miktarını azalttı. Öte yandan fidelere tek başına uygulanan Cu(OH)₂ NP H₂O₂ miktarını kontrole kıyasla önemli ölçüde artırdı. Tek başına O₂ uygulaması ile karşılaştırıldığında Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması H₂O₂ miktarını önemli ölçüde inhibe etti.



Şekil 26. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde hidrojen peroksit (H₂O₂) üzerine etkisi

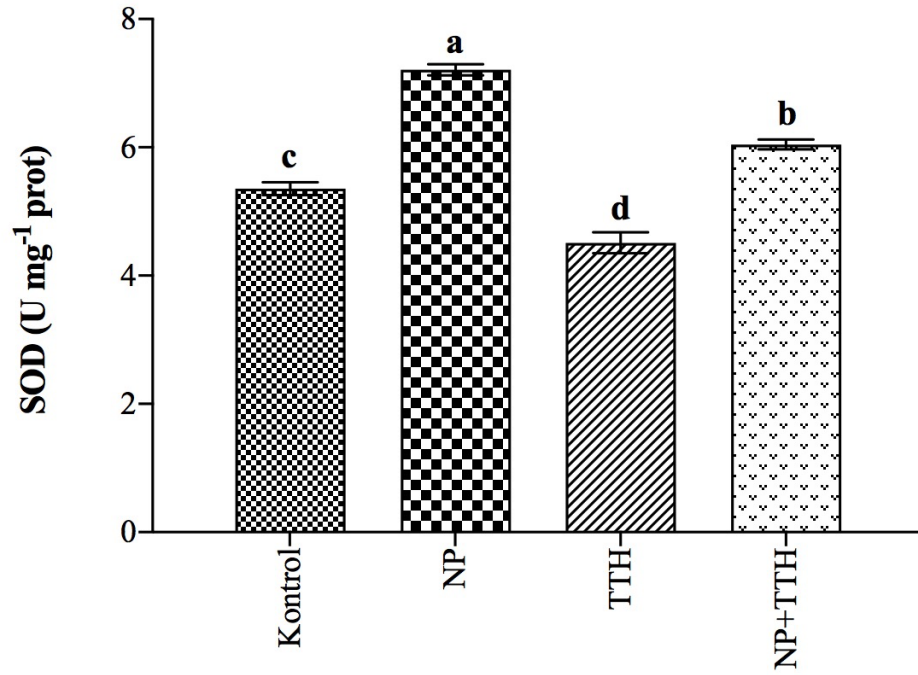
Mısır fidelerine $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ve TTH uygulandıktan sonra fidelerdeki süperoksit anyonu miktarında meydana gelen değişimler Şekil 27’de verildi. Şekil 4.9’dan görüldüğü gibi kontrol grubuna kıyasla tek başına TTH uygulaması süperoksit anyonu miktarını değiştirmezken tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulaması süperoksit anyonu miktarını önemli oranda artırdı. Öte yandan, tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulamasına kıyasla $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP+TTH uygulaması süperoksit anyonu miktarını düşürdü.



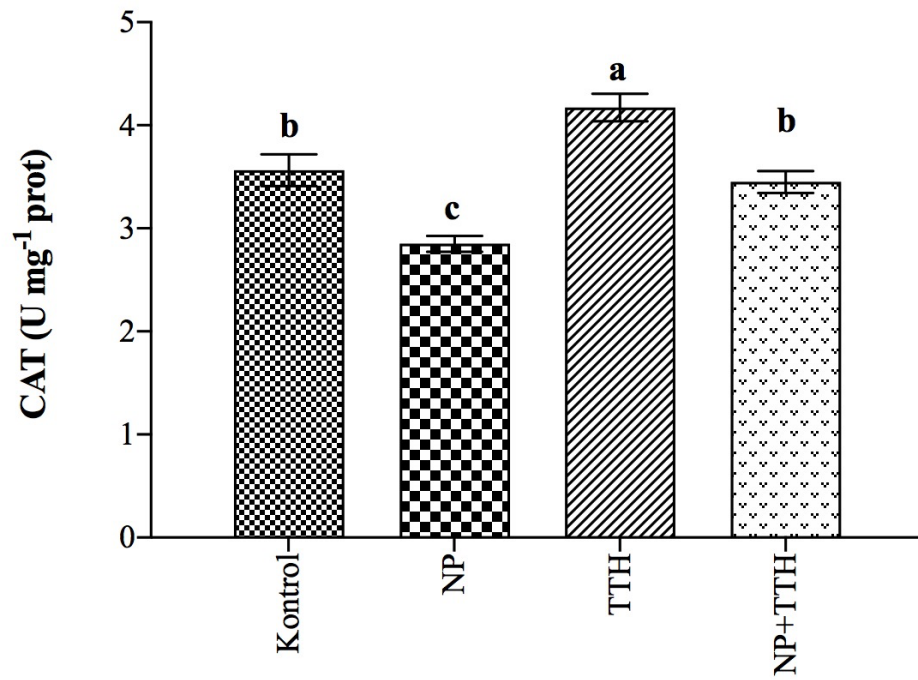
Şekil 27. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde süperoksit anyonu ($\text{O}_2^{\cdot-}$) üzerine etkisi

$\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde antioksidan sistemle ilişkili enzimlerin aktiviteleri üzerine etkisi

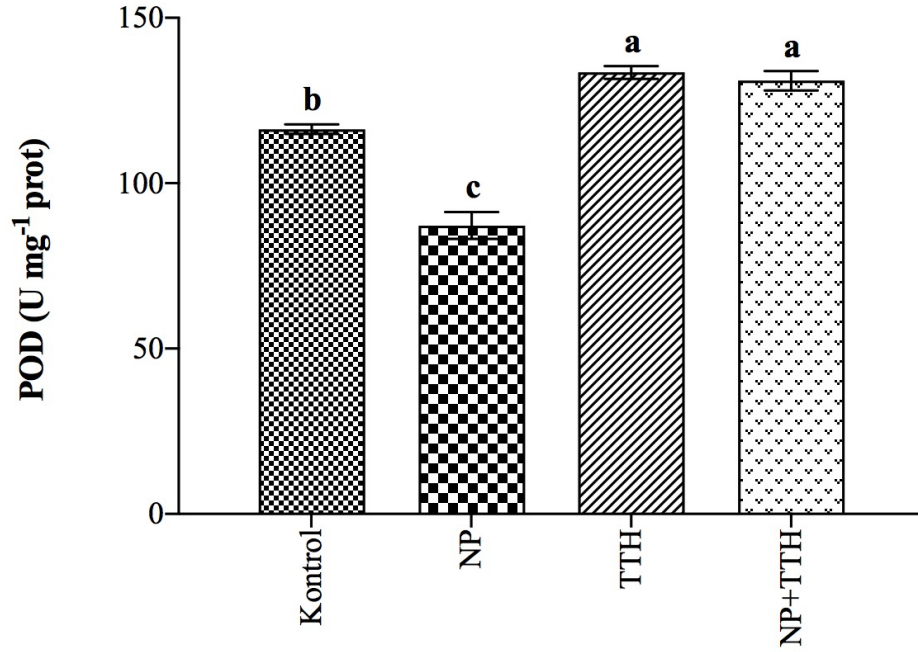
Antioksidan sistemle ilişkili enzimlerden SOD aktivitesi kontrol grubuna kıyasla tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulama grubunda artış gösterirken, tek başına TTH uygulama grubunda azaldı. Tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulaması ile karşılaştırıldığında $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP+TTH uygulaması SOD aktivitesini önemli ölçüde azalttı. Diğer taraftan fidelere tek başına uygulanan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP CAT ve POD aktivitesini azaltırken, tek başına TTH uygulaması bu enzimlerin aktivitelerini kontrole göre önemli oranda artırdı. Yine tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulamasına kıyasla $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP+TTH uygulaması hem CAT hem de POD aktivitesini önemli ölçüde stimüle etti.



Şekil 28. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde SOD enzim aktivitesi üzerine etkisi



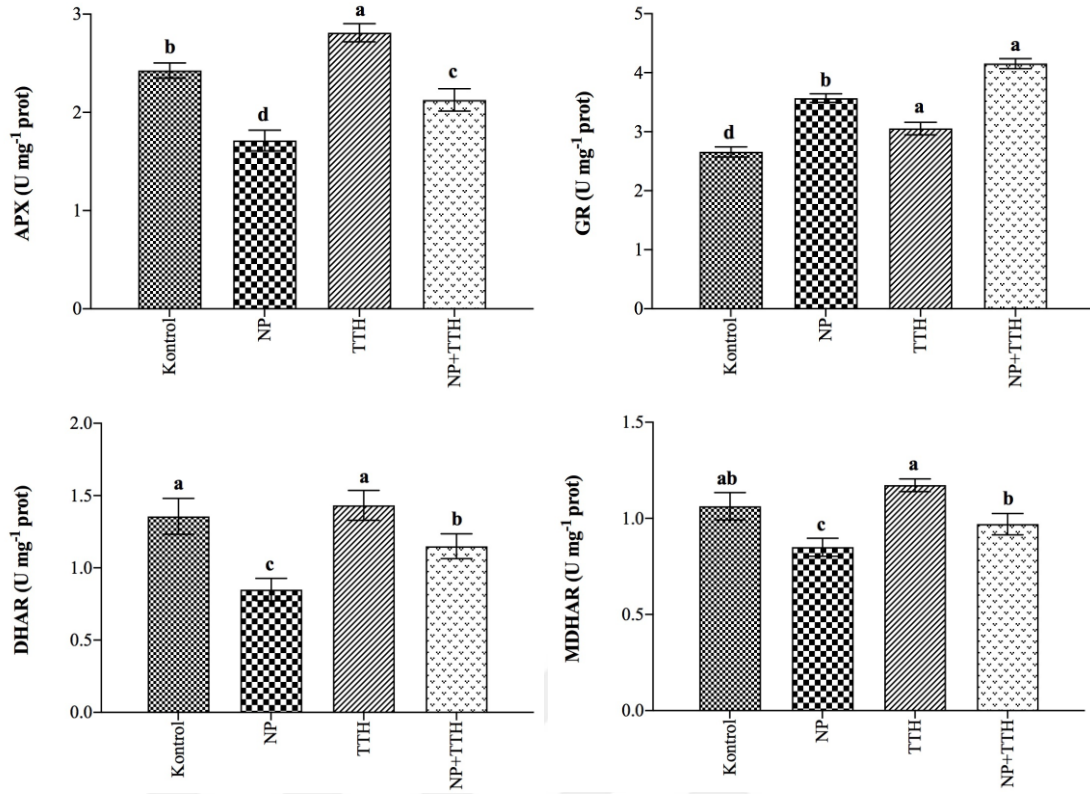
Şekil 29. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde CAT enzim aktivitesi üzerine etkisi



Şekil 30. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde POD enzim aktivitesi üzerine etkisi

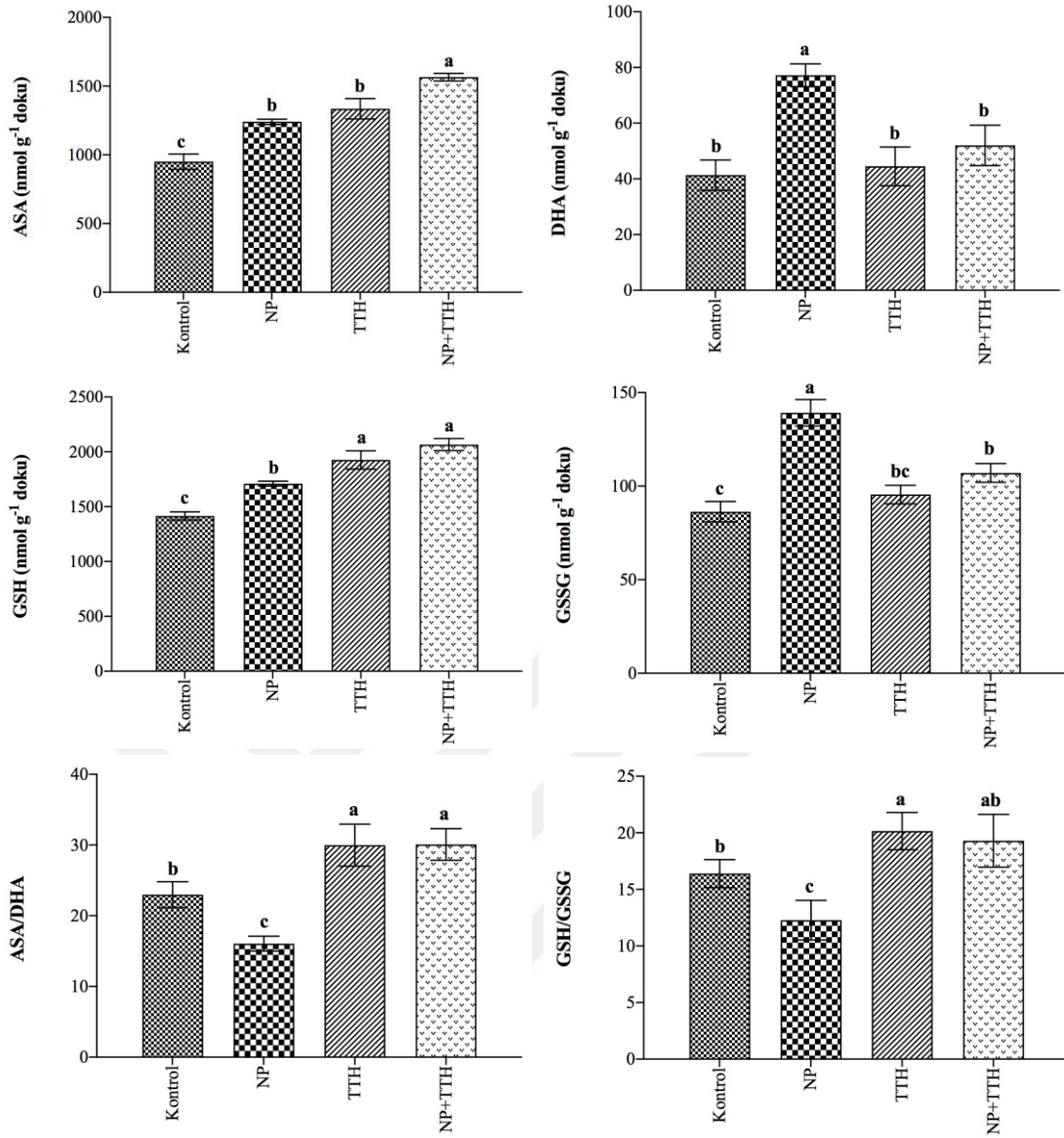
Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA-GSH döngüsü ile ilişkili enzimler ve enzimatik olmayan antioksidanlar üzerine etkisi

Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulanmış mısır fidelerinde ASA-GSH döngüsü ile ilişkili enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen değişimler Şekil 31’de verildi. Kontrol grupları ile kıyaslandığında APX, DHAR ve MDHAR enzimlerinin aktiviteleri tek başına Cu(OH)₂ NP uygulanan fidelerde azaldı. Tek başına TTH uygulaması kontrol grubunlarına göre APX enzim aktivitesini artırırken DHAR ve MDHAR aktivitesini değiştirmedii. Tek başına Cu(OH)₂ NP uygulanan gruplar ile kıyaslandığında Cu(OH)₂ NP+TTH gruplarında APX, DHAR ve MDHAR enzim aktiviteleri arttı. GR enziminin aktivitesi hem Cu(OH)₂ NP hemde TTH uygulama gruplarında kontrole göre önemli ölçüde arttı. Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması bu enzimin aktivitesinde daha fazla artışa yol açtı.



Şekil 31. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde APX, GR, DHAR ve MDHAR enzim aktiviteleri üzerine etkisi

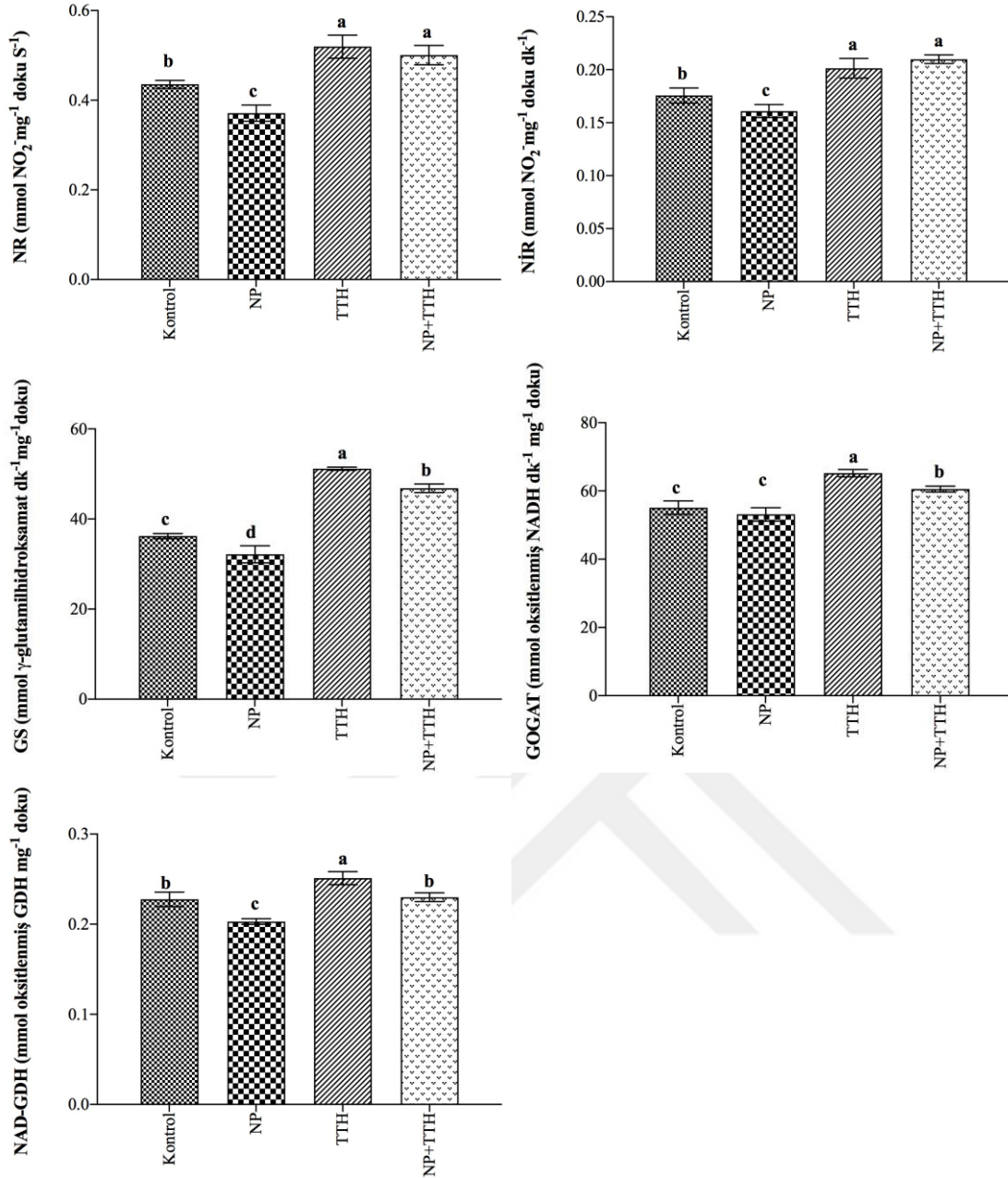
Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulanmış mısır fidelerinde ASA-GSH döngüsü ile ilişkili enzimatik olmayan antioksidanlardan ASA ve GSH ile onların oksitlenmiş formlarının (DHA, GSSG) miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 32’de verildi. Hem tek başına Cu(OH)₂ NP veya TTH hemde Cu(OH)₂ NP+TTH uygulamaları kontrole göre ASA ve GSH miktarlarını önemli ölçüde artırdı. Kontrol grupları ile kıyaslandığında tek başına Cu(OH)₂ NP uygulaması DHA ve GSSG miktarlarını önemli oranda artırdı. Öte yandan, tek başına Cu(OH)₂ NP uygulama grupları ile karşılaştırıldığında hem DHA hem de GSSG miktarı Cu(OH)₂ NP+TTH gruplarında önemli oranda azaldı. Tek başına Cu(OH)₂ NP uygulaması kontrole göre ASA/DHA ve GSH/GSSG oranlarını azaltırken, tek başına TTH veya Cu(OH)₂ NP+TTH uygulamaları ASA/DHA ve GSH/GSSG oranlarını artırdı.



Şekil 32. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA, DHA, GSH, GSSG, ASA/DHA ve GSH/GSSG üzerine etkisi

Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili enzimler üzerine etkisi

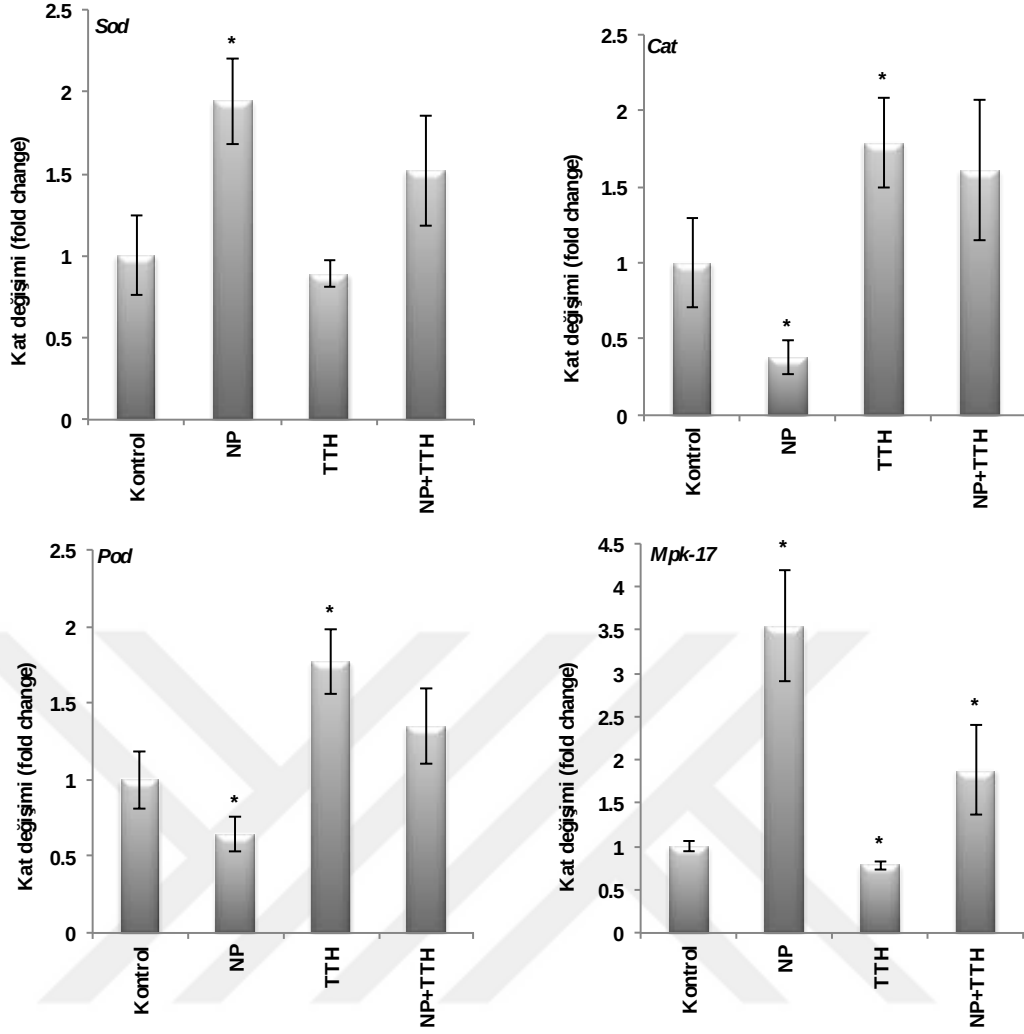
Cu(OH)₂ NP stresi mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili enzimlerden nitrat redüktaz (NR), nitrit redüktaz (NİR), glutamin sentaz (GS) ve NAD-GDH enzim aktivitelerinde dikkate değer bir düşüşe yol açtı (Şekil 33). Cu(OH)₂ NP stresi altında GOGAT aktivitesini deşğırtmezken Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması bu enzimin aktivitesini kontrole kıyasla önemli ölçüde artırdı. Mısır fidelerine tek başına TTH uygulandığında kontrole göre azot metabolizması ile ilişkili tüm enzimlerin aktivitesi önemli oranda arttı. Cu(OH)₂ NP stresi altındaki fidelere TTH uygulaması NR, NİR, GS ve NAD-GDH aktivitesini önemli ölçüde artırdı.



Şekil 33. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde NR, N1R, GS, GOGAT ve NAD-GDH enzim aktivitesi üzerine etkisi

Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde antioksidan sistemle ilişkili genler ve ZmMpk-17 geninin ekspresyonu üzerine etkisi

Tek başına Cu(OH)₂ NP uygulaması antioksidan sistemle ilişkili genlerden *Sod* geninin ekspresyonu önemli ölçüde up-regüle ederken, *Cat* ve *Pod* genlerinin ekspresyonunu dikkat değer biçimde down-regüle etti. Tek başına TTH uygulaması hem *Cat* hem de *Pod* genlerinin ekspresyonunu up-regüle etti. Kontrol ile kıyaslandığında Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması antioksidan sistemle ilişkili genlerin ifadesini değiştirmedir. Tek başına Cu(OH)₂ NP uygulamasına kıyasla Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması *Sod* geninin ekspresyonunu azaltırken *Cat* ve *Pod* genlerinin ekspresyonunu artırdı.

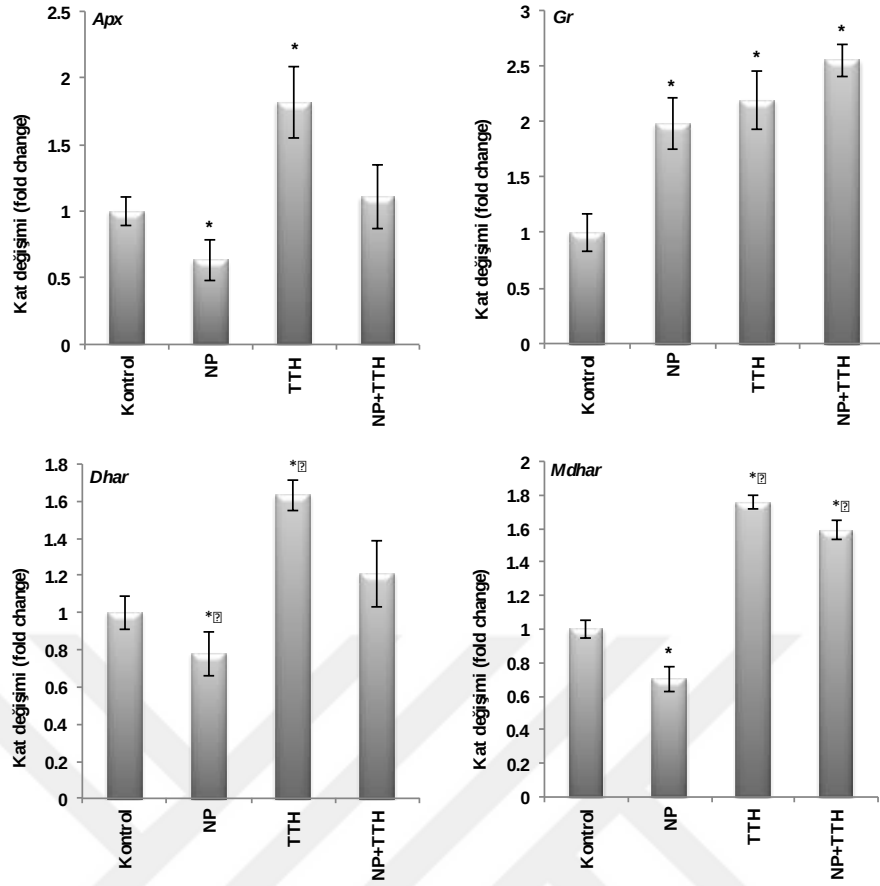


Şekil 34. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde Sod, Cat, Pod, ve ZmMpk-17 genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi

Diğer taraftan tek başına Cu(OH)₂ NP uygulaması ZmMpk-17 geninin ekspresyonunu yaklaşık 3.5 kat artırdı. Tek başına TTH uygulaması kontrole göre bu genin ekspresyonunu önemli ölçüde azaltırken Cu(OH)₂ NP+TTH uygulaması ZmMpk-17 geninin ekspresyonunu önemli oranda up-regüle etti (Şekil 34).

Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA-GSH sistemi ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerine etkisi

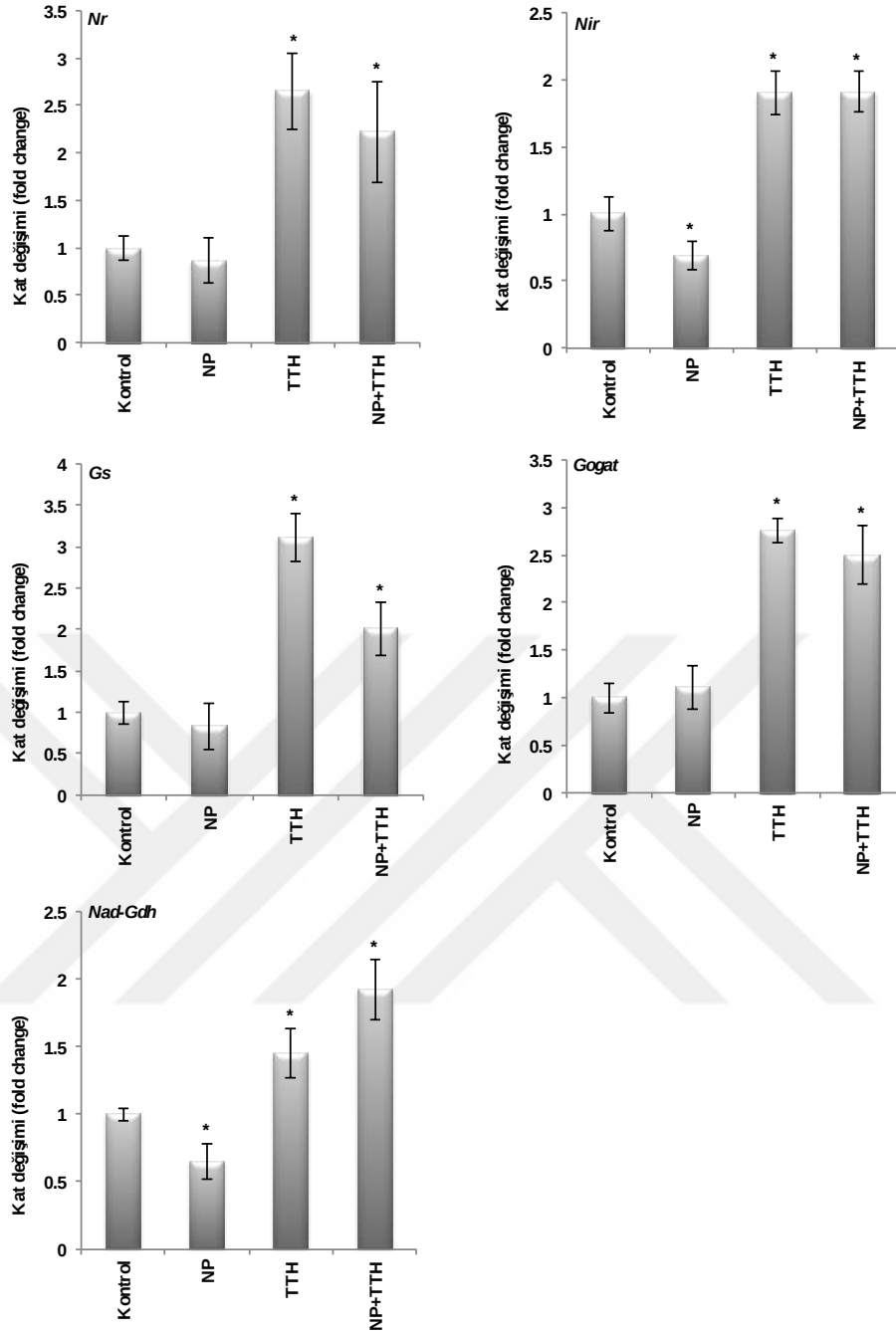
Mısır fidelerine tek başına uygulanan Cu(OH)₂ NP APX, DHAR ve MDHAR genlerinin ekspresyonunu down-regüle ederken, Gr geninin ekspresyonunu up-regüle etti. Diğer taraftan, fidelere tek başına uygulanan TTH ASA-GSH sistemi ile ilişkili çalışılan genlerin tamamının ekspresyonunu up-regüle etti. Fidelere birlikte uygulanan Cu(OH)₂ NP ve TTH GR ve MDHAR genlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde stimüle etti (Şekil 35).



Şekil 35. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde ASA-GSH sistemi ile ilişkili genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi

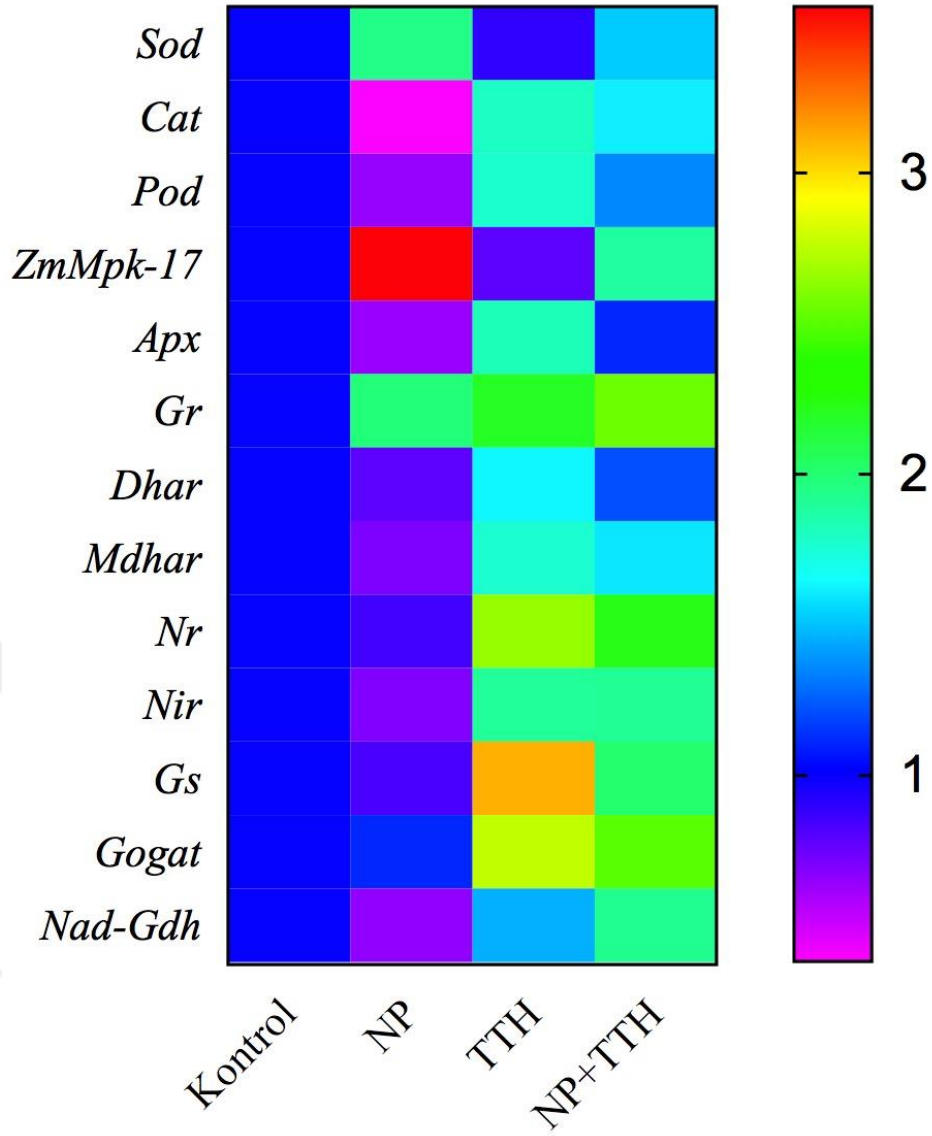
Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonu üzerine etkisi

Cu(OH)₂ NP stresi altında azot metabolizması ile ilişkili genler down-regüle olurken Cu(OH)₂ NP streli fidelere TTH uygulaması bu genlerin ekspresyonunu up-regüle etti. Fidelere tek başına uygulanan TTH ise azot metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonunu stimüle etti (Şekil 36).



Şekil 36. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde azot metabolizması ile ilişkili genlerinin ekspresyonu üzerine etkisi.

Mısır fidelerine Cu(OH)₂ NP, TTH veya Cu(OH)₂ NP+TTH uygulandığında antioksidan sistem, ASA-GSH sistemi ve azot metabolizması ile ilgili çeşitli genlerin ekspresyonları analiz edildiğinde tek başına Cu(OH)₂ NP uygulamasının en fazla ZmMpk-17 geninin ekspresyonunu artırdığı, CAT geninin ekspresyonunu ise en fazla azalttığı görüldü. Tek başına TTH uygulaması en fazla GS geninin ekspresyonunu artırırken, en çok ZmMpk-17 geninin ekspresyonunu azalttı (Şekil 37).



Şekil 37. Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının mısır fidelerinde antioksidan sistem, ASA-GSH sistemi ve azot metabolizması ile ilgili çeşitli genlerin ekspresyonlarına etkisini gösteren ısı haritası

Tartışma

Bu çalışmada bakır hidroksit nanopestisit (Cu(OH)₂ NP) ve tavuk tüyü protein hidrolizatı (TTH) uygulamalarının mısır fidelerinin büyümesi üzerine etkisi çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal parametreler kullanılarak araştırıldı. Ayrıca Cu(OH)₂ NP ve TTH uygulamalarının antioksidan sistem, ASA-GSH döngüsü ve azot metabolizması ile ilişkili çeşitli genlerin ekspresyonları üzerine etkisi de incelendi. Çalışma kapsamında bitki büyümesi, klorofil içeriği, protein miktarı, prolin birikimi, toplam fenolik madde miktarı, bakır konsantrasyonu, lipid peroksidasyonu, hidrojen peroksit ve süperoksit anyon seviyeleri, antioksidan enzim (SOD, CAT, POD) aktiviteleri, ASA-GSH döngüsü ile ilişkili enzimatik (APX, GR, DHAR, MDHAR) ve enzimatik olmayan antioksidanların (ASA, DHA, GSH,

GSSG) miktarları, azot metabolizmasında yer alan enzimlerin (NR, NİR, GS, GOGAT, NAD-GDH) aktivitelerindeki değişiklikler ile antioksidan sistem, ASA-GSH döngüsü ve azot metabolizması ile ilişkili çeşitli genlerin ifadelerindeki değişikliklere bakıldı.

Sonuçlar, Cu(OH)₂ NP uygulamasının mısır fidelerinin büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiğini, hem sürgün hem de kök uzunluğunu azalttığını gösterdi. Sonuçlarımızla uyumlu olarak Yan *et al.* (2022) marul fidelerine uygulanan Cu(OH)₂ NP'nin fidelede radikula uzunluğunu önemli ölçüde inhibe ettiğini rapor etmiştir. Yine Zhao *et al.* (2017) mısır fidelerine uygulanan 100 mg Cu(OH)₂ NP'nin yaprak biyomasını önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir. Öte yandan, bu çalışmada Cu(OH)₂ NP mısır fidelerinin yapraklarına uygulandıktan üç gün sonra yapraklarda bariz toksisite semptomları gözlenmedi. Yine bu sonuçlarımızla uyumlu olarak Zhao *et al.* (2017 a, b) mısır ve salatalık yapraklarına uygulanan Cu(OH)₂ NP'nin yapraklarda gözle görülebilir toksik semptomlara yol açmadığını kaydetmiştir. Cu(OH)₂ NP stresi altındaki mısır fidelerine uygulanan TTH fidelede kök ve gövde gelişimini stimüle etmiştir. Sonuçlarımıza paralel olarak Gezgincioğlu and Atıcı (2023) TTH'ın soğuk stresi altındaki buğday fidelerinde kök ve gövde gelişimini teşvik ettiğini bildirmiştir. TTH azot, kükürt, kalsiyum, fosfor, magnezyum gibi bitki beslenmesi açısından önemli elementleri yüksek oranda ihtiva etmektedir. TTH ayrıca arjinin, sistein, glutamat ve fenil alanin gibi amino asitler bakımından da oldukça zengin protein içeren bir biyogübre niteliğindedir. Dolayısıyla TTH'ın bitki büyümesi ve gelişmesine olumlu etki yapması içerdiği mineral ve aminoasitlere atfedilebilir.

Klorofil miktarının ölçülmesi bitki stresinin değerlendirilmesinde en önemli parametrelerinden biri olarak kabul edilir (Pinheiro *et al.* 2013). Bu çalışmada, Cu(OH)₂ NP uygulaması mısır fidelerinde klorofil miktarını azaltmıştır. Klorofil miktarındaki azalma azalan fotosentetik aktivite nedeniyle gövde büyümesindeki azalmayı açıklayabilir. Sonuçlarımızla tutarlı olarak Zhao *et al.* (2017a) 100 mg Cu(OH)₂ NP uygulamasının mısır fidelerinde klorofil miktarını azalttığını rapor etmiştir. Öte yandan Cu(OH)₂ NP stresi altındaki fidelere uygulanan TTH klorofil miktarını artırmıştır. TTH prolin, glutamat gibi klorofil biyosentezinde önemli rol oynayan amino asitleri bol miktarda bulundurmaktadır. Bununla birlikte TTH'ın fotosentetik pigmentlerin biyosentezini indükleyen sitokin benzeri bileşikler taşıyıp taşınmadığı bilinmemektedir. Bu nedenle TTH'ın bitki büyümesi ve fotosentetik pigmentler üzerindeki etki mekanizmasının tam olarak anlaşılması için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Cu(OH)₂ NP stresi altında mısır fidelerinde protein miktarı artmıştır. Yine bitkilerdeki önemli osmoprotektanlardan biri olan prolinin konsantrasyonu ve toplam fenolik madde

miktarı $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi koşulları altında artış göstermiştir. Tek başına TTH uygulaması mısır fidelerinde protein ve prolin miktarlarını artırmış fenolik madde miktarını kontrole göre değiştirmemiştir. Tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulamaları ile kıyaslandığında $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında fidelere uygulanan TTH protein, prolin ve fenolik madde miktarlarını daha fazla artırmıştır. Sonuçlarımızla paralel olarak TTH'nın soğuk stresi koşulları altındaki buğdayda protein ve prolin miktarlarını artırdığı Gezgincioğlu and Atıcı (2023) tarafından bildirilmiştir. Yine Horri *et al.* (2007) mısır ve soya fasulyesine uygulanan balık protein hidrolizatının fenolik madde miktarını artırdığını rapor etmiştir. Gurav and Judav (2013) tavuk tüyü protein hidrolizatının muz fidelerinde fenolik madde miktarını artırdığını kaydetmiştir. Bitkilerde stres koşulları altında prolin gibi osmoprotektanların miktarının ve sekonder metabolitlerin sentezinde kullanılan fenolik maddelerin miktarının arttığı bilinmektedir. Çalışmada kullanılan TTH yüksek oranda prolin taşımaktadır. Yine TTH çok sayıda mineral ve amino asit ihtiva ettiğinden stres koşullarındaki mısır fidelerinde hem protein hem de prolin sentezini indüklemiştir.

ICP-MS verileri $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulanmış fidelerin hem kök hem de gövdelerinde Cu konsantrasyonunda artış olduğunu göstermiştir. Özellikle gövdedeki Cu konsantrasyonu kontrol grubuna göre yaklaşık 5 kat artmıştır. Çalışmada $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP mısır yapraklarına spreyleme yöntemi ile uygulanmıştır. Uygulamayı takip eden ilk 24 saatte çok sayıda nanopestisit partikülünün yaprak yüzeyine yapışması ve stomalar vasıtasıyla bitkinin hücrelerine geçtiği düşünülmektedir. Çünkü 10 günlük mısır fidelerinin stomaların çapı nanopartiküllerin alınması için yeterince büyüktür. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulanmış mısır köklerinde gözlenen Cu konsantrasyonu artışı bakırın bazipetal olarak mısır gövdesinden köklerine taşındığını göstermektedir. Bu sonuçlar CuO NP'lerin mısır ve patlıcanda floem yoluyla toprak üstü kısımlardan köklere taşındığını gösteren çalışmalarla tutarlılık göstermektedir (Wang *et al.* 2012; Elmer *et al.* 2016).

$\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki mısır fidelerinde MDA, H_2O_2 ve süperoksit anyonu seviyesi önemli oranda artmıştır. Bu sonuçlar, bitkilerin bakır bazlı nanomalzemelere ortak tepkileri olarak reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşumunu ve lipid peroksidasyonunun artışı bildirilen önceki çalışmalarla tutarlıdır (Lala, 2020; Yan *et al.* 2022). $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere TTH uygulanması MDA miktarını ve ROT seviyelerini azaltmıştır. ROT hücre membranları ile birlikte proteinler, lipidler ve nükleik asitler gibi makromoleküllere zarar verebildiğinden dolayı bitki hücrelerinde normal metabolik koşullar altında dahi ROT seviyelerinin düşürülmesi elzemdir. Daha önce yapılan çalışmalarda çeşitli protein hidrolizatlarının reaktif oksijen türevlerini süpürücü etki gösterdiği ve yüksek antioksidan

aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Genç and Atıcı (2019) ve Gezgincioğlu and Atıcı (2023) TTH'nın soğuk stresi altındaki buğday fidelerinde ROT seviyelerini ve MDA miktarını düşürdüğünü rapor etmiştir. Bizim verilerimiz ile birlikte literatürde elde edilen bulgular TTH'nın stres koşulları altında bitkilerin antioksidan tepkilerine katkıda bulunduğuna işaret etmektedir.

Bitkiler reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hasarı bertaraf etmek için enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşan bir savunma sistemine sahiptir. Bu savunma sistemin enzimatik antioksidanları arasında SOD, CAT ve POD enzimleri yer almaktadır. SOD enzimi süperoksit radikalının moleküler oksijen ve hidrojen peroksit dismutasyonunu kataliz ederken CAT ve POD enzimleri H_2O_2 'yi su ve oksijene detoksifiye eder. Antioksidan enzimler pestisit ve ağır metal stresi gibi faktörlere yanıtta temel rol oynadığından bu çalışmada SOD, CAT ve POD genlerinin ekspresyonu ve enzimlerinin aktivitesinde meydana gelen değişimler incelenmiştir. $Cu(OH)_2$ NP stresi altındaki fidelede SOD ekspresyonu ve aktivitesinin arttığı buna karşın CAT ve POD ekspresyonu ve aktivitesinin azaldığı kaydedilmiştir. ZmMpk-17 Zea mays yani mısır bitkisine ait bir gen grubudur. Bu gen grubu bitkinin büyümesinde ve ağırlığında artışa neden olarak protein hidrolazı olarak kullanılıp büyüme regülatörü olarak görev yapar. Mısır bitkisine uygulanan gruplara bakıldığında kontrol grubuna göre tek başına uygulanan $Cu(OH)_2$ NP grubunda önemli derecede bir artışa neden olduğu tek başına uygulanan TTH grubunda ise aktivitesinde azalma olduğu görülmektedir. $Cu(OH)_2$ NP+TTH grubunda ise kontrole göre gen aktivitesinde azalma olduğu görülmektedir. Buda bize TTH grubunda yeteri kadar protein hidrolizatı olduğundan dolayı MPK-17 genini baskılayarak aktivitesini azalttığı $Cu(OH)_2$ NP grubunda ise yeteri kadar protein hidrolizatı olmadığı ve var olanlarında stres durumunda harcandığından ötürü bu grupta MPK-17 gen aktivitesi artmıştır. Sonuçlarımızla tutarlı olarak marul fidelerine uygulanan $Cu(OH)_2$ NP'nin SOD aktivitesini artırdığı, CAT ve POD aktivitesini azalttığı bildirilmiştir (Yan *et al.* 2022). $Cu(OH)_2$ NP stresi altında SOD aktivitesindeki artış SOD'un süperoksit radikalını H_2O_2 ve moleküler oksijene dönüştürdüğüne işaret etmektedir. Nitekim çalışmamızda $Cu(OH)_2$ NP stresi altındaki fidelede kontrol grubuna göre H_2O_2 seviyesi oldukça yüksek bulunmuştur. Yine $Cu(OH)_2$ NP stresi altındaki fidelede CAT ve POD aktivitelerinin azalması hücrelerde H_2O_2 birikimine işaret etmiştir. Tek başına $Cu(OH)_2$ NP uygulaması ile kıyaslandığında $Cu(OH)_2$ NP stresi altındaki fidelere TTH uygulanması SOD aktivitesini azaltmış, CAT ve POD aktivitesini artırmıştır. Bu durumun sonucu olarak $Cu(OH)_2$ NP+TTH uygulanmış fidelede H_2O_2 seviyesi düşmüştür. Vasconcelos *et al.* (2009) ve Gezgincioğlu and Atıcı (2023) protein hidrolizatlarının kuraklık ve soğuk stresi altındaki bitkilerde antioksidan enzimlerin aktivitelerini teşvik ettiğini ve böylece stresin etkilerini

hafiflettiğini bildirmiştir. Çalışmamızdan elde edilen veriler ile birlikte literatür verileri değerlendirildiğinde SOD, CAT ve POD enzimlerinin Cu(OH)₂ NP stresinin etkilerinin hafifletilmesinde önemli rol oynadığı değerlendirilmiştir.

Bitki hücrelerinde reaktif oksijen türevlerinin detoksifiye edilmesinde ASA ve GSH gibi enzimatik olmayan antioksidanlar hem doğrudan hem de dolaylı olarak önemli katkı sağlar. Hücrelerde en bol bulunan çözünür antioksidanlardan olan ve bitkiler tarafından antioksidan savunma sistemini aktive etmek için üretilen ASA ve GSH hücrel redoks durumunun düzenlenmesinde, ASA-GSH döngüsünde temel rol üstlenir. Yine ASA-GSH döngüsünde ASA ve GSH ile birlikte APX, GR, DHAR ve MDHAR gibi enzimlerin koordineli fonksiyonları H₂O₂'yi su ve oksijene dönüştürür ve ASA ve GSH'ı daha fazla geri dönüştürür (Mishra *et al.* 2022). Bu çalışmada mısır fidelerine uygulanan Cu(OH)₂ NP ve TTH fidelerdeki ASA ve GSH miktarını artırmıştır. Cu(OH)₂ NP stresi altındaki fidelere TTH uygulaması ASA ve GSH konsantrasyonlarını daha fazla artırmıştır. Yine, mısır fidelerinde Cu(OH)₂ NP stresi altında DHA ve GSSG miktarı önemli ölçüde artmıştır. Diğer taraftan Cu(OH)₂ NP stresi altındaki mısır fidelerine TTH uygulanması DHA ve GSSG miktarını tek başına Cu(OH)₂ NP uygulanan gruplara göre önemli ölçüde azaltmıştır. Çok sayıda çalışmada artan ASA ve GSH veya düşük miktardaki DHA ve GSSG ile yüksek ASA/DHA ve GSH/GSSG'yi korumanın abiyotik stres kaynaklı ROT birikimine karşı savunma için ana strateji olabileceği bildirilmiştir (Kocsy *et al.* 2001; Fotopulos *et al.* 2010). Bu çalışmada Cu(OH)₂ NP stresi altındaki fidelere düşük ASA/DHA ve GSH/GSSG oranı, buna karşın Cu(OH)₂ NP+TTH uygulanmış fidelere yüksek ASA/DHA ve GSH/GSSG oranı belirlenmiştir. Bu sonuç, Cu(OH)₂ NP'nin antioksidan bileşiklerin oksitlenmiş formlarının birikmesine neden olduğunu, TTH'nin ise bu oksitlenmiş formların oluşumunu engellediğini göstermektedir. TTH uygulanmasına bağlı olarak ASA/DHA oranının artışı TTH'nin ihtiva ettiği alkali amino asitlerle ilişkili olabilir. TTH yüksek oranda arjinin, lizin ve histidin amino asitleri içermektedir ve bu amino asitler güçlü antioksidan özellik göstermektedir (Guo *et al.* 2009). Yine TTH uygulanmasına bağlı olarak GSH/GSSG oranının artışı TTH'nin yüksek oranda sistein ve metiyonin gibi sülfürlü amino asitler taşımasına atfedilebilir. Bilindiği gibi bu aminoasitler antioksidan enzimlerin aktivasyonunda ve oksidatif stresi önlemek için GSH biyosentezinde oldukça önemlidir (Foyer and Noctor, 2005). Cu(OH)₂ NP stresi altındaki fidelere TTH uygulaması APX, GR, DHAR ve MDHAR genlerinin ekspresyonunu ve enzim aktivitelerini tek başına Cu(OH)₂ NP uygulama gruplarına kıyasla artırmıştır. Bu TTH'nin ASA-GSH döngüsü enzimlerini indüklemeye yeteneğine ve askorbat ve glutatyonun rejenerasyonu üzerine doğrudan bir etkiye sahip olduğuna işaret etmektedir. Deney koşullarımızda TTH'nin Cu(OH)₂ NP stresi altında ASA-GSH döngüsü ve redoks tepkimesi

üzerindeki olumlu etkisi, soğuk stresi altındaki buğday bitkilerinde gözlenene benzerdi (Gezgincioğlu and Atıcı, 2023).

Bu çalışmada azot metabolizması ile ilişkili enzimlerin aktivitesinin ve genlerin ekspresyonunun $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında azaldığı tespit edilmiştir. Azot, nükleotitler, proteinler, ve nükleik asitler gibi temel azot içeren moleküllerin temel bileşenidir, bu nedenle azot ve azot metabolizması bitki büyümesinde ve gelişmesinde son derece önemli rol oynar (Andrews *et al.* 2009). Azot bitkiler tarafından nitrat (NO_3^-) formunda alınır ve nitrat nitrat redüktaz (NR) enziminin aktivitesi ile nitrite (NO_2) dönüştürülür. Nitrit ise nitrit redüktaz (NİR) enzimin aktivitesi ile amonyuma (NH_4) dönüşür. NR tarafından katalize edilen nitratın nitrite indirgenmesi, nitratın özümsemesinde hız sınırlayıcı adım olarak kabul edilir (Campbell, 1999). Bu durum sonunda bitkilerin büyümesini ve organik azot durumunu etkiler. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında NR aktivitesindeki azalma, bakırın önemli sülfidril gruplarına bağlanıp enzimi inaktive etmesine atfedilir (Xiong *et al.* 2006). Çalışmamızda $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulanan gruplarda bakır miktarının 5 kat arttığı belirlenmiştir. Bakır miktarındaki artışın NR aktivitesini azaltmış olması muhtemel görünmektedir. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP maruziyetinin NR aktivite düşüşü üzerindeki bir başka etkisi $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi esnasında üretilen ROT'ların neden olduğu enzim parçalanmasındaki artışta olabilir. Bilindiği gibi serbest radikaller, oksidatif reaksiyonla veya proteolitik aktiviteyi artırmak yoluyla proteinlerin parçalanmasına neden olabilir. Yine $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında ROT birikimi hücre zarı geçirgenliğinin artmasına, bu durumda nitrat alınımının azalmasına yol açmış olabilir (Shadid *et al.* 2019). Bitkilerde Cu stresi altında amonyum birikiminin arttığı rapor edilmiştir. Bitkilerde amonyum birikimi GS/GOGAT sistemi veya GDH sistemi aracılığıyla asimile edilir. GS/GOGAT yolunun yüksek bitkilerde azot asimilasyonu için ana yol olduğu düşünülmektedir ve bu yol amonyumu organik bir maddeye dönüştürmeye yardımcı olur (Vega-Mas *et al.* 2019). $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında mısır fidelerinde görülen GS ve GOGAT aktivitesindeki azalış azot miktarındaki azalma, amonyum miktarında artış ve amonyum asimilasyonundaki baskılanma ile ilişkili olabilir. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere uygulanan TTH azot metabolizması ile ilişkili genlerin ekspresyonunu ve enzimlerin aktivitelerini artırmıştır. TTH azot, sülfür, amino asitler ve bitki beslenmesi için gerekli çok sayıda minerali yüksek oranda ihtiva eden zengin bir kaynaktır. TTH azot metabolizmasında oldukça önemli rolü olan NR'nin aktivitesini, bitkideki amino asitlerin sentezini ve azot seviyesini artırmak yoluyla bitki büyümesini teşvik etmiş olabilir. NR aktivitesinin artması N asimilasyonunu artmasına yol açmış ve böylece bitkideki protein sentezi artarak strese karşı bir tolerans geliştirilmiş olabilir. TTH ayrıca GS ve GOGAT aktivitesini artırarak amonyum asimilasyonun hızlandırmış ve böylece strese toleransı teşvik ederek bitki büyümesini teşvik

etmiş olabilir. Nitekim araştırmalar GS ve GOGAT aktivitesindeki artışın azot asimilasyonunu, translokasyonunu ve amino asit sentezini iyileştirebileceğini ortaya koymuştur (Wang *et al.* 2003).



SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma mısır fidelerinde $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP'nin oluşturduğu strese karşı fidelere eksojen olarak uygulanan TTH'nin nanopestisitinin oluşturduğu zararlı etkileri hafifletip hafifletmediğini araştırmak için gerçekleştirilmiştir. Çalışmada hidroponik ortamda yetiştirilen 9 günlük mısır fidelerinin yapraklarına 500 mg/L Kocide 3000 ($\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP) ve/veya 500 mg/L tavuk tüyü protein hidrolizatı uygulanmıştır. Uygulamadan 3 gün sonra fideler hasat edilmiş ve fide yapraklarında çeşitli fizyolojik, biyokimyasal ve moleküler analizler yapılmıştır. Çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

1. Mısır fidelerine uygulanan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP fidelere kök ve gövde uzunluğunu azaltmış, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında fidelere uygulanan TTH kök ve gövde uzunluğunu artırarak büyümeyi teşvik etmiştir.
2. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulaması mısır fidelerinde klorofil miktarını azaltmıştır. Tek başına uygulanan TTH klorofil miktarını artırmıştır. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki mısır fidelerine uygulanan TTH ise Klorofil miktarını artırmıştır.
3. Mısır fidelerine uygulanan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP fidelere protein, prolin ve toplam fenolik madde miktarını artırmış, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında fidelere uygulanan TTH protein ve prolin miktarını daha fazla stimüle etmiş ancak fenolik madde miktarını tek başına fidelere uygulanan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP'ye göre azaltmıştır.
4. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulaması mısır fidelerin hem kök hemde gövdelerindeki bakır konsantrasyonunu artırmıştır. Özellikle gövdedeki bakır konsantrasyonu kontrole göre yaklaşık 5 kat artış göstermiştir. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP'nin oluşturduğu toksisite semptomları $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP'nin içerdiği bakır iyonlarına atfedilmiştir.
5. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki mısır fidelerinde MDA, H_2O_2 ve süperoksit anyonu seviyesi kontrole göre oldukça önemli biçimde yükselmiş, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere uygulanan TTH MDA ve ROT miktarlarını önemli ölçüde azaltmıştır.
6. Mısır fideleri $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında artan MDA ve ROT miktarını azaltmak için antioksidan savunma sisteminin bir parçası olan SOD, CAT ve POD enzimlerinin aktivitelerini yeniden düzenlemiş, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında fidelerdeki SOD aktivitesi artmış, CAT ve POD aktivitesi azalmıştır. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH ise SOD enzim aktivitesini

azaltmış, CAT ve POD enzim aktivitesini artırmıştır.

7. Mısır fidelerinde $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında GR enzim aktivitesi artmış, APX, DHAR ve MDHAR enzimlerinin aktivitesi azalmıştır. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH ASA-GSH sistemi ile ilişkili bu enzimlerin tamamının aktivitesini fidelere tek başına uygulanan $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP'ye kıyasla artırmıştır.
8. Mısır fidelerinde $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında enzimatik olmayan antioksidanlardan ASA ve GSH ve onların oksitlenmiş formları olan DHA ve GSSG miktarları önemli ölçüde artmıştır. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH ASA ve GSH miktarlarını daha fazla artırmış ancak DHA ve GSSG oranlarını tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulamasına göre önemli ölçüde azaltmıştır.
9. Azot metabolizması ile ilişkili NR, NİR, GS, GOGAT ve NAD-GDH enzimlerinin aktiviteleri $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında azalmış, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH bu enzimlerin aktivitelerini stimüle etmiş ve tek başına $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP uygulama gruplarına göre önemli oranda artırmıştır.
10. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında antioksidan enzimleri kodlayan genlerden SOD geninin ekspresyonu artmış, CAT ve POD genlerinin ekspresyonunu azaltmıştır. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH ise SOD geninin ekspresyonu azaltmış, CAT ve POD genlerinin ekspresyonu artırmıştır.
11. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında ASA-GSH sistemi ile ilişkili enzimleri kodlayan genlerden GR geninin ekspresyonu artmış, APX, DHAR ve MDHAR genlerinin ekspresyonu azalmıştır. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH kontrole göre GR ve MDHAR genlerinin ekspresyonunu artırmıştır.
12. $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altında azot metabolizması ile ilişkili enzimleri kodlayan genlerin ekspresyonu ya değişmemiş ya da azalmışken, $\text{Cu}(\text{OH})_2$ NP stresi altındaki fidelere dışardan uygulanan TTH azot bu genlerin tamamının ekspresyonunu up-regüle etmiştir.

Bakır bazlı nanopestisitler tüm dünyada tarımda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu nanopestisitlerin kullanılan konsantrasyonlarının artışı kültür bitkilerinde strese neden olabileceğinden kullanım süresi ve dozunun düzenli olarak kontrol edilmesi önerilmektedir. Tavuk tüyü protein hidrolizatı amino asitler, azot, sülfür ve mineraller bakımından oldukça zengin biyogübre olarak kullanılabilecek bir malzemedir. Bu malzemenin kültür bitkilerinde pestisitlerin neden olduğu zararları azaltmak amacıyla kullanılabileceği önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdel Sabour, MF., Abo El-Seoud, MA. 1996. Effect of organic waste compost addition on sesame growth, yield and chemical composition, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 60,157-164.
- Abreu F.O., Oliveira E.F., Paula H.C., de Paula R.C. (2012): Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydrate Polymers*, 89: 1277–1282.
- Acosta E. (2009): Bioavailability of nanoparticles in nutrient and nutraceutical delivery. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 14: 3–15.
- Adak T., Kumar J., Shakil N.A., Walia S. (2012): Development of controlled release formulations of imidacloprid employing novel nano-ranged amphiphilic polymers. *Journal of Environmental Science and Health, Part B. Pesticides*, 47: 217–225.
- Agarwal, S. and Pandey, V., 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.
- Aghaee, A., Moradi, F., Zare-Maivan, H., Zarinkamar, F., Irandoost, HP., Sharifi, P. 2011. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress.
- Ahmed, M., Hassen, F., Qadeer, U., and Aslam, MA. 2008. Silicon application and drought tolerance mechanism of sorghum. *African Journal of Agricultural Research*, 6(3), 594-607.
- Aidoo, MK., Sherman, Tal., Lazarovitch, N., Faita, Aaron. and Rachmilevitch, Shimon. 2017. A bell pepper cultivar tolerant to chilling enhanced nitrogen allocation and stress-related metabolite accumulation in the roots in response to low root-zone temperature. *Physiologia Plantarum*, doi:10.1111/ppl.12584
- Akkuş, İ. 1995. Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkiler, Mimoza Yayınları, Konya.
- Aktas, M., Altay, K., Dumanli, N., 2005. Development of a polymerase chain reaction method for diagnosis of *Babesia ovis* infection in sheep and goats. *Vet. Parasitol*, 133, 277–281.
- Alemán, J., Chadwick, A. V., He, J., Hess, M., Horie, K., Jones, R. G., Kratochvíl, P., Meisel, I., Mita, I. ve Moad, G., 2007, Definitions of terms relating to the structure and processing of sols, gels, networks, and inorganic-organic hybrid materials (IUPAC Recommendations 2007), *Pure and Applied Chemistry*, 79 (10), 1801-1829.
- Alexandratos, N. & Bruinsma, J. World Agriculture: Towards 2015/2030: The 2012 Revision (Food and Agricultural Organization of the United Nations, 2012); <http://www.fao.org/docrep/016/ap106e/ap106e.pdf>
- Allen DJ, Ort DR. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. *Trends Plant Science*, 6(1),36-42.
- Andarwulan, N. and Shetty, K. 1999. Improvement of pea (*Pisum sativum*) seed vigour response by fish protein hydrolysates in combination with acetyl salicylic acid. *Process Biochemistry* 35, 159–165.
- Andrews JE. and Roberts DWA. 1961. Association Between Ascorbic Acid Concentration

- And Cold Hardening In Young Winter Wheat Seedlings. Canadian Journal of Botany, 39(3), 503-512.
- Andrews, M., Lea, P. J., Raven, J. A., and Azevedo, R. A., Nitrogen use efficiency. 3. Nitrogen fixation: genes and costs, Ann. Appl. Biol., 2009, vol. 155, pp. 1–13
- Anjali, C., Khan, S. S., Margulis-Goshen, K., Magdassi, S., Mukherjee, A. ve Chandrasekaran, N., 2010, Formulation of water-dispersible nanopermethrin for larvicidal applications, Ecotoxicology and Environmental Safety, 73 (8), 1932-1936.
- Anjali, C., Sharma, Y., Mukherjee, A. ve Chandrasekaran, N., 2012, Neem oil (*Azadirachta indica*) nanoemulsion—a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*, Pest management science, 68 (2), 158-163.
- Anjum N.A., Adam V., Kizek R., Duarte A.C., Pereira E., Iqbal M., Lukatkin A.S., Ahmad I. (2015): Nanoscale copper in the soil-plant system – Toxicity and underlying potential mechanisms. Environmental Research, 138: 306–325.
- Anton N., Benoit J.P., Saulnier P. (2008): Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates– A review. Journal of Controlled Release, 128: 185–199.
- Aono, A., Hazama, M., Notoya, K., Taketomi, S., Yamasaki, H., Tsukuda, R., Sasaki, S., Fujisawa, Y. 1995. Potent ectopic bone-inducing activity of bone morphogenetic protein-4/7 heterodimer. Biochemical and Biophysical Research Communications, 210 (3), 670-7.
- Apel, K. and Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Annual Review Of Plant Physiology And Plant Molecular Biology, 55, 373-99.
- Asada, K. 1999. The Water-Water Cycle In Chloroplasts: Scavenging of Active Oxygens and Dissipation of Excess Photons. Annual Review Of Plant Physiology And Plant Molecular Biology, 50, 601-639.
- Asli S., Neumann P.M. (2009): Colloidal suspensions of clay or titanium dioxide nanoparticles can inhibit leaf growth and transpiration via physical effects on root water transport. Plant, Cell and Environment, 32: 577–584.
- Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Vayias, B. J. ve Stephou, V. K., 2008, Evaluation of a new, enhanced diatomaceous earth formulation for use against the stored products pest, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae), International journal of pest management, 54 (1), 43-49.
- Athanassiou, C., Kavallieratos, N., Benelli, G., Losic, D., Rani, P. U. ve Desneux, N., 2018, Nanoparticles for pest control: current status and future perspectives, Journal of Pest Science, 91 (1), 1-15.
- Atıcı, O. and Nalbantoğlu, B. 2003. Antifreeze proteins in higher plants Phytochemistry, 64, 1187–1196.
- Atıcı Ö., Demir Y., Kocaçalışkan İ., 2003. Effects of low temperature on winter wheat and cabbage leaves, Biologia Plantarum, 46, 603-606.
- Aziz N., Pandey R., Barman I., Prasad R. (2016): Leveraging the attributes of *Mucor hiemalis*-derived silver nano- particles for a synergistic broad-spectrum antimicrobial platform. Frontiers in Microbiology, 7: 1984. doi: 10.3389/ fmicb.2016.01984
- Baalousha, M. ve Lead, J. R., 2009, Overview of Nanoscience in the Environment, Environmental and human health impacts of nanotechnology. Wiley-Blackwell Publishing Ltd, Hoboken, NJ, 1-25.

- Badawy M.E., Rabea E.I. (2011): A biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, 2011: 460381. doi: 10.1155/2011/460381
- Bai, W., Zhang, C., Jiang, W., Zhang, Z. ve Zhao, Y., 2009, Progress in studies on environmental behaviors and toxicological effects of nanomaterials, *Asian Journal of Ecotoxicology*, 4 (2), 174-182.
- Bailly, C., Benamar, A. and Corbineau, F. 1996. Changes in malondialdehyde content and in superoxide dismutase, catalase and glutathione reductase activities in sunflower seeds as related to deterioration during accelerated aging. *Plant Physiology*, 97, 104-110.
- Bajpai S.K., Thomas V., Mohan Y.M., Sreedhar B. (2007): A versatile strategy to fabricate hydrogel-silver nanocomposites and investigation of their antimicrobial activity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 315: 389–395.
- Balaure P., Grumezescu A.M. (2014): Methods for synthesizing the macromolecular constituents of smart nanosized carriers for controlled drug delivery. *Current Medicinal Chemistry*, 21: 3333–3374.
- Balaure, P. C., Gudovan, D. ve Gudovan, I., 2017, Nanopesticides: a new paradigm in crop protection, In: *New pesticides and soil sensors*, Eds: Elsevier, p. 129-192.
- Banci, L. 1997. Structural properties of peroxidases. *Journal of Biotechnology* 53,(2–3) , 253- 263.
- Bang S.H., Yu Y.M., Hwang I.C., Park H.J. (2009): Formation of size-controlled nano carrier systems by self-assembly. *Journal of Microencapsulation*, 26: 722–733.
- Barik T.K., Sahu B., Swain V. (2008): Nanosilica-from medicine to pest control. *Parasitology Research*, 103: 253. doi: 10.1007/s00436-008-0975-7
- Barro, F., Fontes, A.G., Maldonado, J.M., 1991. Organic nitrogen content and nitrate and nitrite reductase activities in tritordeum and wheat grown under nitrate or ammonium. *Plant and Soil*, 135, 251-256.
- Barrs, HD., And Weatherly, PE., 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* , 15,413– 428.
- Bates, L., Waldren, RP., Teare, ID., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, 39, 205–207.
- Baxter, A., Mittler, R and Suzuki, N. 2013. ROS as key players in plant stress signalling. *Journal of Experimental Botany*, 65 (5), 1229–1240.
- Bertamini, M., Muthuchelian, K., Rubinigg, M., Zorer, R., Velasco, R., and Nedunchezian, N. 2006. Low-night temperature increased the photoinhibition of photosynthesis in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) leaves. *Environmental Experimental Botany*, 57, 25-31.
- Beuchamp, C. and Fridovich, I., 1971. Isozymes of superoxide dismutase from wheat germ.
- Bhagat D., Samanta S.K., Bhattacharya S. (2013): Efficient management of fruit pests by pheromone nanogels. *Scientific Reports*, 3: 1294. doi: 10.1038/srep01294
- Bhagat, D., Samanta, S. K. ve Bhattacharya, S., 2013, Efficient management of fruit pests by pheromone nanogels, *Scientific reports*, 3, 1294.
- Biochimica et Biophysica Acta*, 317, 50-64.

- Blokhina, O., Virolainen, E., Kurt V. Fagerstedt 2003. Antioxidants, Oxidative Damage and Oxygen Deprivation Stress: a Review. *Annals of botany* 91-2.
- Borm, P. J. ve Kreyling, W., 2004, A need for integrated testing of products in Nanotechnology. 1–2 March 2004 By The Health And Consumer Protection Directorate General Of The European Commission: 47.
- Burgett, M. ve Fisher, G. C., 1980, Recovery of Pennicap-M® from Foraging Honey Bees and Pollen Storage Cells, *Environmental Entomology*, 9 (4), 430-431.
- Calder A.J., Dimkpa C.O., McLean J.E., Britt D.W., John-son W., Anderson A.J. (2012): Soil components mitigate the antimicrobial effects of silver nanoparticles towards a beneficial soil bacterium, *Pseudomonas chlororaphis* O6. *Science of the Total Environment*, 429: 215–222.
- Campos, J., Huertas, F., Colado ,JC. , López AL., Pablos y, A., Pablos, C.2003. Efectos De Un Programa De Ejercicio Físico Sobre El Bienestar Psicológico De Mujeres Mayores De 55 Años *Revista De Psicología Del Deporte* Vol. 12, núm. 1, pp. 7-26.
- Cao L., Chen B., Zheng L., Wang D., Liu F., Huang Q. (2015): Assessment of potential dermal and inhalation exposure of workers to the insecticide imidacloprid using whole- body dosimetry in China. *Journal of Environmental Sci- ences*, 27: 139–146.
- Cao, Y., Tan, H., Shi, T., Tang, T. ve Li, J., 2008, Preparation of Ag-doped TiO₂ nanoparticles for photocatalytic degradation of acetamiprid in water, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology*, 83 (4), 546-552.
- Carvalho F.P. (2006): Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science and Policy*, 9: 685–692. Chatterjee A.K., Chakraborty R., Basu T. (2014): Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles. *Nanotech- nology*, 25: 135101. doi: 10.1088/0957-4484/25/13/135101
- Cavani, L., Ter Halle, A., Richard, C., and Ciavatta, C. 2006. Photosensitizing properties of protein hydrolysate-based fertilizers. *J. Agric. Food Chem.* 54, 9160– 9167. doi: 10.1021/jf802362g
- Chatterjee, A. K., Chakraborty, R. ve Basu, T., 2014, Mechanism of antibacterial activity of copper nanoparticles, *Nanotechnology*, 25 (13), 135101.
- Chaudière, J., and Ferrari, R. 1999. Iliou Intracellular Antioxidants: from Chemical to Biochemical Mechanisms. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9), 949-962.
- Chen C., Han D., Cai C., Tang X. (2010): An overview of li- posome lyophilization and its future potential. *Journal of Controlled Release*, 142: 299–311.
- Chen H., Yada R. (2011): Nanotechnologies in agriculture: New tools for sustainable development. *Trends in Food Science and Technology*, 22: 585–594.
- Chen K., Yu G., He F., Zhou Q., Xiao D., Li J., Feng Y. (2017): A pH-responsive emulsion stabilized by alginate-grafted an-isotropic silica and its application in the controlled release of λ -cyhalothrin. *Carbohydrate Polymers*, 176: 203–213.
- Chen X., Schluesener H.J. (2008): Nanosilver: A nanoproduct in medical application. *Toxicology Letters*, 176: 1–12.
- Chen, H. ve Yada, R., 2011, Nanotechnologies in agriculture: new tools for sustainable development, *Trends in Food Science & Technology*, 22 (11), 585-594.
- Cheng, M., Chao, LI., Zhou, L., Xie, SC..2015. Mo marine geochemistry and reconstruction

- of ancient ocean redox states *Science China* 58, 2123–2133.
- Cheng, Y., and Song, C., 2006. Hydrogen peroxide homeostasis and signaling in plant cells. *Science in China: Series C Life Sciences*, 49:1 1—12
- Chhipa, H., 2017, Nanofertilizers and nanopesticides for agriculture, *Environmental Chemistry Letters*, 15 (1), 15-22.
- Chinnusamy, V., Zhu, J., Zhu, JK. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants.
- Choi, WS., Yan, M., Nusinow, D., Gralla, JD. 2002. In vitro transcription and start site selection in *Schizosaccharomyces pombe*. *Journal Molecular Biology*, 319(5),1005-13.
- Choudhary G., Kumar J., Walia S., Parsad R., Parmar B.S. (2006): Development of controlled release formulations of carbofuran and evaluation of their efficacy against *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 4727–4733.
- Coelho, S., 2009, European pesticide rules promote resistance, researchers warn, *Science*, 323 (5913), 450-450. Çıracı, S., Özbay, E., Gülseren, O., Demir, H., Bayındır, M., Oral, A., Senger, T., Aydın, A. ve Dana, A., 2005, Colla, G., Rouphael, Y., Canaguier, R., Svecova, E. and Cardarelli, M. 2015b. Biostimulant action of a plant derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis, *Plant Science*, doi: 10.3389/00448
- Colla, G., Rouphael, Y., Di Mattia, E., El-Nakhel, C., Cardarelli, M., 2015a. Co-inoculation of *Glomus intraradices* and *Trichoderma atroviride* acts as a biostimulant to promote growth, yield and nutrient uptake of vegetable crops. *Journal Science Food Agriculture* 95, 1706–1715.
- Corpas, FJ., Hayashi, M., Mano, S., Nishimura, M., Barroso, JB. 2001. Peroxisomes Are Required for in Vivo Nitric Oxide Accumulation in the Cytosol following Salinity Stress of *Arabidopsis* Plants *Plant Physiology*, 151, 2083–2094.
- Costa, P., Neto, A., Bezerra, M. 2005. Antioxidant enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Braz. Journal of Plant Physiology* 17(4), 353-362.
- Creissen, G., Broadbent, P., Stevens, R., Wellburn, AR. and Mullineaux, P. 1996. Manipulation of glutathione metabolism in transgenic plants. *Biochemical Society Transactions*, 24, 465-469.
- Croy S.R., Kwon G.S. (2006): Polymeric micelles for drug delivery. *Current Pharmaceutical Design*, 12: 4669–4684. Cvjetko P., Zovko M., Štefanić P.P., Biba R., Tkalec M., Domijan A.M., Balen B. (2018): Phytotoxic effects of silver nanoparticles in tobacco plants. *Environmental Science and Pollution Research*, 25: 5590–5602.
- Costa J.T., Forim M.R., Costa E.S., De Souza J.R., Mondego J.M., Junior A.L.B. (2014): Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. *Journal of Stored Products Research*, 56: 49–53.
- Dahoumane, S. A., Jeffries, C., Mechouet, M. ve Agathos, S. N., 2017, Biosynthesis of inorganic nanoparticles: a fresh look at the control of shape, size and composition, *Bioengineering*, 4 (1), 14.
- Das S., Chaudhury A. (2011): Recent advances in lipid nanoparticle formulations with solid matrix for oral drug delivery. *AAPS PharmSciTech*, 12: 62–76.
- Das, S., Yadav, A. ve Debnath, N., 2019, Entomotoxic efficacy of aluminium oxide, titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles against *Sitophilus oryzae* (L.): A comparative analysis, *Journal of Stored Products Research*, 83, 92-96.

- Davey, MW., Montagu, MV., Inze, D., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, NB, IJJ., Strain, JJ., Favell, D. and John Fletcher. 2000. Plant L-ascorbic acid: chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 825-860.
- Davey, W. 2000. Katrien Kenis, and Johan Keulemans Genetic Control of Fruit Vitamin C Contents. *Plant Physiology*, 142(1), 343–351.
- Dehon, L., Macheix, JJ., and Durand, M. 2002. Involvement of peroxidases in the formation of the brown coloration of heartwood in *Juglans nigra*. *Journal Experimental of Botany*, 53, 303–311.
- Demetzos C. (2015): Advanced drug delivery nanosystems: Perspectives and regulatory issues. In: Vlamos P., Alex- iou A. (eds): *GeNeDis 2014. Advances in Experimental Medicine and Biology*. Cham, Springer: 195–198.
- Demirbilek, M. E., 2015, Tarimda ve gidada nanoteknoloji, *Gıda Ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi* (15).
- Denizli, Pamukkale Üniversitesi Yayınları: 274. Design of Nanodrugs. *Nanoscale*, 6: 663–677.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., Hailiu, R., 2002. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 3010–3014.
- Dhawan A.K., Peshin R. (2009): Integrated pest management: Concept, opportunities and challenges. In: Peshin R., Dha- wan A.K. (eds): *Integrated Pest Management: Innovation- Development Process*. Dordrecht, Springer: 51–81.
- Dische Z., 1962. Color reaktions of carbohydrates. *Methods in carbohydrate chemistry*, 1,475-514.
- Divya K., Jisha M.S. (2018): Chitosan nanoparticles prepara- tion and applications. *Environmental Chemistry Letters*, 16: 101–112.
- Dixon, M. 2010. Confining and defining proprietary estoppel: the role of unconscionability. *Legal Studies* 30: 408-420.
- Dogra, R. and A. Kaur, 1994. Effect of steroids on some growth and biochemical parameters of *Triticum aestivum* L. during germination. *Field Crops Research*, 8: 611-620.
- Durmuş, N., 2003. Büyümeyi düzenleyici maddelerin oksidatif stres üzerine etkileri. *Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon*.
- E. 2012. Assessment of Feather Hydrolysate from Thermophilic Actinomycetes for Soil Amendment and Biological control Application. *International Journal of Environmental Research*, 6(2):467-474.
- Elstner, EF. and Heupel, A. 1976. Inhibition of nitrite formation from hydroxylammonium chloride: a simple assay for superoxide dismutase. *Analytical Biochemistry*, 70, 616-620,
- Ersöz, M., Işitan, A. ve Balaban, M., 2018, Nanoteknoloji 1: nanoteknolojinin temelleri.
- Ertani, A., Pizzeghello, D., Francioso, O., Sambo, P., Sanchez-Cortes, S., and Nardi, S. 2014. *Capsicum chinensis* L. growth and nutraceutical properties are enhanced by biostimulants in a long-term period: chemical and metabolomic approaches. *Frontiers in Plant Science*, 5:375.
- Esim N, Atici O (2015). Effects of Exogenous Nitric Oxide and Salicylic Acid on Chilling-Induced Oxidative Stress in Wheat (*Triticum aestivum*). *Frontiers in Life Science*.

- Esim, N., 2011. Nitrik Oksitin Mısırdaki (Zea Mays) Düşük Sıcaklık Stresi Toleransı Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Esim, N., Atici, Ö. and Mutlu S. 2014. Effects of exogenous nitric oxide in wheat seedlings under chilling stress. *Toxicology and Industrial Health* 30(3) 268–274.
- Esim, N., Tiryaki, D., Karadagolu, O., Atici O. 2012. Toxic effects of boron on growth and antioxidant system parameters of maize (Zea mays L.) roots. *Toxicol Ind Health* DOI 10.1177/0748233712442729.
- Eyidogan, F., Oktem, H.A., Yiicel, M. 2003. .Superoxide dismutase activity in salt stressed wheat seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum* 25 (3), 263-269.
- Ezeh, A.C., Boongaarts, J., Mberu, B. 2012. Global population trends and policy options. *The Lancet*, 380, 142-148.
- Fakhfakh, N., Ktari, N., Haddar, A., Mnif, I.H., Dahmen, I., Nasri, M. 2011. Total solubilisation of the chicken feathers by fermentation with a keratinolytic bacterium, *Bacillus pumilus* A1, and the production of protein hydrolysate with high antioxidative activity. *Process Biochemistry* 46, 1731–1737.
- Farooq, M., Walker, T. W., Heintschel, B. P., Hoffmann, W. C., Fritz, B. K., Smith, V. L., Robinson, C. A. ve English, T., 2010, Impact of Electrostatic and Conventional Sprayers Characteristics on Dispersion of Barrier Spray¹, *Journal of the American Mosquito Control Association*, 26 (4), 422-429.
- Feng, J., Funk, W.D., Wang, S.S., Weinrich, S.L., Avilion, A.A., Chiu, C.P., Adams, R.R., Chang, E., Allsopp, R.C., Yu, J. 1995. The RNA component of human telomerase. *Science*. 269(5228),1236-41.
- Fischer, D. ve Moriarty, T., 2011, Pesticide risk assessment for pollinators: summary of a SETAC Pellston Workshop, Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC), Pensacola.
- Food Chemistry*, 64: 1447–1483.
- Foyer, C.H. and Halliwell, B., 1976. The presence of glutathione and glutathione reductase in chloroplasts: a proposed role in ascorbic acid metabolism. *Planta*, 133,21-25.
- Foyer, C.H. and Noctor G. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: a re-evaluation of the concept of oxidative stress in a physiological context *Plant, Cell and Environment*, 28, 1056–1071.
- Foyer, C.H. and Noctor, G. 2003. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Plant Physiology* 119, 355–364
- Foyer, C.H., Trebst, A. and Noctor, G. 2005. Signaling and integration of defense functions of tocopherol, ascorbate, and glutathione. In *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation, and Environment* (eds B. Demmig-Adams & W. W. Adams), pp. 00–00.
- Frova, C. 2006. Glutathione transferases in the genomics era: new insights and perspectives, *Biomolecular Engineering*, 2006 Sep;23(4), 149-69
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., and Minkov,
- Gechev, T., Gadjev, I., Van Breusegem, F., Inzé, D., Dukiandjiev, S., Toneva, V., Minkov, I. 2002. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 708–714.

- Ghormade, V., Deshpande, M. V. ve Paknikar, K. M., 2011, Perspectives for nano-biotechnology enabled protection and nutrition of plants, *Biotechnology Advances*, 29 (6), 792-803.
- Gill, SS., and Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology Biochemistry*, 48(12), 909-30.
- Gonçalves, C., Pereira, P. ve Gama, M., 2010, Self-Assembled Hydrogel Nanoparticles for Drug Delivery Applications, *Materials*, 3 (2), 1420-1460.
- 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. *Botanical bulletin of Academia Sinica*, (42), 259-264.
- Gorbani, A., Zarinkamar, F., Fallah, A. 2011. The effect of cold stress on the morphologic and physiologic characters of two rice varieties in seedling stage. *Journal of Cell and Tissue* 2, 235-244
- Goulson D., Nicholls E., Botías C., Rotheray E.L. (2015): Bee declines driven by combined stress from parasites, pesticides, and lack of flowers. *Science*, 347: 1255957. doi: 10.1126/science.1255957
- Gousterova, A., Nustorova, M., Paskaleva, D., Naydenov, M., Neshev, G., Vasileva-Tonkova, Griffith, M. and McIntyre, HCH. 1993. The interrelationship of growth and frost tolerance in winter rye. *Plant Physiology*, 187, 335–344
- Griffith, M., Ala, P., Yang, D.S.C., Hon, W.C. ve Moffatt, B.A., (1992). Antifreeze protein produced endogenously in winter rye leaves, *Plant Physiology*, 100; 593–596.
- Gurav, RG. and Jadhav, JP. 2013. A novel source of biofertilizer from feather biomass for banana cultivation. *Environmental Science and Pollution Research*, 20, 4532–4539.
- Güler, NS., 2008. *Ctenanthe Setosa'da Yaprak Kıvrılması Sırasında Apoplastik Ve Simplastik Alanlarda Antioksidan Sistemde Meydana Gelen Değişimler*. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
- Hagar, J., Howlinb, S., Ganio, L. 1996. Short-term response of songbirds to experimental thinning of young Douglas-fir forests in the Oregon Cascades. *Forest Ecology and Management*, 199, 333–347.
- Hakamy A., Shaikh F.U.A., Low I.M. (2015): Characteristics of nanoclay and calcined nanoclay-cement nanocomposites. *Composites Part B: Engineering*, 78: 174–184.
- Halliwell, B. 2006. Reactive Species and Antioxidants. *Redox Biology Is a Fundamental Theme of Aerobic Life*. *Plant Physiology*, 141, 312–322.
- Halliwell, B., and Gutteridge J M .1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical Journal* 219(1),1–14.
- Halliwell, B., and Gutteridge., JMC. 1999. *Free radicals in biology and medicine*: Oxford University Press.
- Hannah, M., Heyer, AG., and Hinch, DK. (2005). A global survey of gene regulation during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS Genetics* 1:e26. doi: 10.1371/journal.pgen.0010026
- Hare, PD. And Cress ,WA. 1997. Metabolic implications of stress induced proline accumulation in plants. *Plant Growth Regulation* 21, 79–102
- Havior of pesticides. In: Whitacre D.M. (ed.): *Reviews of Environmental*

Contamination and Toxicology. New York, Springer: 71–177.

- Hayles, J., Johnson, L., Worthley, C. ve Losic, D., 2017, Nanopesticides: a review of current research and perspectives, In: New Pesticides and Soil Sensors, Eds: Elsevier, p. 193–225.
- He L., Liu Y., Mustapha A., Lin M. 2011: Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. Microbiological Research, 166: 207–215.
- Heath, R.L. and Packer L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics 125(1), 189–198.
- Heidarvand, L., Maali-Amiri Reza. 2013. Physio-biochemical and proteome analysis of chickpea in early phases of cold stress. Journal of Plant Physiology 170, 459–469
- Heiligt F.J., Niederberger M. (2013): The fascinating world of nanoparticle research. Materials Today, 16: 262–271.
- Heldt, H.-W., Piechulla, B., 2011. Plant Biochemistry, Translation of the 4th German edition, Elsevier, 32 Jamestown Road, London NW1 7BY, UK.
- Hellmann C., Greiner A., Wendorff J.H. (2011): Design of pheromone releasing nanofibers for plant protection. Polymers for Advanced Technologies, 22: 407–413.
- Higashi, T., Kawamata, F., Sakamoto, T., 1974. Studies on Rat Liver Catalase. VII. Double-Labeling of Catalase by ¹⁴C-Leucine and ³H-d- Aminolevulinic Acid. Journal Biochemistry, 76, 703–708,
- Hodges, D.M., Andrews, C.J., Johnson, D.A., Hamilton, R.I., 1996. Antioxidant compound responses to chilling stress in differentially sensitive inbred maize lines. Plant Physiology, 98, 685–692.
- Hogewoning, S., Trouwborst, G., Maljaars, H., Wim, H.P. and Harbinson J. 2010. Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. Journal of Experimental Botany, 61(11), 3107–3117.
- Hong, C.Y., Hsu, Y.T., Tsai, Y.C., Kao, C.H. 2007. Expression of ascorbate peroxidase 8 in roots of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings in response to NaCl. Journal of Experimental Botany, 58, 3273–3283.
- Hooven, L. A., Chakrabarti, P., Harper, B. J., Sagili, R. R. ve Harper, S. L., 2019, Potential Risk to Pollinators from Nanotechnology-Based Pesticides, Molecules, 24 (24), 4458.
- Horii, A., McCue, P., Shetty, K. 2012. Seed vigour studies in corn, soybean and tomato in response to fish protein hydrolysates and consequences on phenolic-linked responses. Bioresource Technology 98, 2170–2177.
- Horii, T., Hase, H., Ueki, I., and Masumoto, Y. 2006. Oceanic precondition and evolution of the Indian Ocean dipole Geophysical Research Letters, 35, L03607.
- Hosseinpour Jajarm, F., Moravvej, G., Modarres Awal, M. ve Golmohammadzadeh, S., 2020, Insecticidal activity of solid lipid nanoparticle loaded by *Ziziphora clinopodioides* Lam. against *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae), International Journal of Pest Management, 1–8.
- Hu, H., Dai, M., Yao, J., Xiao, B., Li, X., Zhang, Q., Xiong, L. 2006 Overexpressing a NAM, ATAF, and CUC (NAC) transcription factor enhances drought resistance and salt tolerance in rice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United

- States 35, 12987– 12992. improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isoen-
- Hulkoti, N. I. ve Taranath, T., 2014, Biosynthesis of nanoparticles using microbes—a review, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474-483.
- Hund-Rinke, K. ve Simon, M., 2006, Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (TiO₂) on algae and daphnids (8 pp), *Environmental Science and Pollution Research*, 13 (4), 225-232.
- Gwchev. T., Gadjev I., Van B.T., İnze. D., Dukianjdjev. S.,Toneva. V., Minkov. I., 2003. Hydrogen peroxide protects tobacco from oxidative stress by inducing a set of antioxidant enzymes. *Cellular Molecul Life Science*, 59, 708–714.
- Shah, M.A., Khan, A.A., 2014. *International journal of pest management*, 60 (2), 100-113.
- Hong-Bo, S., Xiao-Yan, C., Li-Ye, C., Xi-Ning, Z., 2006. Investigation on the relationship of Proline with wheat anti-drought under soil water deficits. *Colloids Surf B* 53 (2),113-119.
- İlyasoğlu, H. ve El, S. N., 2010, Nanoemülsiyonlar: Oluşumları, Yapıları Ve Kollodial Salınım Sistemleri Olarak Gıda Sektöründe Kullanım Alanları, *Gıda/The Journal Of Food*, 35 (2), 143-150.
- Jacques, M. T., Oliveira, J. L., Campos, E. V., Fraceto, L. F. ve Ávila, D. S., 2017, Safety assessment of nanopesticides using the roundworm *Caenorhabditis elegans*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 139, 245-253.
- Jaleel, CA., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H J., Somasundaram, R., and Panneerselvam R. 2008. Drought Stress in Plants: A Review on Morphological Characteristics and Pigments Composition *International Journal Of Agriculture and Biology*, 11(1),100–105.
- Jaleel, CA., Sankar, B., Murali, PV. Gomathinayagam, M., Lakshmanan, GMA. and Panneerselvam, R. 2007. Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; impacts on ajmalicine accumulation. *Colloids Surf. B: Biointerfaces*, 62: 105–111
- Janda, S., Trocchia, PJ., and Gwinner, KP. 2002. Customer perceptions of internet retail service quality. *International Journal of Service Industry Management*, 13 (5), 412-31.
- Janda, T., Szalai, G. Tari, I., Paldi. E. 1999 Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. *Planta* 208, 175±180
- Janda, T., Szalai, G., Rios-Gonzales, K., Veisa, O., Paldi, E., 2003. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. *Plant Science* 164, 301–306.
- Jasrotia P., Kashyap P.L., Bhardwaj A.K., Kumar S., Singh G.P. (2018): Scope and applications of nanotechnology for wheat production: A review of recent advances. *Wheat and Barley Research*, 10: 1–14.
- Javadian, N., Karimzadeh. G., Mahfoozi, S., Ghanati. F., 2010. Cold-induced changes of enzymes, Prolin, carbohydrates, and chlorophyll in wheat. *Russian Journal of Plant Physiology*, 57(4),540-547.
- Jiang J., Tong X., Morris D., Zhao Y. (2006): Toward photo- controlled release using light-dissociable block copolymer micelles. *Macromolecules*, 39: 4633–4640.
- Jo Y.K., Kim B.H., Jung G. (2009): Antifungal activity of silver ions and nanoparticles on phytopathogenic fungi. *Plant Disease*, 93: 1037–1043.

- Joseph, T. ve Morrison, M., 2006, Nanotechnology in agriculture and food, Nanoforum Report, 2, 2-3.
- Joshia, N., Hamdanb, AM., Fakhouric, WD. 2014. Skeletal Malocclusion: A Developmental Disorder With a Life-Long Morbidity Journal of Clinical Medicine Research, 6(6),399- 408.
- Jung J.H., Kim S.W., Min J.S., Kim Y.J., Lamsal K., Kim K.S., Lee Y.S. (2010): The effect of nano-silver liquid against the white rot of the green onion caused by *Sclerotium cepivorum*. Mycobiology, 38: 39–45.
- Kah M., Beulke S., Tiede K., Hofmann T. (2013): Nanopesticides: State of knowledge, environmental fate, and exposure modeling. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 43: 1823–1867.
- Kah M., Walch H., Hofmann T. (2018): Environmental fate of nanopesticides: Durability, sorption and photodegradation of nanoformulated clothianidin. Environmental Science: Nano, 5: 882–889.
- Kah, M. ve Hofmann, T., 2014, Nanopesticide research: current trends and future priorities, Environment international, 63, 224-235.
- Kah, M., Beulke, S., Tiede, K. ve Hofmann, T., 2013, Nanopesticides: state of knowledge, environmental fate, and exposure modeling, Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 43, 1823-1867.
- Kalaitzaki, A., Papanikolaou, N. E., Karamaouna, F., Dourtoglou, V., Xenakis, A. ve Papadimitriou, V., 2015, Biocompatible colloidal dispersions as potential formulations of natural pyrethrins: a structural and efficacy study, Langmuir, 31 (21), 5722-5730.
- Kaletta, T. ve Hengartner, M. O., 2006, Finding function in novel targets: C. elegans as a model organism,
- Kanbur, H. 2016. Benzoik Asidinin Soğuk Stresine Maruz Bırakılan Farklı Buğdaylar (*Triticum Aestivum* L.) Üzerine Etkilerinin İncelenmesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Trabzon.
- Kang M.A., Seo M.J., Hwang I.C., Jang C., Park H.J., Yu Y.M., Youn Y.N. (2012): Insecticidal activity and feeding behavior of the green peach aphid, *Myzus persicae*, after treatment with nano types of pyriproxyfen. Journal of Asia-Pacific Entomology, 15: 533–541.
- Kashyap P.L., Kumar S., Srivastava A.K. (2017): Nanodiagnostics for plant pathogens. Environmental Chemistry Letters, 15: 7–13. Kashyap P.L., Kumar S., Jasrotia P., Singh D.P., Singh G.P. (2020): Nanotechnology in wheat production and protection. In: Dasgupta N., Ranjan S., Lichtfouse E. (eds): Environmental
- Kashyap P.L., Rai P., Sharma S., Chakdar H., Kumar S., Pandiyan K., Srivastava A.K. (2016): Nanotechnology for the detection and diagnosis of plant pathogens. In: Dasgupta N., Ranjan S., Lichtfouse E. (eds): Nanoscience in Food and Agriculture 2. Cham, Springer: 253–276.
- Kashyap P.L., Xiang X., Heiden P. (2015): Chitosan nanoparticle based delivery systems for sustainable agriculture. International Journal of Biological Macromolecules, 77: 36–51.
- Katagi, T., 2002, Abiotic hydrolysis of pesticides in the aquatic environment, Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 175, 79-261.
- Kataoka K., Harada A., Nagasaki Y. (2001): Block copolymer micelles for drug delivery: Design, characterization and biological significance. Advanced Drug Delivery

Reviews, 47: 113–131.

- Katoch, R., Sethi, A., Thakur, N. ve Murdock, L. L., 2013, RNAi for insect control: current perspective and future challenges, *Applied biochemistry and biotechnology*, 171 (4), 847-873.
- Kaur, G and Asthir, B. 2017. Molecular responses to drought stress in plants. *Biologia Plantarum*, 61(2), 201-209.
- Keck C.M., Müller R.H. (2013): Nanotoxicological classification system (NCS) – A guide for the risk-benefit assessment of nanoparticulate drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 84: 445–448.
- Keiper, A., 2003, The nanotechnology revolution, *The New Atlantis* (2), 17-34.
- Kettel, M. J., Schaefer, K., Groll, J. ve Moeller, M., 2014, Nanogels with High Active β -Cyclodextrin Content as Physical Coating System with Sustained Release Properties, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6 (4), 2300-2311.
- Kim S.W., Jung J.H., Lamsal K., Kim Y.S., Min J.S., Lee Y.S. (2012): Antifungal effects of silver nanoparticles (AgNPs) against various plant pathogenic fungi. *Mycobiology*, 40: 53–58.
- Kim, J., Bortz, E., Zhong, H., Leeuw, T., Leberer, E., Vershon, AK., and Hirsch, JP. 2000. Localization and Signaling of Gb Subunit Ste4p Are Controlled by a-Factor Receptor and the a-Specific Protein Asg7p *Molecular And Cellular Biology* (20)23, 8826–8835. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, in press.
- Knowles, A., 2005, New developments in crop protection product formulation, T&F Informa UK Ltd.
- Kocsy, G, von Ballmoos, P., Rueggsegger, A., Szalai, G., Galiba, G., Brunold, C. 2001. Increasing the glutathione content in a chilling-sensitive maize genotype using safeners increased protection against chilling-induced injury. *Plant Physiology* 127, 1147–1156.
- Kocsy, G., Ballmoos, P., Rueggsegger, A., Szalai, G., Galiba, G., Brunold C. 1999. Increasing the glutathione content in a chilling-sensitive maize genotype using safeners increased protection against chilling-induced injury. *Plant Physiology* 127, 1147–1156.
- Kocsy, G., Galiba, G., Brunold, C., 2001. Role of glutathione in adaptation and signaling during chilling and cold acclimation in plants. *Plant Physiol.* 113, 158–164.
- Kotak, S., Larkindale, J., Lee, U., von Koskull-Döring, P., Vierling, E., Scharf, KD., 2007. Complexity of the heat stress response in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 10, 310–316.
- Köhler H.R., Triebkorn R. (2013): Wildlife ecotoxicology of pesticides: Can we track effects to the population level and beyond? *Science*, 341: 759–765.
- Kuk, Y. I., J. S. Shin, N. R. Burgos, T. E. Hwang, O. Han, B. H. Cho, *et al.* 2003. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. *Crop Science*, 43, 2109–2117.
- Kumar S., Bhanjana G., Sharma A., Dilbaghi N., Sidhu M.C., Kim K.H. (2017): Development of nanoformulation approaches for the control of weeds. *Science of the Total Environment*, 586: 1272–1278.
- Kumar S., Nehra M., Kedia D., Dilbaghi N., Tankeshwar K., Kim K.H. (2018): Carbon nanotubes: A potential material for energy conversion and storage. *Progress in Energy and Combustion Science*, 64: 219–253.

- Kumar, S., Dhankhar, S., Arya, VP., Yadav, S., and Yadav, JP. 2011. Antimicrobial activity of *Salvadora oleoides* Decne. against some microorganisms Journal of Medicinal Plants Research , 6(14), 2754-2760.
- Kumar, S., Nehra, M., Dilbaghi, N., Marrazza, G., Hassan, A. A. ve Kim, K.-H., 2019, Nano-based smart pesticide formulations: Emerging opportunities for agriculture, Journal of Controlled Release, 294, 131-153.
- Kumar, T., Uzma., Khan, MR., Abbas, Z., Muhammad., G. 2014. Genetic Improvement of Sugarcane for Drought and Salinity Stress Tolerance Using *Arabidopsis* Vacuolar Pyrophosphatase (AVP1) Gene. Molecular Biotechnology, 56,199–209.
- Kunicki, TJ., Williams, SA., Nugent, DJ. and Yeager, M. 2010. Mean platelet volume and integrin alleles correlate with levels of integrins (IIb) (3) and (2) (1) in acute coronary syndrome patients and normal subjects. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology 32,147–152.
- Kurbanoğlu, EB. 2004. Enhancement of citric acid production with ram horn hydrolysate by *Aspergillus niger*. Bioresearch Technology, 92. 97-101.
- Kurbanoğlu, EB., Algur, ÖF., Zulkadir, A. 2004. Submerged production of edible mushroom *Agaricus bisporus* mycelium in ram horn hydrolysate. Industrial Crops and Products Volume 19, Issue 3, May 2004, Pages 225-230.
- Kurnik V., Gaberšek V., Unuk T., Tojnko S., Vogrin A., Vajs S., Lešnik M. (2012): Influence of alternative copper fungicide formulations on copper content in apple fruits. Erwerbs- Obstbau, 54: 161–170.
- Kuru, Hİ., 2007. Arseniğin insan ve bazı canlılarda oksidatif enzimler üzerine etkileri. Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya.
- Kuzu, İ., 2015. İki Farklı Biryofit Türünün Fotosentetik Pigment İçeriği Ve Antioksidan Mekanizması Üzerine Ağır Metallerin (Bakır Ve Kurşun) Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Laborde A. (2008): Pesticides. Children's Health and Environment: Training Package. Geneva, World Health Organization. Available at <https://www.who.int/ceh/capacity/Pesticides.pdf>.
- Laemmli, UK., 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Heat of Bacteriophage T4. Nature, 227, 680-685.
- Lai, F., Wissing, S. A., Müller, R. H. ve Fadda, A. M., 2006, *Artemisia arborescens* L essential oil-loaded solid lipid nanoparticles for potential agricultural application: preparation and characterization, Aaps Pharmscitech, 7 (1), E10.
- Lee M., Kim S.W. (2005): Polyethylene glycol-conjugated copolymers for plasmid DNA delivery. Pharmaceutical Research, 22: 1–10.
- Lee, SD., Kang, SO. and Hah, YC. 2000. *Hongia* gen. nov., a new genus of the order Actinomycetales. Int J Syst Evol Microbiol 50, 191–199
- Lee, YB., and Lee, SM. 2000. Effect of S-Adenosylmethionine on Hepatic Injury from Sequential Cold and Warm Ischemia. Pharmacological Research, 23, 495-500.
- Legal Studies, 30(3), 408–420.
- Li X., Ke M., Zhang M., Peijnenburg W.J.G.M., Fan X., Xu J., Zhenyan Z., Tao L., Zhengwei F., Qian H. (2018): The interactive effects of diclofop-methyl and silver nanoparticles on *Arabidopsis thaliana*: Growth, photosynthesis and antioxidant system. Environmental Pollution, 232: 212–219.

- Li, B., Tang, L., Qiu, Y. ve Wang, Y., 2009, Uncommon melt rheological behavior of hyperbranched polymers bearing quadruple hydrogen bonding units, *Acta Polymerica Sinica*, 6, 581-585.
- Li, C., Jiang, D., Wollenweber, B., Li, Y., Dai, T., Cao, W., 2011. Waterlogging pretreatment during vegetative growth improves tolerance to waterlogging afteranthesis in wheat. *Plant Science*, 180, 672e678.
- Li, Y., Zhang,W., Zheng, D., Zhou, Z., Yu, W., Zhang , L., Feng, L., Liang , X., Guan , W., Zhou, J., Chen2, J. and Lin, Z.,2014. Genomic Evolution of *Saccharomyces cerevisiae* under Chinese Rice Wine Fermentation. *Genome Biology Evoluoution*, 6(9),2516–2526.
- Li, Z. Z., Chen, J. F., Liu, F., Liu, A. Q., Wang, Q., Sun, H. Y. ve Wen, L. X., 2007, Study of UV-shielding properties of novel porous hollow silica nanoparticle carriers for avermectin, *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63 (3), 241-246.
- Lisiecka, J., Knaflowski, M., Spizewski, T., Fraszczak, B., Kaluzewicz, A., and Krzesinski, W. 2011. The effect of animal protein hydrolysate on quantity and quality of strawberry daughter plants cv. ‘Elsanta’. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* 10, 31–40.
- Liu W., Yao J., Cai M., Chai H., Zhang C., Sun J., Chan-dankere R., Masakorala K. (2014): Synthesis of a novel nanopesticide and its potential toxic effect on soil microbial activity. *Journal of Nanoparticle Research*, 16: 2677. doi:10.1007/s11051-014-2677-7
- Liu, AR., Chen, SC., Lin, XM., Wu, SY., Xu, T., Cai, FM., Raesh, J. 2010. Endophytic Pestalotiopsis species spp. associated with plants of Palmae, Rhizophoraceae, Planchonellae and Podocarpaceae in Hainan, China. *African Journal of Microbiology Research*, 4,2661-2669
- Liu, E.H., 1973. A Simple Method for Determining the Relative Activities of Individual Peroxidase Isoenzymes in A Tissue Extract, *Analytical Biochemistry*, (56), 149-154.
- Loha, K. M., Shakil, N. A., Kumar, J., Singh, M. K. ve Srivastava, C., 2012, Bio-efficacy evaluation of nanoformulations of β -cyfluthrin against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae), *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47 (7), 687-691.
- Lou X.W., Archer L.A., Yang Z. (2008): Hollow micro-/ nanostructures: Synthesis and applications. *Advanced Materials*, 20: 3987–4019.
- Low, PA., Caskey, PE., Tuck, R., Fealey, DRD. and Dyck, PJ. Quantitative Sudomotor Axon Reflex Test in Normal and Neuropathlc Subjects *Ann Neurol* 14:573-580, 1983.
- Lukatkin, AS., Brazaitytė, A., Bobinas, Č., Duchovskis, P., 2001. Chilling injury in chilling-sensitive plants: a review *Žemdirbystė=Agriculture* 99(2), 111–124.
- Lynn, DG. and Chang, M. (1990) Phenolic signals in cohabitation: implications for plant development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 41, 497–526
- Margulis-Goshen K., Magdassi S. (2013): Nanotechnology: An ad- vanced approach to the development of potent insecticides. In: Ishaaya I., Palli S., Horowitz A. (eds): *Advanced Technologies for Managing Insect Pests*. Dordrecht, Springer: 295–314.
- Mason T.G., Wilking J.N., Meleson K., Chang C.B., Graves S.M. (2006): Nanoemulsions: Formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18: R635. doi: 10.1088/0953-8984/18/41/R01

- Masoomi M.Y., Bagheri M., Morsali A. (2016): High adsorption capacity of two Zn-based metal-organic frameworks by ultrasound assisted synthesis. *Ultrasonics Sonochemistry*, 33: 54–60.
- Mattos B.D., Rojas O.J., Magalhães W.L. (2017): Biogenic silica nanoparticles loaded with neem bark extract as green, slow-release biocide. *Journal of Cleaner Production*, 142: 4206–4213.
- Mattos, B. D., Tardy, B. L., Magalhães, W. L. ve Rojas, O. J., 2017, Controlled release for crop and wood protection: Recent progress toward sustainable and safe nanostructured biocidal systems, *Journal of Controlled Release*, 262, 139-150.
- McClements D.J. (2012): Nanoemulsions versus microemulsions: Terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, 8: 1719–1729.
- Memarpoor-Yazdi, M., Mahaki, H., Zare-Zardini, Hadi. 2013. Antioxidant activity of protein hydrolysates and purified peptides from *Zizyphus jujuba* fruits. *Journal Of Functional Foods*, 5, 62–70.
- Milazzo, M., Badalamenti, F., Ceccherelli, G. 1999. Renato Chemello Boat anchoring on *Posidonia oceanica* beds in a marine protected area (Italy, western Mediterranean): effect of anchor types in different anchoring stages *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 299 (2004) 51 – 62.
- Minibaeva, F.V., and Gordon, L.K., 2003. Superoxide production and the activity of extracellular peroxidase in plant tissues under stress conditions. *Russ. Journal Plant Physiology*, 50, 411–416.
- Mohanraj V.J., Chen Y. (2006): Nanoparticles – A review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 5: 561–573. Motornov M., Roiter Y., Tokarev I., Minko S. (2010): Stimuli-responsive nanoparticles, nanogels and capsules for integrated multifunctional intelligent systems. *Progress in Polymer Science*, 35: 174–211.
- Mukesh Kumar, D.J., Priya, P., Nithya Balasundari, S., Nandhini Devi, GSD., Immaculate Nancy Rebecca, A. and Kalaichelvan, P.T. 2012. Production and Optimization of Feather Protein Hydrolysate from *Bacillus* Sp. MPTK6 and Its Antioxidant Potential. *Middle-East Journal of Scientific Research* 11 (7), 900-907.
- Mura S., Nicolas J., Couvreur P. (2013): Stimuli-responsive nanocarriers for drug delivery. *Nature Materials*, 12: 991–1003.
- Müller R.H., Junghanns J.U. (2006): Drug nanocrystals/nanosuspensions for the delivery of poorly soluble drugs. In: Torchilin V.P. (ed.): *Nanoparticulates as Drug Carriers*. London, Imperial College Press: 307–328.
- Nakano, Y. and Asada, Y., 1981. Hydrogen Peroxide is Scavenged by Ascorbate-Specific Peroxidase in Spinach Chloroplasts, *Plant Cell Physiol.*, (22), 867-880.
- Nandhitha, G.K., Sivakumar, R., Vishnuveni, M. 2016. Impact Of Seed Treatment With Plant Growth Regulators And Nutrients On Alleviation Of Salinity Stress In Tomato Under In Vitro Conditions. *Applied Biological Research*, 18(2), 203-207.
- Nanjo, T., Kobayashi, M., Yoshida, Y., K. Wada, Tsukaya, H., Kakaubari, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinozaki, K. 1999. Biological functions of proline in morphogenesis and osmotolerance revealed in antisense transgenic *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 18, 185-193.
- Nanotechnology Volume 4. Cham, Springer: 165–194. Katagi T. (2008): Surfactant effects on environmental bioremediation. *Nature reviews Drug discovery*, 5 (5), 387-399.
- Negri, I., Mavris, C., Di Prisco, G., Caprio, E. ve Pellicchia, M., 2015, Honey bees (*Apis*

- mellifera, L.) as active samplers of airborne particulate matter, Plos One, 10 (7), 1-22.
- Nehra M., Dilbaghi N., Hassan A.A., Kumar S. (2019): Carbon-based nanomaterials for the development of sensitive nanosensor platforms. In: Deep A., Kumar S. (eds): Advances in Nanosensors for Biological and Environmental Analysis. Amsterdam, Elsevier: 1–25.
- Nejadsadeghi, L., Amiri, AR., Zeinali, H., Ramezanzpour, S., Sadeghzade, B. 2014. Comparative Analysis of Physio-Biochemical Responses to Cold Stress in Tetraploid and Hexaploid Wheat Cell Biochemistry Biophysics 70 (1), 399-408. 9.
- Nel, A., Xia, T., Mädler, L. ve Li, N., 2006, Toxic potential of materials at the nanolevel, Science, 311 (5761), 622-627.
- Neumann, G., and Römheld, V. 2007. The release of root exudates as affected by the plant physiological status,” in The Rhizosphere: Biochemistry and Organic Substances at the Soil-Plant Interface, 2nd Edn., eds R. Pinton, Z. Varanini, and P. Nannipieri Boca Raton, FL: CRC Press, 23–72
- Nguyen H.M., Hwang I.C., Park J.W., Park H.J. (2012): Enhanced payload and photoprotection for pesticides using nanostructured lipid carriers with corn oil as liquid lipid. Journal of Microencapsulation, 29: 596–604.
- Nguyen, H. M., Hwang, I. C., Park, J. W. ve Park, H. J., 2012b, Photoprotection for deltamethrin using chitosan-coated beeswax solid lipid nanoparticles, Pest management science, 68 (7), 1062-1068.
- Nguyen, H., Hwang, I., Park, J. W. ve Park, H. J., 2012a, Enhanced payload and photoprotection for pesticides using nanostructured lipid carriers with corn oil as liquid lipid, Journal of microencapsulation, 29 (6), 596- 604.
- Nishiyama, H., Danno, S., Kaneko, Y., Itoh, K., Yokoi, H., Fukumoto, M., Okuno, H., Millán, JL., Matsuda, T., Yoshida, O., Fujita, J. 1998. Decreased expression of cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) in male germ cells at elevated temperature. American Journal of Pathology 152(1), 289–296.
- Norman D.J., Chen J. (2011): Effect of foliar application of titanium dioxide on bacterial blight of geranium and Xanthomonas leaf spot of poinsettia. HortScience, 46: 426–428. Nuruzzaman M.D., Rahman M.M., Liu Y., Naidu R. (2016): Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides: A new window for safe application. Journal of Agricultural and
- Novikov B.N., Grimsley J.K., Kern R.J., Wild J.R., Wales M.E. (2010): Improved pharmacokinetics and immunogenicity profile of organophosphorus hydrolase by chemical modification with polyethylene glycol. Journal of Controlled Release, 146: 318–325.
- Nuruzzaman, M., Rahman, M. M., Liu, Y. ve Naidu, R., 2016, Nanoencapsulation, nano-guard for pesticides: a new window for safe application, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64 (7), 1447-1483.
- Oberdörster, E., 2004, Manufactured nanomaterials (fullerenes, C60) induce oxidative stress in the brain of juvenile largemouth bass, Environmental health perspectives, 112 (10), 1058-1062.
- Oberdörster, G., Maynard, A., Donaldson, K., Castranova, V., Fitzpatrick, J., Ausman, K., Carter, J., Karn, B., Kreyling, W. ve Lai, D., 2005, Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy, Particle and fibre toxicology, 2 (1), 8.

- Oh J.K., Drumright R., Siegwart D.J., Matyjaszewski K. (2008): The development of microgels/nanogels for drug delivery applications. *Progress in Polymer Science*, 33: 448–477.
- Olenichenko, NA. and Zagorskina, NV., 2005. Response of winter wheat to cold: Production of phenolic compounds and L-phenylalanine ammonia lyase activity. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(6), 600-603.
- Onifade, AA., Al-Sane, NA., Al-Musallam, AA. And Al-Zarban, S. 1998. A review: Potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources. *Bioresource Technology*, 66, 1–11.
- Özdoğan, E., Demir, A. ve Seventekin, N., 2006, Nanoteknoloji ve tekstil uygulamaları, *Tekstil ve Konfeksiyon*, 3, 2006.
- Pankaj, Shakil, N. A., Kumar, J., Singh, M. K. ve Singh, K., 2012, Bioefficacy evaluation of controlled release formulations based on amphiphilic nano-polymer of carbofuran against *Meloidogyne incognita* infecting tomato, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 47 (6), 520-528.
- Pardeshi C., Rajput P., Belgamwar V., Tekade A., Patil G., Chaudhary K., Sonje A. (2012): Solid lipid based nano- carriers: An overview. *Acta Pharmaceutica*, 62: 433–472. Paret M.L., Vallad G.E., Averett D.R., Jones J.B., Olson S.M. (2013a): Photocatalysis: Effect of light-activated nanoscale formulations of TiO₂ on *Xanthomonas perforans* and control of bacterial spot of tomato. *Phytopathology*, 103: 228–236.
- Paret M.L., Palmateer A.J., Knox G.W. (2013b): Evaluation of a light-activated nanoparticle formulation of titanium dioxide with zinc for management of bacterial leaf spot on rose ‘Noare’. *HortScience*, 48: 189–192.
- Pasupuleti and Steven Braun. 2010. State of the Art Manufacturing of Protein Hydrolysates Protein Hydrolysates in Biotechnology, DOI 10.1007/978-1-4020-6674-0_2.
- Paula H.C., Sombra F.M., de Freitas Cavalcante R., Abreu F.O., de Paula R.C. (2011): Preparation and characterization of chitosan/cashew gum beads loaded with *Lippia sidoides* essential oil. *Materials Science and Engineering: C*, 31: 173–178.
- Pearce, R.B. 1999. Forest products biotechnology *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 74,(5), 473–474.
- Pereira, K. D. C., Quintela, E. D., Da Silva, D. J., Do Nascimento, V. A., Da Rocha, D. V. M., Silva, J. F. A. e., Forim, M. R., Silva, F. G. ve Cazal, C. D. M., 2018, Characterization of Nanospheres Containing *Zanthoxylum riedelianum* Fruit Essential Oil and Their Insecticidal and Deterrent Activities against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), *Molecules*, 23 (8), 2052.
- Pérez Quiñones J., Brüggemann O., Kjemis J., Shahavi M.H., Peniche Covas C. (2018): Novel brassinosteroid-modified polyethylene glycol micelles for controlled release of agrochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66: 1612–1619.
- Peteu S.F., Oancea F., Siciua O.A., Constantinescu F., Dinu S. (2010): Responsive polymers for crop protection. *Poly- mers*, 2: 229–251.
- Pinto R.V., Antunes F., Pires J., Graça V., Brandão P., Pinto M.L. (2017): Vitamin B₃ metal organic frameworks as potential delivery vehicles for therapeutic nitric oxide. *Acta Biomaterialia*, 51: 66–74.
- Plazek, A., Zur, I. 2003. Cold-induced plant resistance to necrotrophic pathogens and

- antioxidant enzyme activities and cell membrane permeability, *Plant Science* 164, 1019/1028
- Polshettiwar, V., Cha, D., Zhang, X. ve Basset, J. M., 2010, High-surface-area silica nanospheres (KCC-1) with a fibrous morphology, *Angewandte Chemie International Edition*, 49 (50), 9652-9656.
- Popko, M., Wilk R., Górecka, H., Chojnacka, K., Górecki H. 2015. Assessment of New NKSMg Fertilizer Based on Protein Hydrolysate of Keratin in Pot Experiments. *Polish Journal of Environmental Studies* 24(4), 1765-1772.
- Popp J., Pető K., Nagy J. (2013): Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33: 243–255.
- Posmyk, M. M., Bałabusta, M., Wieczorek, M., Sliwinska, E., and Janas, K. M. 2009. Melatonin applied to cucumber (*Cucumis sativus* L.) seeds improves germination during chilling stress. *Journal of Pineal Research* 46, 214–223.
- Postharvest Biology and Technology 13, 255–261.
- Pradeep, T., 2008, *Nano The essentials Understanding Nanoscience and Nanotechnology*. New Delhi, The McGraw-Hill Companies, Inc: 432.
- Pratap, A. P. ve Bhowmick, D., 2008, Pesticides as microemulsion formulations, *Journal of dispersion science and technology*, 29 (9), 1325-1330.
- Ragaei M., Sabry A.K.H. (2014): Nanotechnology for insect pest control. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 3: 528–545.
- Ragaei, M. ve Sabry, A.-k. H., 2014, Nanotechnology for insect pest control, *International journal of science, environment and technology*, 3 (2), 528-545.
- Ramasamy T., Ruttala H.B., Gupta B., Poudel B.K., Choi H.G., Yong C.S., Kim J.O. (2017): Smart chemistry-based nanosized drug delivery systems for systemic applications: A comprehensive review. *Journal of Controlled Release*, 258: 226–253.
- Ramyadevi J., Jeyasubramanian K., Marikani A., Rajakumar G., Rahuman A.A. (2012): Synthesis and antimicrobial activity of copper nanoparticles. *Materials Letters*, 71: 114–116.
- Rani P.U., Madhusudhanamurthy J., Sreedhar B. (2014): Dynamic adsorption of α -pinene and linalool on silica nanoparticles for enhanced antifeedant activity against agricultural pests. *Journal of Pest Science*, 87: 191–200.
- Rani R., Dahiya S., Dhingra D., Dilbaghi N., Kim K.H., Kumar S. (2017): Evaluation of anti-diabetic activity of glycyrrhizin- loaded nanoparticles in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106: 220–230.
- Ranieri, A., Castagna, A., Scebba, F., Careri, M., Zagnoni, I., Predieri, G., Pagliari M., and Toppi, L.S. 2005. Oxidative stress and phytochelatin characterization in bread wheat exposed to cadmium excess, *Plant Physiology Biochemistry* 43, 45-54.
- Rizzati V., Briand O., Guillou H., Gamet-Payraastre L. (2016): Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature. *Chemico-Biological Interactions*, 254: 231–246.
- Robertson, M.M. 2004. The neoliberalization of ecosystem services: wetland mitigation banking and problems in environmental governance *Geoforum*, 35(3), 361-373.
- Robinson D.K.R., Salejova-Zadrazilova G. (2010): Nanotechnologies for nutrient and biocide delivery in agricultural production. *Working Paper Version*: 285–297.

- Rodrigues L.A.S., Figueiras A., Veiga F., de Freitas R.M., Nunes L.C., da Silva F.E., da Silva L.C. (2013): The systems containing clays and clay minerals from modified drug release: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103: 642–651.
- Rodrigues S., Dionísio M., López C.R., Grenha A. (2012): Biocompatibility of chitosan carriers with application in drug delivery. *Journal of Functional Biomaterials*, 3: 615–641.
- Rout, MP., Aitchison, JD., Suprpto, A., Hjertaas, K., Zhao, Y., Chait, BT. 2000. The yeast nuclear pore complex: composition, architecture, and transport mechanism. *Journal Cell Biology*, 148(4), 635-51.
- Rudzinski W.E., Dave A.M., Vaishnav U.H., Kumbar S.G., Kulkarni A.R., Aminabhavi T.M. (2002): Hydrogels as controlled release devices in agriculture. *Designed Monomers and Polymers*, 5: 39–65.
- Saba N., Jawaaid M., Asim M. (2016): Recent advances in nano-clay/natural fibers hybrid composites. In: Jawaaid M., Qaiss A., Bouhfid R. (eds): *Nanoclay Reinforced Polymer Composites*. Engineering Materials. Singapore, Springer: 1–28.
- Sairam, RK., and Srivastava, GC., 2000. Induction of Oxidative Stress and Antioxidant Activity by Hydrogen Peroxide Treatment in Tolerant and Susceptible Wheat Genotypes. *Biologia Plantarum*, 43(3), 381–386.
- Saka, E. ve Gülel, G. T., 2015, Gıda Endüstrisinde Nanoteknoloji Uygulamaları, *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 26 (2), 52-57.
- Sala M., Diab R., Elaissari A., Fessi H. (2018): Lipid nanocarriers as skin drug delivery systems: Properties, mechanisms of skin interactions and medical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 535: 1–17.
- Sala. JM. 1998. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits.
- Saltveit, ME. and Morris, LL. 1990. Overview of chilling injury of horticultural crops. In: Chien Yi Wang (Ed.), *Chilling Injury of Horticultural Crops*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 3–15
- Sangeetha, J., Thangadurai, D., Hospet, R., Purushotham, P., Karekalammanavar, G., Mundaragi, A. C., David, M., Shinge, M. R., Thimmappa, S. C. ve Prasad, R., 2017, Agricultural nanotechnology: concepts, benefits, and risks, In: *Nanotechnology*, Eds: Springer, p. 1-17.
- Sangwan, P., Kumar, V., Joshi, U.N., 2014. Effect of chromium (VI) toxicity on enzymes of nitrogen metabolism in clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *Hindawi Publishing Corporation Enzyme Research*, 1, 1-9.
- Sasson Y., Levy-Ruso G., Toledano O., Ishaaya I. (2007): Nanosuspensions: emerging novel agrochemical formulations. In: Ishaaya I., Horowitz A.R., Nauen R. (eds): *Insecticides Design Using Advanced Technologies*. Berlin, Springer, Heidelberg: 1–39.
- Scandalios, JG. 1994. Regulation and properties of plant catalases. In *causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defense System in Plants*, Boca Raton. CRC Press.
- Scebba, F., Sebastiani, L., Vitagliano, C. 1998. Antioxidative enzyme activity changes in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under cold acclimation, *Physiologia Plantarum* 104, 747- 752.
- Schiavon, M., Ertani, A., Nardi, S. 2008. Effects of an alfalfa protein hydrolysate on the gene expression and activity of enzymes of the tricarboxylic acid (TCA) cycle and nitrogen

- metabolism in *Zea mays* L. *Journal Agric Food Chemistry* 24;56(24):11800-8.
- Sci. China Series C Life Sci.* 49 (1), 1–11.
- Scott, N. ve Chen, H., 2012, Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems, *Industrial Biotechnology*, 8 (6), 340-343.
- Scott, N. ve Chen, H., 2013, Nanoscale science and engineering for agriculture and food systems, *Industrial Biotechnology*, 9 (1), 17-18.
- Senthilkumar, M., Ganesh, S., Srinivas, K., Panneerselvam, P., Kasinath, BL. 2016. Combining fertigation and consortium of bio-fertilizers for enhancing growth and yield of banana cv. Robusta (AAA), *Indian Journal of Horticulture*, 73(1), 36-41.
- Service, R., 2003, American Chemical Society meeting. Nanomaterials show signs of toxicity, *Science* (New York, NY), 300 (5617), 243.
- Shah, M. A. ve Khan, A. A., 2014, Use of diatomaceous earth for the management of stored-product pests,
- Shah, M. A., Wani, S. H. ve Khan, A. A., 2016, Nanotechnology and insecticidal formulations, *J Food Bioengin Nanopro*, 1, 285-310.
- Shahryar, N. and Maali-Amiri, R. 2016. Metabolic acclimation of tetraploid and hexaploid wheats by cold stress-induced carbohydrate accumulation. *Journal Plant Physiology*, 1,204, 44-53.
- Shakil N.A., Singh M.K., Pandey A., Kumar J., Pankaj, Par- mar V.S., Singh M.K., Pandey R.P., Watterson A.C. (2010): Development of poly (ethylene glycol) based amphiphilic copolymers for controlled release delivery of carbofuran. *Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry*, 47: 241–247.
- Shao, HB., Chen, XY., Chu, LY., Zhao, XN., Wu, G., Yuan, YB., Zhao, CX., Hu, ZM. 2006.
- Sharma, P., Jha, AB., Dubey, RS. and Pessarakli, M. 2012.Reactive Oxygen Species, Oxidative Damage, and Antioxidative Defense Mechanism in Plants under Stressful Conditions *Journal of Botany* ID 217037, 26 pages.
- Shinozaki, K., Rabbani, MA., Maruyama, K., Abe, H., Khan, MA., Katsura, K., Ito, Y., Yoshiwara, K., Seki, M., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2003. Monitoring expression profiles of rice genes under cold, drought, and high-salinity stresses and abscisic acid application using cDNA microarray and RNA get-blot analyses. *Plant Physiology*, 133(4), 1755-1767.
- Shu, X., Ram , Deerinck, TJ., Qi1, Yingchuan., Ramko, EB. Davidson, MW., Jin, Yishi MH., Ellisman, RY., Tsien, A. 2011. Genetically Encoded Tag for Correlated Light and Electron Microscopy of Intact Cells, Tissues, and Organisms. *PLoS Biology* 9 | Issue 4
- Shukla S.K., Mishra A.K., Arotiba O.A., Mamba B.B. (2013): Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 59: 46–58.
- Silva, W., Dória, G., Maia, R., Nunes, R., Carvalho, G., Blank, A., Alves, P., Marçal, R. ve Cavalcanti, S., 2008, Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: alternatives to environmentally safe insecticides, *Bioresource technology*, 99 (8), 3251-3255.
- Singh A., Garg G., Sharma P.K. (2010): Nanospheres: A novel approach for targeted drug delivery system. *Inter- national Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 5: 84–88.
- Singh, M., Singh, S., Prasad, S. ve Gambhir, I., 2008, Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles, *Digest Journal of Nanomaterials and*

Biostructures, 3 (3), 115-122.

- Sioutas C., Delfino R.J., Singh M. (2005): Exposure assessment for atmospheric ultrafine particles (UFPs) and implications in epidemiologic research. *Environmental Health Perspectives*, 113: 947–955.
- Slesak, RA., Schoenholtz, SH., Harrington, TB. 2011. Soil carbon and nutrient pools in Douglas- fir plantations 5 years after manipulating biomass and competing vegetation in the Pacific Northwest Forest Ecology and Management 262, 1722–1728. .
- Smith K., Evans D.A., El-Hiti G.A. (2008): Role of modern chemistry in sustainable arable crop protection. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363: 623–637.
- Song S., Liu X., Jiang J., Qian Y., Zhang N., Wu Q. (2009): Stability of triazophos in self-nanoemulsifying pesticide delivery system. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 350: 57–62.
- Song U., Jun H., Waldman B., Roh J., Kim Y., Yi J., Lee E.J. (2013): Functional analyses of nanoparticle toxicity: A comparative study of the effects of TiO₂ and Ag on tomatoes (*Lycopersicon esculentum*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 93: 60–67.
- Song, S., Liu, X., Jiang, J., Qian, Y., Zhang, N. ve Wu, Q., 2009, Stability of triazophos in self-nanoemulsifying pesticide delivery system, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 350 (1-3), 57-62.
- Soni K.S., Desale S.S., Bronich T.K. (2016): Nanogels: An overview of properties, biomedical applications and obstacles to clinical translation. *Journal of Controlled Release*, 240: 109–126.
- Soppimath K.S., Aminabhavi T.M., Kulkarni A.R., Rudzinski W.E. (2001): Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*, 70: 1–20.
- Stackelberg P.E., Kauffman L.J., Ayers M.A., Baehr A.L. (2001): Frequently co-occurring pesticides and volatile organic compounds in public supply and monitoring wells, southern New Jersey, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 20: 853–865.
- Stadler T., Buteler M., Weaver D.K. (2010): Novel use of nanostructured alumina as an insecticide. *Pest Management Science*, 66: 577–579.
- Stadler T., Buteler M., Weaver D.K., Sofie S. (2012): Comparative toxicity of nanostructured alumina and a commercial inert dust for *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.) at varying ambient humidity levels. *Journal of Stored Products Research*, 48: 81–90.
- Stadler, T., Buteler, M. ve Weaver, D. K., 2010, Novel use of nanostructured alumina as an insecticide, *Pest management science*, 66 (6), 577-579.
- Stadler, T., Buteler, M., Weaver, D. K. ve Sofie, S., 2012, Comparative toxicity of nanostructured alumina and a commercial inert dust for *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzopertha dominica* (F.) at varying ambient humidity levels, *Journal of Stored Products Research*, 48, 81-90.
- Stahl, W., and Sies, H. 2002. Carotenoids and protection against solar UV radiation. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiology*, 15(5), 291-6.
- 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. *Plant Physiology* 88, 590-598.

- Sun D., Hussain H.I., Yi Z., Siegele R., Cresswell T., Kong L., Cahill D.M. (2014): Uptake and cellular distribution, in four plant species, of fluorescently labeled mesoporous silica nanoparticles. *Plant Cell Reports*, 33: 1389–1402.
- Sun, C., Verheggen, F., Zeng, Z. ve Cui, H., 2020, Polymer-Based Nanoinsecticides: Current Developments, Environmental Risks and Future Challenges-A Review, *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 24, 59-69.
- Sun, XC., Hu, CX., Tan, QL. 2006. Effects of molybdenum on antioxidative defense system and membrane lipid peroxidation in winter wheat under low temperature stress. *Zhi Wu Sheng Li Yu Fen Zi Sheng Wu Xue Xue Bao*. 32,175–182.
- Sundaramoorthy, R., Velusamy, Y., Balaji, A. P. B., Mukherjee, A. ve Chandrasekaran, N., 2016, Comparative cytotoxic and genotoxic effects of permethrin and its nanometric form on human erythrocytes and lymphocytes in vitro, *Chemico-Biological Interactions*, 257, 119-124.
- Sürengil, G. ve Kılınç, B., 2011, Gıda-Ambalaj Sektöründe Nanoteknolojik Uygulamalar Ve Su Ürünleri Açısından Önemi, *Journal of Fisheries Sciences. com*, 5 (4), 317-325.
- Sweet M.J., Singleton I. (2015): Soil contamination with silver nanoparticles reduces Bishop pine growth and ectomycorrhizal diversity on pine roots. *Journal of Nanoparticle Research*, 17: 448. doi: 10.1007/s11051-015-3246-4
- Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J. ve Solans, C., 2004, Formation and stability of nano-emulsions, *Advances in colloid and interface science*, 108, 303-318.
- Taiz and Zeiger., 2005, *Plant Physiology.*, Palme yayınevi, Ankara.
- Tambussi, EA., Bartoli, CG., Guamet, JJ., Beltrano, J., Araus, JL. 2004. Oxidative stress and photodamage at low temperatures in soybean (*Glycine max* L. Merr.) leaves. *Plant Science* 167, 19-26
- Taniguchi, N., 1974, On the basic concept of nanotechnology, *Proceeding of the ICPE*, 18-23.
- Turgut, O., Keskin, H. L. ve Avpar, A. F., 2011, What is Nanotechnology?, *Turk Med J*, 5 (1), 45-49.
- Tasgin, E., Atıcı, Ö., Nalbantoglu, B., 2006. Losanka Petrova Popova. Effects of salicylic acid and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry* 67, 710–715
- Tasgin E, Atici O, Nalbantoglu B (2003). Effect of salicylic acid and cold on freezing tolerance in wheat leaves. *Plant Growth Regulation*, 41, 231-236.
- Taskın, M., Ozkan, B., Atıcı, O., Aydoğan, MN. 2012. Utilization of chicken feather hydrolysate as a
- Taskın, M., Ozkan, B., Atıcı, O., Aydoğan, MN. 2012b. Utilization of chicken feather hydrolysate as a novel fermentation substrate for production of exopolysaccharide and mycelial biomass from edible mushroom *Morchella esculenta*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(5), 597–602.
- Taskin, M. 2012c. A new strategy for improved glutathione production from *Saccharomyces cerevisiae*: use of cysteine- and glycine-rich chicken feather protein hydrolysate as a new cheap substrate *Journal of the Science of Food Agriculture*, 93, 535–541.
- Taskin, M. and Kurbanoglu EB. 2011. Evaluation of waste chicken feathers as peptone source for bacterial growth. *Journal of Applied Microbiology* 111(4), 826-834.
- Taskin, M., and Kurbanoglu, EB. 2011. Evaluation of waste chicken feathers as peptone source for bacterial growth. *Journal Applied Microbiology*, 111(4), 826-34.

- Taskin, M., Esim, N., Ortucu, S. 2012a. Efficient production of l-lactic acid from chicken feather protein hydrolysate and sugar beet molasses by the newly isolated *Rhizopus oryzae* TS-61. *Food and Bioproducts Processing* 90, 773–779.
- The preparation of neem oil microemulsion (*Azadirachta indica*) and the comparison of acaricidal time between neem oil microemulsion and other formulations in vitro, *Veterinary parasitology*, 169 (3-4), 399- 403.
- Thomas, NJT. 1999. Are Theories of Imagery Theories of Imagination? An Active Perception Approach to Conscious Mental Content. *Cognitive Science Society* 23 (2), 207–245.
- Thuesombat P., Hannongbua S., Akasit S., Chadchawan S. (2014): Effect of silver nanoparticles on rice (*Oryza sativa* L. cv. KDML 105) seed germination and seed-ling growth. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 104: 302–309.
- Timmer L.W., Dewdney M.M., Chung K.R. (2008): 2009 Florida Citrus Pest Management Guide: Melanose. Gainesville, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
- Tomlin C.D. (2009): *The Pesticide Manual: A World Compendium*. Alton, British Crop Production Council.
- Torchilin V.P. (2014): Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 13: 813–827.
- Towbin, H., Staehelin, T., Gordon, J., 1979. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Science*, 76(9), 4350-4354.
- Trends in Plant Science 12, 444–451. Türkiye’de Nanoteknoloji, TÜBİTAK Bilim ve Teknik Dergisi.
- Türküsay, H., Tosun, N., ve Saygılı, H., 2005. Hidrojen Peroksit Uygulamalarında Domates Bakteriyel Solgunluk ve Kanser Hastalığı (*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Smith) Davis et al)’na Etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, Cilt:42, No:2. 1018-8851, 45-56s.
- Ulrichs C., Krause F., Rocksch T., Goswami A., Mewis I. (2006): Electrostatic application of inert silica dust based insecticides onto plant surfaces. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 71: 171–178.
- Unsworth J.B., Corsi C., Van Emon J.M., Farenhorst A., Hamilton D.J., Howard C.J., Hunter R., Jenkins J.J., Kleter G.A., Kookana R.S., Lalah J.O., Leggett M., Miglioranza K.S.B., Miyagawa H., Peranginangin N., Rubin B., Saha B., Shakil N.A. (2016): Developing global leaders for research, regulation, and stewardship of crop protection chemistry in the 21st century. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64: 52–60.
- Usha Rani, P. ve Rajasekharreddy, P., 2011, Green synthesis of silver-protein (core-shell) nanoparticles using *Piper betle* L. leaf extract and its ecotoxicological studies on *Daphnia magna*, *Colloids and surfaces*, 389 (1- 3), 188-1994.
- Vaculikova E., Placha D., Jampilek J. (2015): Toxicology of drug nanocarriers. *Chemické Listy*, 109: 346–352.
- Vasileva-Tonkova, E., Nustorova, M., Gushterova, A. 2007. New protein hydrolysates from collagen wastes used as peptone for bacterial growth. *Curr Microbiology* 54:54–57
- 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 Science*, 151, 59–66.

- Vellingiri K., Philip L., Kim K.H. (2017): Metal-organic frameworks as media for the catalytic degradation of chemical warfare agents. *Coordination Chemistry Reviews*, 353: 159–179.
- Venema, J., Harmjan, Rv., Faber Aw., Walther Jvj And Hendrik A. Raué 2000. Yeast Rrp9p is an evolutionarily conserved U3 snoRNP protein essential for early pre-rRNA processing cleavages and requires box C for its association. *Get Access*, 6 (11), 1660-1671.
- Vernieri P, Lenzi A, Figaro M, Tognoni F, Pardossi A. 2001. How roots contribute to the ability of *Phaseolus vulgaris* L. to cope with chilling-induced water stress. *Journal of Experimental Botany* 52, 2199–2206.
- Visconti, F., Miguel de Paza, J., Bonetb, L., Jordàb, M., Quinonesc, A., Intrigliolaa, DS. 2015. Effects of a commercial calcium protein hydrolysate on the salt tolerance of *Diospyros kaki* L. cv. “Rojo Brillante” grafted on *Diospyros lotus* L. *Scientia Horticulturae* 185, 129–138.
- Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., Foolad, MR., 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 199–223.
- Wang JF, Jiang D, Yu ZW, Cao WX (2003) Effects of nitrogen rates on grain yield and protein content of wheat and its physiological basis. *Sci Agric Sin* 36(5):513–520
- Wang M., Chen Y., Zhang R., Wang W., Zhao X., Du Y., Yin H. (2015): Effects of chitosan oligosaccharides on the yield components and production quality of different wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) in Northwest China. *Field Crops Research*, 172: 11–20.
- Wang, R., 2012. Physiological implications of hydrogen sulfide: A whiff exploration that blossomed. *Physiol. Rev.*, 92, 791–896.
- Watson S.B., Gergely A., Janus E.R. (2011): Where is agronomy heading in the United States and European Union. *Natural Resources and Environment*, 26: 8–12.
- Wei W., Lu X., Wang Z., Pérez B., Liu J., Wu C., Dong M., Feng F., Mu H., Guo Z. (2017): Single-component solid lipid nanocarriers prepared with ultra-long chain am-philic lipids. *Journal of Colloid and Interface Science*, 505: 392–401.
- Whetten, RW., MacKay, JJ., and Sederoff, RR. 1998. Recent advances in understanding lignin biosynthesis. *Plant Molecular Biology*, 49, 585–609.
- Whitehouse P., Rannard S. (2010): The application of nano-dispersions to agriculture. *Outlooks on Pest Management*, 21: 190–192.
- Whitehouse, P. ve Rannard, S., 2010, The application of nanodispersions to agriculture, *Outlooks on Pest Management*, 21 (4), 190-192.
- Wise RR. 1995. Chilling-enhanced photooxidation: the production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. *Photosynthesis Research* 45, 79–97.
- Witham, FH., Blaydes, BF., Devlin, RM. 1971. *Experiments in plant physiology*, Van Nostrand Reinhold, New York, USA, 167-200.
- Woodbury, W., Spencer, A.K. and Stahmann, M.A. (1971) An
- Woodbury, W., Spencer, AK. and Stahmann, MA. (1971) An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isoenzymes. *Analytical Biochemistry* 44, 301-305.
- Wu, G., Fang, YZ., Yang, S., Lupton, JR., Turner, ND. 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr.* 2004 Mar;134(3), 489-92.

- Wu, H., Ramachandran, C., Weiner, N. D. ve Roessler, B. J., 2001, Topical transport of hydrophilic compounds using water-in-oil nanoemulsions, *International Journal of Pharmaceutics*, 220 (1-2), 63-75.
- Wu, T., Hsu, Y., Lee, T., 2009. Effects of cadmium on the regulation of antioxidant enzyme activity, gene expression, and antioxidant defenses in the marine macroalga *Ulva fasciata*. *Botanical Studies*, 50, 25-34.
- Xiang C., Taylor A.G., Hinestroza J.P., Frey M.W. (2013): Controlled release of nonionic compounds from poly(lactic acid)/cellulose nanocrystal nanocomposite fibers. *Journal of Applied Polymer Science*, 127: 79–86.
- Xiangyang, L., Guangxi, R., Yan, S., 2011. The effect of organic manure and chemical fertilizer on growth and development of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Energy Procedia* 5 (2011) 1200–1204
- Xin X., He Z., Hill M.R., Niedz R.P., Jiang X., Sumerlin B.S. (2018): Efficiency of biodegradable and pH-responsive polysuccinimide nanoparticles (PSI-NPs) as smart nanode- livery systems in grapefruit: *In vitro* cellular investigation. *Macromolecular Bioscience*, 18: 1800159. doi: 10.1002/ mabi.201800159
- Xu W., Ling P., Zhang T. (2013): Polymeric micelles, a prom- ising drug delivery system to enhance bioavailability of poorly water-soluble drugs. *Journal of Drug Delivery*, 2013: 340415. doi: 10.1155/2013/340315
- Xu, J., Fan, Q.-J., Yin, Z.-Q., Li, X.-T., Du, Y.-H., Jia, R.-Y., Wang, K.-Y., Lv, C., Ye, G. ve Geng, Y., 2010,
- Yadeghari, LZ., Heidari, R. and Carapetian, J. 2008. The influence of cold acclimation on proline, malondialdehyde (MAD), total protein and pigments contents in soybean (*Glycine max*) seedlings, *Research Journal of Biology Science*, 3(1),74-79.
- Yadollahi, R., Vasilev, K. ve Simovic, S., 2015, Nanosuspension technologies for delivery of poorly soluble drugs, *Journal of Nanomaterials*, 2015, 1.
- Yang Z., Kang S.G., Zhou R. (2014): Nanomedicine: *De novo*
- Yang, F.-L., Li, X.-G., Zhu, F. ve Lei, C.-L., 2009, Structural characterization of nanoparticles loaded with garlic essential oil and their insecticidal activity against *Tribolium castaneum* (Herbst)(Coleoptera: Tenebrionidae), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (21), 10156-10162.
- Yannarelli, GG., Fernández-Alvarez, AJ., Santa-Cruz, DM., Tomaro, ML. 2007. Glutathione reductase activity and isoforms in leaves and roots of wheat plants subjected to cadmium stress. *Phytochemistry*, 68:,505–512.
- Yee, Y., Tam, NFY., Wong, YS., Lu, CY., 2002. Growth and physiological responses of two mangrove species (*Bruguira gymnorhiza* and *Kandelia candel*) to waterlogging. *Environmental and Experimental Botany*, 1-13.
- Yılmaz, C. 2017 . Ağır Metallerin *Pinus brutia* Ten. İğne Yapraklarında, Glutatyon S-Transferaz Enzimleri Üzerindeki Tekil ve Bazı Bütünleşik İnhibisyonları. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi
- Yong, Z., Hao-Ru T. and Ya L. 2008. Variation in Antioxidant Enzyme Activities of Two Strawberry Cultivars with Short-term Low Temperature Stress. *World Journal of Agricultural Sciences* 4 (4): 458-462.
- Yordanova, R.Y., Christov, K.N., Popova L.P., 2004. Antioxidative enzymes in barley plants subjected to soil flooding. *Environtemal and Experimental Botany*, 51, 93-101

- Yorulmaz, S., Ay, R., 2010, Akar ve böceklerde pestisitlerin detoksifikasyonunda rol oynayan
- Yoshida, K., Sanada, M., Shiraishi, Y., Nowak, D., Nagata, Y., Yamamoto, R., Sato, Y., Sato-Otsubo, A., Kon, A., Nagasaki, M., Chalkidis, G., Suzuki, Y., Shiosaka, M., Kawahata, R., Yamaguchi, T., Otsu, M., Obara, N., Sakata-Yanagimoto, M., Ishiyama, K., Mori, H., Nolte, F., Hofmann, WK., Miyawaki, S., Sugano, S., Haferlach, C., Koeffler, HP., Shih, LY., Haferlach, T., Chiba, S., Nakauchi, H., Miyano, S., Ogawa, S. 2011. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature*, 478(7367), 64-9.
- Zhao, X., Cui, H., Wang, Y., Sun, C., Cui, B. ve Zeng, Z., 2017, Development strategies and prospects of nano- based smart pesticide formulation, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66 (26), 6504-6512.
- Zheng M., Falkeborg M., Zheng Y., Yang T., Xu X. (2013): Formulation and characterization of nanostructured lipid carriers containing a mixed lipids core. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 430: 76–84.
- Zheng, C., Jiang, D., Dai, T., Jing, Q., Cao, W., 2010. Effects nitroprusside, a nitric oxide donor, on carbon and nitrogen metabolism and the activity of the antioxidation system in wheat seedlings under salt stress. *Acta Ecol. Sinica.*, 30, 1174-1183.
- Zheng, C., Jiang, D., Liu, F., Dai, T., Liu, W., Jing, Q., Cao, W., 2009. Exogenous nitric oxide improves seed germination in wheat against mitochondrial oxidative damage induced by high salinity. *Environmental and Experimental Botany*, 67(1), 222-227
- zymes. *Analytical Biochemistry* 44, 301±305.
- Ziaee, M., Moharramipour, S. ve Mohsenifar, A., 2014a, MA-chitosan nanogel loaded with Cuminum cyminum essential oil for efficient management of two stored product beetle pests, *Journal of Pest Science*, 87 (4), 691-699.
- Ziaee, M., Moharramipour, S. ve Mohsenifar, A., 2014b, Toxicity of C arum copticum essential oil-loaded nanogel against S itophilus granarius and T ribolium confusum, *Journal of Applied Entomology*, 138 (10), 763-771.
- Zinn, KE., Tunc-Ozdemir, M., Harper JF., 2010. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links, *Journal of Experimental Botany*, 61(7), 1959–1968.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı:	Aykut KARAMAN
Doğum Tari:	
Doğum Yeri:	
Uyruğu:	
Adres:	
Tel:	
E-mail:	
Eğitim	
Lise:	Erzurum Atatürk Anadolu Lisesi
Lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Botanik Bilimleri
Doktora :	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilimi
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	Orta Seviyede