



Klor Dioksinin Buğday (*Triticum aestivum* L.) Köklerindeki Fizyolojik ve Biyokimyasal Süreçler Üzerine Etkisi

Zeynep Sezer¹, Nevzat Esim^{*2}

¹ Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye.
orcid.org/0000-0002-8208-66072

² Bingöl Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Bingöl, Türkiye.
orcid.org/0000-0001-5121-092X

*Corresponding author: nesim@bingol.edu.tr

Received: 11 May 2021, **Accept:** 24 May 2021, **Published Online:** 01 June 2021

Öz

Bu çalışmada farklı konsantrasyonlardaki (50 ve 100 mg/L) klor dioksinin (ClO₂) çimlenme aşamasında buğday bitkisinin kök bölgesindeki fizyolojik ve biyokimyasal süreçler üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Fizyolojik parametreler olarak çimlenme oranı, kök uzunluğu ve kök yaş-kuru ağırlıkları incelenirken biyokimyasal parametreler olarak da lipid peroksidasyon oranı, reaktif oksijen türleri ve antioksidan enzim aktiviteleri incelenmiştir. Kullanılan her iki ClO₂ konsantrasyonu çimlenme oranında inhibisyona neden olmazken kök uzunluğu ve yaş-kuru ağırlık oranlarında ise artışa neden olmuştur. Her iki ClO₂ konsantrasyonu lipid peroksidasyonun bir indikatörü olan malondialdehit (MDA) oranını azaltmış, hidrojen peroksit miktarını etkilememiş ve süperoksit anyonu oranında konsantrasyona bağlı olarak değişime neden olmuştur. Benzer şekilde ClO₂ uygulamaları süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesini artırırken, peroksidaz (POD) aktivitesini ise azaltmıştır. Tüm sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde suların dezenfeksiyonunda kullanılan ve tarımsal sulara da karışan ClO₂'in buğday bitkisinin çimlenme aşamasında herhangi bir inhibisyona ve oksidatif hasara neden olmadığı anlaşılmaktadır.

Anahtar kelimeler: Buğday, Çimlenme, Klor dioksit, Oksidatif hasar

Effect of Chlorine Dioxide on Physiological and Biochemical Processes in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Roots

Abstract

In this study, the effect of chlorine dioxide (ClO₂) at different concentrations (50 and 100 mg/L) on the physiological and biochemical processes in the root of the wheat plant during the germination stage was investigated. While germination rate, root length and root wet-dry weights were examined as physiological parameters, lipid peroxidation rate, reactive oxygen species and antioxidant enzyme activities were examined as biochemical

parameters. While both ClO₂ concentrations used did not cause inhibition in the germination rate, they caused an increase in root length and wet-dry weight ratios. Both ClO₂ concentrations decreased the ratio of malodialdehyde (MDA), which is an indicator of lipid peroxidation, did not affect the amount of hydrogen peroxide, and the superoxide anion ratio caused a change depending on the concentration. Similarly, ClO₂ applications increased superoxide dismutase (SOD) activity and decreased peroxidase (POD) activity. When all the results are evaluated together, it is understood that ClO₂, which is used in the disinfection of water and mixed with agricultural water, does not cause any inhibition and oxidative damage during the germination stage of the wheat plant.

Keywords: Wheat, Germination, Chlorine dioxide, Oxidative damage

1. Giriş

Tarımsal üretim süreçlerinde sulama için kullanılan su, sıklıkla yeniden kullanılmak üzere tutulur veya açık su sistemlerinden elde edilir. Yeniden kullanım su kaynaklarının verimli kullanımını sağlar, çevreyi besin maddesi ve pestisit akışından korur ve su satın alma ile ilişkili üretim maliyetlerini düşürür (Stewart-Wade, 2011; Hong, 2014; Scarlett vd., 2016). Bununla birlikte, tarımsal üretim süreçlerinde suyun yeniden kullanılması bitki hastalığı riskini artırabilir (Hong ve Moorman, 2005). Bu tür suyun yeniden kullanılması veya geri dönüştürülmesi, bitki patojenlerini su kaynağına sokarak potansiyel olarak enfeksiyonla ilişkili risk, hastalık vakası ve üretim kaybına neden olabilir. Nitekim yapılan bazı çalışmalarda; sönümlenme, kök çürükleri, sürgün ölümü ve yaprak yanıklığı gibi hastalıklardan sorumlu olan *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp, *Phytophthora* spp. ve *Pythium* spp. gibi bir dizi bitki patojeninin ortaya çıkabileceğini ve sulama suyundan yayılabileceğini belirtilmiştir (Fisher, 2011; Yang vd., 2013; Scarlett vd., 2016). Tarımsal sulamada kullanılan su kaynakları bitki patojenleri için etkili üreme ve yayma sistemleri haline gelebilir. Bu nedenle, sulama için geri dönüştürülmüş suyun dezenfeksiyonu, bitki hastalığının gelişme riskini azaltmak için bitki sağlığı açısından son derece önemlidir.

Suların dezenfeksiyonunda oksitleyici maddeler, filtreleme, ultraviyole radyasyon (UV) ve ısı işlem dahil olmak üzere pek çok yöntem kullanılmaktadır. Klor dioksit (ClO₂) patojenler dahil organik maddeyi oksitleyerek dezenfektan görevi görür. Klor dioksit, suda çözülmüş bir gaz olarak bulunur ve hipoklorit tuzlarından daha yüksek bir oksitleme gücüne sahiptir. Newman (2004) klor dioksitin dezenfektan olarak sodyum hipokloritten en az 1.2 kat daha etkili olduğunu bildirmektedir. Klor gibi, klor dioksit de sudaki organik maddenin varlığından etkilenir, ancak daha geniş bir pH aralığında (4–10) etkilidir. ClO₂, çok çeşitli mikroorganizmaları etkili bir şekilde etkisiz hale getiren fungisidal, bakterisidal ve virisidal özelliklere sahip olduğu uzun süredir bilinmektedir (Gómez-López vd., 2009; Wang vd., 2019). Bu nedenle, ClO₂, karantina prosedürleri, tıbbi, tarımsal ve endüstriyel sterilizasyon önlemleri, gıda muhafazası gibi birçok alanda yaygın olarak uygulanmaktadır. Meyve ve sebzelerin sanitasyon prosedürlerinde kullanımı Dünya Sağlık Örgütü tarafından tavsiye edilmektedir. Bu nedenle Çin ve ABD gibi çeşitli ülkelerde yasal olarak kullanımına izin verilmiştir. ClO₂ uygulamasının (8.0 mg/L) yaban mersini, ahududu ve çileklerde maya ve küf popülasyonlarını azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (Gómez-López vd., 2009; Wang vd., 2019).

Ekim alanı açısından hem dünyada hem de ülkemizde en fazla ekilen tarım ürünü buğdaydır (Anonim, 2013). 2019 yılı verilerine göre Dünya da ve Türkiye de sırasıyla 762 milyon ve 19 milyon ton buğday üretilmiştir. Türkiye buğday ekim alanı bakımından dünya buğday ekim alanının %3.1'ini oluşturmaktadır. Bitki hastalıkları ile mücadele buğday yetiştiriciliğinin en önemli konulardan birisidir. Buğday üretim süreçlerinde Fusarium türlerinin neden olduğu ekonomik kayıplar oldukça fazladır. Kök ve kök boğazı hastalıkları, sap hastalıkları, çökerten ve başak yanıklıkları gibi hastalıklar yaygın olarak görülmektedir (Parry vd., 1995).

Bu çalışmanın temel amacı, buğday fidelerinin (*Triticum aestivum* L.) çimlenmesi, büyümesi ve oksidatif metabolizması üzerine suların dezenfeksiyonunda kullanılan ClO₂'nin etkilerinin fizyolojik ve biyokimyasal parametreler açısından değerlendirilmesidir.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki yetiştirilmesi ve uygulamaların yapılması

Çalışmada buğday (*Triticum aestivum* L.- Gerek 79) tohumları kullanılmıştır. Buğday bitkisine ait tohumlar, ekimden önce etanol (%96) ile kısa süreli hızlıca yıkanmış ve %2'lik sodyum hipoklorit içerisinde 5 dk. yüzey sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Daha sonra 5 kez saf su ile yıkanan tohumlar ön denemelerle belirlenen 50 ve 100 mg/L ClO₂ çözeltisinde karanlık bir ortamda ve oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek çözeltilerin emdirilmeleri sağlanmıştır. Tohumlar çözeltilerden süzülerek alınmış ve saf su içerisinde çimlendirilmeye bırakılmıştır. Kontrol grubuna ait tohumlar saf su ile emdirilmiştir. Ekim işlemlerinden sonra petri kaplarında karanlık bir ortamda 5 gün boyunca bitkilerin çimlendirilmesi sağlanmıştır. Çimlendirilen buğday tohumlarında hasat yapılmış ve çimlenme oranları, kök uzunluk-ağırlık oranları, lipid peroksidasyon, reaktif oksijen türleri ve antioksidan enzim aktiviteleri incelenmiştir.

2.2. Çimlenme oranlarının belirlenmesi (%)

Buğday bitkisi tohumlarının yüzey sterilizasyonu yapılarak kontrol ve değişik konsantrasyonlarda ClO₂ uygulaması yapılarak her gün çimlenme oranları takip edilmiştir. 5. Günün sonunda bu tohumların % çimlenme oranları belirlenmiştir.

2.3. Kök-gövde uzunluğu ile yaş-kuru ağırlık belirleme

Hasat edilen fidelerin kök ve gövde uzunlukları ölçülerek ortalama kök ve gövde uzunlukları belirlendikten sonra bu bitki kısımları tartılarak yaş ağırlıkları belirlenmiş daha sonra 1 gün boyunca 60 °C'de etüvde bekletilerek hassas terazide kuru ağırlıkları belirlenmiştir.

2.4. Lipid peroksidasyon aktivitesinin belirlenmesi

Belirli oranda tartımı (0.5 g) yapılan buğday bitkisinin kök kısımları TCA (%5) içerisinde homojenize edildi ve santrifüjlendi (10.000 x g'de 15 dakika boyunca). Süpernatant alındı ve TBA (%0.5) ilave edildi. Tüplerde reaksiyon kaynar suda 30 dakika inkübe edildikten sonra buz banyosuna alındı. Daha sonra süpernatant alındı ve sırasıyla 532 ve 600 nm de spektrofotometrede absorpsiyon değerleri okundu. Malondialdehit (MDA) miktarı

hesaplaması için 1 ml çözeltideki MDA (nmol/ml): $[(A532-A600)/155000] \times 10^6$ formülü kullanıldı (Ananieva vd., 2002).

2.5. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi

Tartımı yapılan numune (0.2 g) soğuk aseton (10 mL) da homojenize edildi ve santrifüj yapıldı. Gerekli reaksiyonlar yapıldıktan sonra 415 nm'de spektrofotometrede absorbansı ölçüldü. Bu ortalama absorbans değerleri, daha önceden hazırlanmış standart grafik yardımıyla nanogram cinsinden H₂O₂ miktarına dönüştürüldü. Hesaplamalar ng /g doku olarak yapıldı (Esim, 2011).

2.6. Süperoksit anyonu miktarının belirlenmesi

Tartımı yapılan bitki kısmı fosfat tamponunda homojenize edildi ve daha sonra santrifüj edildi. Süpernatanttan 1 ml alındı üzerine 0.1 ml hacimde 10 mM hydroxylamine hydrochloride ve fosfat tamponu eklenerek karıştırıldı. Karışım oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edildi ve daha sonra 1 ml alındı ve üzerine 1 ml 17 mM aminobenzene sulfonic acid ve 1 ml hacimde 17 mM 1-naphtylamin eklendi ve karıştırıldı. Son hacimde üzerine 3 ml n-butyl alcohol eklenerek 530 nm de spektrofotometrede absorbansları ölçüldü. Hesaplamalar hazırlanan sodyum nitrit standart grafiğine bakılarak yapıldı (Liu vd., 2007).

2.7. Antioksidan enzim aktivitelerinin belirlenmesi

0.5 g doku tartılarak porselen havan içerisinde konulduktan sonra üzerine 5 mL soğuk homojenat tamponu (%1 PVP ve 1 mM EDTA ihtiva eden 0.1 M KH₂PO₄ pH: 7.0) ilave edildi ve karışım bir santrifüj tüpüne aktarılarak 15000 x g ve +4 °C'de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonucunda elde edilen süpernatant antioksidan enzimlerin aktivite ölçümleri için kaynak olarak kullanıldı (Angelini vd., 1990).

2.8. Peroksidaz aktivitesinin belirlenmesi

Peroksidaz (POD) aktivite tayini, guaicol ve H₂O₂'nin substrat olduğu reaksiyonun ürünü olan renkli bileşiğin meydana getirdiği absorbans artışının 470 nm'de izlenmesi esasına dayanmaktadır (Angelini vd., 1990). Aktivite ölçümü için spektrofotometre küvetine; 100 mL 0.1 M, NaH₂PO₄ (pH: 5.5) ve 5 mM guaicol içeren substrat çözeltisinden 3 mL konulduktan sonra, üzerine 10 µL enzim ekstraktı ilave edilir. 470 nm'de 5 dakika boyunca absorbans artışı 1 dakika aralıklarla kaydedilir ve absorbansın doğrusal olarak arttığı kısımdaki absorbans artışı 1 dakikaya oranlanır. 25 °C'de 1 dakikada, absorbansı 0.01 artıran enzim miktarı 1 EU olarak kabul edilir ve sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (U. g⁻¹ taze ağırlık) olarak sunulur.

2.9. Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi, nitro blue tetrazoliumun (NBT) süperoksit radikalleri ile mavi renkli formazona fotokimyasal indirgenmesi reaksiyonunun SOD enzimi tarafından engellenmesinin spektrofotometrik olarak belirleme esasına dayanır. Reaksiyon karışımı (3 mL); 50 mM KH₂PO₄ (pH: 7.8), 13 mM metiyonin, 63 µM NBT, 13 µM riboflavin ve 0.1 mM EDTA içermektedir. Aktivite ölçümü için 3 mL spektrofotometre küvetine

yukarıdaki riboflavin içermeyen reaksiyon karışımından 2,58 mL alınmış ve üzerine 30 µL enzim ekstraktı pipetlendi. Reaksiyon, tüp üzerine 13 µM'lık riboflavin çözeltisinden 390 µL pipetlenip karıştırıldıktan hemen sonra, beyaz bir ışık kaynağı önüne yerleştirmek suretiyle başlatıldı. Tüp, ışık kaynağının karşısında 15 dk. tutulur ve reaksiyon ışık kaynağının kapatılmasıyla durduruldu. 15 dk. içerisinde NBT'nin renk açılma yoğunluğu 560 nm'de köre karşı okunur. Kör; aynı işlemin enzimsiz örneğinden oluşmaktadır. SOD aktivitesinin 1 ünitesi, 560 nm'de gözlenen NBT indirgenmesinin %50 inhibisyonuna neden olan enzim miktarı, 1 enzim ünitesi olarak kabul edilir ve sonuçlar g yaprak başına düşen enzim ünitesi (U.g⁻¹ taze ağırlık) olarak okundu (Agarwal ve Pandey, 2004).

2.10. İstatistiksel analiz

Çalışma içerisinde sunulacak sonuçlar, her bir uygulamadan üç örnek (3 paralel) ve her bir örnekten 3 tekrerrür yapıldıktan sonra elde edilecek 9 değerlerin ortalaması olacaktır. Sonuçların karşılaştırılması, SPSS 17.0 paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile yapılacaktır. İstatistik anlamlar, 0.05 hata seviyesinde Duncan'ın Çoklu Karşılaştırma Testi kullanılarak belirlenmiştir.

3. Sonuçlar ve Tartışma

3.1. Klor dioksinin çimlenme oranı ve fizyolojik parametreler üzerine etkisi

Petri kaplarına ekim işlemi günlük olarak takip edilmiş ve 5. Günün sonunda toplam çimlenme yüzdeleri, kök uzunlukları ve yaş-kuru ağırlıkları hesaplanmıştır. Tüm bu işlemler sonucunda tablo incelendiğinde klor dioksinin (ClO₂) her iki konsantrasyonu kontrole göre çimlenme üzerinde herhangi bir inhibisyona neden olmamıştır (Tablo 1). Bununla birlikte 50 mg/L ClO₂ konsantrasyonu kök uzunluğunu %6.65 oranında artırırken 100 mg/L ClO₂ konsantrasyonu ise herhangi bir değişiklik meydana getirmemiştir. Çimlenen buğday fidelerinin yaş-kuru ağırlıklarında ClO₂'in her iki konsantrasyonu önemli ölçülerde artışlara neden olmuştur. Yaş ağırlıklar kontrole göre 50 mg/L ClO₂ grubunda %29.7 ve 100 mg/L ClO₂ grubunda ise %39.18 oranında artmıştır. Benzer şekilde fidelerin kuru ağırlık miktarlarında da ClO₂ uygulanmış gruplarda önemli oranlarda artışlar sağlanmıştır. Kontrol grubu ile kıyaslandığında fidelerin kuru ağırlıkları 50 mg/L ClO₂ grubunda %16.6 ve 100 mg/L ClO₂ grubunda ise %33.3 oranında artmıştır.

Tablo 1. Farklı ClO₂ konsantrasyonlarının çimlenme oranları (%), fide köklerinin uzunlukları (cm) ve yaş-kuru ağırlıkları (g) üzerine etkisi.

Konsantrasyonlar	Çimlenme oranı (%)	Kök uzunluğu (cm)	Yaş ağırlık (g)	Kuru ağırlık (g)
Kontrol	99.33 ± 0.1a	12.47 ± 0.3b	0.74 ± 0.06c	0.06 ± 0.002c*
50 mg/L ClO ₂	100 ± 0.0a	12.40 ± 0.2b	0.96 ± 0.09b	0.07 ± 0.001b
100 mg/L ClO ₂	99.33 ± 0.1a	13.33 ± 0.4a	1.03 ± 0.12a	0.08 ± 0.002a

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

3.2. Klor dioksitin lipid peroksidasyon ve reaktif oksijen türleri üzerine etkisi

Her iki ClO₂ uygulamasında kontrol grubuna göre buğday bitkisinin köklerinde lipid peroksidasyonun bir indikatörü olan malondialdehit (MDA) miktarlarında önemli azalmalara neden olmuştur. Kontrol bitkilerinin köklerinde MDA miktarları 1.39 nmol.g⁻¹ olarak ölçülürken, bu değer 50 mg/L ClO₂ ve 100 mg/L ClO₂ uygulamalarıyla köklerde sırasıyla 0.95 ve 0.79 nmol.g⁻¹'ye kadar azalmıştır (Tablo 2). Buna göre her iki ClO₂ uygulaması kontrol ile kıyaslandığında MDA miktarını sırasıyla %31.65 ve %43.16 gibi önemli (P<0.05) oranlarda düşürmüştür. Tüm gruptaki bitkilerin köklerindeki MDA miktarları tabloda verilmiştir (Tablo 2).

Kontrol bitkilerinin köklerinde hidrojen peroksit (H₂O₂) ve süperoksit anyonu (O₂⁻) gibi reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarları sırasıyla 78.42 ng.g⁻¹ ve 5.10 µg.g⁻¹ olarak ölçülmüştür. Uygulanan her iki ClO₂ konsantrasyonları kontrole göre H₂O₂ miktarlarında önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Ancak 50 mg/L ClO₂ uygulaması O₂⁻ miktarında %18.62 oranında artırırken 100 mg/L ClO₂ uygulaması ise O₂⁻ miktarında % 7.84 oranında azalmaya neden olmuştur. Tüm gruptaki bitkilerin köklerindeki H₂O₂ ve O₂⁻ miktarları tabloda verilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Farklı ClO₂ konsantrasyonlarının buğday bitkisi köklerinde MDA, H₂O₂ ve O₂⁻ miktarı üzerine etkisi.

Konsantrasyonlar	MDA (nmol.g ⁻¹)	Hidrojen Peroksit (ng.g ⁻¹)	Süperoksit anyonu (µg.g ⁻¹)
Kontrol	1.39 ± 0.4c	78.42 ± 2.1a	5.10 ± 0.3b*
50 mg/L ClO ₂	0.95 ± 0.2b	77.70 ± 3.4a	6.05 ± 0.4c
100 mg/L ClO ₂	0.79 ± 0.1a	76.98 ± 4.2a	4.70 ± 0.1a

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

3.3. Klor dioksitin antioksidan enzimler türleri üzerine etkisi

Süperoksit dismutaz (SOD) enziminin aktivite düzeylerinin kontrol ve ClO₂ uygulamalarında farklılık gösterdiği görülmüştür (Tablo 3). Kontrole göre 50 mg/L ClO₂ uygulanan bitkilerin köklerinde SOD aktivitesi %36.8'lik önemli bir artışa (P<0.05) neden olmuştur (Tablo 3). Benzer şekilde 100 mg/L ClO₂ uygulamasında kontrole göre SOD aktivitesinde %59.12'lik önemli bir artış meydana gelmiştir (P<0.05). Tüm gruptaki bitkilerin köklerindeki SOD değişimleri tabloda verilmiştir (Tablo 3).

Buğday bitkisinin köklerinde peroksidaz (POD) aktivitesi kontrole grubuna göre ClO₂ uygulamalarında önemli değişimler meydana gelmiştir (Tablo 3). Kontrol bitkisinin yapraklarında POD aktivitesi 5832.5 U.mg⁻¹ taze ağırlık iken, 50 mg/L ClO₂ uygulamasıyla bu değer %58'lik bir azalışla 2445 U.mg⁻¹ taze ağırlık olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde 100 mg/L ClO₂ uygulaması buğday köklerindeki POD aktivitesinde 2602.5 U.mg⁻¹ taze ağırlık ile %55'lik bir azalışa neden olmuştur.

Tablo 3. Farklı ClO₂ konsantrasyonlarının buğday bitkisi köklerinde SOD ve POD aktiviteleri üzerine etkisi.

Konsantrasyonlar	SOD (U.mg ⁻¹ taze ağırlık)	POD (U.mg ⁻¹ taze ağırlık)
Kontrol	5.92 ± 0.3a	5832.50 ± 23.4c*
50 mg/L ClO ₂	8.10 ± 0.8b	2445 ± 18.6a
100 mg/L ClO ₂	9.42 ± 0.6c	2602.50 ± 14.8b

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

Çalışmamızda insanoğlunun kültüre aldığı en eski tarla bitkilerinden biri olan buğday (*Triticum aestivum* L.) kullanılmıştır. Dünyada tahıl bitkileri içerisinde buğday en geniş ekim alanı ve üretime sahiptir. Günümüzde zengin besin maddesi içeriği nedeniyle özellikle insan beslenmesinde kullanılan buğday, yüksek verim alınabilen bir tarla bitkisi olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda kullandığımız Gerek-79; kışlık, soğuğa ve kurağa dayanıklı olup, kardeşlenmesi yüksek, sarı ve kahverengi paslara toleranslı, kara pasa orta hassas olan bir ekmeklik buğday çeşittir. Suların dezenfeksiyonunda kullanılan klor dioksin (ClO₂) tarımsal sulara karışabilmekte ve buğday yetiştiriciliği alanlarına ulaşabilmektedir. Bundan dolayı ClO₂'a maruz kalan buğday bitkilerinde nasıl bir fizyolojik ve biyokimyasal değişim olacağı ve bitkinin bundan nasıl etkilendiğini tespit etmek son derece önem arz etmektedir. Bu çalışmada ilk kez buğday bitkisine çimlenme aşamasında farklı konsantrasyonlarda ClO₂ uygulamaları yapılarak olası fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki değişimler analiz edilmiştir.

ClO₂ uygulaması buğday tohumlarının çimlenmelerinde herhangi bir inhibisyona neden olmamıştır. Bununla birlikte kök uzunluğu ve yaş-kuru ağırlıklarında da inhibisyona da neden olmadığı gibi bilakis bu parametrelerde artışa bile neden olduğu tespit edilmiştir (Tablo 1). Bu durum ClO₂'in tohum çimlenme aşamasında fizyolojik bir inhibisyona neden olmadığını göstermektedir. Daha önce yapılan bir çalışmada; arpa bitkisinin çimlenme aşamasında ClO₂'in uygulamasının çimlenme oranını etkilemediği, yaş ağırlığı ise önemli oranda artırdığı tespit edilmiştir (Wang vd., 2019). Çalışmamızda elde edilen sonuçlar daha önce yapılan ilgili çalışmanın sonuçları ile uyumlu olduğu görülmektedir. Bu olumlu durum özellikle buğdayın depolanması esnasında zararlara neden olan mikroorganizmaların önlenmesi için ClO₂'in antimikrobiyal ajan olarak kullanılabilme imkanını tanımaktadır. Bunun neticesinde depolama aşamalarında meydana gelen verim kayıplarının önüne geçilebilir.

Hücre membranı, hücreleri ve organellerini içeren seçici geçirgen bir bariyerdir, bu seçici-geçirgenlik hücre veya organellerin iç ve dış ortamı arasındaki maddelerin geçişini sağlar. Benzer şekilde sinyal aktarımı ve bazı maddelerin sentezini yaparak hücreler için fiziksel bağlantıyı da sağlar (Wang vd., 2019). Olumsuz şartlarda bitki hücrelerinde aşırı reaktif oksijen türlerinin oluştuğu belirtilmiştir. Miktarı artan ve biriken ROS'lar, hücre zarlarındaki doymamış yağ asitlerini oksitleyerek lipidlerinin peroksidasyonuna neden olur. Bunun neticesinde hücre zarı zarar görür, seçiciliği bozulur, böylece sitoplazmadan elektrolitlerin sızması artar. Bu nedenle, MDA içeriğinin artması zar geçirgenliği ve hücre zarı hasar görme oranı olarak değerlendirilir. Hidrojen peroksit (H₂O₂); bitkilerde özellikle peroksizom, mitokondri ve kloroplastlardaki metabolik etkinlikler sonucunda oluşan bir oksidan üründür. Süperoksit anyonu (O₂⁻), stres şartlarında içsel seviyesi artan ve hücrelerde önemli hasarlara neden olan bir radikaldir. Bu radikalın lipid peroksidasyonu, membran hasarı, hücresel toksisite ve DNA'daki tek zincir kırılmalarına sebep olduğu belirtilmiştir (Asada 2006). Buğday bitkisinin çimlenme aşamasında uygulama yapılan ClO₂'in özellikle MDA

miktarını düşürmesi ve aynı zamanda H₂O₂ miktarında ise artışa neden olmaması ClO₂'un çimlenme aşamasında buğday kökleri üzerinde herhangi bir oksidatif hasar oluşturmadığını göstermektedir. O₂⁻ miktarının sadece 50 mg/L konsantrasyonunda belirli oranda artış meydana gelmiştir. Ancak MDA sonuçları incelendiğinde meydana gelen bu artışın hücre zarında oksidatif zarara neden olmadığı anlaşılmaktadır. Benzer şekilde arpa tohumlarının çimlenme aşamasında uygulanan ClO₂'in MDA oluşumunda artışa neden olmadığı tespit edilmiştir (Wang vd., 2019). İlgili çalışmanın sonuçları ile bizim çalışmanın sonuçları arasında iyi bir uyum görülmektedir. ClO₂'nin çimlenme aşamasında oksidatif hasara neden olmaması son derece önemli bir gösterge olup buğday bitkileri üzerine ClO₂'in olumlu etkisinin olabilme ihtimalini daha da artırmaktadır.

SOD ve POD bitkilerde oksidatif hasarın önlenmesi ile ilgili iki ana antioksidan enzimdir. H₂O₂ ve O₂⁻ gibi reaktif oksijen türleri hasarından bitki hücrelerini etkili bir SOD ve POD savunma hattı koruyabilir. Deneysel sonuçlarımız hem 50 mg/L hem de 100 mg/L ClO₂ uygulamaları SOD aktivitesini önemli ölçüde artırırken, POD aktivitesini azaltmıştır (Tablo 3). POD aktivitesindeki azalmanın nedeni substratı olan H₂O₂'in artmaması olabilir. Özellikle SOD aktivitesindeki artış, antioksidan kapasitede bir artışa ve bununla birlikte MDA ve ROS konsantrasyonlarında bir azalmaya yol açtı. Benzer şekilde daha önce yapılan bir çalışma da antioksidan enzim aktivitelerinde olumlu etkiler yaptığı belirtilmiştir (Wang vd., 2019). Bu durumda oksidatif hasarın oluşmadığının diğer bir göstergesidir.

4. Sonuç

Son yıllarda özellikle içme sularının dezenfeksiyonunda kullanımı giderek artan ClO₂'in tarımsal sulara da karıştığı ve bu durumda bitkisel üretim süreci üzerinde nasıl bir etki yapacağı belirsizdir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre ClO₂'in buğdayın çimlenme aşamasında kök kısımlarında herhangi bir inhibisyona ve oksidatif hasara neden olmadığı belirlenmiştir. İyi bir dezenfektan olan ClO₂'in özellikle buğdayın depo koşullarda meydana gelen mikrobiyal kaynaklı hastalık ve kayıplarını azaltmada kullanma potansiyeli olabilir. ClO₂'in buğday bitkilerinin çimlenme aşamasındaki etkisi ile ilgili ilk olan bu çalışmanın sonuçlarının etkinliğini ve kullanma potansiyeli için daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Çıkar Çatışmaları

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ediyor

Bu makale Doç.Dr. Nevzat Esim danışmanlığında hazırlanan yüksek lisans tezinden üretilmiştir.

Kaynaklar

- Agarwal, S., & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Biologia Plantarum*, 48(4), 555-560.
- Ananieva, E. A., Alexieva, V. S., & Popova, L. P. (2002). Treatment with salicylic acid decreases the effects of paraquat on photosynthesis. *Journal of Plant Physiology*, 159(7), 685-693.
- Angelini, R., & Federico, R. (1989). Histochemical evidence of polyamine oxidation and generation of hydrogen peroxide in the cell wall. *Journal of Plant Physiology*, 135(2), 212-217.

- Anonim. (2013). <http://www.trakkulup.net/haberler-desteklemeler/bugday-ve-bugdaytarimi-hakkinda-genel-bilgiler2013/> Erişim tarihi: 28.09.2013.
- Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 141(2), 391-396.
- Esim, N. (2011). Nitrik oksitin mısır da (*Zea mays*) düşük sıcaklık stresine toleransı üzerine etkisi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Fisher, P. (2011). *Water Treatment Guidelines. Water Education Alliance For Horticulture*. Gainesville: University of Florida IFAS Extension.
- Gómez-López, V. M., Rajkovic, A., Ragaert, P., Smigic, N., & Devlieghere, F. (2009). Chlorine dioxide for minimally processed produce preservation: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 20(1), 17-26.
- Hong, C. X. (2014). *Component analyses of irrigation water in plant disease epidemiology. Biology, detection and management of plant pathogens in irrigation water*. St. Paul: The American Phytopathological Society.
- Hong, C. X., & Moorman, G. W. (2005). Plant pathogens in irrigation water: challenges and opportunities. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(3), 189-208.
- Liu, Y., Wu, R., Wan, Q., Xie, G., & Bi, Y. (2007). Glucose-6-phosphate dehydrogenase plays a pivotal role in nitric oxide-involved defense against oxidative stress under salt stress in red kidney bean roots. *Plant and Cell Physiology*, 48(3), 511-522.
- Newman, S. (2004). Disinfecting irrigation water for greenhouse. Paper presented at the 20th annual conference on pest management on ornamentals, San Jose: 20-22 Feb 2004.
- Parry, D. W., Jenkinson, P., & McLeod, L. (1995). Fusarium ear blight (scab) in small grain cereals—a review. *Plant Pathology*, 44(2), 207-238.
- Scarlett, K., Collins, D., Tesoriero, L., Jewell, L., van Ogtrop, F., & Daniel, R. (2016). Efficacy of chlorine, chlorine dioxide and ultraviolet radiation as disinfectants against plant pathogens in irrigation water. *European Journal of Plant Pathology*, 145(1), 27-38.
- Wang, R., Chen, B., Wang, T., Li, P., & Ding, F. (2019). Effects of chlorine dioxide on the germination, oxidative metabolism and growth of barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). *Scientific Reports*, 9(1), 1-8.
- Yang, X., Copes, W. E., & Hong, C. (2013). *Phytophthora mississippiae* sp. nov., a new species recovered from irrigation reservoirs at a plant nursery in Mississippi. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 4(6), 180. Doi: 10.4172/2157-7471.1000180