



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü



**DOMATES BİTKİSİNİN METAL BAZLI
NANOPARTİKÜL UYGULAMALARINA
FİZYOLOJİK VE PROTEOMİK YANITLARININ
BELİRLENMESİ**

Doktora Tezi

Yiğit KÜÇÜKÇOBANOĞLU

Biyoloji Anabilim Dalı

İzmir
2022

TC.

EGE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOMATES BİTKİSİNİN METAL BAZLI
NANOPARTİKÜL UYGULAMALARINA
FİZYOLOJİK VE PROTEOMİK YANITLARININ
BELİRLENMESİ**

Yiğit KÜÇÜKÇOBANOĞLU

Danışman: Prof. Dr. Lale AKTAŞ

Biyoloji Anabilim Dalı

Botanik Doktora Programı

İZMİR

2022





EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI**

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Domates Bitkisinin Metal Bazlı Nanopartikül Uygulamalarına Fizyolojik ve Proteomik Yanıtlarının Belirlenmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

24/ 08/ 2022

Yiğit KÜÇÜKÇOBANOĞLU



ÖZET**DOMATES BİTKİSİNİN METAL BAZLI NANOPARTİKÜL
UYGULAMALARINA FİZYOLOJİK VE PROTEOMİK
YANITLARININ BELİRLENMESİ**

KÜÇÜKÇOBANOĞLU, Yiğit

Doktora Tezi, Biyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Lale Aktaş

Ağustos, 2022 120 Sayfa

Metal bazlı nanopartikül uygulamaları oldukça yaygın kullanım alanlarıyla birlikte bitki büyüme ve gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Demir ve gümüş nanopartikülleri ise spesifik özellikleri sayesinde bu grup içerisinde ön plana çıkmaktadır. Yapılan tez çalışmasında, yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen demir ve gümüş nanopartiküllerin domates bitkisine uygulanmasıyla oluşan fizyolojik ve proteomik yanıtlar araştırılmıştır. Demir ve gümüş nanopartikülleri defne (*Laurus nobilis*) yaprak ekstresi kullanılarak sentezlenmiş ve karakterize edilmiştir. Ardından sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu UV-VIS spektrofotometre, SEM, EDS, FTIR, Zeta boyut ve Zeta potansiyel analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular gümüş nanopartiküllerinin 33 nm, demir nanopartiküllerinin ise 34 nm boyutunda olduğunu göstermiştir. UV-VIS, FTIR, EDS ve Zeta analizleri ise nanopartiküllerin yapısal konformasyonunu doğrulamıştır. Demir ve gümüş nanopartikülleri domates bitkisine foliar olarak uygulandıktan sonra nanopartiküllerin büyüme ve gelişme üzerindeki etkileri ile biyokimyasal/moleküler ve proteomik düzeyde etkileri araştırılmıştır. Bitki büyüme ve gelişmesi üzerinde, 250 mg L⁻¹ konsantrasyon uygulamasında demir nanopartiküllerinin yaş-kuru ağırlık miktarlarını stimüle ettiği belirlenirken kök-gövde uzunluklarını ise 25 mg L⁻¹ ve 50 mg L⁻¹ gümüş uygulamalarının stimüle ettiği belirlenmiştir. Biyokimyasal/moleküler analizler kapsamında yapılan H₂O₂ içeriği, MDA içeriği, fotosentetik verim analizi ve fotosentetik pigment analizlerinde nanopartikül uygulamalarının bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte protein içeriği, CAT aktivitesi ve toplam antioksidan aktivite miktarlarının bütün konsantrasyonlarda yapılan nanopartikül uygulamalarında azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca SOD aktivitesi ve prolin

içeriklerinin ise uygulama yapılan her iki nanopartikülde ve bütün konsantrasyonlarında arttığı belirlenmiştir. Bu durum nanopartikül uygulamalarının bitki tarafından tolere edilebildiğini sonucunu ortaya koymaktadır. Yapılan proteomik analizlerde ilk olarak SDS-PAGE analizi ile bitki proteinleri ayrılmıştır. Elde edilen jel görüntülerinde nanopartikül uygulamalarının tamamında yaklaşık 75, 68, 57, 43, 39, 22, 17 ve 15 kDa olarak hesaplanan toplam 8 bant üzerinde farklılaşmalar olduğu belirlenmiştir. Yaklaşık 39 kDa molekül ağırlığında belirlenen protein bandının gümüş nanopartikül uygulamalarında tamamen kaybolduğu belirlenmiştir. Yaklaşık 22 kDa molekül ağırlığında ise Fe nanopartikül uygulamalarının yeni bir bandı oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir. Diğer bantlarda ise bant yoğunluklarında azalmalar gözlemlenmiştir. Son olarak protein bandlarında belirlenen değişimlerin metal bağlayan proteinlerle ilişkisi, belirlenen molekül ağırlığındaki proteinlerin domates proteomundan seçilerek biyoinformatik olarak analiz edilmesiyle ortaya konulmuştur. *In silico* sekans analizlerinde belirlenen bantlar üzerinde 3373 protein belirlenirken bunlardan toplam 114 tanesinin metal bağladığı belirlenmiştir. Üç boyutlu yapısal modelleme analizlerinde bu proteinler içerisinde 82 proteinin yapısı Phyre2, ProSA ve MIB araçları kullanılarak doğrulanmıştır. Belirlenen proteinler CELLO ve InterPro araçları kullanılarak lokalizasyon, dahil olduğu biyolojik prosesler, moleküler fonksiyonları ve yapısına katıldığı hücresel bileşenler için analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular, uygulanan demir ve gümüş nanopartikül düzeylerinin domates bitkisinde büyüme ve gelişmeyi uyarıcı etkisini ortaya koymaktadır. Fe ve Ag nanopartikül uygulamalarının, bitkide oksidatif stres ve hücre hasarının oluşmasına neden olacak lipid peroksidasyon düzeyine neden olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca oksidatif strese yanıtta yer alan enzimlerin biyokimyasal verileri ile farklılaşan proteinlerin biyoinformatik analizleri arasındaki ilişki paralel bulunmuştur.

Anahtar sözcükler: Gümüş, demir, nanopartikül, proteomik, biyoinformatik, domates

ABSTRACT**DETERMINATION OF PHYSIOLOGICAL AND PROTEOMIC
RESPONSES OF METAL BASED NANOPARTICLE
TREATMENTS ON TOMATO PLANTS**

KÜÇÜKÇOBANOĞLU, Yiğit

PhD in, Biology

Supervisor: Prof. Dr. Lale Aktaş

August, 2022 120 pages

Metal-based nanoparticle applications have an important role in plant growth and development with their widespread use. Iron and silver nanoparticles come forward because of their specific properties. In this thesis study, iron and silver nanoparticles were produced by green synthesis method. Then, the physiological and proteomic responses of the applied nanoparticles on the tomato plant were investigated. Synthesized nanoparticles were characterized by using UV-VIS spectrophotometer, SEM, EDS, FTIR, Zeta size and Zeta potential. Results showed that size silver nanoparticle were 33 nm and the size of iron nanoparticles were 34 nm. Structural conformation of nanoparticles was performed by UV-VIS, FTIR, EDS and Zeta analyses. After foliar application of iron and silver nanoparticles onto plants, macroscopic, biochemical/molecular, and proteomic observations were done, and their effects were investigated on plants. Within the scope of macroscopic observations, the iron nanoparticles showed positive effects on plant growth and development in 250 mg L⁻¹ dose application, while 25 mg L⁻¹ and 50 mg L⁻¹ silver showed positive effects on root-stem lengths. The nanoparticle applications did not cause any change in H₂O₂ and MDA content, photosynthetic yield analysis and photosynthetic pigment analyzes made within the scope of biochemical/molecular observations. However, protein content, CAT and total antioxidant activity levels decreased in all doses of nanoparticle applications. In addition, proline and SOD contents increased in all nanoparticle doses applied. This situation revealed that nanoparticle applications can be tolerated by the plant, but at the proteomic level, the plants are exposed to oxidative stress. In the proteomic analysis, plant proteins

were first separated by SDS-PAGE analysis. In the obtained gel images, there were variations on a total of 8 bands, which were at around 75, 68, 57, 43, 39, 22, 17 and 15 kDa in all nanoparticle applications. The protein band determined at a molecular weight of around 39 kDa was completely lost in silver nanoparticle applications. Fe nanoparticle applications formed a new band with a molecular weight of around 22 kDa. In other bands, decreases in band intensities were observed. Finally, in order to analyze whether this change is caused by metal binding proteins, the proteins of determined molecular weight were selected from the tomato proteome and analyzed bioinformatically. While 3373 proteins were demonstrated on the bands with *in silico* sequence analysis, a total of 114 of them were determined to bind metals. In three-dimensional structural modeling analyses, the structures of 82 proteins were verified using Phyre2, ProSA and MIB tools. The identified proteins were analyzed using CELLO and InterPro tools for their localization, biological processes involved, molecular functions, and cellular components that they participate in. Results confirm that plants cause changes in oxidative stress-related proteins at the proteomic level.

Keywords: Silver nanoparticle, iron nanoparticle, proteomics, bioinformatics, tomato

ÖNSÖZ

Ege Üniversitesi çatısı altında 15 yıl boyunca devam eden öğrenim serüvenimin son adımı olan doktora tezimin bu çalışma ile tamamlanmasından mutluluk duymaktayım. Tez çalışması süresi boyunca hep daha iyisini yapma hevesi ve heyecanı hayatımın bir parçası haline gelmiştir. Gelecek yıllarda ülke ve dünya akademisine hizmet edebilecek olmam bu heyecanımı pekiştirmiştir. Umut dolu günleri birlikte yaratabilmek için durmadan ve sıkılmadan çalışmamız gerektiğini her geçen gün hatırladığım bu süreci yaşayabildiğim için minnettarım. Bu tez çalışmasının tamamlanmasında katkısı bulunan herkese teşekkürü borç bilir ve çalışma hayatlarında başarılar dilerim.

İZMİR

24/08/2022

Yiğit KÜÇÜKÇOBANOĞLU



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

İÇ KAPAK.....	ii
KABUL ONAY SAYFASI.....	iv
ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI.....	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
ÖNSÖZ.....	xi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ.....	xix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Nanoteknoloji Tarihçesi, Tanımı ve Uygulama Alanları	1
1.2. Nanopartiküller ve Sınıflandırılması	2
1.3. Metal bazlı Nanopartiküller	4
1.4. Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu	5
1.5. Gümüş ve Demir Nanopartiküllerin Bitki Üzerindeki Etkileri.....	8
1.6. Biyoinformatik Tanımı, Tarihçesi ve Sınıflandırılması.....	11
1.7. Proteomik Yaklaşımlar ve Uygulama Alanları.....	12
1.8. Metal bazlı Nanopartikül Uygulamalarının Bitki Proteomu Üzerindeki Etkileri	15
1.9. Domates Bitkisi Ve Önemi	17
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
2.1. Materyal.....	18
2.2. Kullanılan Kimyasallar	18

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3. Kullanılan Cihaz ve Araçlar.....	19
2.4. Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu.....	19
2.4.1. Defne Ekstresi Hazırlanması.....	19
2.4.2. Ag NP Sentezi	20
2.4.3. Fe NP Sentezi	20
2.4.4. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu	20
2.5. Bitki Büyüme Koşulları	21
2.6. Bitki Büyüme ve Gelişme Analizleri	21
2.7. Biyokimyasal/Moleküler Analizler.....	21
2.7.1. Hidrojen Peroksit Konsantrasyonun Belirlenmesi	21
2.7.2. Lipid Peroksidasyonu Seviyelerinin Belirlenmesi	22
2.7.3. Fotosentetik Verim Analizi	22
2.7.4. Fotosentetik Pigment İçeriğinin Belirlenmesi	22
2.7.5. Toplam protein içeriğinin belirlenmesi	23
2.7.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi	23
2.7.7. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi	24
2.7.8. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi	24
2.7.9. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi	24
2.8. Proteomik Analizler	25
2.8.1. Protein Ekstraksiyonu.....	25
2.8.2. Protein Ayırımı ve SDS-PAGE	25
2.8.3. <i>In Silico</i> Sekans Analizi	26
2.8.4. Üç Boyutlu (3B) Protein Yapı Analizi	26
2.9. İstatistiksel Analizler.....	27

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

3. BULGULAR	28
4.1. Ag ve Fe Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu	28
4.2. Bitki Büyüme ve Gelişme Analizleri.....	32
4.3. Biyokimyasal/Moleküler Analizler	39
4.3.1. Hidrojen Peroksit Konsantrasyonun Belirlenmesi.....	39
4.3.2. Lipid Peroksidasyonu Seviyelerinin Belirlenmesi.....	41
4.3.3. Fotosentetik Verim Analizi.....	43
4.3.4. Fotosentetik Pigment İçeriğinin Belirlenmesi	44
4.3.5. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi.....	50
4.3.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	52
4.3.7. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi	53
4.3.8. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi.....	55
4.3.9. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi.....	56
4.4. Proteomik Analizler.....	58
4.4.1. Protein Ayrımı ve SDS-PAGE.....	58
4.4.2. <i>In Silico</i> Sekans Analizi	60
4.4.3. Üç Boyutlu (3B) Protein Yapı Analizi.....	60
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	81
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	92

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Nanometre boyut ölçeği.....	1
Şekil 1.2. Nanoteknolojinin kullanım alanları.	2
Şekil 1.3. Bulundukları şekillere göre nanopartiküller (Hamida et al., 2020).	3
Şekil 1.4. Nanopartiküllerin yapısal kompozisyonlarına göre sınıflandırılması.	3
Şekil 1.5. Nanopartikül sentez yöntemleri (Jamkhande et al., 2019).	6
Şekil 1.6. Biyoinformatik çalışmaların sınıflandırılması.....	12
Şekil 1.7. Günümüzde kullanılan proteomik teknolojiler.	15
Şekil 3.1. Ag nanopartikül UV-VIS Absorbans spektrumu.....	28
Şekil 3.2. Fe nanopartikül UV-VIS Absorbans spektrumu.	28
Şekil 3.3. Ag nanopartikül SEM görüntüsü.	29
Şekil 3.4. Fe nanopartikül SEM görüntüsü.	29
Şekil 3.5. Ag nanopartikül EDS spektrumu.....	30
Şekil 3.6. Fe nanopartikül EDS spektrumu.....	30
Şekil 3.7. Ag nanopartikül FTIR spektrumu.....	31
Şekil 3.8. Fe nanopartikül FTIR spektrumu.	31
Şekil 3.9. Ag nanopartikül Zeta potansiyel ve Zeta boyut analizleri.....	32
Şekil 3.10. Fe Nanopartikül Zeta potansiyel ve Zeta boyut analizleri.....	32

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 3.11. (A) Kontrol, Ag nanopartikül 25 mg L ⁻¹ ve Ag Np 50 mg L ⁻¹ uygulanmış bitkilerin görüntüleri (B) Kontrol, Fe nanopartikül 250 mg L ⁻¹ ve Fe nanopartikül 500 mg L ⁻¹ uygulanmış bitkilerin görüntüleri.	33
Şekil 3.12. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin yaş ağırlık miktarı.	34
Şekil 3.13. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kuru ağırlık miktarı.	35
Şekil 3.14. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kök uzunluğu.	37
Şekil 3.15. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin gövde uzunluğu.	38
Şekil 3.16. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin H ₂ O ₂ içeriği.	40
Şekil 3.17. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin MDA içeriği.	42
Şekil 3.18. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin Fv/Fm değerleri.	43
Şekil 3.19. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil a içeriği.	45
Şekil 3.20. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b içeriği.	46
Şekil 3.21. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam klorofil içeriği.	48

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam)

Sayfa

Şekil 3.22. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam karotenoid içeriği.	49
Şekil 3.23. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam protein içeriği.	51
Şekil 3.24. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin süperoksit dismutaz aktivitesi.	52
Şekil 3.25. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi.	54
Şekil 3.26. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi.	55
Şekil 3.27. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin prolin içeriği.	57
Şekil 3.28. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin proteom profilinin SDS-PAGE görüntüsü.	59

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 3.1. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin yaş ağırlık değerleri ve $\pm$ standart hata.	34
Çizelge 3.2. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kuru ağırlık değerleri ve $\pm$ standart hata.	36
Çizelge 3.3. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kök uzunluğu değerleri ve $\pm$ standart hata.	37
Çizelge 3.4. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin gövde uzunluğu değerleri ve $\pm$ standart hata.	39
Çizelge 3.5. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin H_2O_2 içeriği ve $\pm$ standart hata.	40
Çizelge 3.6. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin MDA içeriği ve $\pm$ standart hata.	42
Çizelge 3.7. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin F_v/F_m değerleri ve $\pm$ standart hata.	44
Çizelge 3.8. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil a içeriği ve $\pm$ standart hata.	45
Çizelge 3.9. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b içeriği ve $\pm$ standart hata.	47
Çizelge 3.10. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam klorofil içeriği ve $\pm$ standart hata.	48
Çizelge 3.11. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam karotenoid içeriği ve $\pm$ standart hata.	50

TABLOLAR DİZİNİ (devam)

Sayfa

Çizelge 3.12. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam protein içeriği ve $\pm$ standart hata.	51
Çizelge 3.13. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin süperoksit dismutaz aktivitesi ve $\pm$ standart hata.	53
Çizelge 3.14. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi ve $\pm$ standart hata.	54
Çizelge 3.15. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi ve $\pm$ standart hata.	56
Çizelge 3.16. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin prolin içeriği ve $\pm$ standart hata.	57
Çizelge 3.17. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan proteom profilinde farklılık gösteren protein bantlarının molekül ağırlıkları.	59
Çizelge 3.18. Phyre2, ProSA ve MIB analizleri ile 3B yapısı doğrulanmış proteinler.	60
Çizelge 3.19. Yapısı doğrulanmış proteinlerin lokalizasyonu, katıldığı biyolojik prosesler, aldığı moleküler fonksiyonlar ve yapısına dahil olduğu hücresel bileşenler.	66

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
Ag	Gümüş
Fe	Demir
Cu	Bakır
Au	Altın
Zn	Çinko
TiO ₂	Titanyum dioksit
CeO ₂	Seryum dioksit
Fe ₃ O ₄	Magnetit
Al ₂ O ₃	Alüminyum oksit
ZnO	Çinko oksit
Mg	Magnezyum
Ca	Kalsiyum
Mn	Mangan
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
<u>Kısaltmalar</u>	
TCA	Trikloroasetik asit
TBA	Tiyobarbütirik asit

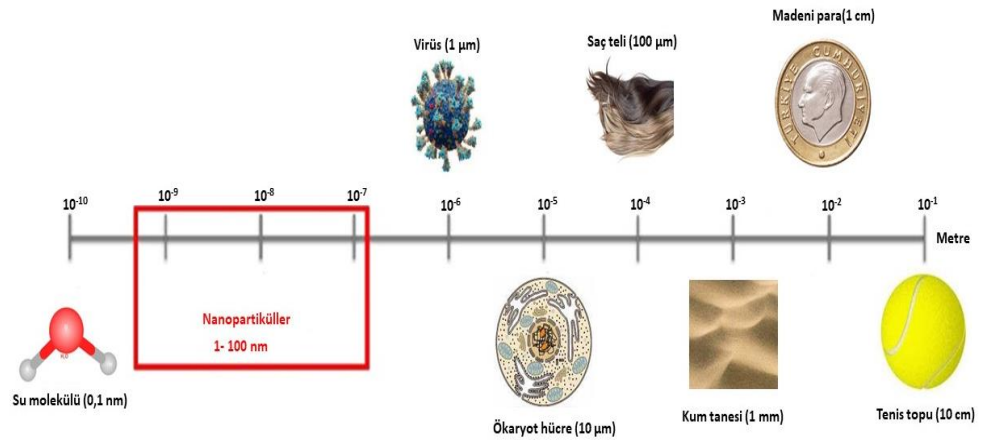
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
MDA	Malondialdehit
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
PMSF	Fenil metil sülfonil florid
PVPP	Polivinil(poli)pirolidin
BSA	Bovin serum albümin
SOD	Süperoksit dismutaz
CAT	Katalaz
DTT	DL-Ditiyiotreitol
HMM	Gizli Markov modeli
ZVI	Sıfır değerlikli iyon
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

1. GİRİŞ

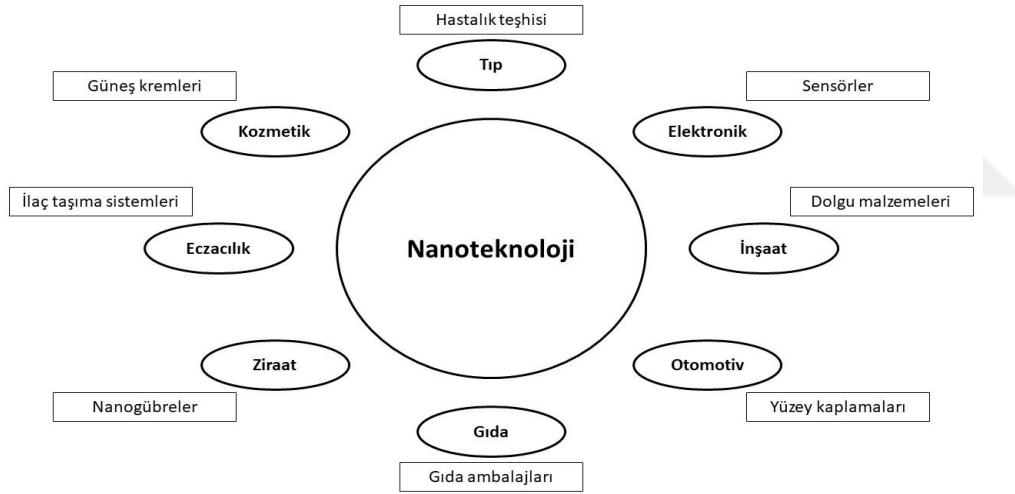
1.1. Nanoteknoloji Tarihçesi, Tanımı ve Uygulama Alanları

Nanoteknoloji, en genel anlamda 1 ila 100 nm boyutlar arasındaki partiküllerin üretimi ve çeşitli uygulamalarda kullanılması olarak tanımlanmaktadır (National Nanotechnology Initiative, 2011). Nanoteknolojinin ilk gündeme gelişi 1959 yılında Richard Feynman'ın atomik seviyede maddelerin manipülasyonunu konu alan "There's Plenty of Room at the Bottom" isimli konuşmasında olmuştur. Nanoteknoloji tanımı ise ilk kez Norio Taniguchi'nin 1974 yılında yayınladığı "On the basic concept of nanotechnology" isimli yayını ile yapılmıştır. Taramalı tünelleme mikroskoplarının 1980'li yıllarda geliştirilmesiyle beraber ise nanoteknolojik çalışmalar hız kazanmıştır. 1994 yılında Royal Society/Royal Academy of Engineering çalışma grubu nanoteknoloji konusunda iki tanım belirlemiştir. Bunlar; (i) Materyallerin atom, molekül ve makromolekül seviyelerdeki özelliklerinin büyük boyutlu yığın yapılardan önemli ölçüde farklı olduğu materyallerin manipülasyonunun incelenmesidir, (ii) Nanometre ölçeğinde materyallerin şekillerinin ve boyutlarının kontrol edilmesi ile nano yapıların tasarımı, karakterizasyonu, üretimi ve uygulamasıdır. Günümüzde birçok nanoteknoloji çalışması yapılmaya devam etmektedir ve sadece 10^{-9} m (1 nm) boyutunda olan bu ilginç partiküllerin doğası halen araştırılmaya devam etmektedir. Nanometre boyutunda bulunan nanopartiküllerin boyutunun ne kadar küçük olduğunu (1-100 nm) daha iyi anlamak için bir madeni paranın yaklaşık olarak 1 cm, kum tanesinin yaklaşık olarak 1 mm, bir bakteri hücresinin yaklaşık olarak 1 μ m ve bir su molekülünün ise 0.1 nm boyutunda olduğu göz önünde bulundurulmalıdır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Nanometre boyut ölçeği.

Nanoteknolojinin kullanım alanlarına bakıldığında ise günümüzde başta tıp olmak üzere, elektronik, inşaat, otomotiv, kozmetik, gıda ve ziraat gibi birçok farklı sektörde nanoteknoloji uygulamaları önemli rol oynamaktadır (Usman et al., 2020; Mu and Sprando, 2010; Salari, 2022; Contreras et al., 2017; Ummi and Siddiquee, 2019) (Şekil 1.2). Nanoteknoloji uygulamaları tıp alanında hastalık teşhisi için veya ilaç dağıtım mekanizmalarında, karbon nanotüp sensörler ve kuantum noktalar kullanımı ile karşımıza çıkmaktadır (Alaghmandfard et al., 2021). Bunun dışında gıda alanında gümüş ve çinko gibi antimikrobiyal özellikleri olan nanopartiküller gıda ürünlerinin paketlenmesinde sıkça kullanılmaktadır (Peighambardoust et al., 2019). Ziraat alanına bakıldığında ise nanoenkapsülasyonlar ve bu sistemlerin uygulanması ile geliştirilen nanogübreler ön plana çıkmaktadır (Dasarahalli-Huligowda et al., 2021). Bu farklı sektörlerde kullanılan nanoteknoloji uygulamaları pazarının 2019 yılı itibari ile küresel olarak 8.5 milyar ABD doları büyüklüğünde olduğu belirtilmekte ve 2027 yılına kadar yıllık yaklaşık %13.1 oranında büyümesi beklenmektedir (Pandey and Jain, 2020).

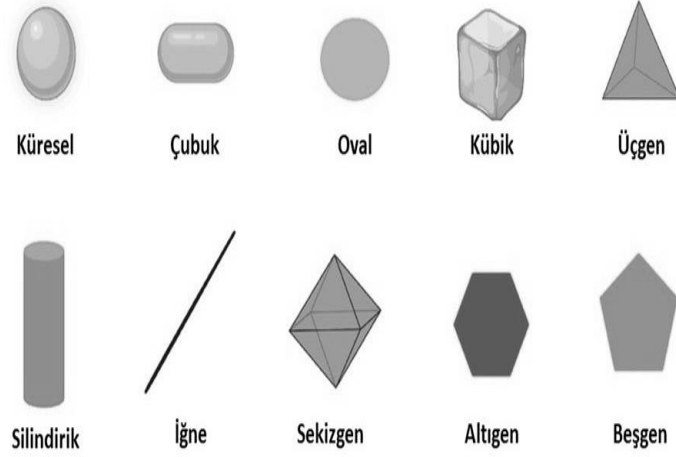


Şekil 1.2. Nanoteknolojinin kullanım alanları.

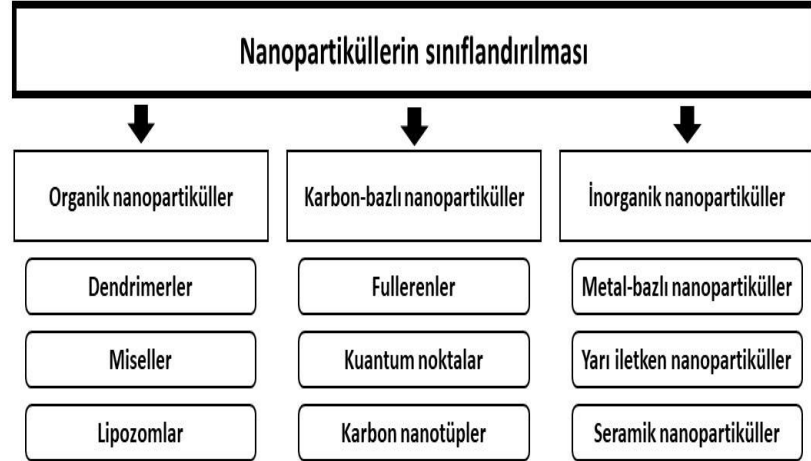
1.2. Nanopartiküller ve Sınıflandırılması

Nanoteknoloji uygulamalarının kilit noktası olan nanopartiküller en az bir boyutu 1 ila 100 nm arasında olan yapılar olarak tanımlanmaktadır (Kolahalam et al., 2019). Nanoboyuttaki bu yapılar gelişmiş yüzey reaktivitesi, mekanik, optik ve katalitik özellikleri ile ön plana çıkmaktadır (Lines, 2008). Nanopartiküller şekilleri itibari ile küresel, silindirik, konik, spiral, çubuk veya düzensiz şekilli vb. yapılar gösterebilmektedir (Şekil 1.3) (Hamida et al., 2020). Nanopartiküller farklı şekil ve

boyutlar göstermesine rağmen kimyasal bileşimleri bakımından üç farklı sınıfa ayrılmaktadırlar (Şekil 1.4). Bunlar sırası ile (i) Organik nanopartiküller (ii) Karbon-bazlı nanopartiküller (iii) İnorganik nanopartiküller olarak belirtilmektedir (Joudeh and Linke, 2022).



Şekil 1.3. Bulundukları şekillere göre nanopartiküller (Hamida et al., 2020).



Şekil 1.4. Nanopartiküllerin yapısal kompozisyonlarına göre sınıflandırılması.

Organik nanopartiküller; protein, karbohidrat, lipid veya diğer organik bileşenleri içeren nanopartiküller olarak sınıflandırılmaktadır (Pan and Zhong., 2016). Bu sınıfta yer alan nanopartiküllerden en yaygın kullanılanları dendrimerler, lipozomlar ve miseller olarak ön plana çıkmaktadır (Kumar and Lal, 2014). Organik nanopartiküller doğası gereği toksik olmayan ve biyobozunur özelliklere sahip olan

partiküllerdir (Peniche and Peniche, 2011). Bu yapılar genellikle tıp alanında ilaç taşınım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Mitragotri and Stayton, 2014).

Karbon-bazlı nanopartiküller; yapıları sadece karbon atomlarından oluşan nanopartiküllerdir (Bhatia, 2016). Fullerenler, kuantum noktalar ve karbon nanotüpler karbon-bazlı nanopartiküllere örnek olarak gösterilmektedir (Georgakilas et al., 2015). Bu sınıfa ait nanopartiküller biyogörüntüleme ve enerji depolanması uygulamalarında yaygın olarak kullanılmaktadır (LeCroy et al., 2016). Ayrıca karbon-bazlı nanopartiküllerin düşük toksisiteleri ve biyouyumluluğu ilaç taşınım sistemleri ve doku mühendisliği alanlarında da kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Zhang et al., 2014).

İnorganik nanopartiküller; yapısında organik materyal veya karbon atomu bulundurmeyen nanopartikül sınıfı olarak belirlenmiştir (Ijaz et al., 2020). Bu sınıfta yer alan nanopartiküller metal, seramik ve yarı iletken nanopartiküller olarak belirtilmektedir (Ijaz et al., 2020). İnorganik nanopartiküllerin özellikleri arasında, yüzey plazmon rezonansı, termal stabilite ve manyetik özellikler bulunmaktadır (Pandey and Dahiya, 2016). Bu özellikleri sayesinde inorganik nanopartiküller fizik, kimya, biyoloji, tıp ve eczacılık alanlarında birçok uygulamada kullanılabilmektedir (Lohse and Murphy, 2012). Ek olarak bu nanopartiküllerin antimikrobiyal ve antibakteriyel özellikleri gıda ve ziraat alanlarında da uygulamalarına olanak sağlamaktadır (Phogat et al., 2016; Dash et al., 2022).

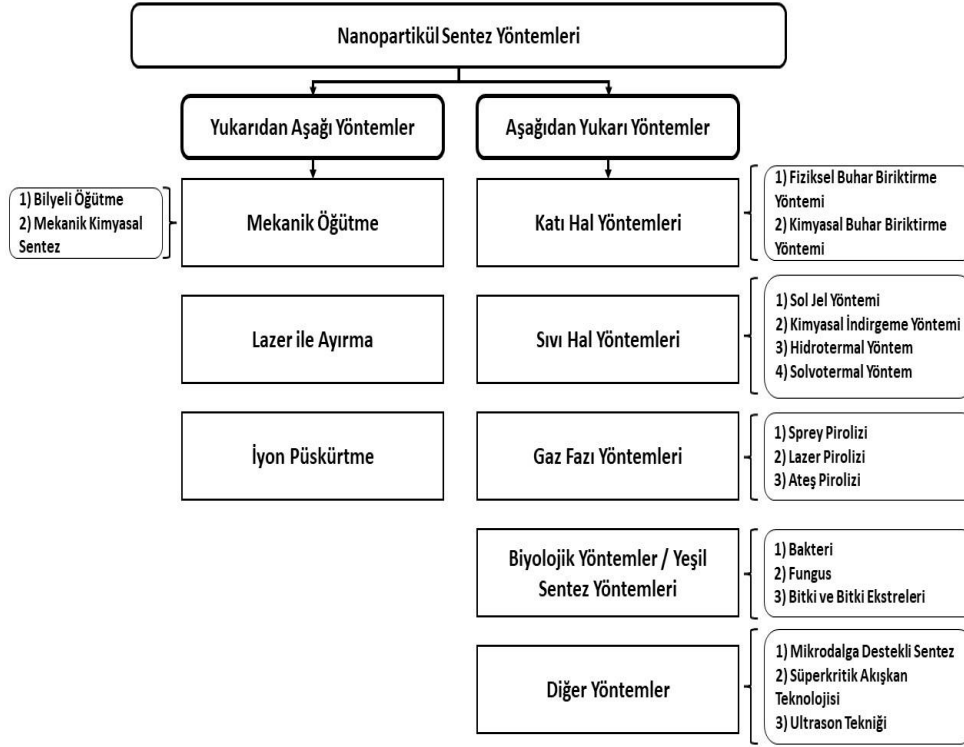
1.3. Metal bazlı Nanopartiküller

İnorganik nanopartiküller olarak değerlendiren metal bazlı nanopartiküllerin gümüş (Ag), demir (Fe), bakır (Cu), altın (Au) ve çinko (Zn) vb. gibi birçok farklı çeşidi bulunmaktadır. Ayrıca metal bazlı nanopartiküller titanyum dioksit (TiO_2), seryum dioksit (CeO_2), magnetit (Fe_3O_4) ve alüminyum oksit (Al_2O_3) vb. gibi okside formda da üretilebilmektedir. Metal bazlı nanopartiküller yığın formlarına kıyasla daha düşük toksik etki, gelişmiş fizikokimyasal özellikler ve gelişmiş biyolojik aktivite gibi avantajlara sahiptir (Chen, 2018). Metal bazlı nanopartiküllerin spesifik özellikleri ile doğru orantılı olarak oldukça geniş bir uygulama alanı vardır. Örneğin, güneş ışınlarını bloke etme özelliği olan ZnO ve TiO_2 nanopartikülleri güneş kremleri, kozmetik ürünler ve yüzey kaplamalarında kullanılmaktadır (Jeon et al., 2016). Magnetit nanopartikülleri süperparamanyetik özellikleri sayesinde protein immobilizasyonu gibi biyoteknolojik uygulamalarda

kullanılmaktadır (Edge et al., 2016). Cu ve CuO nanopartikülleri antimikrobiyal özellikleri ile tarımsal uygulamalarda pestisit olarak kullanılmaktadır (Ayoub et al., 2018). Ag nanopartikülleri yüksek stabilite ve çözünürlüklerinin yanı sıra sahip oldukları antibakteriyal özellikler sayesinde gıda sanayinde ürün ambalajlarında ve eczacılıkta ilaç geliştirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (Zivic et al., 2018). Fe nanopartikülleri ise ZVI (sıfır değerlikli iyon) ve magnetit (Fe_3O_4) gibi formlarda üretilebilmektedir. Demir nanopartiküllerinin nanogübre olarak uygulamalarının, bu nanopartiküllerin yüksek biyouyumluluğu sayesinde bitki büyümesi ve gelişimini teşvik ettiği bilinmektedir (Yuan et al., 2018).

1.4. Nanopartiküllerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Nanopartikül sentez yöntemleri “yukarıdan aşağı” (top-down) ve “aşağıdan yukarı” (bottom-up) olmak üzere genel olarak ikiye ayrılmaktadır (Jamkhande et al., 2019). Yukarıdan aşağı sentez yöntemlerinde yığın materyal başlangıç materyali olarak kullanılır ve mekanik, fiziksel ve kimyasal işlemler ile materyal boyutu nanoboyuta kadar küçültülür. Öğütme, lazer ile ayırma ve iyon püskürtme yöntemleri yukarıdan aşağı sentez yöntemlerine örnek olarak gösterilebilir (Abid et al., 2021). Bu yöntemler nanopartikül sentezinde etkili ve verimli yöntemler olmasına rağmen yüksek enerji gereksinimleri ve yüksek maliyet gibi dezavantajları bulunmaktadır (Abid et al., 2021). Aşağıdan yukarı yöntemlerde ise atomlar veya moleküller başlangıç molekülü olarak kullanılır ve bu yapıların boyutu kimyasal reaksiyonlar sonucunda nanoboyuta kadar büyütülür. Aşağıdan yukarı sentez yöntemlerine bakıldığında, katı hal metotları (fiziksel veya kimyasal buhar biriktirme yöntemleri), sıvı hal metotları (sol jel yöntemi, kimyasal indirgeme yöntemi ve hidrotermal yöntemler vb.), gaz fazı metotları (sprey ve lazer piroliz), biyolojik metodlar (organizma ekstraktlarının kullanıldığı yeşil sentez yöntemleri) ve diğer metotlar (mikrodalga destekli sentez veya ultrason tekniği vb.) olarak sınıflandırıldığı görülmektedir (Şekil 1.5) (Jamkhande et al., 2019). Bu yöntemlerin avantajları istenilen boyutta nanopartikül üretimi, kolay uygulanabilirliği ve düşük maliyetli olmaları ile ön plana çıkmaktadır (Indiarto et al., 2021). Bu yöntemlerin birçoğunun dezavantajı olarak kimyasal yan bileşen oluşumu ve toksisite etkileri gösterilmesine rağmen bu grupta yer alan yeşil sentez yöntemleri çevre dostu olmaları ve toksik yan bileşen üretimi olmaması nedeniyle günümüzde en çok tercih edilen sentez yöntemlerinin başında gelmektedir (Duan et al., 2015).



Şekil 1.5. Nanopartikül sentez yöntemleri (Jamkhande et al., 2019).

Biyolojik sentez yöntemleri olarak da değerlendirilen yeşil sentez yöntemleri indirgeyici ajan olarak hidrazin hidrat veya sodyum borohidür gibi toksik etkileri olan indirgeyici ajanlar yerine bitki, mantar, bakteri ve alg ekstraktlarının indirgeyici ajan olarak kullanıldığı sentez yöntemleri olarak tanımlanmaktadır. Organizma ekstraktlarının nanopartikül sentezinde kullanımı günümüzde en çok tercih edilen sentez yöntemleri arasında yer almaktadır. Bunun esas nedeni ise oldukça düşük maliyetli olmaları, kolay bulunabilir olmaları ve toksik yan ürün oluşumunun olmaması olarak gösterilmektedir. Biyolojik sentez yöntemleri ile yaygın olarak metal bazlı nanopartikül sentezi yapılmaktadır. Bu sentez tipinin çalışma prensibi metal tuzlarının organizma ekstraktları ile karıştırılmasına bağlı olarak metal tuzlarının ayrılarak metallerin nanoboyuta indirgenmesinde dayanmaktadır. Bu sentezde kontrol edilmesi gereken parametreler, ekstre konsantrasyonu, metal tuzu konsantrasyonu, sıcaklık, pH ve zaman olarak gösterilmektedir. Bu parametrelerde yapılacak değişiklikler sayesinde istenilen boyut ve şekilde nanopartikül üretimi mümkün olmaktadır (Rao and Paria, 2015). Literatürde biyolojik sentez yöntemleri kullanarak yapılan birçok çalışma mevcuttur. Örneğin yapılan bir çalışmada, *Rhodopseudomonas capsulata* bakterisi ile küresel şekilli ve 10 ila 20 nm boyutunda Au nanopartikülleri üretilmiştir (He et al., 2007). Yapılan bir başka çalışmada ise *Bacillus licheniformis* bakterileri aracılığıyla 50 nm boyutunda Ag nanopartikülleri üretilmiştir (Kalimuthu et al., 2008). *Trichoderma harzianum*

fungusun kullanıldığı bir çalışmada ise kübik yapılı ve ~21 nm boyutunda olan Ag nanopartikülleri sentezlenmiştir (Konappa et al., 2021). *Aspergillus tubingensis* fungusu kullanılarak ~6 nm boyutunda küresel şekilli magnezyum oksit (MgO) nanopartikülleri sentezlenmiştir (Raliya et al., 2014). Biyolojik sentez yöntemlerinin en çok kullanıldığı materyaller ise bitki ve bitki ekstraktları olarak ön plana çıkmaktadır. Bitkiler aracılığı ile platin (Pt), paladyum (Pd), çinko oksit (ZnO), bakır (Cu), titanyum dioksit (TiO₂), altın (Au), gümüş (Ag) ve demir (Fe) gibi birçok farklı nanopartikül üretimine ilişkin çalışmalar literatürde yerini almıştır. *Atriplex halimus* yapraklarının kullanıldığı çalışmada ~1-3 nm boyutunda küresel şekilli olarak sentezlenen Pt nanopartiküllerinin antioksidant ve katalitik aktiviteleri araştırılmıştır (Eltaweil et al., 2022). Isırgan (*Urtica* sp.) bitki yaprak ekstresi kullanılarak ~1-7 nm boyutunda Pd nanopartikülleri üretilerek antioksidant ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır (Gulbagca et al., 2021). *Coffea arabica* bitki yaprak ekstraktları ile yapılan çalışmada ZnO nanopartikülleri üretilmiş ve çevresel toksisiteye karşı etkisi araştırılmıştır. (Abel et al., 2021). Tamil Elakkiya et al. (2022) yaptığı çalışmada *Sesbania aculeata* yaprak ekstresi kullanarak Cu nanopartikülü sentezleyerek bitki büyümesi ve antimikrobiyal aktivitesi üzerindeki etkileri değerlendirmiştir. *Acorus calamus* bitki yaprak ekstraktlarının kullanıldığı bir diğer çalışmada TiO₂ nanopartikülleri sentezlenmiş ve nanopartikülün fotokatalitik aktivitesi değerlendirilmiştir (Ansari et al., 2022). Zhao et al. (2021) yaptığı çalışmada *Tribulus terrestris* ekstresi kullanarak ~10-15 nm boyutunda Au nanopartikülü sentezlemiş ve nanopartikülün anti-akut lösemi aktivitesini araştırmıştır. Bu araştırmalara ek olarak Ag ve Fe nanopartikülleri biyolojik sentez yöntemlerinde en çok kullanılan nanopartiküllerdir ve literatürde bu nanopartiküllerin sentezi ve özelliklerinin belirlenmesine ilişkin birçok yayın bulunmaktadır. Bunun temel sebebi ise bu nanopartiküllerin sahip olduğu antibakteriyel aktivite ve katalitik özelliklerinin yüksek olmasıdır. *Ricinus communis* yaprak ve kök ekstraktları kullanılarak sentezlenen ~30 nm boyutundaki Ag nanopartiküllerinin sitotoksik aktivitesi araştırılmıştır (Gul et al., 2021). *Syzygium guineense* yaprak ekstresi ile sentezlenen ~27 nm boyutundaki Ag nanopartiküllerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır (Desalegn et al., 2021). Fe nanopartiküllerine bakıldığında ise *Citrus maxima* ekstresi kullanılarak boyutları 10-100 nm aralığında olan sıfır değerlikli Fe nanopartikülleri sentezlenmiş ve yapıları karakterize edilmiştir (Wei et al., 2016). *Hibiscus sabdariffa* çiçek ekstresi kullanılarak sentezlenen ~18 nm boyutundaki Fe nanopartiküllerinin Rodamin B boyasının katalitik yıkımı üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Khan and Al-Thabaiti, 2018). Bunlara ek olarak literatürde birden fazla metal bazlı nanopartikülün aynı anda üretildiği çalışmalarda bulunmaktadır. Örneğin, küresel yapılı ve ~30 nm

boyutundaki Ag-Fe bimetalik nanopartikülleri *Salvia officinalis* yaprak ekstresi kullanılarak sentezlenmiş ve 4-nitrophenol yıkımındaki katalitik aktiviteleri araştırılmıştır (Malik et al., 2021).

Sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu oldukça kritik önem taşımaktadır çünkü sentezlenen partikülün nanopartikül olarak isimlendirilebilmesi için başta boyut olmak üzere belirli kriterler vardır. Nanopartikül karakterizasyonunun yapılmasında farklı amaçlara yönelik değişik yöntemler kullanılmaktadır. Nanopartikül formasyonunu belirlemek için spesifik dalga boylarındaki absorbanlardan faydalanan UV-VIS spektrofotometri ölçümleri yapılmaktadır. Örneğin gümüş nanopartiküllerinin formasyonunun 435 nm dalga boyunda belirlenebildiği bilinmektedir (Doster et al., 2014). Nanopartiküllerin boyutlarının belirlenmesi için ise taramalı elektron mikroskobu (SEM), geçirimli elektron mikroskobu (TEM) ve Zeta size gibi farklı karakterizasyon teknikleri kullanılabilmektedir. Nanopartiküllerin elemental kompozisyonlarının belirlenmesi için ise enerji saçılımlı x-ışınları spektrometrisi (EDS) ve x-ışını difraktometrisi (XRD) gibi analiz yöntemleri kullanılmaktadır. Ayrıca nanopartiküllerin yapısal bileşenlerinin belirlenmesinde fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometresi (FTIR) yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.5. Gümüş ve Demir Nanopartiküllerin Bitki Üzerindeki Etkileri

Geçtiğimiz 20 yılda nanoteknoloji alanındaki gelişmelere bağlı olarak ziraat alanında nanoteknoloji uygulamaları oldukça önem kazanmış ve “nanotarım” teriminin oluşumunu sağlamıştır. Ziraat alanında nanoteknoloji, eşsiz fiziksel özellikleri ile 1-100 nm boyutlarındaki nanopartiküllerin kullanımı olarak tanımlanmaktadır (USEPA, 2007). Ayrıca zirai kullanım için nanopartiküller, koloidal yapıdaki 10 ila 1,000 nm boyutları arasında yer alan nanopartiküller olarak da kabul edilmektedir (Mukhopadhyay, 2014). Zirai amaçlarla yapılan nanoteknolojik çalışmalar için yaygın olarak gümüş, demir, bakır ve çinko vb. gibi metal bazlı nanopartikül uygulamaları ön plana çıkmaktadır (Chen, 2018). Metal bazlı nanopartikül uygulamalarının bitkilerin büyüme ve gelişmesinde farklı etkiler gösterdiği bilinmektedir (Duhan et al., 2017). Bu nedenle, nanopartikül uygulamaları 4 farklı uygulama alanında değerlendirilmektedir. Bunlar; (i) bitki zararlılarına karşı daha etkili nanoboyutlu pestisit üretimi, (ii) bitki büyüme ve gelişiminin düzenlenmesi için nanogübreler, (iii) zirai ilaç kalıntılarının belirlenmesinde kullanılan nanosensörler (iv) gen transferinde hastalıklara

dayanıklı bitki üretimi için nanopartikül kullanımı olarak belirtilmektedir (Rai, 2012).

Metal bazlı nanopartiküller olan Ag ve Fe nanopartiküllerinin bitkiler üzerinde uygulamalarına ilişkin literatürde çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Ovais et al., 2018). Ag nanopartikülleri, yüksek yüzey alanının verdiği avantaj sayesinde makro boyutlu gümüşe kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahiptir (Cho et al., 2005). Bu özellik Ag nanopartiküllerinin bitki hastalıklarına karşı potansiyel kullanımını mümkün kılmaktadır (Mishra et al., 2014). Girilal et al. (2018) tarafından yapılan çalışmada Ag nanopartiküllerin bitki fizyolojisi üzerindeki etkilerini belirlemek için farklı konsantrasyonlarda Ag nanopartikülleri domates bitkisine uygulanmış ve elde edilen verilerde konsantrasyona bağlı olarak protein, karbohidrat ve fenolik madde içeriğinde azalmaya neden olduğunu belirlenmiştir. Mehrian et al. (2015) tarafından yapılan çalışmada ise Ag nanopartiküllerinin domates bitkisinde konsantrasyona bağlı olarak oksidatif stresi indüklendiği belirlenmiş bununla birlikte glutamin ve asparajin gibi serbest amino asitlerin miktarını arttırdığı belirlenmiştir. Sadak (2019) yılında yaptığı çalışmada kimyasal indirgeme yoluyla sentezlenen Ag nanopartiküllerini 20, 40 ve 60 mg L⁻¹ konsantrasyonlarında *Trigonella foenum-graecum* (Çemen otu) bitkisine foliar spreyleme yöntemi ile uygulayarak bitki büyüme ve gelişimi üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Elde edilen bulgulara göre 40 mg L⁻¹ konsantrasyonda yapılan Ag nanopartikül uygulamalarının gövde uzunluğu, fotosentetik pigment içeriği, protein ve karbohidrat içeriğini arttırdığı bildirmiştir. Ayisigi et al. (2020) yılında yaptığı çalışmada defne (*Laurus nobilis*) ekstresi kullanarak sentezlenen ~50 nm boyutundaki Ag nanopartiküllerinin biber (*Capsicum annuum*) bitkisi üzerindeki *Pectobacterium carotovorum* bakterisinin kontrolü ve bitki büyümesi üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Elde edilen bulgularda bakterinin neden olduğu hastalığı %15 ile sınırlandırıldığı ve bununla birlikte Ag nanopartiküllerinin bitki gelişimi üzerinde toksik etkilere neden olmadığı belirtilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise *Centella asiatica* bitkisinin yaprak ekstresi kullanılarak sentezlenen 3 ila 30 nm boyutları arasındaki Ag nanopartiküllerinin yer fıstığı bitkisi üzerindeki etkileri araştırılmıştır (Vuong et al., 2017). Elde edilen sonuçlara göre 5 mg L⁻¹ konsantrasyonda Ag nanopartikül uygulamalarının zamana bağlı olarak (5 ila 100 gün) yer fıstığı bitkisinin çimlenme, büyüme ve tane verimini %10 ila %50 arasında değişen oranlarda arttırdığı bildirilmiştir. Zararlılardan korunmak için yapılan Ag nanopartikül uygulamasına örnek olarak *Tetranychus urticae* zararlısının kontrolü için *Saponaria officinalis* kök ekstresinden sentezlenen Ag nanopartiküllerinin kullanımı gösterilebilir (Pavela et al., 2017). Elde edilen sonuçlarda zararlı

kontrolünde Ag nanopartikül uygulamalarının LC_{50} değeri 1.2 g L^{-1} konsantrasyonu olarak belirlenmiştir.

Demir nanopartikülleri süperparamagnetik olma, biyoyumluluk ve düşük toksisite gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikler demir nanopartiküllerinin ilaç taşınım, çevresel remediasyon ve zirai uygulamaları için önemli potansiyel sağlamaktadır (Ali et al., 2016). Ayrıca demirin bitki metabolizmasında özellikle fotosentetik sistemde aktif olarak görev alması bitki büyüme ve gelişmesi için kilit bir rol oynadığını göstermektedir (Rout and Sahoo, 2015). Siji et al. (2017) yaptığı çalışmada *Chaetomorpha antennina* algini kullanarak Fe nanopartikül sentezlemiş ve *Pennisetum glaucum* bitkisindeki Fe nanopartikül alım mekanizmasını incelemiştir. Elde edilen sonuçlarda *Pennisetum glaucum* bitkisinin 5 ile 50 mg L^{-1} konsantrasyonlardaki Fe nanopartikül uygulamalarında klorofil ve çözülmüş şeker içeriği ile birlikte bitki büyümesini de önemli ölçüde artırdığını belirtilmiştir. Yapılan bir diğer çalışmada ticari olarak üretilmiş 10 nm boyutundaki Fe_2O_3 nanopartiküllerinin domates bitkisinde, 50 ila 800 mg L^{-1} konsantrasyonları arasında tohum çimlenmesi, kök-gövde uzunluğu ve yaş-kuru ağırlık miktarını kontrol bitkilerine kıyasla önemli oranında arttırdığı belirlenmiştir (Shankramma et al., 2016). Ayrıca çalışmada Fe nanopartiküllerinin domates bitkisi üzerinde $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}_{\text{toplam}}$ oranını artan konsantrasyona bağlı olarak arttırdığı ve biyomineralizasyonu olumlu yönde etkilediği belirtilmiştir. Irum et al. (2020) yaptığı çalışmada *Cymbopogon jwarancusa* yaprak ekstresi kullanılarak üretilen Fe oksit nanopartiküllerini *Cicer arietinum* bitkisinin kallus kültürlerine uygulamış ve konsantrasyona bağlı olarak %96 oranına kadar kallus gelişiminin arttığı belirtilmiştir. Guha et al. (2021) yaptığı çalışmada nar kabuğu kullanarak sentezlenen sıfır değerlikli (ZVI) Fe nanopartiküllerini nanopriming uygulaması ile *Oryza sativa* bitkisine uygulamış ve bitki ürün verimini araştırmıştır. Elde edilen bulgulara göre 80 mg L^{-1} konsantrasyonda ZVI Fe nanopartikül ile prime edilen tohumların ürün veriminin kontrol bitkilerine kıyasla ~ 1.5 kat arttığı bildirilmiştir. Rostamizadeh et al. (2021) yaptığı çalışmada 100 ila 400 mg L^{-1} konsantrasyonlarında foliar spreyleme yöntemi ile uygulanan Fe nanopartiküllerinin *Triticum aestivum* bitkisinde kontrol bitkilerine kıyasla önemli ölçüde biyokütle ve kök-gövde uzunluğunda artışa neden olduğunu bildirmiştir. İbrahim et al., (2021) yaptığı çalışmada farklı bitki ekstreleri kullanılarak sentezlenen Fe nanopartiküllerinin *Triticum aestivum* bitkisi üzerinde nanogübre olarak kullanım potansiyelini incelemiş ve 20 , 40 ve 60 mg L^{-1} konsantrasyonlarda bitkinin fotosentetik pigment ve toplam fenolik içeriğinin arttığını bildirmiştir. Fe nanopartiküllerinin nanopestisit olarak kullanım

potansiyelinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise *Skimma laureola* bitkisinin yaprakları kullanılarak sentezlenen Fe oksit nanopartiküllerinin solgunluğa neden olan *Ralstonia solanacearum* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi değerlendirmiştir (Alam et al., 2019). Elde edilen bulgulara göre 6 mg mL⁻¹ konsantrasyonda Fe nanopartiküllerinin bakteri büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir.

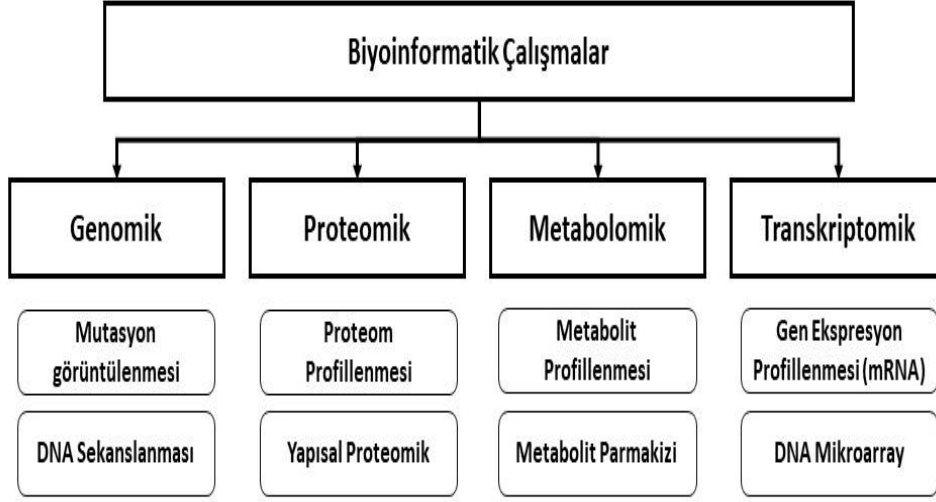
1.6. Biyoinformatik Tanımı, Tarihçesi ve Sınıflandırılması

Biyoinformatik, biyoloji, istatistik, matematik, moleküler biyoloji ve genetik araştırma alanlarının da dahil olduğu birçok bilimsel alanı birleştiren multi disiplinler bir alandır. Biyoinformatik multidisipliner karakteri nedeniyle, biyolojik makromoleküller ile ilişkili olan bilgilerin organize ve analiz edilmesi, anlamlandırılması, görselleştirilmesi ve depolanması için bilgisayar araçlarının kullanılması olarak tanımlanmaktadır (Luscombe et al., 2001). Biyoinformatik tekniklerin asıl amacı bilgisayar teknolojileri ve biyolojiyi birleştirerek, yeni biyolojik yaklaşımların keşfedilmesini sağlamak ve büyük verilerin (big-data) anlaşılabilirliğini mümkün kılmaktır.

Biyoinformatik araştırmaların tarihçesine bakıldığında ise tahmin edilenin aksine DNA sekans analizleri ile değil protein sekans analizleri ile başlamıştır (Gauthier et al., 2019). 1950’li yıllardaki ilerlemeler ile bir protein olan insulinin ilk protein dizisi yayınlanmıştır (Sanger and Thompson, 1953). Takip eden 10 yıl içerisinde ise 15’ten fazla protein ailesi dizilenmiştir (Hagen, 2000). Biyoinformatiğin atası olarak adlandırılan Margaret Dayhoff 1960’lı yıllarda Edman peptid sekanslarını üzerinden proteinlerin primer yapılarını analiz edebilen COMPROTEIN isimli programı geliştirmiştir (Dayhoff and Ledley, 1962). DNA yapısı ilk kez ise Watson ve Crick (1953) tarafından keşfedilmesine rağmen yaklaşık olarak 25 yıl sonra ilk DNA dizilemesi yapılmıştır (Sanger et al., 1977). Devamındaki yıllarda bilgisayar ve biyoloji bilimlerindeki gelişmelere bağlı olarak 1995 yılında Fleischmann et al. tarafından *Haemophilus influenzae* bakterisinin genomu sekanslanmıştır. 2000’li yıllardan itibaren ise yeni nesil sekanslama teknolojilerinin keşfi ile biyoinformatik çalışmalar günümüzde oldukça önemli bir konuma gelmiştir (Goodwin et al., 2016).

Biyoinformatik teknolojileri “omic teknolojileri” genomik, proteomik, metabolomik ve transkriptomik olmak üzere 4 temel gruba ayrılmaktadır (Şekil 1.6). Bu gruplara yakından göz atıldığında genomik teknolojileri, organizmaların

genomlarını yapısal ve işlevsel olarak değerlendiren bilim dalı olarak değerlendirilmektedir. Proteomik, organizmalarda bulunan proteinlerin yapıları ve fizyolojik işlevlerinin çalışılmasıdır. Transkriptomik, hücre genomundaki gen ifadesi farklılarından kaynaklanan RNA ifadelerinin incelenmesidir. Metabolomik ise, organizma içerisinde yer alan metabolitlerin araştırılmasıdır.



Şekil 1.6. Biyoinformatik çalışmaların sınıflandırılması.

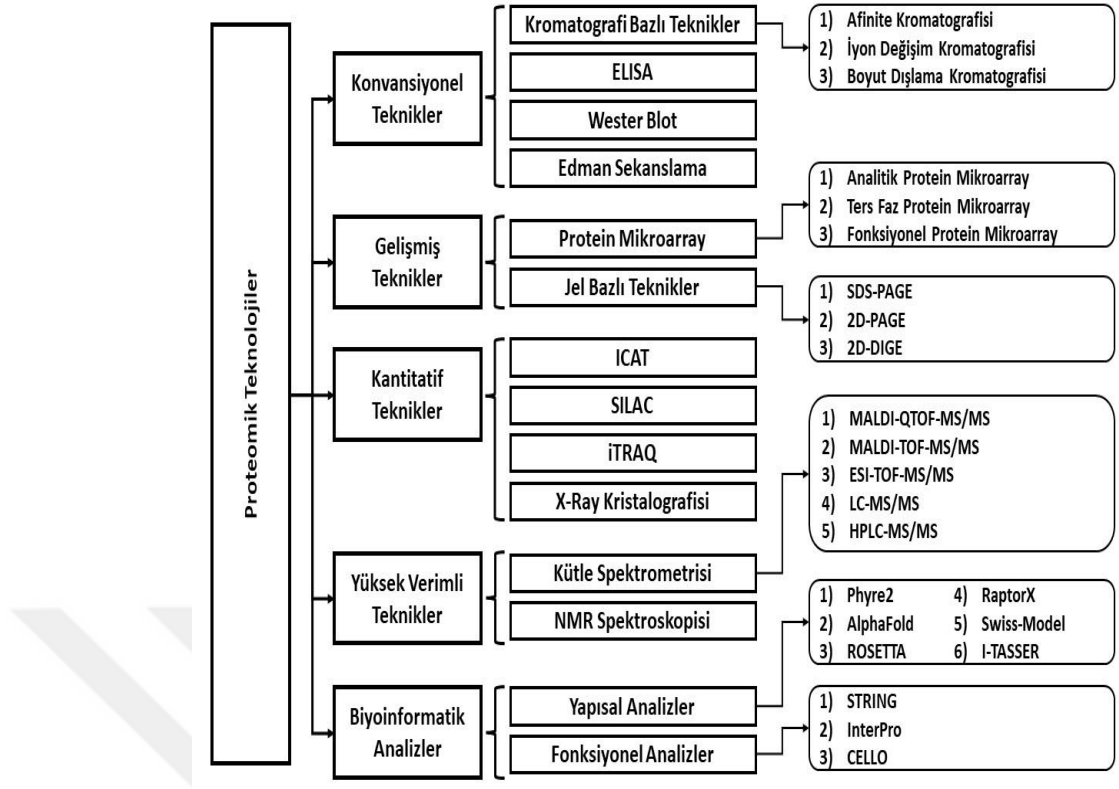
1.7. Proteomik Yaklaşımlar ve Uygulama Alanları

Proteom, bir biyolojik sistemde üretilen proteinlerin tamamı olarak tanımlanmaktadır. Proteomik ise bu proteinlerin yapıları ve fonksiyonlarının bilgisayar bilimleri kullanılarak incelenmesidir. Proteomik terimi ilk kez Marc Wilkins tarafından 1996 yılında genomun protein bileşenleri olarak tanımlanmıştır. İlk protein sekanslanması üzerinden yaklaşık 40 yıl sonra proteomik teriminin tanımlanması teknoloji ve biyoloji bilimindeki eş zamanlı gelişmeler ile ilişkilidir. Bununla beraber proteomun oldukça kompleks yapıda oluşu, sahip olduğu dinamik değişimler, hücreden hücreye farklılık göstermesi ve zamana bağlı olarak proteomik çalışmaları zorlaştıran faktörlerdir. Proteomik çalışmalarda; proteinlerin diğer moleküller ile etkileşimi, modifikasyonları, programlanmış büyüme ve gelişmede etkinlik modelleri ile biyotik ve abiyotik faktörlerle etkileşimlerinin belirlenmesi gibi pek çok farklı amaca yönelik bulgular elde edilebilmektedir. Proteomik çalışmalarının genel amacı kullanılan metodoloji ve bilginin, sağlık, tarımsal üretim, gıda, çevresel sürdürülebilirlik, ekonomik büyüme ve insan refahı konularına katkıda bulunabilecek potansiyel ürün üretimine yönelik araştırmalar

yapılmasıdır. Her ne kadar biyomedikal alanlarda proteomik kavramı çok iyi anlaşılmış olsa da tarım ve çevresel alanlarda tam olarak hayata geçirilememiştir. Ek olarak proteomik çalışmalar altı farklı alt alanlara bölünmüştür: Bunlar (i) tanımlayıcı proteomik, (ii) karşılaştırmalı proteomik, (iii) post translasyonel modifikasyonlar, (iv) interaktomiks, (v) proteinomiks ve (vi) translasyonel proteomik olarak sınıflandırılabilir (Jorin-Novotny et al., 2015).

Proteomik çalışmalarda kullanılan teknolojiler beş temel sınıfta değerlendirilmektedir. Bunlar; (i) Konvansiyonel teknikler (ii) Gelişmiş teknikler (iii) Kantitatif teknikler (iv) Yüksek verimli teknikler ve (v) Biyoinformatik analizler olarak belirtilmiştir (Aslam et al., 2017) (Şekil 1.7). Konvansiyonel teknikler, ion değişim kromatografisi (Walton, 1968) veya afinite kromatografisi (Cuatrecasas and Anfinsen, 1971) gibi kromatografi bazlı teknikler kullanılarak proteinlerin saflaştırılmasına dayanmaktadır. Ayrıca ELISA (Clark et al., 1986), Western Blotting (Knecht and Dimond, 1984) ve Edman sekanslama (Edman et al., 1950) teknikleri de konvansiyonel teknikler olarak kabul edilmektedir. Gelişmiş teknikler olarak Protein Mikroarray (mikrodizi) ve Jel bazlı teknikler teknikleri gösterilmektedir. Jel bazlı teknikler, tek boyutlu jelde protein ayrımını sağlayan SDS-PAGE (Laemmli, 1970), ilk boyutta izoelektrik noktalarına göre izoelektrik fokuslamanın yapıldığı ardından ikinci boyutta SDS-PAGE jel elektroforezi uygulaması yapılan iki boyutta protein ayrımını mümkün kılan 2D-PAGE (Lognonne, 1994) ve iki boyutlu elektroforez çalışmalarında proteinlerin Cy3 ve Cy5 gibi boyalar ile işaretlendiği 2D-DIGE (Marouga et al., 2005) gibi farklı yöntemlerde kullanılmaktadır. Protein çipleri olarak da bilinen protein mikroarray, çok az miktardaki örnekten protein seviyesindeki ekspresyonu yüksek verimli olarak algılamaya olanak sağlayan bir teknolojidir (Templin et al., 2002). Kantitatif tekniklere bakıldığında protein miktarı tayini için izotopik kimyasal işaretlemeyle dayanan ICAT işaretleme tekniği (Shiio and Aebersold, 2006) ve proteinlerin 3 boyutlu yapılarının belirlenmesinde en çok tercih edilen yöntem olan X-ray kristalografisi gibi yöntemler ile karşılaşılmaktadır (Smyth and Martin, 2000). Yüksek verimli teknikler içerisinde ise kütle spektrometrisi ve NMR spektroskopisi yöntemleri yer almaktadır. NMR spektroskopisi, proteinlerin moleküler yapısı, katlanması ve hareketlerinin araştırılması için kullanılmaktadır (Montelione et al., 2000). Kütle spektrometrisi (MS) yöntemi ise en basit tanımı ile polipeptidin moleküler kütle yük oranını ölçme prensibine dayanarak çalışmaktadır ve farklı tipleri mevcuttur. Tandem kütle spektrometrisi farklı iyon kaynakları (ESI, MALDI) ve analizör (IT-LIT, TOF, QTOF, FT-ICR) kombinasyonları ile kullanılmaları sayesinde protein tanılamada en yaygın kullanılan yöntemler

arasında yer almaktadır (Domon and Aebersold, 2006). Biyoinformatik analizler ise kullanılan teknikten bağımsız olarak, proteomik çalışmalarının vazgeçilmez parçasıdır. Çünkü elde edilen verilerin farklı algoritmalar kullanılarak anlamlı hale getirilmesi gerekmektedir. Bu protein verilerine ulaşılacak UniProt (<https://www.uniprot.org/>) (UniProt Consortium, 2015) veya Expasy (<https://www.expasy.org/>) (Gasteiger et al., 2005) gibi farklı online kütüphaneler mevcuttur. Ek olarak bu veriler yani protein sekansları kullanılarak proteinler için yapısal ve fonksiyonel analizler yapmayı sağlayan farklı araçlar mevcuttur. Proteinlerin 3 boyutlu (3B) yapısının belirlenmesi için kullanılan homoloji modelleme sisteminden faydalanan Phyre2 (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>) (Kelley et al., 2015) veya Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/>) (Waterhouse et al., 2018) gibi farklı araçlar mevcuttur. Bunun dışında I-TASSER (<https://zhanggroup.org/I-TASSER/>) (Roy et al., 2010) gibi *ab initio* modelleme yöntemini kullanan araçlarda mevcuttur. Proteinlerin fonksiyonel analizleri için ise hücresel lokalizasyonlarının belirlenmesinde CELLO2GO (<http://cello.life.nctu.edu.tw/cello2go/>) (Yu et al., 2014) veya proteinlerin moleküler ve biyolojik fonksiyonlarının belirlenmesinde InterPro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) (Blum et al., 2021) araçları yaygın olarak kullanılmaktadır.



Şekil 1.7. Günümüzde kullanılan proteomik teknolojiler (Aslam et al., 2017).

Günümüzde elektroforez ve MS analizleri ile biyoinformatik analizlerin kombine edilmesi proteomik çalışmalarının vazgeçilmez parçası durumundadır. Bunun esas nedeni ise hazırlanan proteom örneklerinin elektroforez ile proteinlerine ayrılması sağlanırken, ayrılan proteinlerin MS ile kütle-yük oranlarına göre spesifik olarak ayrımının sağlanmasıdır. Ardından bu MS verileri MASCOT Server (<https://www.matrixscience.com/>) vb. web araçları kullanılarak tanımlanabilmektedir. Bu yöntem baz alınarak yapılan araştırmalarda iş akışı genel olarak, protein ekstraksiyonu, protein miktarının belirlenmesi, elektroforez ile protein ayrımı, MS analizi, protein tanımlanması ve veri depolanması şeklinde ilerlemektedir.

1.8. Metal bazlı Nanopartikül Uygulamalarının Bitki Proteomu Üzerindeki Etkileri

Yapılan literatür taraması son on yılda nanopartikül uygulamalarının bitki proteomunun üzerindeki etkilerinin araştırılmasına yönelik çalışmalarda önemli seviyede artış olduğunu göstermektedir. Birçok bitkinin referans proteomları belirlenmesine rağmen metal bazlı nanopartiküllerin bitki proteomu üzerindeki etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Metal bazlı nanopartiküller oldukça

küçük boyutları sayesinde proteinler ile etkileşime girebilmektedir. Bu etkileşim, nanopartiküllerin metal iyonlarını bağlayan metalloproteinlerin yapısına katılması veya diğer hücresel yolları tetikleyerek protein ekspresyonunun değişmesini sağlaması ile olabilmektedir (Kopp et al., 2017). Yapısında Mg, Zn, Ca, Mn ve Fe metali içeren proteinler proteomun %40'ını oluşturduğu düşünülmektedir (Garcia et al., 2006; Shi et al., 2005). Metal bazlı nanopartiküllerin bitki fizyolojisi üzerinde özellikle fitotoksik etkileri göz önünde bulundurulduğunda ise proteom üzerinde farklılıklara neden olması kaçınılmazdır (Hossain et al., 2015). Yapılan araştırmalarda nanopartiküllerin redoks düzenlenmesi, hormon sinyal yolları, enerji metabolizması, hücre bölünmesi, hücre ölümü ve oksidatif stres gibi birçok farklı yolda, protein ekspresyonunun değişimine neden olduğu belirtilmiştir (Mirzajani et al., 2014; Syu et al., 2014; Kaveh et al., 2013; Mustafa et al., 2015). Hossain et al. (2016) yaptığı çalışmada Al_2O_3 , ZnO ve Ag nanopartikül uygulamalarının soya fasulyesi bitkisinin proteomu üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Araştırmada jelde protein yürütme aşaması olmaksızın “shotgun” MS analizleri yapılarak protein miktarlarındaki değişim belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar sekonder metabolizma, hücre düzenlenmesi ve hormon metabolizması ile ilişkili olan 104 proteinde değişiklik olduğunu göstermiştir. Ek olarak oksidasyon-reduksiyon ile ilişkili olan GDSL motif lipaz 5, SKU5, galaktoz oksidaz ve kinon redüktaz proteinlerinin Al_2O_3 uygulamalarında ifadelerinin arttığı ZnO ve Ag uygulamalarında ise ifadelerinin azaldığı bildirilmiştir. Yasmeen et al. (2017) yaptığı çalışmada ise Cu ve Fe nanopartiküllerinin farklı buğday varyetelerinin proteomu üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Nano-LC-MS/MS analizi ile elde edilen sonuçlara göre nişasta yıkımı, glikoliz ve trikarboksilik asit döngüsü ile ilişkili olan proteinlerin ifadesinde artış olduğu belirtilmiştir. Yapılan bir başka çalışmada ise yeşil sentezlenmiş Zn nanopartiküllerinin *Brassica napus* bitkisinde proteomik yanıtları araştırılmıştır (Sawati et al., 2022). Çalışmada foliar spreyleme yöntemi ile uygulanan Zn nanopartiküllerinin proteom yanıtları SDS-PAGE ve Nano-LC-MS/MS yöntem kombinasyonu ile analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular Zn nanopartiküllerinin fotosentez, translokasyon, glikoliz ve stres yanıtları ile ilişkili proteinlerde değişime neden olduğunu göstermiştir. Peharec Štefanić et al. (2019) yaptığı çalışmada Ag nanopartiküllerinin tütün bitkisi proteomu üzerindeki etkilerini 2D-PAGE ve MALDI-TOF-TOF-MS/MS analiz kombinasyonu ile belirlemiştir. Elde edilen bulgular oksidatif stres ve fotosentez ile ilişkili proteinlerin ifadelerinde farklılıklar olduğunu göstermiştir. Vannini et al. (2014) yaptığı çalışmada Ag nanopartiküllerinin buğday bitkisinin proteomu üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Protein analizleri için 2D-PAGE ve LC-ESI-MS/MS

yöntemleri kullanılan çalışmada primer metabolizma ve hücre savunması ile ilişkili olan 27 proteinin ekspresyonunun değiştiği belirtilmiştir.

1.9. Domates Bitkisi ve Önemi

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) bitkisi Türkiye’de üretimi yapılan ve ihracatta önemli bir payı olan önemli bir ekonomik bitkidir. TÜİK verilerine göre 2016 yılında 8.5 milyon ton, 2017 yılında ise yaklaşık 8.7 milyon ton domates üretilmiş ve 2016 yılında üretilen domateslerin yaklaşık %15’i ihracatta kullanılmıştır (TÜİK, 2017). FAO verileri ise domatesin dünya üzerinde 4.8 milyon ha alanda ekildiğini ve ~182 milyon ton ürün elde edildiğini belirtmektedir (FAOSTAT, 2017).

Domates bitkisinin referans proteomu tanımlanmış ve UP000004994 ProteomID’si ile UniProt kütüphanesinde bulunmaktadır (<https://www.uniprot.org/proteomes/UP000004994>). Buna ek olarak proteomda bulunan bütün proteinler henüz karakterize edilmemiştir.

Domates bitkisinin ekonomik önemi göz önünde bulundurulduğunda literatürde bu bitkiye ilişkin proteomik, metabolomik ve genomik çalışmalardan oluşan farklı biyoinformatik çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda stres faktörlerine bağlı olarak oluşan değişimler irdelenmesine karşın domates bitkisinde nanopartikül uygulamalarının proteomik analizine ilişkin bir kayıt bulunmamaktadır. Yapılanbu çalışmada metal bazlı nanopartikül uygulamalarının önemli bir tarımsal ürün olan domateste uyandırdığı fizyolojik ve proteomik yanıtların belirlenmesi amaçlanmıştır. Üç basamaklı olarak gerçekleştirilen bu çalışmada ilk aşamada Ag ve Fe nanopartikülleri defne (*Laurus nobilis*) bitkisi yaprak ekstreleri kullanılarak yeşil sentez yöntemi ile sentezlenmiş ve analitik teknikler ile karakterize edilmiştir. İkinci aşamada bu nanopartiküllerin domates fidelerine uygulanarak bitki üzerindeki etkileri morfolojik ve fizyolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir. Üçüncü ve son aşamada ise nanopartikül uygulaması yapılmış domates fidelerinin proteom profili üzerinde neden olduğu değişiklikler SDS-PAGE analizleri ile belirlenmiştir. Belirlenen molekül ağırlıklarındaki proteinler biyoinformatik analizler ile belirlenmiştir. Yapılan tez çalışması domates bitkisi üzerinde nanopartikül uygulamalarının proteomik etkilerinin analizine ilişkin yapılan ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan domates (*Solanum lycopersicum* L.) tohumları KAYRA F1 varyetesiinden olup Anamas tohumculuktan temin edilmiştir. Fe ve Ag nanopartikül uygulaması yapılan domates fideleri, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Anabilim Dalı bünyesinde yer alan kontrollü iklimlendirme odasında optimum koşullarda (25 °C sıcaklık, 16/8 fotoperiyot, %60 nem) yetiştirilmiştir.

2.2. Kullanılan Kimyasallar

AgNO₃ – Gümüş nitrat
 Asetik asit
 Aseton
 Bradford
 Coomassie brilliant blue R-250
 DPPH - 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
 DTT - DL-Ditiyothreitol
 EDTA - Etilendiaminetetraasetik asit
 Etanol
 FeCl₃ – Demir (III) klorür
 Gliserol
 H₂O₂ - Hidrojen peroksit
 K₂HPO₄ - Potasyum fosfat dibazik
 KH₂PO₄ - Potasyum fosfat monobazik
 KI - potasyum iyodin
 L-prolin
 Metil alkol
 NADH - β-Nikotinamid adenin dinukleotit hidrat
 NBT – Nitro blue tetrazolyum klorid
 Ninhidrin
 Ortofosforik asit
 PMS - Fenazine metosülfat

PMSF – Fenilmetansülfonil florid
 Poliakrilamid
 PVPP - Polyvinylpolypirrolidon
 TBA - Tiyobarbiturik asit
 TCA - Trikloroasetik asit
 Toluen
 Tris-HCl
 β -merkaptoetanol

2.3. Kullanılan Cihaz ve Araçlar

Buzdolabı +4 °C (Vestel, Türkiye)
 Derin dondurucu -20 °C (Uğur, Türkiye)
 Etüv (Heraeus, France)
 Hassas terazi (Gec Avery, Australia)
 pH metre (Jenway, UK)
 Soğutmalı santrifüj (Hettich, Germany)
 Su banyosu (VWR, USA)
 UV-VIS Spektrofotometre (, Thermo Scientific, USA)
 Vorteks (Fisons, UK)

2.4. Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu

2.4.1. Defne Ekstresi Hazırlanması

Ege Üniversitesi Botanik bahçesi konumunda yer alan defne (*Laurus nobilis*) ağaçlarının yaprakları toplanmıştır. Toplanan defne yaprakları akan su altında yıkanarak temizlendikten sonra sıvı azot ile toz haline getirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi için 10 g defne yaprağı 10 dakika boyunca sürekli karıştırılarak 60 °C sıcaklıkta kaynatılmıştır. Elde edilen ekstre Whatman No:1 filtre kağıdı ile süzildikten sonra 4500 g'de 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantlar toplanarak +4 °C sıcaklıkta kullanım için depolanmıştır.

2.4.2. Ag NP Sentezi

10 mM AgNO₃ çözeltisi ile defne ekstresi (9:1 oranında) 90 °C sıcaklıkta 2 saat boyunca sabit karıştırma hızı ile karanlıkta karıştırılarak Ag nanopartikül sentezi yapılmıştır. Reaksiyon süresi tamamlandığında örnekler buzdolabına kaldırılarak reaksiyon sonlandırılmıştır. Sentezlenen Ag nanopartikülleri 15 000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüj edilerek önce çöktürülmüş daha sonra saf su ile iki kez yıkanmıştır. Elde edilen Ag nanopartikül çökeltisi bir gece boyunca 45 °C sıcaklıkta kurutularak toz haline getirilmiş ve nanopartikül sentezi tamamlanmıştır. Toz halindeki Ag nanopartiküller kullanıma kadar +4 °C sıcaklıkta depolanmıştır.

2.4.3. Fe NP Sentezi

Fe NP sentezi, defne ekstresi ile 1 mmol L⁻¹ FeCl₃ çözeltisi 1:1 oranında 80 °C sıcaklıkta 1 saat boyunca karıştırılarak yapılmıştır. Reaksiyon süresi tamamlandığında örnekler buzdolabına kaldırılarak reaksiyon sonlandırılmıştır. Daha sonra reaksiyon karışımı 15 000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve Fe nanopartikül çökelti olarak elde edilmiştir. Ardından iki kez saf su kullanılarak 15 000 rpm'de 15 dk boyunca yıkama yapılarak Fe nanopartiküller bağ yapmamış biyolojik moleküllerden arındırılmıştır. Son olarak Fe nanopartikül çökeltisi 60°C sıcaklıkta 1 gece boyunca kurutulmuş ve nanopartikül sentezi tamamlanmıştır. Fe nanopartiküller kullanıma kadar +4 °C sıcaklıkta depolanmıştır.

2.4.4. Sentezlenen Nanopartiküllerin Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin karakterizasyonu için UV/VIS spektrofotometresi (UV-VIS), Taramalı elektron mikroskobu (SEM), Fourier Transform Infrared spektrofotometre (FTIR) ve Enerji Dağılımlı X-ışını analizi (EDS) ölçümleri yapılmıştır. Sentezlenen nanopartiküllerin oluşumunu belirlemek için kuartz küvette, Ag NP için 435 nm ve Fe NP için 240-280 nm UV-VIS absorpsiyon (840-208200 UV/Vis Spectrophotometer, Thermo Scientific, USA) ölçümleri alınmıştır. Spektrofotometrik ölçümler ile spesifik pik noktalarının varlığına bakılmış ve NP formasyonu doğrulanmıştır.

Elde edilen Ag ve Fe nanopartiküllerin SEM (Apreo S, Thermo Scientific, USA) görüntüleri ile morfolojik yapıları ve boyutları belirlenmiştir. Ayrıca, X-ışını spektroskopisi (EDS) (Apreo S, Thermo Scientific, USA) ile nanopartiküllerin

elemental kompozisyonu belirlenmiştir. FTIR (Spectrum Two, Perkin Elmer, USA) analizleri ile sentezlenen nanopartiküllerin yapısal kompozisyonu belirlenmiştir. Ek olarak Zeta sizer (Nano ZS 90, Malvern, UK) cihazı kullanılarak nanopartiküllerin Zeta boyut ve Zeta potansiyel ölçümleri alınmıştır.

2.5. Bitki Büyüme Koşulları

Domates (*Solanum lycopersicum* L.) tohumları Anamas tohumculuktan (KAYRA F1) temin edilmiştir. Tohumlar bahçe toprağı içeren 14x12 boyutlarındaki plastik saksılara ekilmiştir. Bitkiler 25 °C, %60 nem ve 16/8 (aydınlık/karanlık) fotoperiyot koşullarında kontrollü büyüme kabininde yetiştirilmiştir. Bitki fidelerine 18. günde foliar spreyleme yöntemi ile Ag nanopartikül (25 mg L⁻¹ ve 50 mg L⁻¹) ve Fe nanopartikül (250 mg L⁻¹ ve 500 mg L⁻¹) uygulamaları yapılmış ve fideler 21. günde hasat edilmiştir. Kontrol grubu bitkilere sadece saf su ile foliar spreyleme yapılmıştır. Hasat edilen fideler sıvı azot uygulandıktan sonra yapılacak çalışmalar için -20 °C sıcaklıkta depolanmıştır.

2.6. Bitki Büyüme ve Gelişme Analizleri

21 Günlük domates fideleri bitki büyüme ve gelişme analizleri kapsamında metabolik farklılığın belirlenmesi için yaş ağırlıkları ölçülmüştür. Yaş ağırlıkları belirlenen örnekler 48 saat boyunca 65 °C sıcaklıkta etüv yardımı ile kurutulduktan sonra kuru ağırlıkları ölçülmüştür. Ayrıca bitki büyüme ve gelişimi üzerinde nanopartiküllerin etkisinin gözlemlenmesi için fidelerin kök ve gövde uzunlukları ölçülmüştür.

2.7. Biyokimyasal/Moleküler Analizler

2.7.1. Hidrojen Peroksit Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Domates yapraklarındaki hidrojen peroksit (H₂O₂) konsantrasyonu Alexieva (2001) yönteminde modifikasyonlar yapılarak H₂O₂'nin potasyum iyodin (KI) ile reaksiyonuna göre belirlenmiştir. Domates yaprakları (0.1 g) sıvı azot ile toz haline getirildikten sonra %0.1 (m/v) trikloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Homojenat 15 000 g ve 4 °C sıcaklıkta 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant alınmıştır. Süpernatant (0.5 mL) üzerine 0.5 mL 10 mM potasyum fosfat (pH: 7.0) tamponu ve 1 mL 1M KI eklenerek vortekslenmiştir. Ardından 390 nm dalga boyunda UV–VIS spektrofotometre (840–208200, Thermo Scientific, USA)

kullanılarak ölçüm alınmıştır. Kör olarak aynı oranda %0.1 TCA, 10 mM potasyum fosfat ve 1M KI kullanılmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi için H_2O_2 standardı kullanılmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol g}^{-1}$ T.A H_2O_2 olarak ifade edilmiştir.

2.7.2. Lipid Peroksidasyonu Seviyelerinin Belirlenmesi

Lipid peroksidasyonu seviyeleri belirlenmesi için yapraklarda oluşan malondialdehit miktarı Heath and Packer (1968) yönteminde modifikasyonlar yapılarak spektrofotometrik ölçümler ile belirlenmiştir. Deney için 0.1 g domates yaprağı sıvı azot ile toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilmiş örnekler %0.1 (m/v) TCA ile homojenize edilmiştir. Homojenat 15 000 g ve 4 °C sıcaklıkta 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Ardından 1 mL süpernatant cam tüplere alınarak üzerlerine 2 mL %0.5 tiyobarbiturik asit (TBA) içeren %20 TCA (m/v) eklenmiştir. Örnekler su banyosunda 30 dakika boyunca 95 °C’de ısıtılmıştır. Bu işlem sonrasında sıcak tüpler buz banyosuna alınarak soğutulmuştur. Son olarak örnekler 15 000 g ve 4 °C sıcaklıkta 10 dakika boyunca santrifüj edilmiş ve süpernatant alınmıştır. Örneklerin spektrofotometrik ölçümleri 532 nm ve 600 nm dalga boylarında alınmıştır. Sonuçların hesaplanması için MDA standardı hazırlanmış ve kullanılmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol g}^{-1}$ T.A MDA olarak ifade edilmiştir.

2.7.3. Fotosentetik Verim Analizi

Hasat aşamasındaki domates fidelerinin yaprakları klipsler aracılığı ile kapatılarak 30 dakika boyunca karanlığa adapte edilmiştir. Ardından fotosentetik verim analizi (F_v/F_m) Hansatech (UK) fotosentetik verim analizörü kullanılarak domates fidelerinin F_v/F_m oranları belirlenmiştir.

2.7.4. Fotosentetik Pigment İçeriğinin Belirlenmesi

Klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid içerikleri Wellburn (1994) yönteminde belirli modifikasyonlar yapılarak belirlenmiştir. Bu bağlamda, 20 mg bitki yaprağı %80 aseton (v/v) ile homojenize edilmiştir. Homojenat filtre kağıdı ile süzüldükten sonra 470, 645 ve 663 nm dalga boylarında spektrofotometrik ölçüm alınmıştır. Sonuçlar aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplanmıştır.

$\text{Chla (mg g}^{-1}) = [(12.7 \times A_{663}) - (2.6 \times A_{645})] \times \text{mL aseton/mg yaprak miktarı}$

$\text{Chlb (mg g}^{-1}\text{)} = [(22.9 \times A_{645}) - (4.68 \times A_{663})] \times \text{mL aseton/mg yaprak miktarı}$

$\text{Total Chl} = \text{Chla} + \text{Chlb}$

$\text{Cx+c} = 8(1000A_{470} - 1.90\text{Chla} - 63.14\text{Chlb})/214] \times \text{mL aseton/mg yaprak miktarı}$

2.7.5. Toplam protein içeriğinin belirlenmesi

Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının antioksidant metabolizma üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için bitkilerin toplam protein miktarları ve antioksidant enzim aktiviteleri (Katalaz ve Süperoksit Dismutaz) belirlenmiştir. Öncelikle protein ekstraksiyonu için 2 mM EDTA, %10 Gliserol ve 1 mM PMSF içeren 0.1 M Potasyum fosfat tamponu (pH: 7.8) hazırlanmıştır. Ardından 1 g bitki yaprağı 0.1 g PVPP eklenerek sıvı azot varlığında havan içerisinde öğütülmüştür. 3 mL ekstraksiyon tamponu ilavesi ile bitkiler homojenize edilmiştir. Homojenat 12 000 rpm ve 4 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Süpernatant alınarak protein içeriği ve antioksidant enzim aktivitesi analizleri için ayrılmış ve -20 °C’de depolanmıştır.

Toplam protein içeriğinin belirlenmesi için olan Bradford (1976) yöntemi kullanılmıştır. Toplam protein miktarının belirlenmesi için 950 µL Bradford çözeltisi üzerine 50 µL bitki ekstresi ilave edilmiştir ve karışım 10 dakika boyunca karanlıkta inkübe edilmiştir. Ardından 595 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak absorbans değerleri ölçülmüştür. Sonuçların hesaplanması için BSA protein standartı kullanılmıştır. Sonuçlar mg L⁻¹protein olarak ifade edilmiştir.

2.7.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

SOD aktivitesi, SOD formazonlarının miktarının ölçümü prensibine dayanan Ewing and Janero (1995) yöntemini baz alınarak yapılmıştır. Spektrofotometrik olarak uygulanan bu yöntem için kuyucuklara 200 µL hacimde 1 mM EDTA, 0.62 mM NBT ve 0.98 mM NADH içeren 50 mM potasyum fosfat tamponu, 25 µL bitki ekstresi, 25 µL hacimde 0.33 mM PMS, 1mM EDTA içeren 50 mM potasyum fosfat tamponundan oluşan reaksiyon karışımı eklenmiştir. 5 dakika boyunca karanlıkta inkübe edildikten sonra 560 nm dalga boyunda mikropate (96-Well Microtiter™ Microplates, ThermoFisher, USA) kullanılarak ölçümler alınmıştır.

Antioksidant aktivitenin hesaplanması için protein miktarının fotoredüksiyon inhibisyonunun %50'si belirlenmiştir. Sonuçlar ünite mg^{-1} protein olarak ifade edilmiştir.

2.7.7. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

CAT aktivitesinin belirlenmesi için CAT aktivitesine bağlı olarak H_2O_2 içeriğinin azalmasını temel alan Bergmeyer (1970) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre 0.05 M Potasyum fosfat tamponu (pH: 7) içerisine 200 μL bitki ekstresi ve 0.03 mL %3'lük H_2O_2 eklenmiştir. Reaksiyon başlangıcından itibaren 240 nm dalga boyunda 3 dakika boyunca spektrum ölçümü alınmıştır. Aktivitenin hesaplanması bir ünite CAT başına H_2O_2 molar yıkılma katsayısı baz alınarak yapılmıştır. Sonuçlar ünite mg^{-1} protein olarak ifade edilmiştir.

2.7.8. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi

Toplam antioksidant aktivitenin belirlenmesi için DPPH yıkımını esas alan Brand-Williams et al. (1995) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre 0.1 g bitki yaprağı 1 mL %80 etanol ile homojenize edilmiştir. Ekstraktan hücre bileşenlerinin uzaklaştırılması için ekstre 9 000 rpm devirde ve 4 °C sıcaklıkta 15 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. 0.05 mL supernatant alınarak üzerine 1.95 mL 12 mg DPPH içeren reaksiyon karışımı eklenmiştir ve 3 dakika boyunca absorbans değişimi takip edilmiştir. Elde edilen bulguların hesaplanması için oluşturulan DPPH-askorbat standart grafiği kullanılmıştır.

2.7.9. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Ag nanopartikül ve Fe nanopartikül uygulaması yapılmış domates bitkisi yapraklarında prolin içeriği Bates et al. (1973) yöntemi üzerinde modifikasyonlar yapılarak asidik ninhidrin reaksiyonu esas alınarak spektrofotometre ile belirlenmiştir. Yöntem kapsamında 0.1 g domates yaprağı sıvı azot yardımı ile toz haline getirildikten sonra üzerine 5 mL %3 sülfosalisilik asit eklenerek homojenize edilmiştir. Homojenat filtre kağıdı ile süzüldükten sonra üzerine 2 mL asetik asit ve 2 mL asidik ninhidrik reaksiyon karışımı (6M ortofosforik asit, asetik asit ve %2.5 ninhidrin) eklenerek 1 saat boyunca 95 °C sıcaklıkta su banyosu kullanılarak ısıtılmıştır. Su banyosundan alınan örnekler hemen buz içerisine alınarak 5 dakika boyunca soğutulmuştur. Örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra üzerine 2 mL tolüen eklenerek vortekslenmiştir. Faz oluşumu tamamlandıktan sonra tolüen

fazının spektrofotometre kullanılarak 518 nm dalga boyunda absorbans ölçümü alınmıştır. Sonuçların değerlendirilmesi için L-prolin kullanılarak oluşturulan standart eğri kullanılmıştır. Sonuçlar $\mu\text{mol g}^{-1}$ T.A prolin olarak ifade edilmiştir.

2.8. Proteomik Analizler

2.8.1. Protein Ekstraksiyonu

Ag NP ve Fe nanopartikül uygulaması yapılmış domates fidesinin yapraklarından protein ekstraksiyonu için Vilhena et al. (2015) yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemle göre 2 g domates yaprağı sıvı azot ile toz haline getirildikten sonra 100 mM Tris-HCl (pH: 8.0), 5 mM DTT, 1 mM EDTA ve 1 mM PMSF içeren ekstraksiyon tamponu ile ekstre edilmiştir. Ekstre edilen örnekler 35 Hz frekansta sonik banyo içerisinde bekletildikten sonra buz içerisinde 160 rpm devirde shaker kullanılarak 15 dakika boyunca çalkalanmıştır. Ekstre 12 000 g devir ve 4 °C sıcaklıkta 30 dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant alınmıştır. Süpernatant üzerine 1:1 oranında aseton içerisinde çözülmüş %20 TCA eklenmiş ve 1 gece boyunca -20 °C sıcaklıkta proteinlerin çökmesi sağlanmıştır. Çökme işlemini tamamlandıktan sonra örnekler 15 000 g devir ve 4 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve protein pelletleri elde edilmiştir. Pelletler TCA'nın uzaklaştırılması için %0,07 β -merkaptoetanol içeren aseton (v/v) ile 15 000 g devir ve 4 °C sıcaklıkta 30 dakika boyunca santrifüj edilerek yıkanmıştır. Bu işlem 2 kez tekrar edilmiştir. Son olarak pelletlerden asetonun uzaklaştırılması için çeker ocak altında 15 dakika boyunca örnekler kurutulmuş ve protein pelletleri elde edilmiştir. Pelletler elektroforez çalışmaları için -20 °C sıcaklıkta depolanmıştır.

2.8.2. Protein Ayrımı ve SDS-PAGE

Protein pelletleri elektroforez analizi için 7:3 oranında 50 mM Tris-HCl (pH: 6.8) ve 250 mM Tris-HCl (pH: 8.0) kullanılarak çözünür hale getirilmiştir. Örnekler içerisindeki protein miktarları Bradford (1976) yöntemine göre analiz edilmiştir. Nanopartikül uygulaması yapılmış domates profillerinin belirlenmesi için Bio-Rad Protean II xi Tube Gel Cell sistemi kullanılarak üreticinin talimatlarına göre SDS-PAGE yapılmıştır. SDS-PAGE analizi için 16 x 20 boyutlarında 1 mm kalınlığında %4 stacking poliakrilamid jel ve %13 resolving poliakrilamid jel üretici talimatlarına göre hazırlanmıştır. Kuyucuklara her örnek için 1 mg/mL konsantrasyonunda olacak şekilde 120 μL protein yüklenmiştir. SDS-PAGE analizi 15 mA akım kullanılarak tamamlanmıştır. Jeller elektroforez ünitesinden alındıktan

sonra %50 etanol, %10 asetik asit ve %40 distile su içeren çözelti ile 2 saat boyunca fikse edilmiştir. Fiksasyonun ardından %0.1 Coomassie Brilliant Blue R-250, %50 metil alkol ve %10 asetik asit içeren stain çözeltisi ile jeller 1 gece boyunca boyanmıştır. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra boyanın uzaklaştırılması için %40 metil alkol ve %10 asetik asit içeren çözelti ile destain yapılmıştır. Jel görüntülenmesi ve kütle spektrometrisi analizleri için jeller saf su içerisinde muhafaza edilmiştir. Jel görüntülenmesi için GEN-BOX imagER CFx (Erbiotech, Turkey) jel görüntüleme cihazı ve imageER yazılımı kullanılmıştır. Jel üzerinde bulunan protein bantların belirlenmesi ve değerlendirilmesi için ise imageJ yazılımı kullanılmıştır.

2.8.3. *In Silico* Sekans Analizi

Domates bitkisinin referans proteomuna erişmek için UniProt kütüphanesi kullanılmıştır (<https://www.uniprot.org/proteomes/UP000004994>). Domates proteomunda bulunan proteinler SDS-PAGE analizleri sonucunda belirlenen bantlarda bulunan proteinlerin molekül ağırlıklarına göre filtrelenmiştir. Belirlenen protein sekansları MetalPDB kütüphanesi kullanılarak demir ve gümüş bağlama bölgelerinin varlığına göre tekrar filtrelenmiştir (Andreini et al., 2012).

2.8.4. Üç Boyutlu (3B) Protein Yapı Analizi

Filtrelenen protein sekanslarının 3 boyutlu yapı tahmini için web tabanlı Phyre2 aracı kullanılmıştır (<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>). Phyre2 aracı 3B yapı tahmininde gelişmiş uzaktan homoloji algılama yöntemlerini kullanmaktadır (Kelley et al., 2015). Ayrıca hizalama ve belirleme oranının doğruluğunu önemli ölçüde artırmak için HMM-HMM araması yoluyla gizli Markov modellerinin hizalamasını kullanmaktadır. Modellenmiş 3B protein modelleri yapılar güvenilirlik $\geq$ %90, sorgulama $\geq$ %50 ve tanımlama $\geq$ %30 kriterlerine seçilerek filtrelenmiştir. Belirlenen modellerin yapısal doğruluğu ProSa-web aracı yardımı ile α potensiyellerine bağlı olarak elde edilen z-skorları üzerinden değerlendirilmiştir (Wiederstein and Sippl, 2007). Ardından 3B protein yapılarının metal bağlama bölgelerinin doğrulanması amacıyla fragment transformasyon metoduna bağlı olarak çalışan Metal Ion-Binding site prediction and docking server aracı kullanılmıştır (Lu et al., 2012). Burada proteinler için metal bağlama bölgelerinin yapısal modelleri z-skorları üzerinden değerlendirilmiştir.

Belirlenen proteinlerin hücresel lokalizasyonları CELLO web aracı üzerinden Park ve Kneisha veri seti kullanılarak belirlenmiştir (Yu et al., 2006). Cello destek vektör makine sınıflandırması kullanarak lokalizasyon tahmini yapan bir araçtır. Belirlenen proteinlerin moleküler fonksiyonları ve görev aldığı biyolojik prosesler ise InterPro web aracı kullanılarak belirlenmiştir (Blum et al., 2021).

2.9. İstatistiksel Analizler

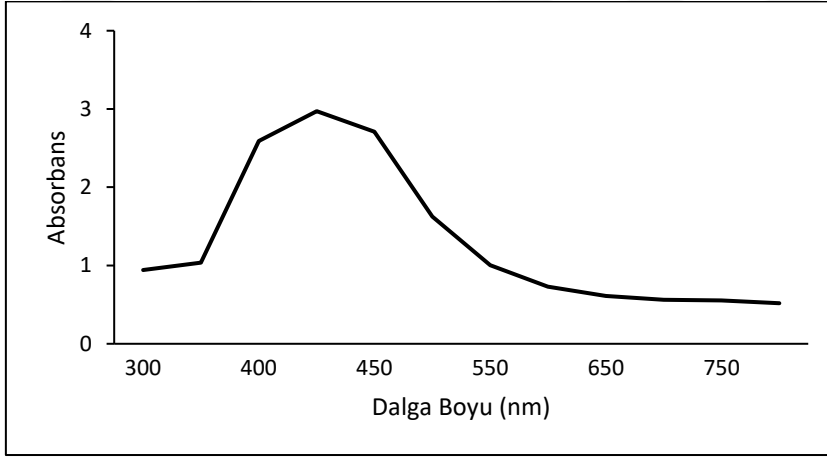
Yapılan analizlerden elde edilen verilerin istatistiksel analizi Statical Package for Social Sciences (SPSS v24) programı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen veriler ANOVA testleri ile $p<0.05$ önemlilik derecesinde LSD testleri uygulanarak incelenmiştir.



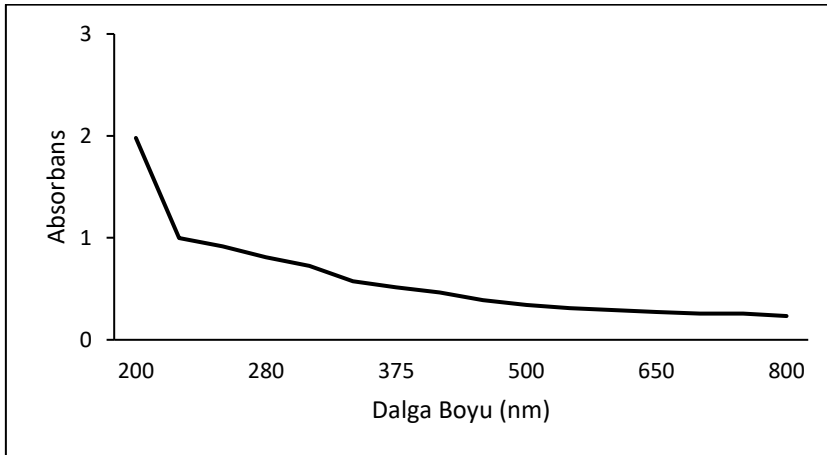
3. BULGULAR

4.1. Ag ve Fe Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Ag ve Fe nanopartikül karakterizasyonu için öncelikle UV-VIS spektrum ölçümleri yapılmıştır. Ag ve Fe nanopartiküller için spektrum ölçümlerinin bulguları Ag nanopartikül için Şekil 3.1 ve Fe nanopartikül için şekil 3.2’de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre Ag nanopartikül için karakteristik olan 435 nm dalga boyundaki absorbans artışına bağlı pik belirlenerek Ag nanopartiküllerin formasyonu doğrulanmıştır. Fe nanopartikül için ise 200-280 nm dalga boyu aralığında yer alan yüksek absorbans verileri Fe nanopartikülün formasyonu doğrulamıştır.

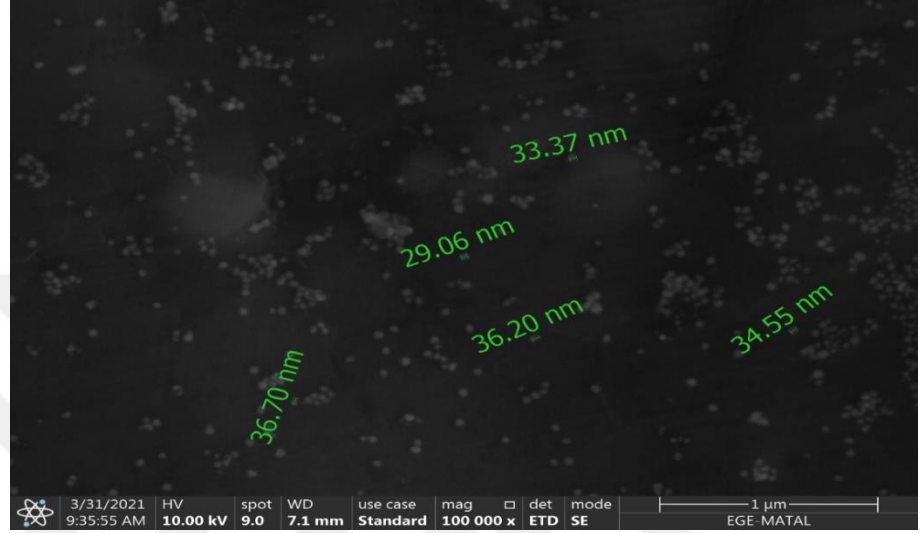


Şekil 3.1. Ag nanopartikül UV-VIS Absorbans spektrumu.

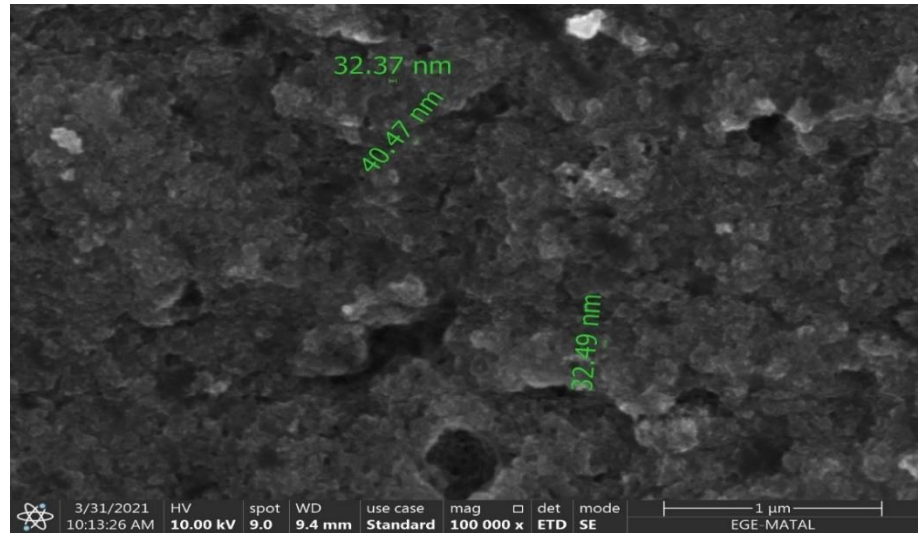


Şekil 3.2. Fe nanopartikül UV-VIS Absorbans spektrumu.

Ag ve Fe nanopartiküllerin morfolojisi ve boyutlarının belirlenmesi için taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri alınmıştır. SEM görüntüleri Şekil 3.3 ve Şekil 3.4'te gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre Ag nanopartiküllerin küresel yapıda ve ortalama ~ 33 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Fe nanopartiküllerin ise yine küresel yapıda ve ortalama ~ 34 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir.



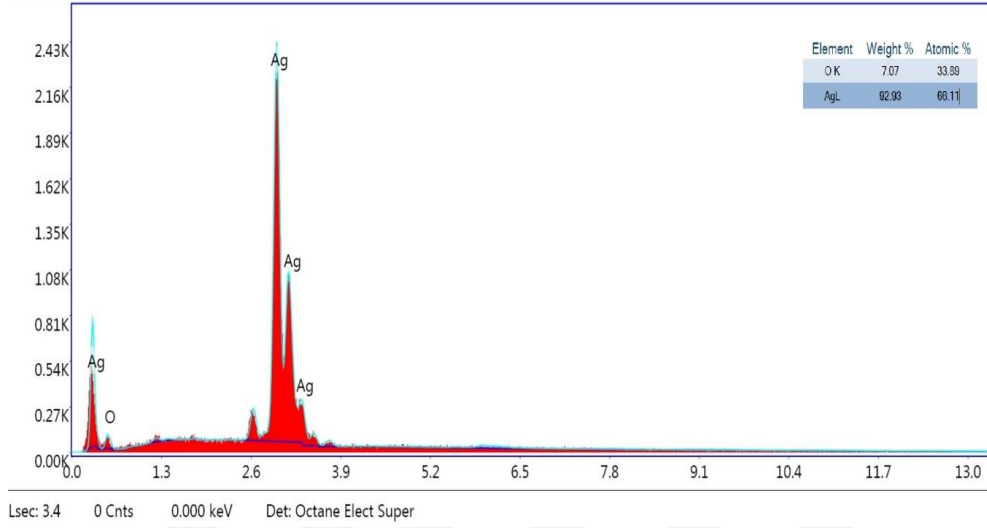
Şekil 3.3. Ag nanopartikül SEM görüntüsü.



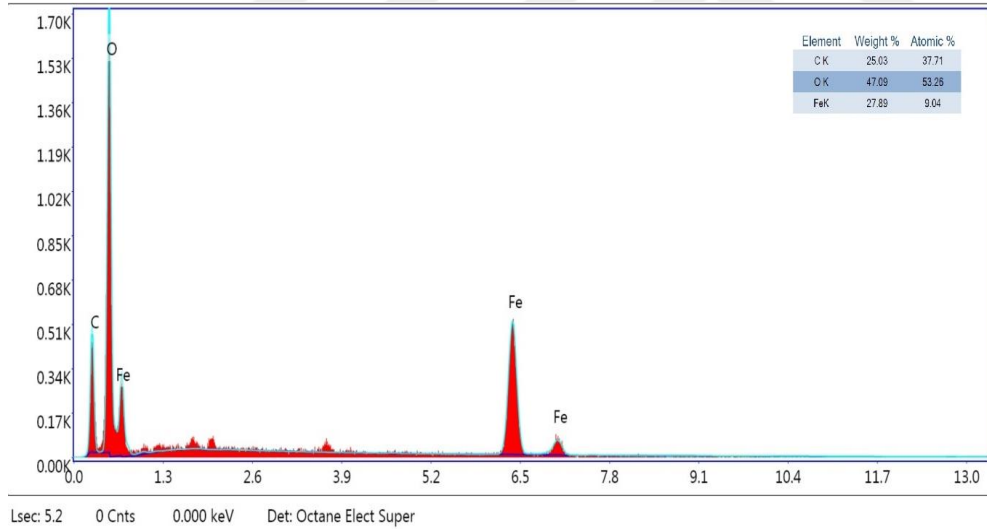
Şekil 3.4. Fe nanopartikül SEM görüntüsü.

Ag ve Fe nanopartiküllerin elemental kompozisyonu EDS spektrum ölçümleri alınarak belirlenmiştir. Nanopartiküllerin EDS bulguları Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'da gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre Ag nanopartikül elemental

kompozisyonu doğrulanmış ve yapının ~%90 gümüş içerdiği belirlenmiştir. Fe nanopartikül elemental kompozisyona bakıldığında ise ~%33 oranında demir içerdiği belirlenmiş ve yapısı doğrulanmıştır.

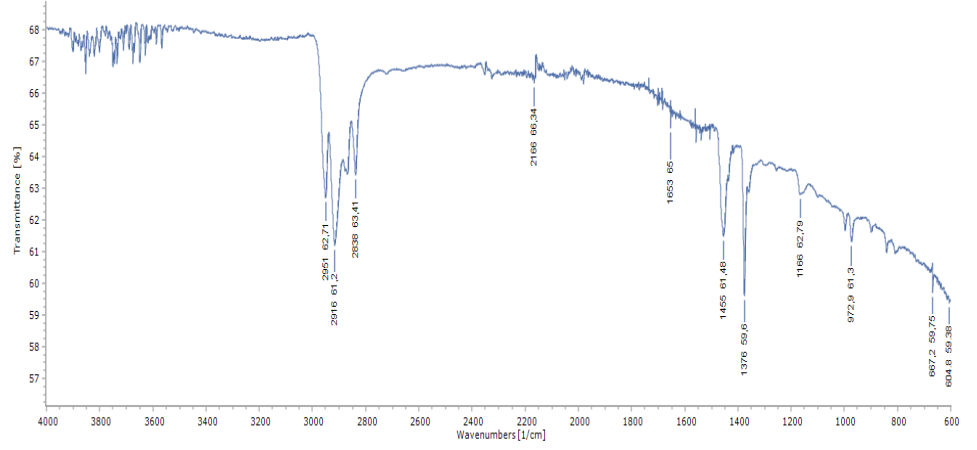


Şekil 3.5. Ag nanopartikül EDS spektrumu.

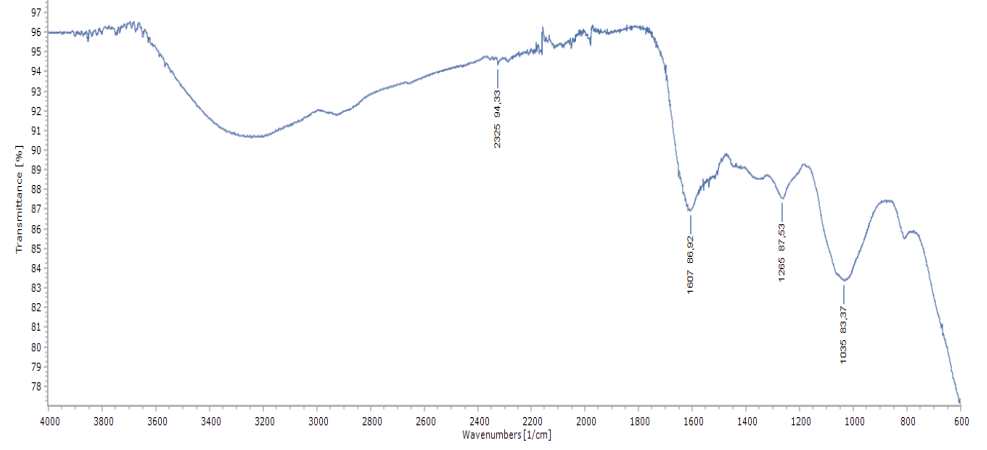


Şekil 3.6. Fe nanopartikül EDS spekturumu.

Ag ve Fe nanopartiküllerin yapısal kompozisyonu FTIR spektrum analizi ile belirlenmiştir (Şekil 3.7 ve Şekil 3.8). Elde edilen bulgular Ag nanopartiküllerinin FTIR spektrumunda 2951 cm^{-1} , 2916 cm^{-1} , 2838 cm^{-1} , 2166 cm^{-1} , 1653 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1376 cm^{-1} , 1166 cm^{-1} , 972 cm^{-1} , ve 667 cm^{-1} ve 604 cm^{-1} bantlarında pikler belirlenmiştir. Fe nanopartiküllerinin FTIR spektrum analizlerinde ise 2325 cm^{-1} , 1607 cm^{-1} , 1285 cm^{-1} ve 1035 cm^{-1} bantlarında pikler belirlenmiştir.

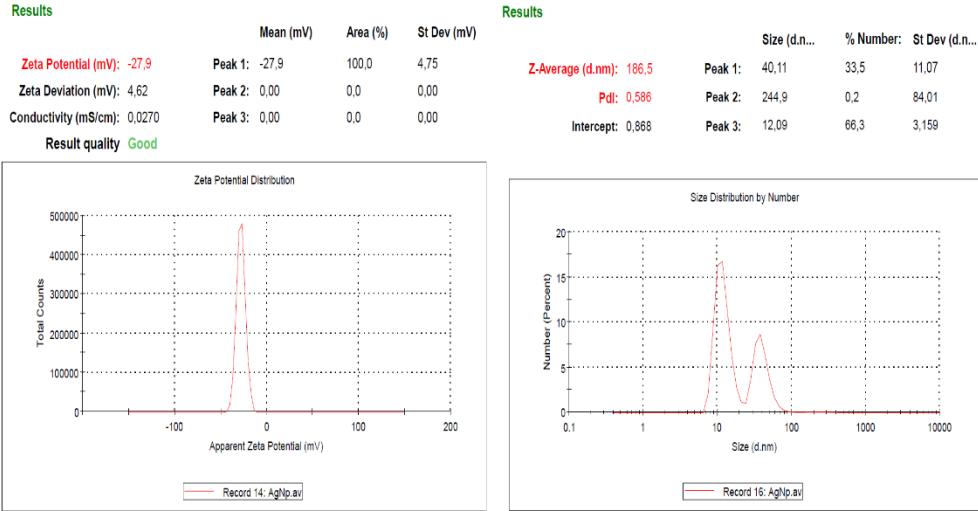


Şekil 3.7. Ag nanopartikül FTIR spektrumu.

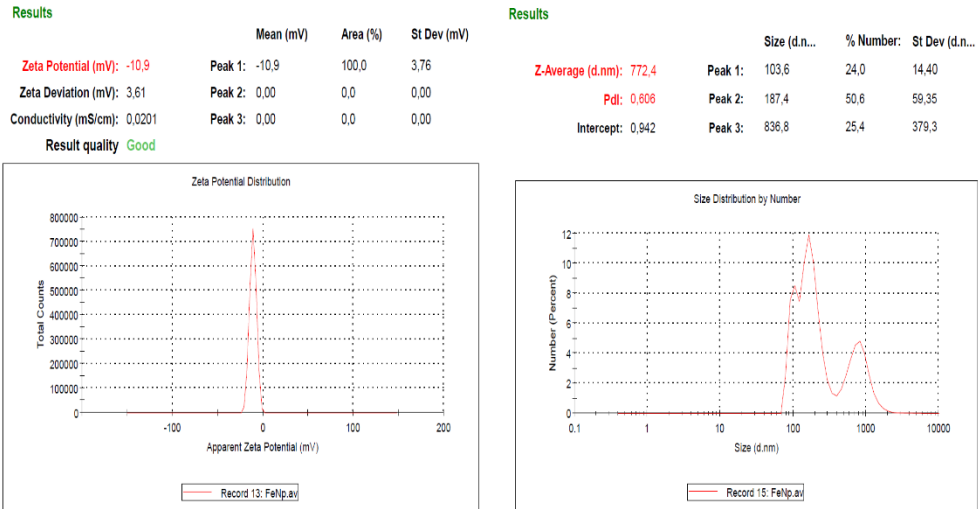


Şekil 3.8. Fe nanopartikül FTIR spektrumu.

Ag ve Fe nanopartiküllerin yapısal yüklerinin ve boyutlarının analizi için Zetasizer kullanılarak Zeta potansiyel ve Zeta boyut analizleri yapılmıştır (Şekil 3.9 ve Şekil 3.10). Elde edilen verilere göre Ag nanopartikülünün Zeta potansiyel değeri -27.9 olarak belirlenmiştir. Zeta boyut analizi sonucunda ise nanopartikülün 12 ila 244 nm arasındaki boyutlarda farklılık gösterdiği belirlenmiştir. Fe nanopartikülünün Zeta potansiyeli -10.9 olarak belirlenmiştir. Zeta boyut analizi sonucunda ise bu nanopartikülün 103 ila 836 nm arasındaki boyutlarda farklılık gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 3.9. Ag nanopartikül Zeta potansiyel ve Zeta boyut analizleri.



Şekil 3.10. Fe Nanopartikül Zeta potansiyel ve Zeta boyut analizleri.

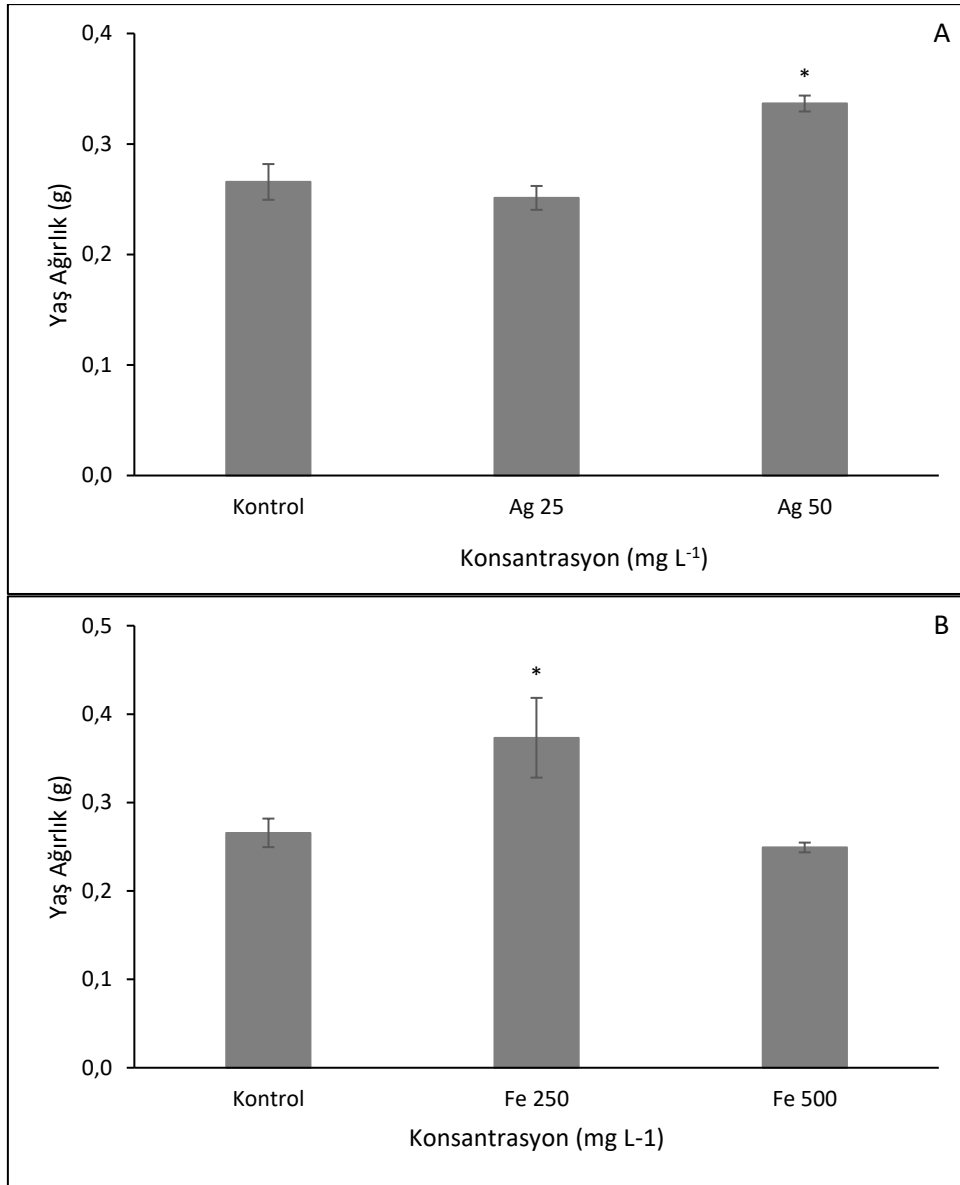
4.2. Bitki Büyüme ve Gelişme Analizleri

Bitki büyüme ve gelişmesinin araştırılması için 21 gün boyunca kontrollü ortam koşullarında (25 °C sıcaklık, %60 nem ve 16/8 fotoperiyot) yetiştirilen domates fidelerinin bitki büyüme ve gelişme analizleri yaş ağırlık, kuru ağırlık, kök uzunluğu ve gövde uzunluğunun ölçülmesi ile yapılmıştır. Yetiştirilen bitkilerin görüntüleri Şekil 3.11’de (A) Ag nanopartikül ve (B) Fe nanopartikül uygulamaları olarak gösterilmiştir. Domates fidelerine foliar spreyleme ile 18. günde Ag nanopartikül (25 ve 50 mg L⁻¹), Fe nanopartikül (250 ve 500 mg L⁻¹) ve kontrol (Saf su) uygulanmıştır. Elde edilen yaş ağırlık bulguları şekil 3.12’de ve Çizelge 3.1’de

gösterilmiştir. Bulgulara göre, 250 mg L^{-1} Fe nanopartikül uygulamasında kontrol grubuna kıyasla yaş ağırlık miktarının %40 oranında arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Diğer uygulamalarda Fe nanopartikül uygulamalarında ise yaş ağırlık miktarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşmadığı gözlemlenmiştir. 50 mg L^{-1} Ag nanopartikül uygulamasında yaş ağırlık miktarının %26 arttığı belirlenmiştir. 25 mg L^{-1} Ag Nanopartikül uygulamasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir.



Şekil 3.11. (A) Kontrol, Ag nanopartikül 25 mg L^{-1} ve Ag Np 50 mg L^{-1} uygulanmış bitkilerin görüntüleri (B) Kontrol, Fe nanopartikül 250 mg L^{-1} ve Fe nanopartikül 500 mg L^{-1} uygulanmış bitkilerin görüntüleri.



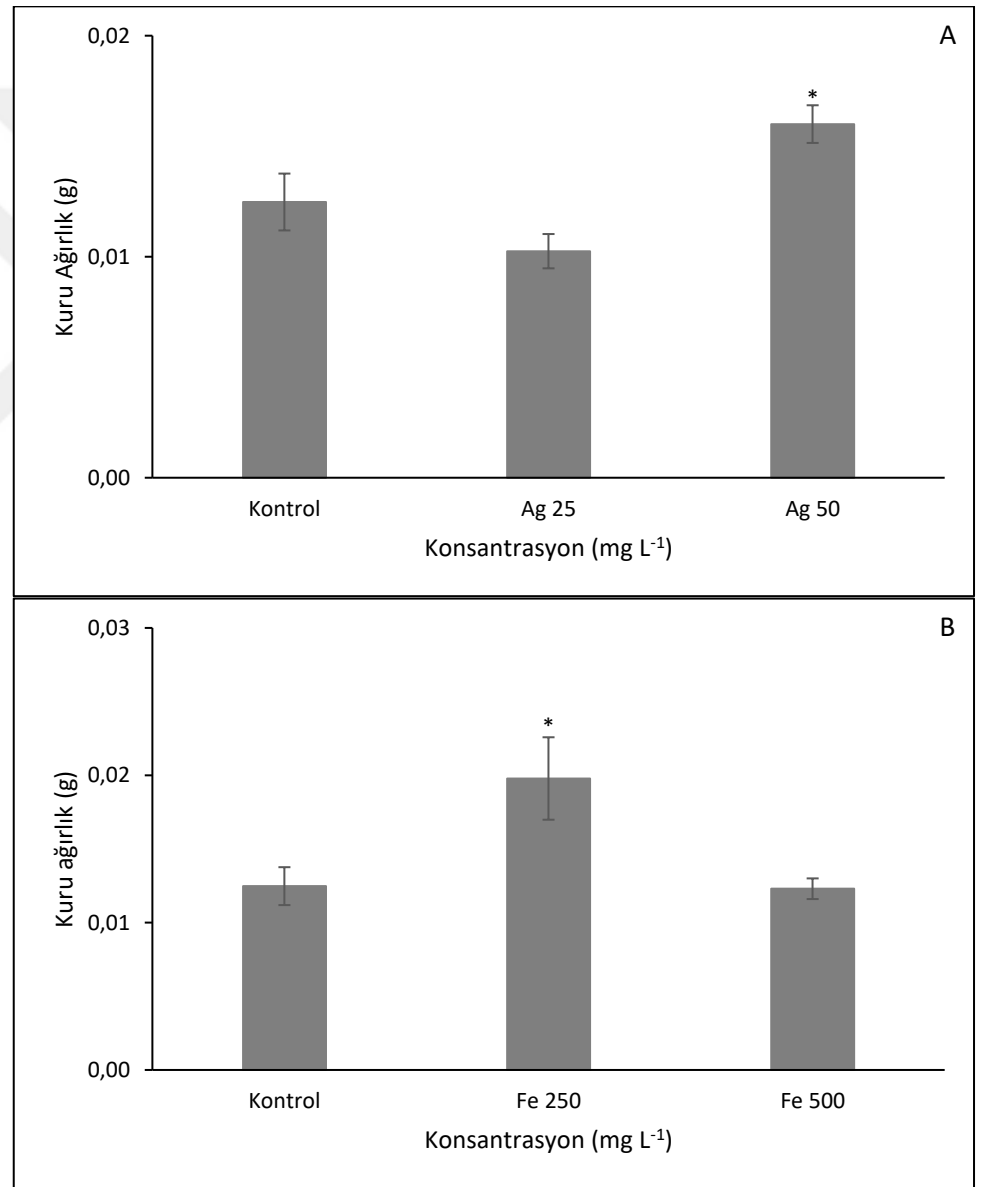
Şekil 3.12. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin yaş ağırlık miktarı.

Çizelge 3.1. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin yaş ağırlık değerleri (g) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Yaş ağırlık (g) $\pm$ SH
Kontrol	0.27 $\pm$ 0.016
Ag 25 mg L ⁻¹	0.25 $\pm$ 0.011
Ag 50 mg L ⁻¹	0.34 $\pm$ 0.007*
Fe 250 mg L ⁻¹	0.37 $\pm$ 0.045*
Fe 500 mg L ⁻¹	0.25 $\pm$ 0.006

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Fe ve Ag nanopartikül uygulaması yapılmış domates fidelerinin kuru ağırlık miktarları Şekil 3.13'de ve Çizelge 3.2'de gösterilmiştir. Uygulama yapılmış domates fidelerinin kuru ağırlık bulgularına bakıldığında 250 mg L^{-1} Fe nanopartikül uygulaması yapılmış fidelerin kuru ağırlıklarının kontrol grubuna kıyasla %58 oranında artış gösterdiği belirlenmiştir ($p < 0.05$). 500 mg L^{-1} Fe nanopartikül uygulamasında ise kontrol grubuna kıyasla kuru ağırlık miktarlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. 50 mg L^{-1} Ag nanopartikül uygulamasında kuru ağırlık miktarının %28 arttığı belirlenmiştir. 25 mg L^{-1} Ag Nanopartikül uygulamasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir.



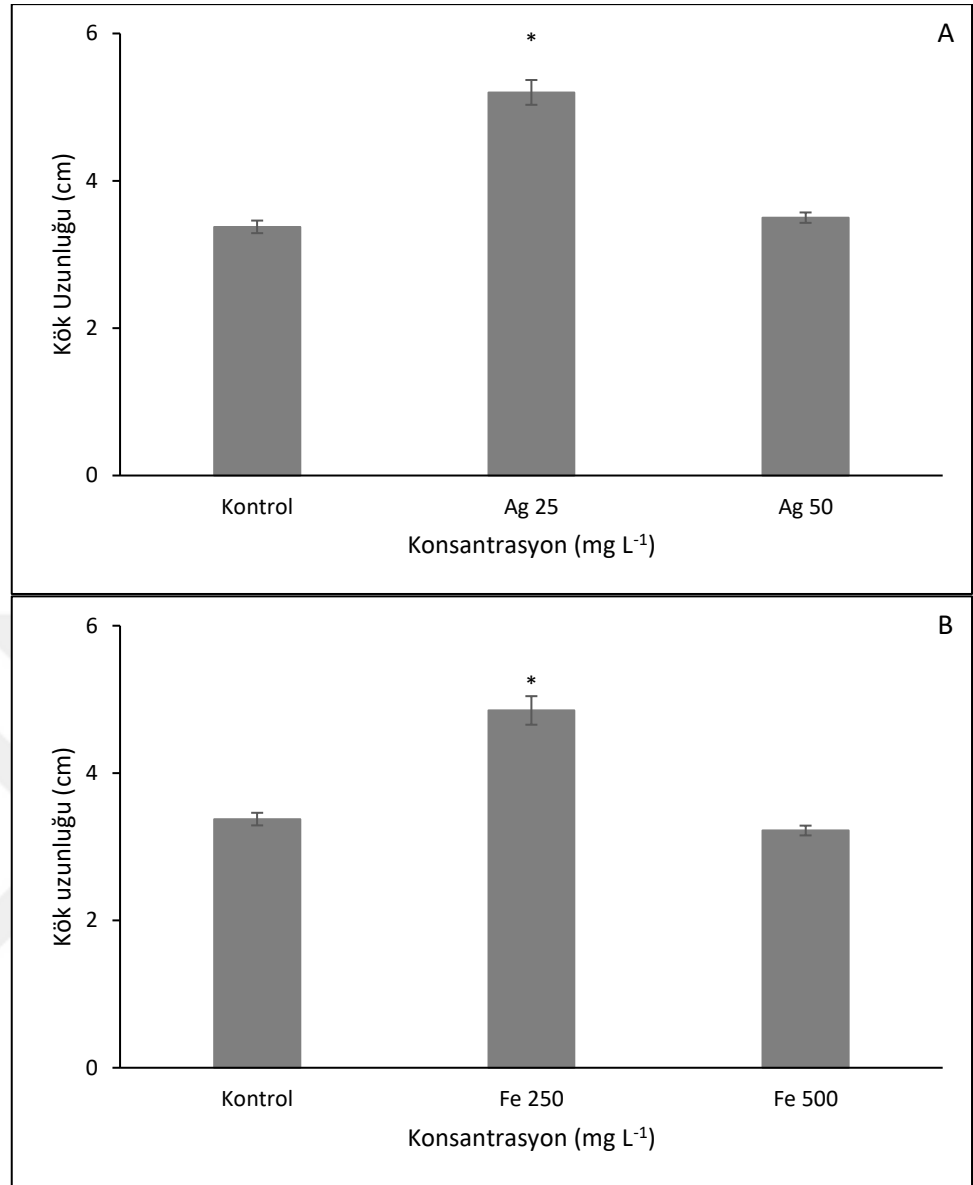
Şekil 3.13. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kuru ağırlık miktarı.

Çizelge 3.2. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kuru ağırlık değerleri (g) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Kuru ağırlık (g) $\pm$ SH
Kontrol	0.012 $\pm$ 0.0013
Ag 25 mg L ⁻¹	0.01 $\pm$ 0.0008
Ag 50 mg L ⁻¹	0.016 $\pm$ 0.0009*
Fe 250 mg L ⁻¹	0.02 $\pm$ 0.0028*
Fe 500 mg L ⁻¹	0.012 $\pm$ 0.0007

* $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Fe ve Ag nanopartikül uygulaması yapılmış domates fidelerinin kök uzunlukları Şekil 3.14'de ve Çizelge 3.3'te gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, domates fidelerinin kök uzunluklarının kontrol grubuna kıyasla 25 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamasında %54 artış olduğu belirlenirken diğer Ag nanopartikül uygulama konsantrasyonlarında istatistiksel olarak değişiklik olmadığı belirlenmiştir. 250 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulamasında ise kök uzunluğunun %43 arttığı belirlenmiştir ($p < 0.05$). Diğer Fe nanopartikül uygulama gruplarında ise kök uzunluğu için kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.



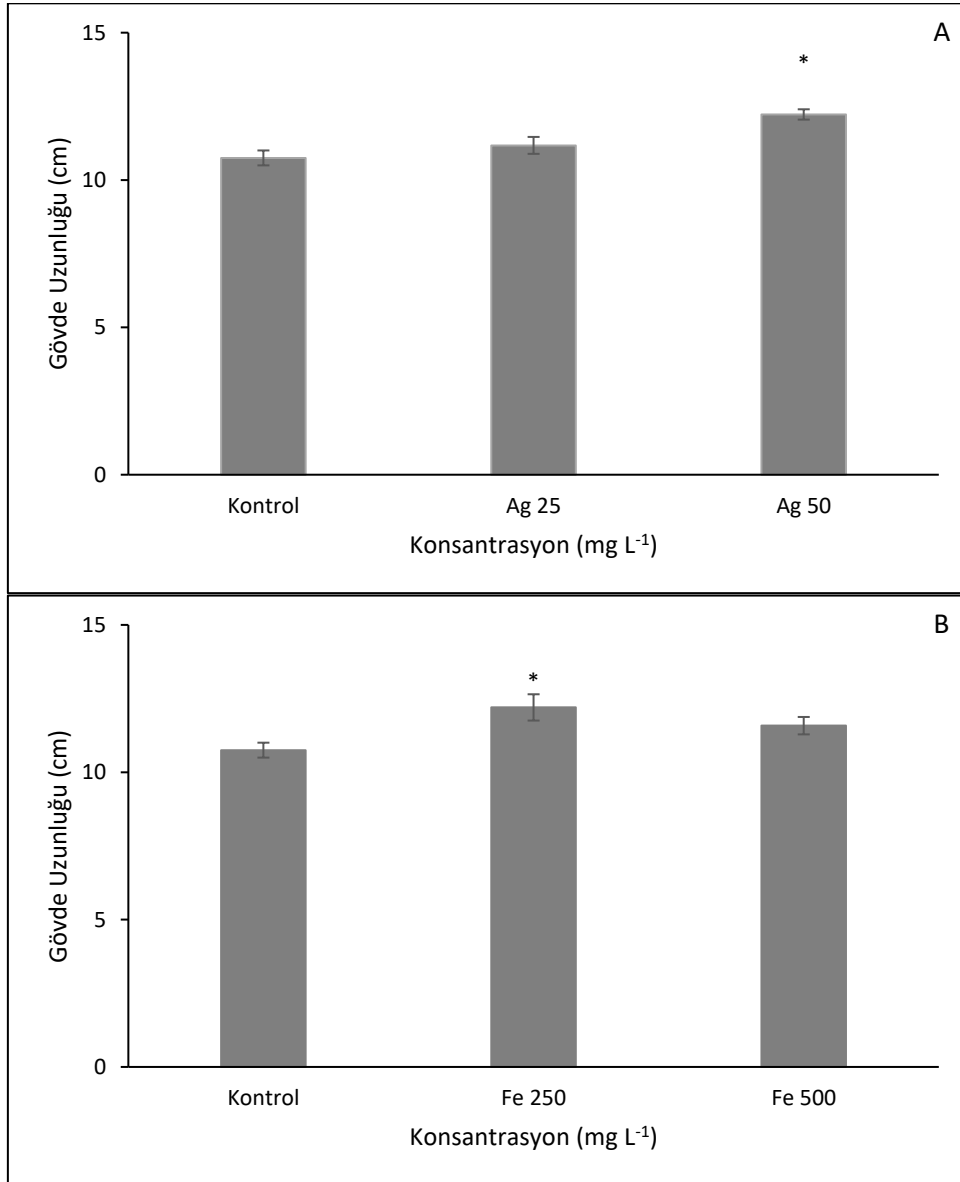
Şekil 3.14. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kök uzunluğu.

Çizelge 3.3. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kök uzunluğu değerleri (cm) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Kök uzunluğu (cm) $\pm$ SH
Kontrol	3.38 $\pm$ 0.09
Ag 25 mg L ⁻¹	5.2 $\pm$ 0.17*
Ag 50 mg L ⁻¹	3.5 $\pm$ 0.07
Fe 250 mg L ⁻¹	4.85 $\pm$ 0.19*
Fe 500 mg L ⁻¹	3.22 $\pm$ 0.07

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Fe ve Ag nanopartikül uygulaması yapılmış domates fidelerinin gövde uzunlukları şekil 3.15'te ve çizelge 3.4'te gösterilmiştir. Bulgulara göre, domates fidelerinin gövde uzunluğunun 50 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamasında %13 arttığı diğer Ag nanopartikül uygulamalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. 250 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulamasında ise benzer olarak gövde uzunluğunun kontrol grubuna kıyasla %13 oranında artış gösterdiği ve diğer Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitki fidelerinde ise gövde uzunluğu bakımından kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.15. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin gövde uzunluğu.

Çizelge 3.4. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin gövde uzunluğu değerleri (cm) ve $\pm$ standart hata.

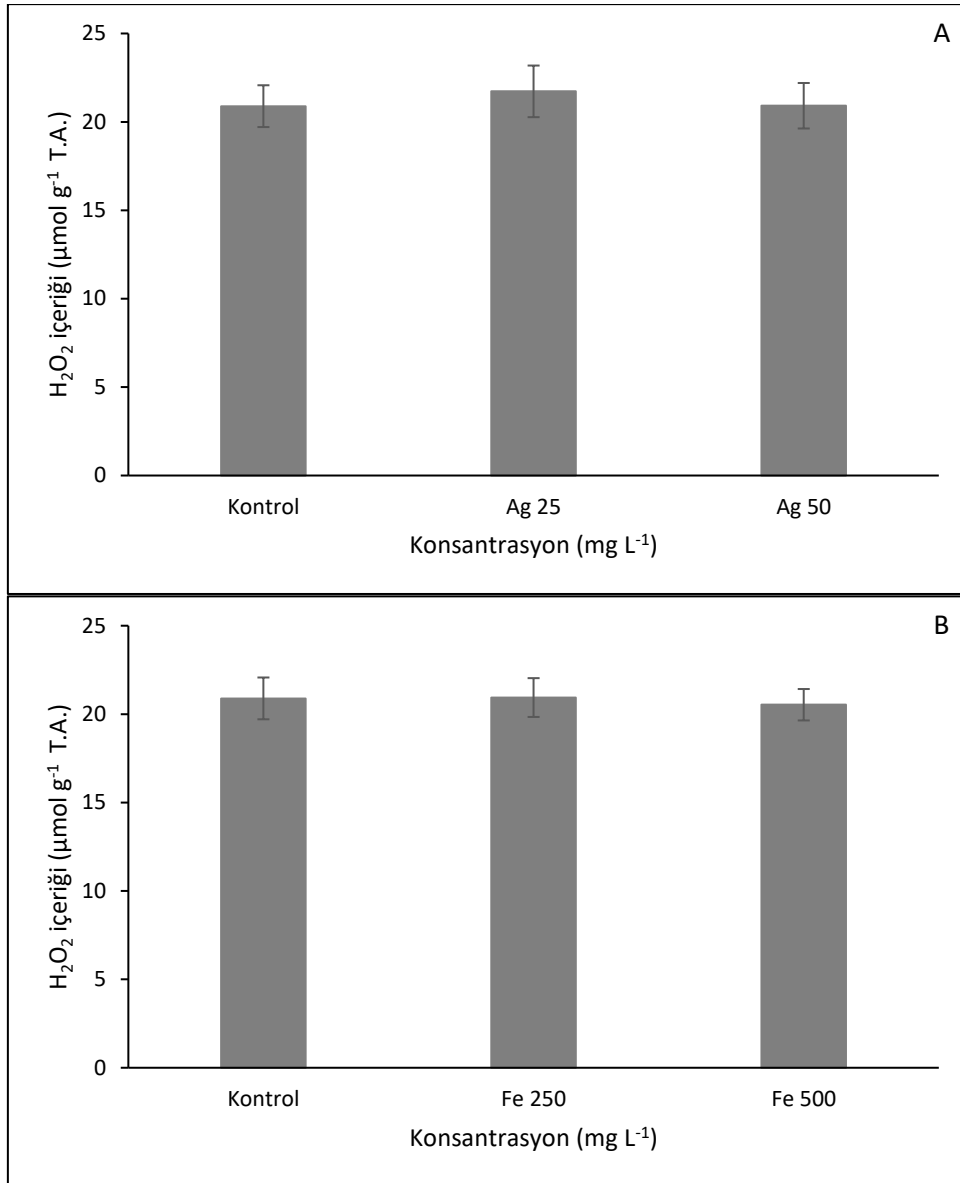
Gruplar	Gövde uzunluğu (cm) $\pm$ SH
Kontrol	10.75 $\pm$ 0.25
Ag 25 mg L ⁻¹	11.18 $\pm$ 0.29
Ag 50 mg L ⁻¹	12.23 $\pm$ 0.18*
Fe 250 mg L ⁻¹	12.2 $\pm$ 0.45*
Fe 500 mg L ⁻¹	11.58 $\pm$ 0.3

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3. Biyokimyasal/Moleküler Analizler

4.3.1. Hidrojen Peroksit Konsantrasyonunun Belirlenmesi

Oksidatif stres sonucu oluşan reaktif oksijen türleri hücre bütünlüğüne kayda değer miktarda zarar verebilmektedir. Hidrojen peroksit (H₂O₂) bu oluşan reaktif oksijen türlerinden biridir ve miktarının belirlenmesi hücrede oluşabilecek olumsuz etkileri belirlemek için önem arz etmektedir. Nanopartikül uygulamaları sonucu domates fidelerinin yapraklarında oluşan H₂O₂ içeriği spektrofotometrik olarak belirlenmiş, elde edilen bulgular Şekil 3.16'te ve Çizelge 3.5'te gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre, Hem Ag ve hem de Fe nanopartikül uygulaması yapılmış domates fide yapraklarının bütün konsantrasyonlarda H₂O₂ içerikleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir (p<0.05).



Şekil 3.16. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin H₂O₂ içeriği.

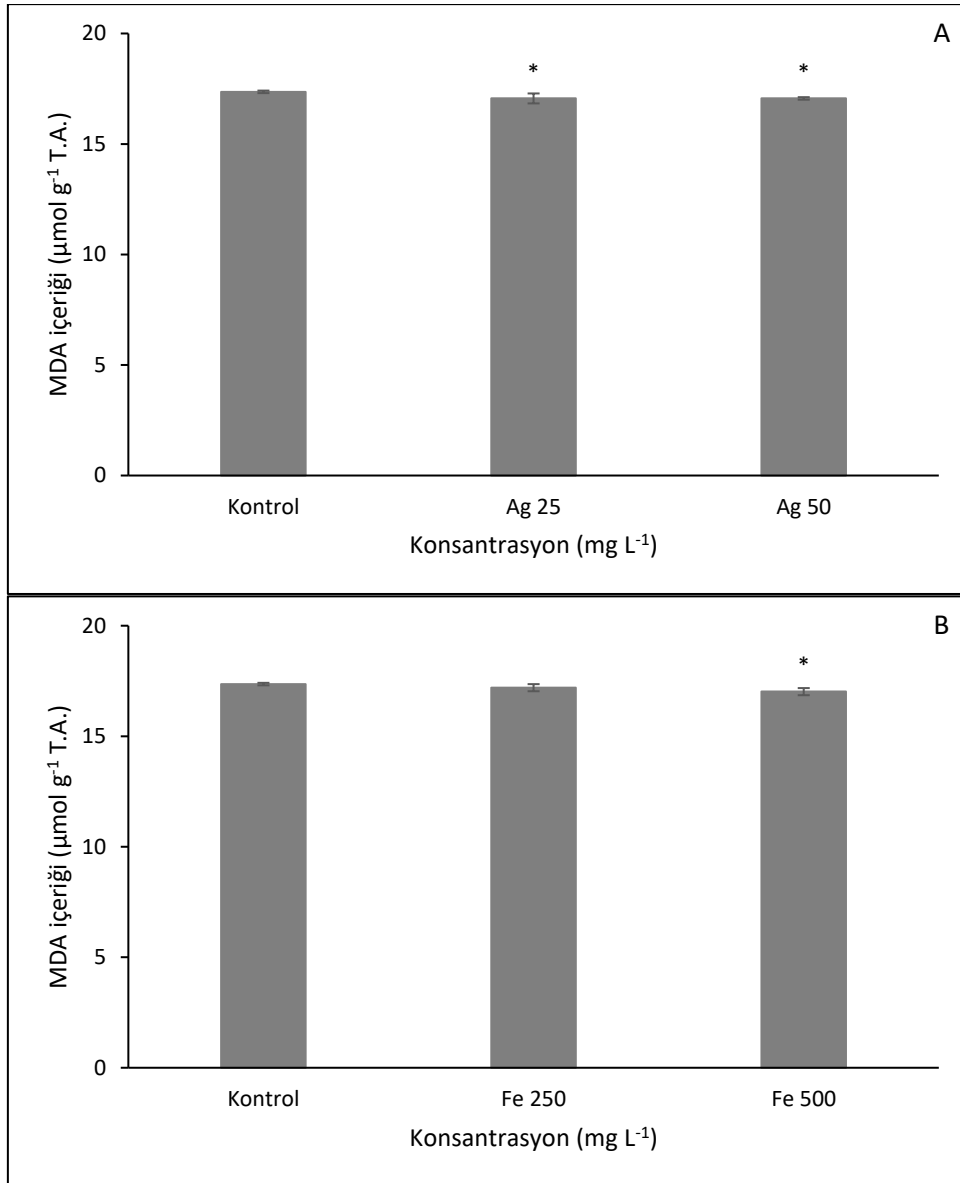
Çizelge 3.5. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin H₂O₂ içeriği (μmol g⁻¹ T.A) ve ± standart hata.

Gruplar	H ₂ O ₂ içeriği μmol g ⁻¹ T.A ± SH
Kontrol	20.89 ± 1.18
Ag 25 mg L ⁻¹	21.73 ± 1.46
Ag 50 mg L ⁻¹	20.91 ± 1.29
Fe 250 mg L ⁻¹	20.94 ± 1.1
Fe 500 mg L ⁻¹	20.53 ± 0.89

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.2. Lipid Peroksidasyonu Seviyelerinin Belirlenmesi

Toksik etkiye maruz kalan bitki membranlarının bütünlüğünü, yapısal ve işlevsel özelliklerini kaybetmesi sonucunda bitkide malondialdehit (MDA) üretimini artmaktadır. Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının domates fideleri üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesi için MDA içeriklerine bağlı olarak lipid peroksidasyonu seviyeleri belirlenmiştir. Elde edilen bulgular Şekil 3.17’te ve Çizelge 3.6’da gösterilmiştir. Bu verilere göre MDA seviyelerinin 500 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulamasında %2 azaldığı 500 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulama konsantrasyonunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir ($p<0.05$). Benzer şekilde 25 mg L⁻¹ ve 50 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulama konsantrasyonlarında ise MDA içeriklerinin kontrol grubuna kıyasla %2 oranında azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 3.17. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin MDA içeriği.

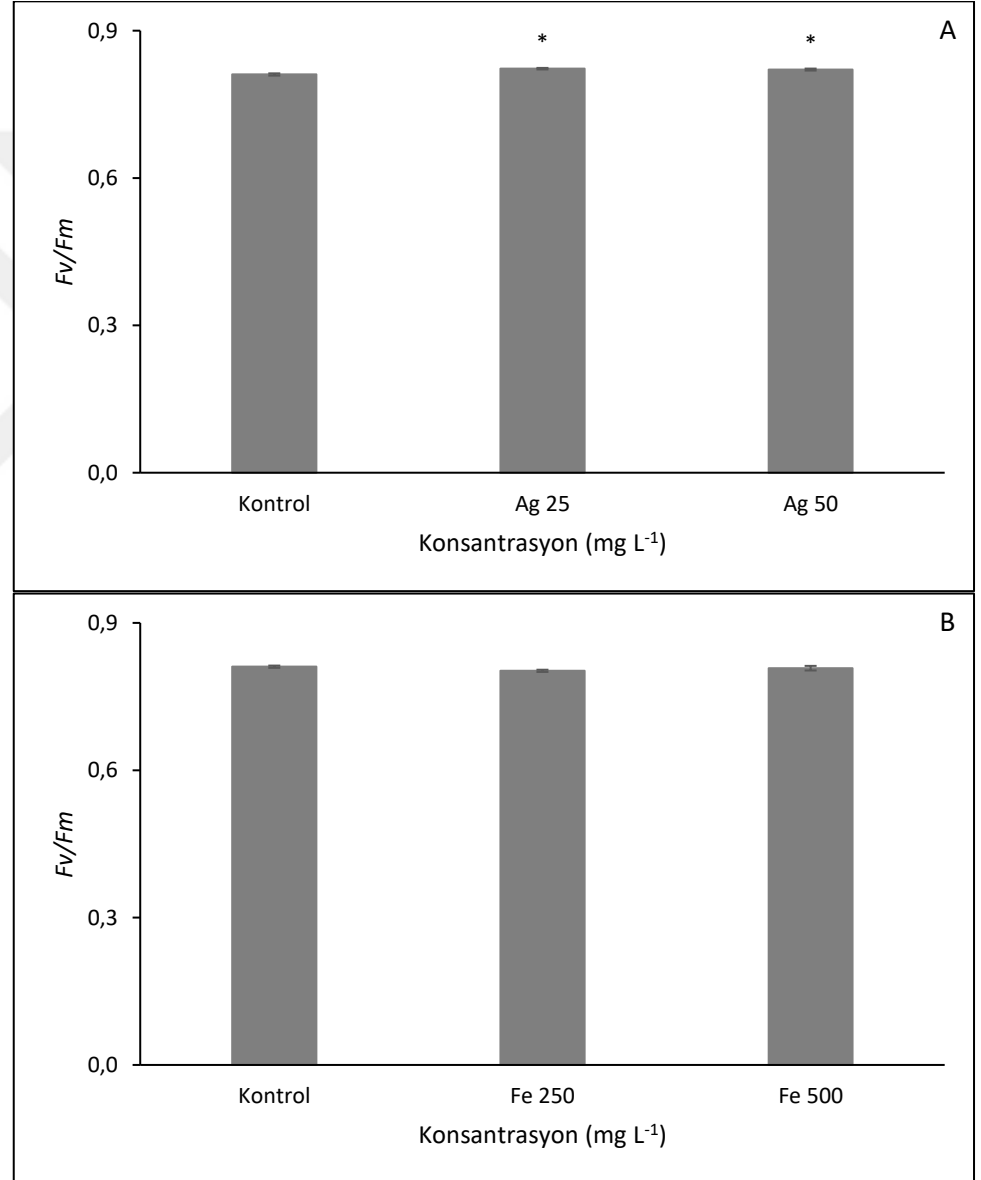
Çizelge 3.6. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin MDA içeriği (μmol g⁻¹ T.A) ve ± standart hata.

Gruplar	MDA içeriği (μmol g⁻¹ T.A) ± SH
Kontrol	17.36 ± 0.06
Ag 25 mg L ⁻¹	17.06 ± 0.22
Ag 50 mg L ⁻¹	17.06 ± 0.06
Fe 250 mg L ⁻¹	17.2 ± 0.16
Fe 500 mg L ⁻¹	17.02 ± 0.16*

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.3. Fotosentetik Verim Analizi

Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılmış domates fidelerinin FS (II) kuantum verim ölçümü fotosentetik verim analizörü (Hansatech, UK) kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen bulgular Şekil 3.18’te ve Çizelge 3.7’de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre için 25 ve 50 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamalarında *Fv/Fm* oranlarının %1 oranında arttığı belirlenmiştir. Fe nanopartikül uygulamalarında ise bütün konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.18. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin *Fv/Fm* değerleri.

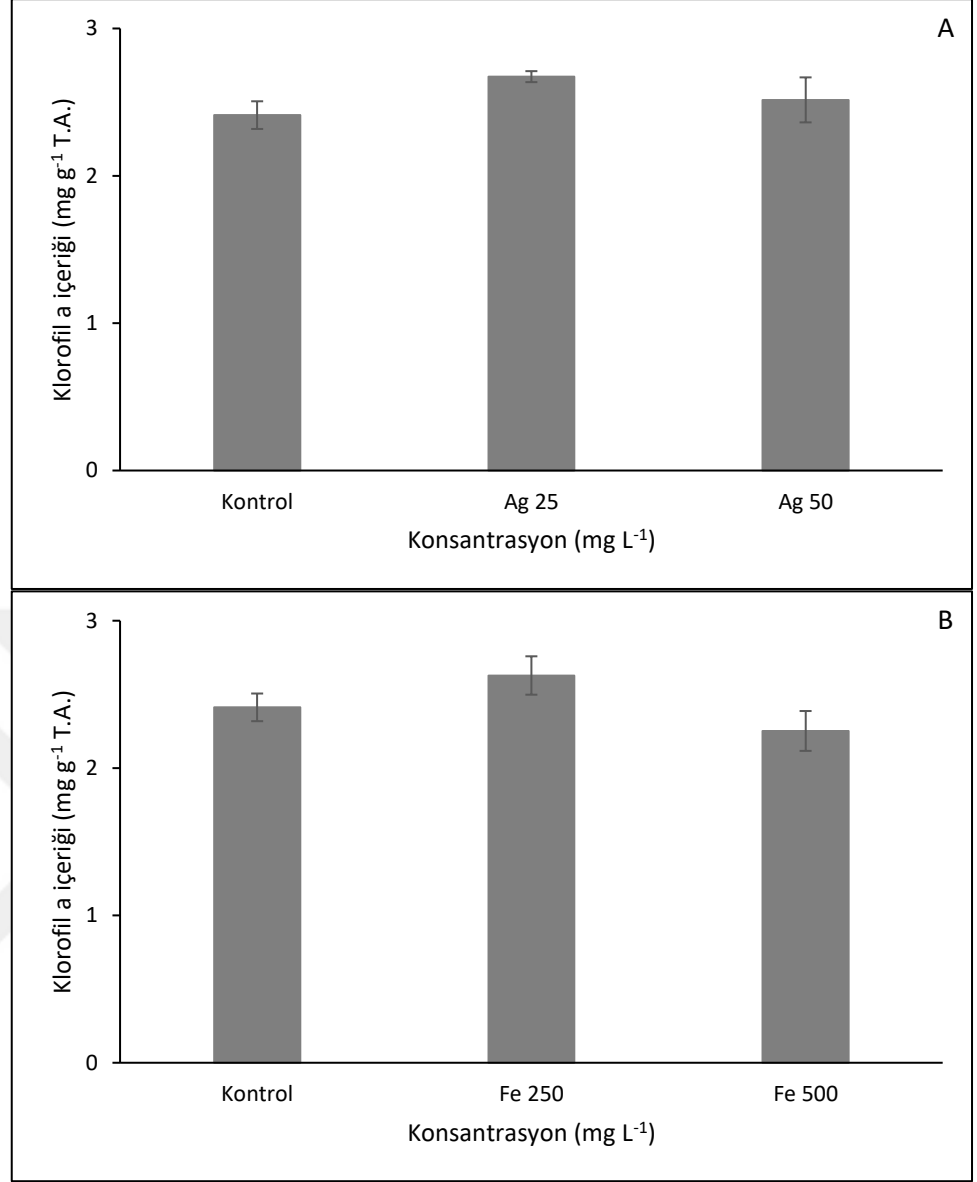
Çizelge 3.7. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin F_v/F_m değerleri ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	$F_v/F_m \pm SH$
Kontrol	0.81 ± 0.002
Ag 25 mg L ⁻¹	$0.82 \pm 0.002^*$
Ag 50 mg L ⁻¹	$0.82 \pm 0.002^*$
Fe 250 mg L ⁻¹	0.8 ± 0.002
Fe 500 mg L ⁻¹	0.81 ± 0.005

* $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.4. Fotosentetik Pigment İçeriğinin Belirlenmesi

Nanopartikül uygulaması yapılmış domates fide yapraklarının fotosentetik pigment içeriğinin belirlenmesi için klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid miktarları spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Klorofil a miktarının belirlenmesine ilişkin elde edilen bulgular Şekil 3.19'de ve Çizelge 3.8'de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre kontrol grubuna kıyasla hem Ag nanopartikül hem de Fe nanopartikül uygulamalarının bütün konsantrasyonlarında klorofil a içeriği bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p < 0.05$).



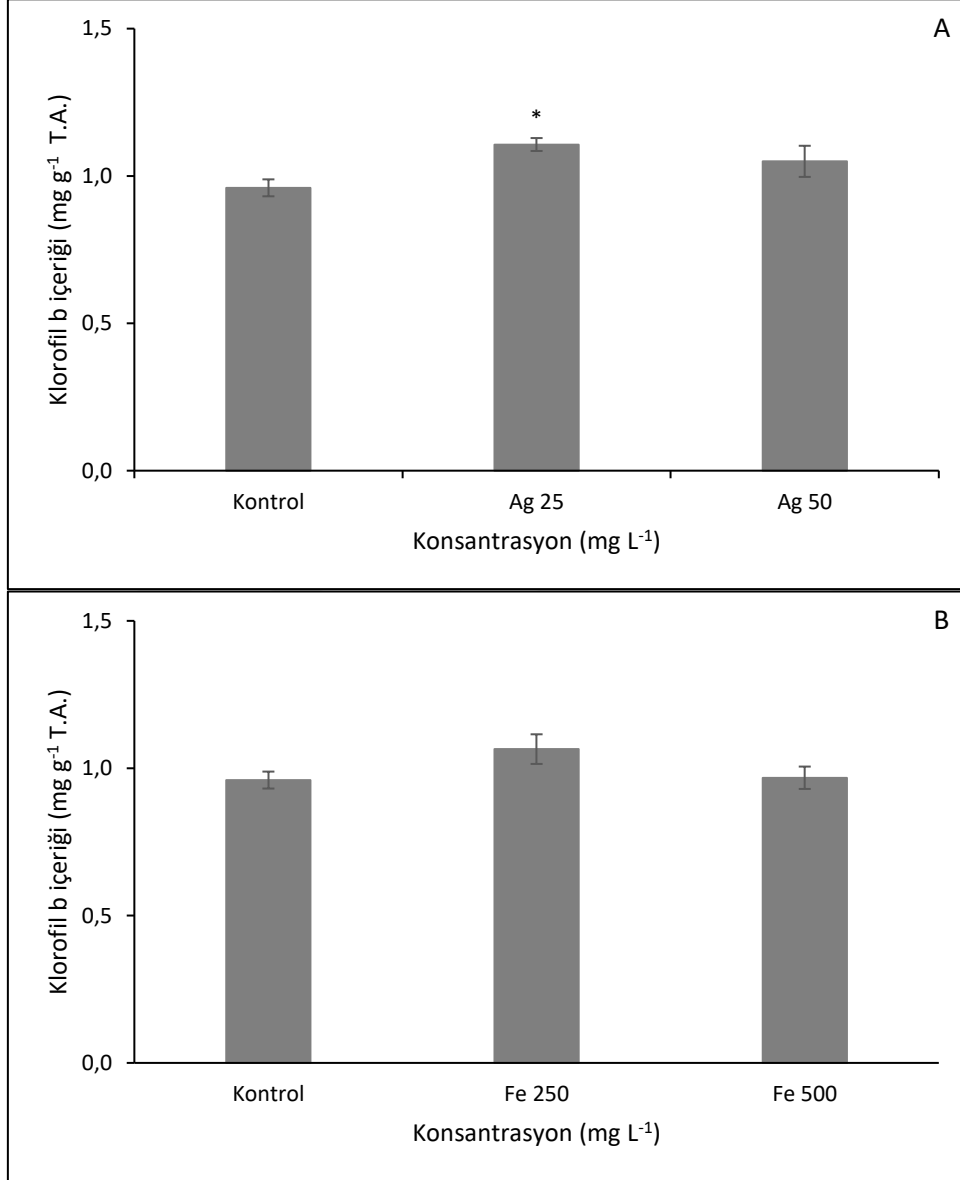
Şekil 3.19. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil a içeriği.

Çizelge 3.8. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil a içeriği (mg g⁻¹ T.A) ve ± standart hata.

Gruplar	Klorofil a içeriği (mg g ⁻¹ T.A) ± SH
Kontrol	2.41 ± 0.09
Ag 25 mg L ⁻¹	2.67 ± 0.04
Ag 50 mg L ⁻¹	2.52 ± 0.15
Fe 250 mg L ⁻¹	2.63 ± 0.13
Fe 500 mg L ⁻¹	2.25 ± 0.14

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Klorofil b miktarının belirlenmesine ilişkin elde edilen bulgular Şekil 3.20’de ve Çizelge 3.9’da gösterilmiştir. Bu bulgulara göre kontrol grubuna kıyasla 25 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamasında klorofil b içeriğinin %15 oranında arttığı belirlenmiştir. 50 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamasında ise klorofil b içeriği istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir. Fe nanopartikül uygulamalarının bütün dozlarında ise domates fidesi yapraklarında klorofil b içeriği için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p<0.05$).



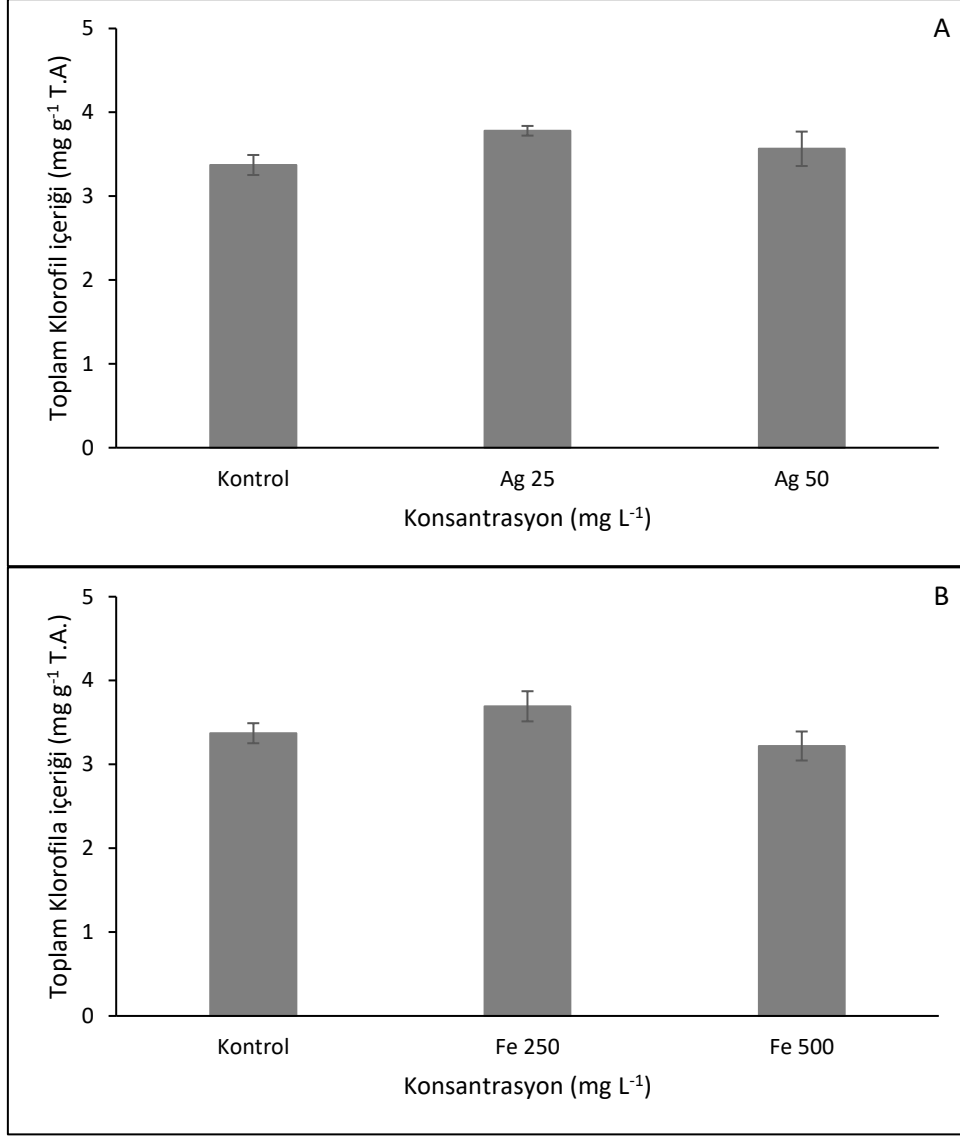
Şekil 3.20. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b içeriği.

Çizelge 3.9. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin klorofil b içeriği (mg g^{-1} T.A) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Klorofil b içeriği (mg g^{-1} T.A) $\pm$ SH
Kontrol	0.96 ± 0.03
Ag 25 mg L^{-1}	1.11 ± 0.02
Ag 50 mg L^{-1}	1.05 ± 0.05
Fe 250 mg L^{-1}	1.06 ± 0.05
Fe 500 mg L^{-1}	0.97 ± 0.04

* $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Toplam klorofil miktarının belirlenmesine ilişkin elde edilen bulgular Şekil 3.21’da ve Çizelge 3.10’da gösterilmiştir. Toplam klorofil içeriği bakımından Ag nanopartikül ve Fe nanopartikül uygulamalarının bütün konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p < 0.05$).



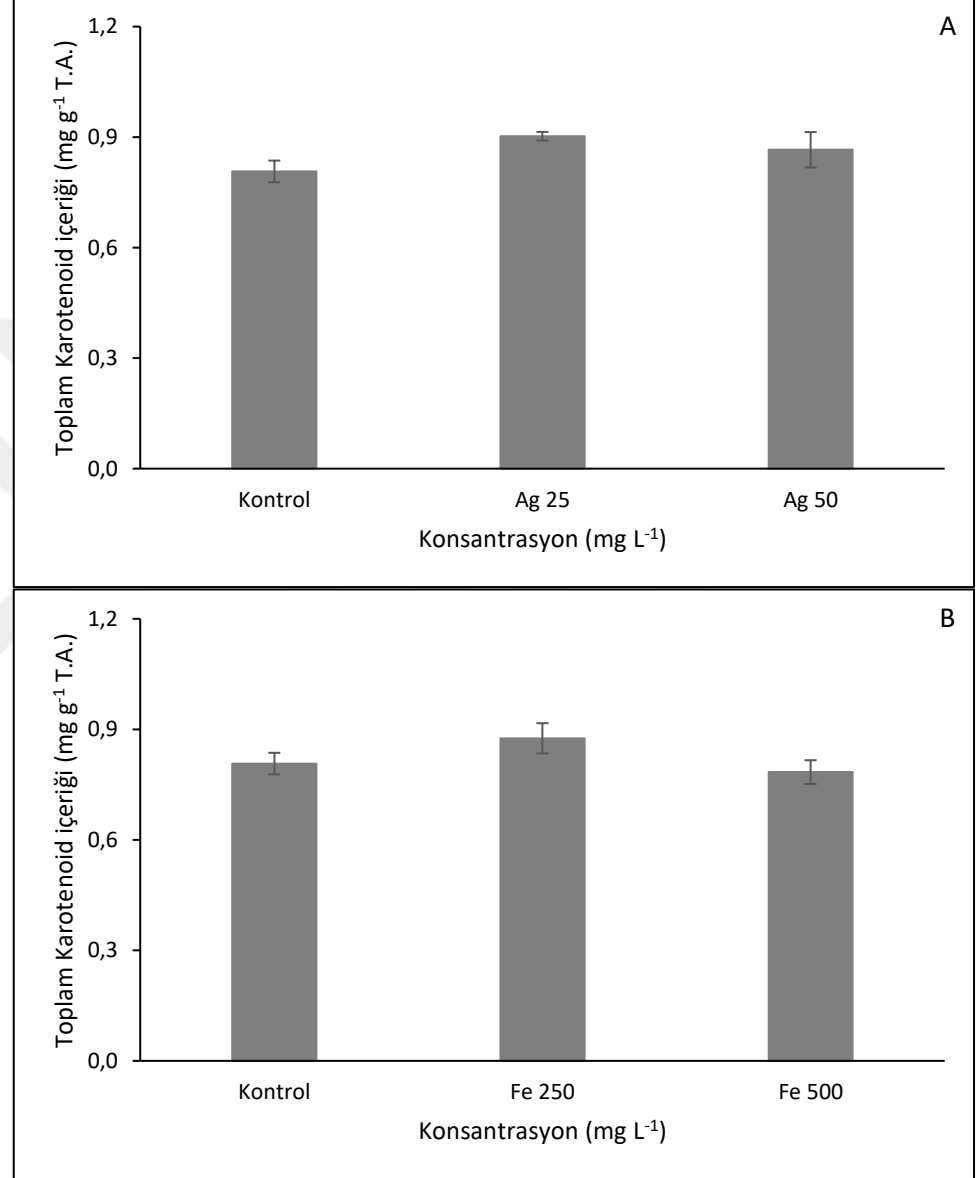
Şekil 3.21. Ag(A) ve Fe (B)nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam klorofil içeriği.

Çizelge 3.10. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam klorofil içeriği (mg g⁻¹ T.A) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Toplam klorofil içeriği (mg g ⁻¹ T.A) $\pm$ SH
Kontrol	3.37 $\pm$ 0.12
Ag 25 mg L ⁻¹	3.78 $\pm$ 0.06
Ag 50 mg L ⁻¹	3.57 $\pm$ 0.21
Fe 250 mg L ⁻¹	3.69 $\pm$ 0.18
Fe 500 mg L ⁻¹	3.22 $\pm$ 0.17

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

Toplam karotenoid miktarının belirlenmesine ilişkin elde edilen bulgular Şekil 3.22’de ve Çizelge 3.11’de gösterilmiştir. Bulgular, kontrol grubuna kıyasla hem Ag nanopartikül hem de Fe nanopartikül uygulamalarının bütün konsantrasyonlarında toplam karotenoid içeriği için istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.22. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam karotenoid içeriği.

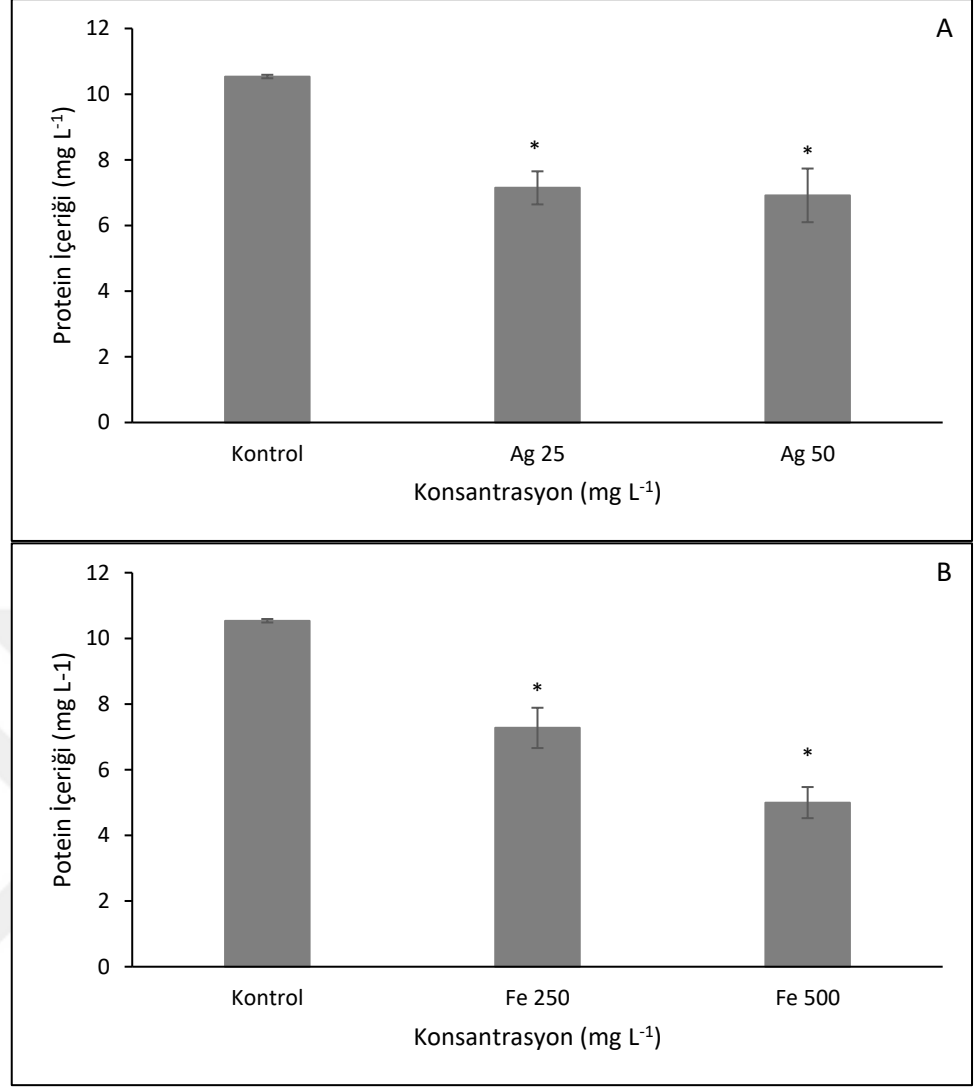
Çizelge 3.11. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam karotenoid içeriği (mg g^{-1} T.A) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Toplam karotenoid içeriği (mg g^{-1} T.A) $\pm$ SH
Kontrol	0.81 ± 0.03
Ag 25 mg L^{-1}	0.9 ± 0.01
Ag 50 mg L^{-1}	0.87 ± 0.05
Fe 250 mg L^{-1}	0.88 ± 0.04
Fe 500 mg L^{-1}	0.78 ± 0.03

* $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.5. Toplam Protein İçeriğinin Belirlenmesi

Nanopartikül uygulaması yapılan domates bitkilerinin toplam protein içeriği Bradford reaktifi kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Protein içerikleri Şekil 3.23 ve Çizelge 3.12’de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre domates yapraklarında protein içeriğinin Ag nanopartikül 25 mg L^{-1} uygulamasında %32 ve Ag nanopartikül 50 mg L^{-1} uygulamasında %34 azaldığı belirlenmiştir. Protein içeriklerinin Fe nanopartikül 250 mg L^{-1} uygulamasında %30 ve Fe nanopartikül 500 mg L^{-1} uygulamasında ise %50 oranında azaldığı belirlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 3.23. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam protein içeriği.

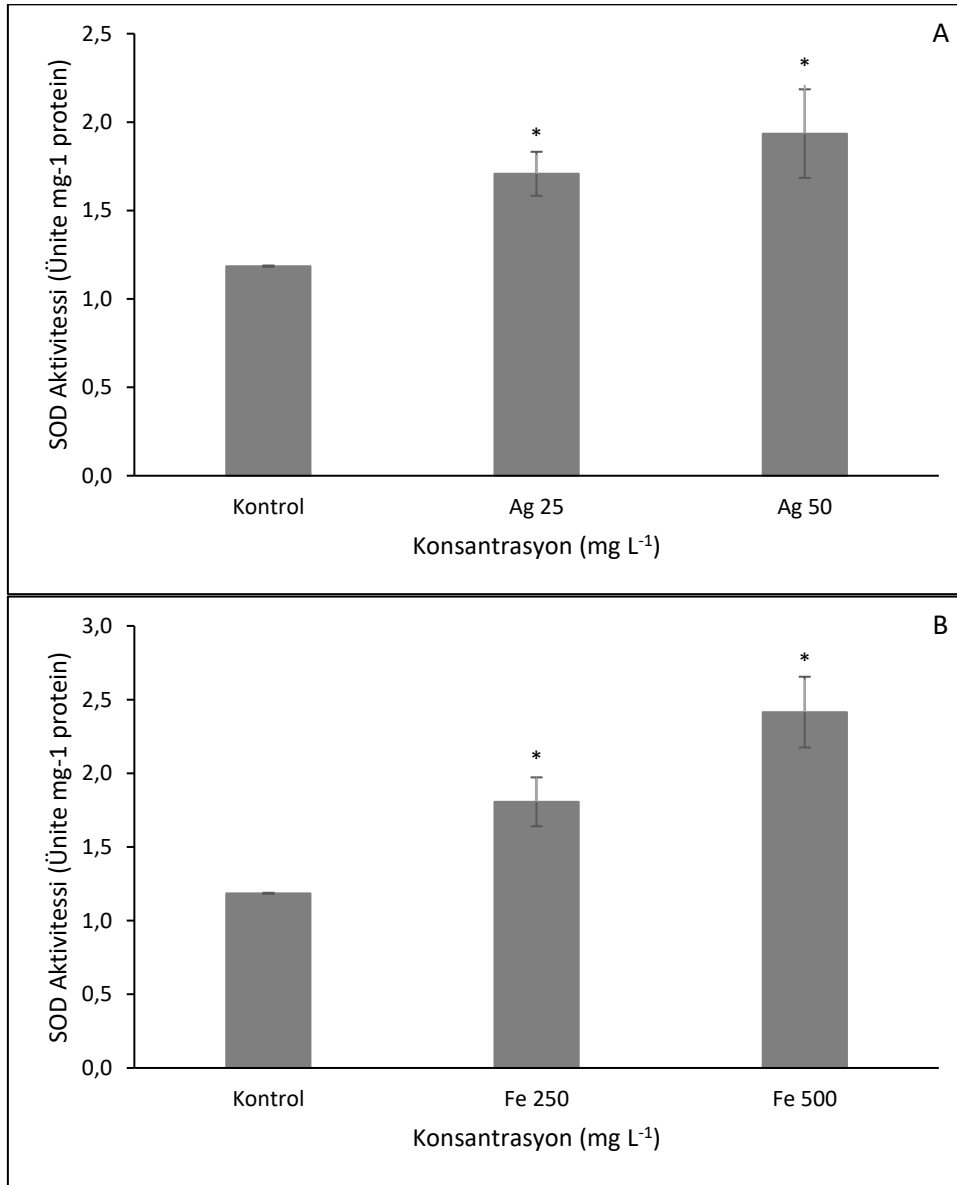
Çizelge 3.12. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin toplam protein içeriği (mg L⁻¹) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Toplam protein içeriği (mg L ⁻¹) $\pm$ SH
Kontrol	10.54 $\pm$ 0.05
Ag 25 mg L ⁻¹	7.15 $\pm$ 0.5 *
Ag 50 mg L ⁻¹	6.92 $\pm$ 0.82 *
Fe 250 mg L ⁻¹	7.27 $\pm$ 0.61 *
Fe 500 mg L ⁻¹	5.00 $\pm$ 0.47 *

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.6. Süperoksit Dismutaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Nanopartikül uygulaması yapılan domates bitkilerinin SOD aktivitesi NBT indirgenmesinin spektrofotometrik olarak ölçülmesine bağlı olarak belirlenmiştir. Uygulama yapılan bitkilerin SOD aktiviteleri Şekil 3.24 ve Çizelge 3.13’de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre domates yapraklarında SOD aktivitesinin Ag nanopartikül 25 mg L⁻¹ uygulamasında %44 ve Ag nanopartikül 50 mg L⁻¹ uygulamasında %63 oranında arttığı belirlenmiştir. SOD aktivitesinin Fe nanopartikül 250 mg L⁻¹ uygulamasında %52 ve Fe nanopartikül 500 mg L⁻¹ uygulamasında ise %103 oranında arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$).



Şekil 3.24. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin süperoksit dismutaz aktivitesi.

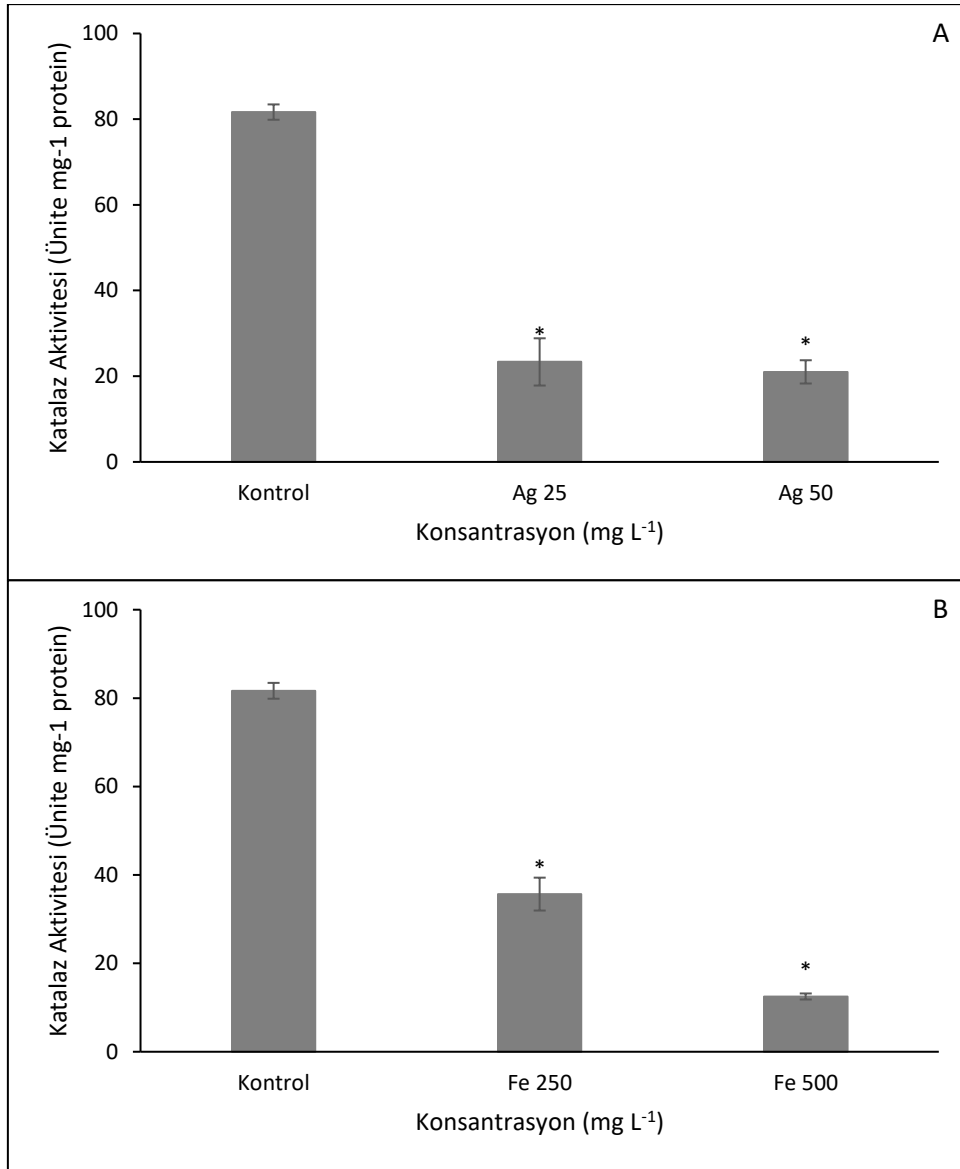
Çizelge 3.13. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin süperoksit dismutaz aktivitesi (ünite mg^{-1}) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	SOD aktivitesi (ünite mg^{-1}) $\pm$ SH
Kontrol	1,18 $\pm$ 0,003
Ag 25 mg L^{-1}	1,71 $\pm$ 0,12 *
Ag 50 mg L^{-1}	1,93 $\pm$ 0,25 *
Fe 250 mg L^{-1}	1,81 $\pm$ 0,17 *
Fe 500 mg L^{-1}	2,41 $\pm$ 0,24 *

* $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.7. Katalaz Aktivitesinin Belirlenmesi

Nanopartikül uygulaması yapılan domates bitkilerinin katalaz aktivitesi H_2O_2 'nin zamana bağlı yıkımının spektrofotometrik olarak ölçülmesi belirlenmiştir. Uygulama yapılan bitkilerin katalaz aktiviteleri Şekil 3.25 ve Çizelge 3.14'de gösterilmiştir. Elde edilen bulgulara göre domates yapraklarında katalaz aktivitesinin Ag nanopartikül 25 mg L^{-1} uygulamasında %71 ve Ag nanopartikül 50 mg L^{-1} uygulamasında %74 oranında azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca katalaz aktivitesinin Fe nanopartikül 250 mg L^{-1} uygulamasında %56 ve Fe nanopartikül 500 mg L^{-1} uygulamasında %84 oranında azaldığı belirlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 3.25. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi.

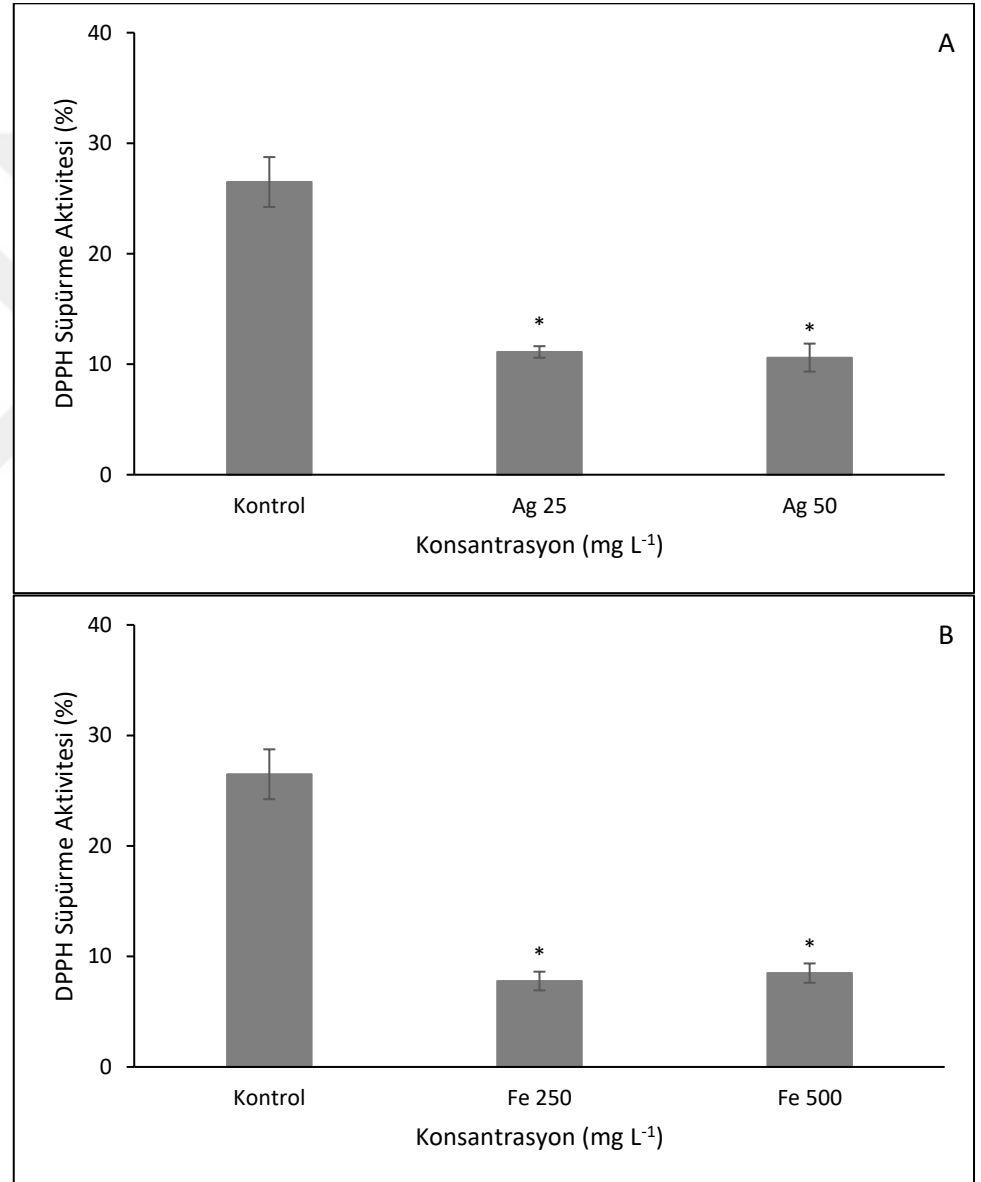
Çizelge 3.14. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi (ünite mg⁻¹) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	Katalaz aktivitesi (ünite mg ⁻¹) $\pm$ SH
Kontrol	81.65 $\pm$ 1.79
Ag 25 mg L-1	23.34 $\pm$ 5.51 *
Ag 50 mg L-1	21.02 $\pm$ 2.71 *
Fe 250 mg L-1	35.66 $\pm$ 3.72 *
Fe 500 mg L-1	12.50 $\pm$ 0.68 *

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.8. Toplam Antioksidant Aktivitenin Belirlenmesi

Toplam antioksidant aktivitenin belirlenmesi için % DPPH süpürme aktivitesi spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Şekil 3.26 ve Çizelge 3.15). Elde edilen bulgular % DPPH süpürme aktivitesinin kontrol bitkilerine kıyasla Ag nanopartikül 25 mg L⁻¹ uygulamasında %58 ve Ag nanopartikül 50 mg L⁻¹ uygulamasında %60 oranında azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca %DPPH süpürme aktivitesinin Fe nanopartikül 250 mg L⁻¹ uygulamasında %70 ve Fe nanopartikül 500 mg L⁻¹ uygulamasında %67 azaldığı belirlenmiştir($p<0.05$).



Şekil 3.26. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi.

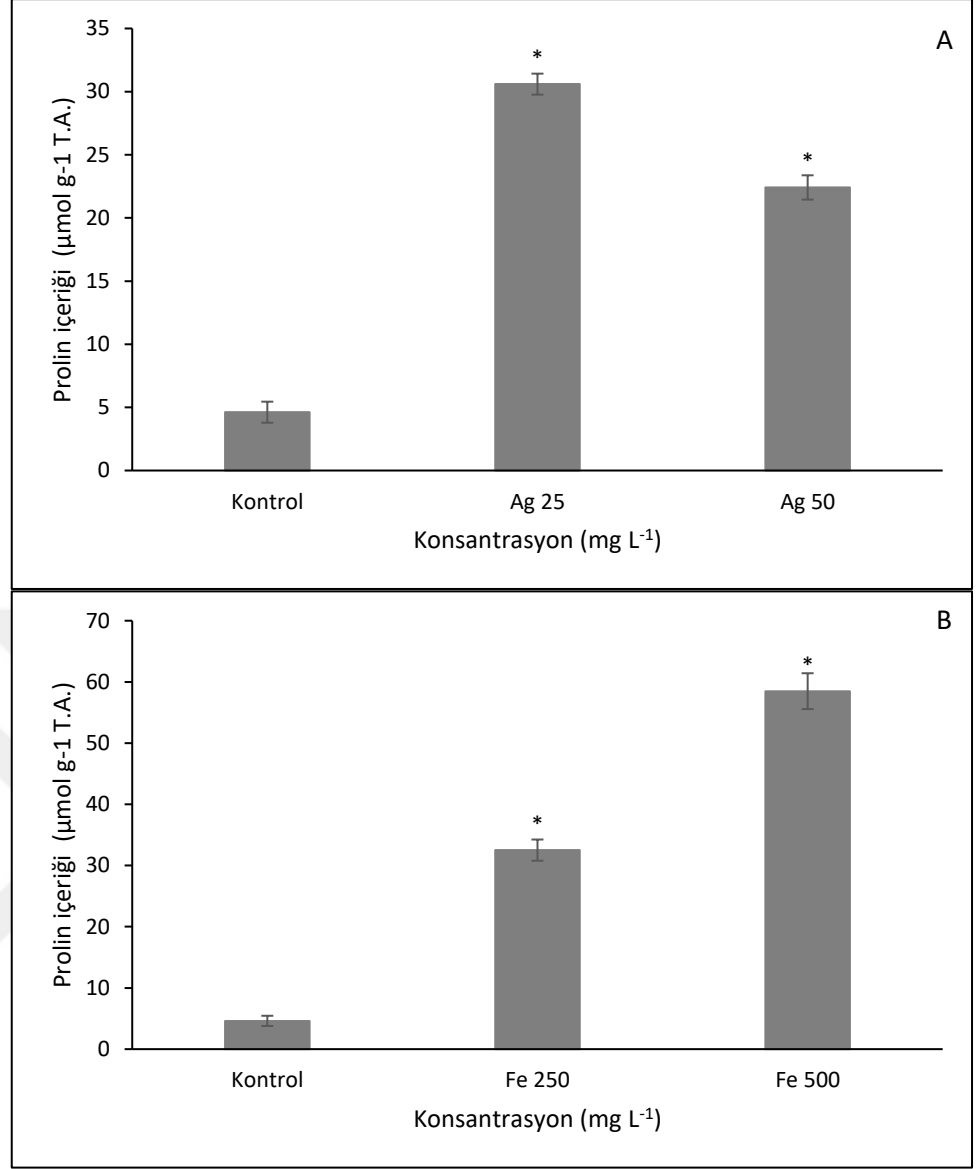
Çizelge 3.15. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin katalaz aktivitesi (%) ve $\pm$ standart hata.

Gruplar	DPPH süpürme aktivitesi (%) $\pm$ SH
Kontrol	26,49 $\pm$ 2,26
Ag 25 mg L ⁻¹	11,11 $\pm$ 0,52 *
Ag 50 mg L ⁻¹	10,6 $\pm$ 1,27 *
Fe 250 mg L ⁻¹	7,77 $\pm$ 0,85 *
Fe 500 mg L ⁻¹	8,49 $\pm$ 0,88 *

* $p < 0.05$ düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.3.9. Prolin İçeriğinin Belirlenmesi

Nanopartikül uygulaması yapılan bitki yapraklarının prolin içerikleri asidik ninhidrin reaksiyonuna bağlı olarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Prolin içeriğinin belirlenmesine ilişkin elde edilen bulgular Şekil 3.27’de ve Çizelge 3.16’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre prolin içeriklerinin kontrol grubuna kıyasla, 25 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamasında ~7 kat, 50 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamasında ~5 kat arttığı belirlenmiştir. Ayrıca prolin içeriğinin 250 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulamasında ~7 kat ve 500 mg L⁻¹ ve Fe nanopartikül uygulamasında ~12 kat arttığı belirlenmiştir ($p < 0.05$).



Şekil 3.27. Ag(A) ve Fe (B) nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin prolin içeriği.

Çizelge 3.16. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin prolin içeriği (µmol g⁻¹ T.A) ve ± standart hata.

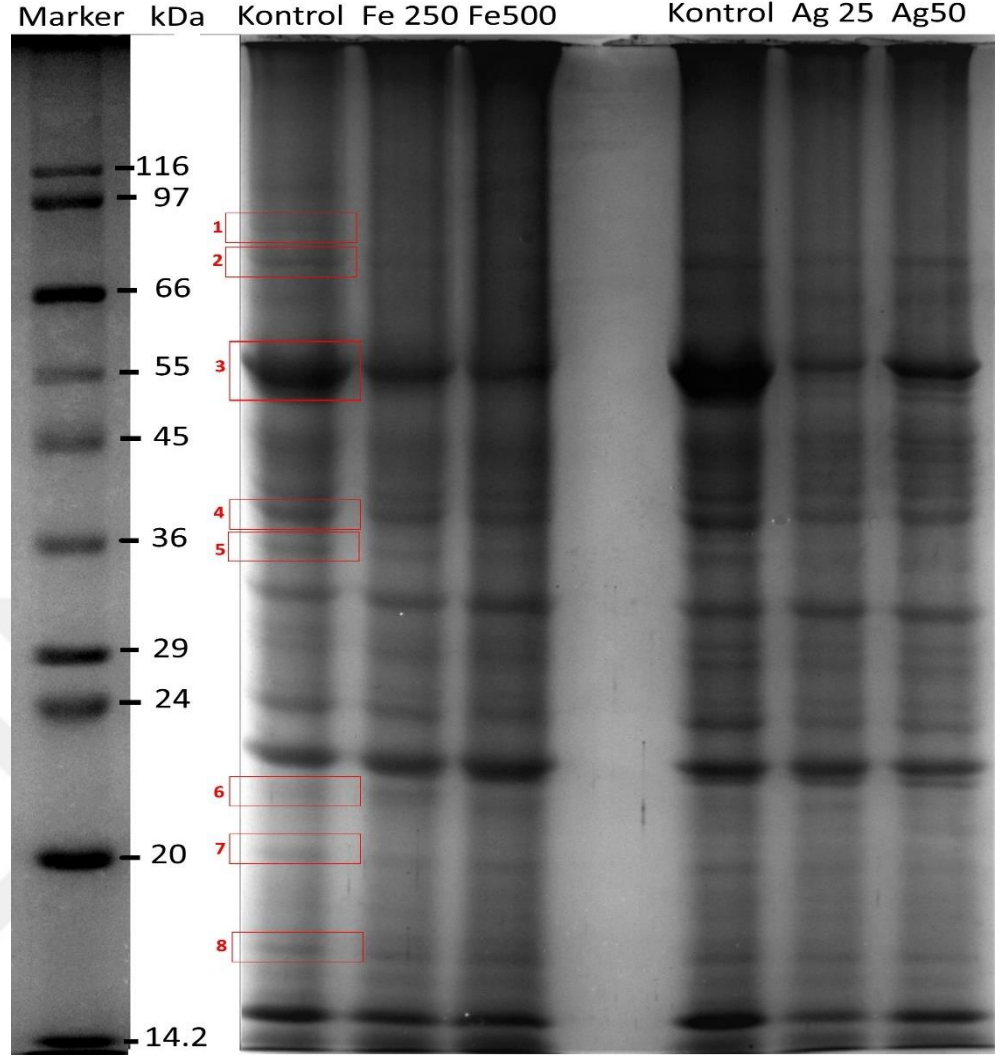
Gruplar	Prolin içeriği (µmol g ⁻¹ T.A) ± SH
Kontrol	4.62 ± 0.83
Ag nanopartikül 25	30.59 ± 0.83 *
Ag nanopartikül 50	22.41 ± 0.96 *
Fe nanopartikül 250	32.52 ± 1.73 *
Fe nanopartikül 500	58.49 ± 2.93 *

*p<0.05 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık

4.4. Proteomik Analizler

4.4.1. Protein Ayrımı ve SDS-PAGE

Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının domates bitki yapraklarının proteom profili üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla proteinlerin molekül ağırlıklarına göre ayrılmasını sağlayan bir elektroforez yöntemi olan SDS-PAGE kullanılmıştır. Belirlenen nanopartikül uygulamalarına sonrasında proteom profilinin üzerinde belirlenen değişiklikler Şekil 2.28 üzerinde gösterilmiştir. Proteom profili üzerinde değişiklik olan proteinlerin yaklaşık molekül ağırlıkları Çizelge 3.17’de gösterilmiştir. Belirlenen bantların molekül ağırlıkları Imagej programı kullanılarak belirlenmiştir. Elde edilen bulgularda Fe ve Ag nanopartikül uygulamalarında 8 protein bandında farklılaşma olduğu belirlenmiştir. Yaklaşık 75 kDa molekül ağırlığında olan 1 ve 68 kDa ağırlığında olan 2 numaralı bantların kontrol grubuna kıyasla Fe 250 mg L⁻¹ ve Fe 500 mg L⁻¹ nanopartikül uygulamalarında kaybolduğu belirlenmiştir. Benzer olarak 2 numaralı bandın her iki Ag nanopartikül uygulamasında da azaldığı belirlenmiştir. Yaklaşık 57 kDa molekül ağırlığında olan 3 numaralı protein bandının yoğunluğunun Fe 250 mg L⁻¹ ve Fe 500 mg L⁻¹ uygulamalarında kontrol grubuna kıyasla azaldığı belirlenmiştir. Aynı bandın kontrol grubuna kıyasla Ag 25 mg L⁻¹ ve Ag 50 mg L⁻¹ uygulamalarında azaldığı belirlenmiştir ancak Ag 50 mg L⁻¹ uygulamasında Ag 25 mg L⁻¹ uygulamasına kıyasla bant yoğunluğunda artış olduğu ve 2 yeni bant oluşturulduğu belirlenmiştir. Yaklaşık 43 kDa molekül ağırlığında olan 4 numaralı bandın yapılan bütün nanopartikül uygulamalarında kontrol grubuna kıyasla yoğunluğunun azaldığı belirlenmiştir. Yaklaşık 39 kDa molekül ağırlığında olan 5 numaralı bandın ise Fe 250 mg L⁻¹ ve Fe 500 mg L⁻¹ nanopartikül uygulamalarında kontrol grubuna kıyasla yoğunluğunun azaldığı, Ag 25 mg L⁻¹ ve Ag 50 mg L⁻¹ nanopartikül uygulamalarında ise tamamen kaybolduğu belirlenmiştir. Yaklaşık 22 kDa molekül ağırlığındaki 6 numaralı bandın ise kontrol grubuna kıyasla Fe 250 mg L⁻¹ ve Fe 500 mg L⁻¹ nanopartikül uygulamalarında yeni bant oluşturduğu belirlenmiştir. Aynı bant Ag mg L⁻¹ nanopartikül uygulamasında da yeni bant oluştururken Ag mg L⁻¹ nanopartikül uygulamasında kontrol grubuna kıyasla değişiklik göstermemiştir. Yaklaşık 17 kDa molekül ağırlığında olduğu belirlenen 7 numaralı bant ve Yaklaşık 15 kDa molekül ağırlığındaki 8 numaralı bant ise her iki Fe nanopartikül uygulamasında değişiklik göstermezken her iki Ag nanopartikül uygulamasında da bant yoğunluğu azalmıştır.



Şekil 3.28. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin proteom profilinin SDS-PAGE görüntüsü.

Çizelge 3.17. Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan proteom profilinde farklılık gösteren protein bantlarının rölatif molekül ağırlıkları.

Bant Numarası	Rölatif Molekül ağırlığı (kDa)
1	75
2	68
3	57
4	43
5	39
6	22
7	17
8	15

4.4.2. *In Silico* Sekans Analizi

UniProt kütüphanesinden alınan domates referans proteomu toplam 34 658 protein içermektedir. Belirlenen molekül ağırlıklarına göre bu proteinler filtrelenmiştir ve sonuç olarak 3373 protein belirlenmiştir. Ardından bu filtrelenen proteinlerin sekansları üzerinde MetalPDB web aracı kullanılarak demir ve gümüş metallerinin bağlanma bölgeleri araştırılmıştır. Elde edilen bulgulara 113 demir ve 1 gümüş bağlama bölgesine sahip olmak üzere toplam 114 protein belirlenmiştir.

4.4.3. Üç Boyutlu (3B) Protein Yapı Analizi

Belirlenen 114 metal bağlayan proteinin 3B yapısı Phyre2 aracı kullanılarak homoloji modelleme yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlarda 84 proteinin yapısı Güvenilirlik >%90, Sorgulama >%50 ve Tanılama >%30 kriterlerine göre doğrulanmıştır. Ardından bu proteinlerinin metal bağlama bölgeleri ve buraya bağlanan metal iyonlarının yerleşimi MIB aracı kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda 81 proteinin Fe^{+2} veya Fe^{+3} iyonlarından en az birine bağlanma bölgesine sahip olduğu belirlenmiştir. Gümüş bağlayan protein için ise MIB ve benzeri araçlar element yapısını desteklemediği için docking analizi yapılmamıştır ancak 3B yapısı ProSA aracı ile elde edilen verilen göz önünde bulundurularak doğru kabul edilmiştir. Elde edilen toplam 82 proteine ait bulgular Çizelge 3.18'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.18. Phyre2, ProSA ve MIB analizleri ile 3B yapısı doğrulanmış proteinler.

Protein	Phyre2			ProSA	MIB				
	Güvenilirlik	Sorgulama	Tanılama	Z-skoru	Fe+3		Fe+2		
					Kalıntı	Skor	Kalıntı	Skor	
Demir									
A0A3Q7IRJ9_SOLLC THAP4_heme-bd domain- containing protein	100	93	67	-3,9	14H 51H	0.798	45E 62Q 74H	1.350	

A0A3Q7GBM5_SOLLC TauD domain-containing protein	100	95	43	-8,07	279E 282E	1.767	118H 120E 305H	2.466
A0A3Q7HZK4_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	93	34	-6,55	178D 182E	1.890	85E 88H	1.484
A0A3Q7F9J2_SOLLC Uncharacterized protein	100	84	84	-4,63	223D 226E	1.073	70D 72H	1.417
A0A3Q7GTC9_SOLLC Uncharacterized protein	100	88	66	-8,88	123E 161E 164H 247E	2.933	61E 214E 247E 250H	2.502
A0A3Q7HDS5_SOLLC Peroxidase	100	92	46	-7,36	123C 326C	1.086	107D 111K	1.116
A0A3Q7FDF9_SOLLC Peroxidase	100	93	45	-8,56	36D 40Q	1.115	36D 40Q	1.108
A0A3Q7GXN6_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	96	36	-8,47	234H 236D 289H	2.391	234H 236D 289H	2.314
A0A3Q7FGJ0_SOLLC Uncharacterized protein	99,9	78	83	-2,03	37E 40Q	0.954	--	
A0A3Q7H3B4_SOLLC Xylose isomerase	100	89	57	-8,12	458E 461E	1.538	393D 397E	1.383
A0A3Q7GH31_SOLLC Urease	100	99	74	- 11,44	401H 403H 513H 627D	1.797	79D 97H	1.315
A0A3Q7JPU6_SOLLC Uncharacterized protein	96	52	42	-2,64	57C 60C	0.906	94D 98D	0.964
A0A3Q7GJR4_SOLLC Ferrochelatase	100	71	44	-5,75	10E 13E	1.815	222D 226E	1.782
A0A3Q7GZE2_SOLLC 2-(3-amino-3-carboxypropyl)histidine synthase subunit 1	100	78	31	-7,71	234C 368C	1.311	234C 368C	1.198
A0A3Q7E838_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	98	42	-5,91	63H 65D 120H	2.283	63H 65D 120H	2.384
A0A3Q7F3Y2_SOLLC Era-type G domain-containing protein	100	63	37	-8,8	292E 295E	1.368	256D 260E	1.495
A0A3Q7J2A3_SOLLC 1,2-dihydroxy-3-keto-5-methylthiopentene dioxygenase	100	93	58	-6,01	91H 93H 136H	1.198	91H 93H 136H	2.169
A0A3Q7E9S4_SOLLC Glutaredoxin domain-containing protein	100	82	35	-6,6	71D 73D 75N 80E	0.878	48C 51C	1.030
A0A3Q7F2L7_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	86	66	-6,32	128H 130D 186H	2.348	128H 130D 186H	2.524
TL29_SOLLC Thylakoid lumenal 29 kDa protein, chloroplastic	100	72	77	-9,1	307D 311D	1.069	307D 311D	1.068
A0A3Q7FJW5_SOLLC Uncharacterized protein	100	86	43	-3,6	48E 52H	1.697	77D 79E 80K	1.253

A0A3Q7GRZ6_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	80	37	-4,77	194H 196D 273H	2.513	194H 196D 273H	2.325
A0A3Q7FDH7_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	97	36	-8,02	212H 214D 270H	2.498	212H 214D 270H	2.647
A0A3Q7HDS0_SOLLC Uncharacterized protein	100	85	71	-5,04	156C 159C 183C 186C	1.644	156C 159C 183C	1.896
A4GVL9_SOLLC Gibberellin 2-oxidase	100	93	55	-9,22	207H 209D 264H	2.331	207H 209D 264H	2.369
A0A3Q7F7I3_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	94	79	-7,71	178H 180D 235H	2.300	178H 180D 235H	2.326
A0A3Q7HP70_SOLLC Lactamase_B domain- containing protein	100	76	79	-8,37	130H 132H	1.239	133D 134H 206D 244H	2.476
A0A3Q7IJG3_SOLLC Uncharacterized protein	100	92	30	-8,99	198E 201E	1.827	201E 205E	1.174
A0A3Q7F8L3_SOLLC NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1, mitochondrial	100	80	75	-8,62	363E 366E	1.680	475D 479E	1.091
A0A3Q7GQA6_SOLLC Cysteine desulfurase	100	86	78	-9,16	366D 370E	1.452	354D 358E	1.850
A0A3Q7JG91_SOLLC Uncharacterized protein	100	84	81	- 10,29	85D 89E	1.433	368E 371H	1.454
A0A3Q7ELN5_SOLLC Cytochrome b5 heme- binding domain-containing protein	100	59	51	-6,77	63D 67E	1.505	63D 67E	1.518
A0A3Q7F6Y6_SOLLC Uncharacterized protein	100	98	75	-0,77	79E 82H	1.284	79E 82H	1.274
A0A3Q7I7B1_SOLLC 2OG-FeII_Oxy domain- containing protein	100	94	33	-2,46	42D 44H	0.772	25S 34H	0.819
A0A3Q7H035_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	89	50	-7,71	226H 228D 283H	2.290	226H 228D 283H	2.402
A0A3Q7G512_SOLLC Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	100	80	59	-6,73	202C 203C 264C 265C	1.499	202C 203C 264C 265C	1.491
A0A3Q7I946_SOLLC Uncharacterized protein	100	85	50	-6,59	100H 144H 146E	1.766	100H 102H 144H 146E	3.214
A0A3Q7HD45_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	97	34	-7,84	225H 227D 282H	2.603	225H 227D 282H	2.628
K4CSC1_SOLLC Peroxidase	100	90	70	-6,04	30S 33C	0.902	103D 107K	0.918
A0A3Q7IPC8_SOLLC Uncharacterized protein	100	89	32	-9,84	263D 267E	1.449	263D 267E	1.712
A0A494G8T9_SOLLC Uncharacterized protein	100	83	71	-7,52	178D 182E	1.247	178D 182E	1.192

A0A3Q7I3W0_SOLLC IPPC domain-containing protein	100	85	41	-7,07	112D 116H	0.963	254D 256E 257N	1.391
A0A3Q7GCX2_SOLLC Uncharacterized protein	100	93	30	-8,47	84D 88E	1.526	248D 252E	1.789
A0A3Q7IH89_SOLLC Uncharacterized protein	100	91	86	- 10,79	401D 405E	1.508	401D 405E	1.470
A0A3Q7FVA1_SOLLC Peroxidase	100	70	44	-5,63	165E 168E	1.441	212D 216E	1.184
PSBE_SOLLC Cytochrome b559 subunit alpha	100	93	99	-0,23	75Q 78E	1.210	74E 78E	1.195
A0A3Q7I3D4_SOLLC Uncharacterized protein	100	86	42	-3,78	224D 252E	1.247	224D 252E	1.267
A0A3Q7HB75_SOLLC NADH-cytochrome b5 reductase	100	80	45	-9,29	120E 151E	1.155	120E 151E	1.448
A0A3Q7IIZ6_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	94	52	-4,38	52H 54D 109H	2.599	52H 54D 109H	2.465
A0A3Q7FBS1_SOLLC Peroxidase	100	90	57	-6,71	208C 240C	1.192	72H 74H 106A	0.806
CYC_SOLLC Cytochrome c	100	99	90	-5,43	98E 101D	0.902	69E 70N	1.445
A0A3Q7HV80_SOLLC Uncharacterized protein	100	91	30	-8,36	191D 195E	1.518	191D 195E	1.505
A0A3Q7H2G2_SOLLC Uncharacterized protein	99,9	88	32	-4,07	146H 182D	0.711	113D 115K	0.941
CATA1_SOLLC Catalase isozyme 1	100	96	50	-7,72	350D 354H	1.296	425E 426N	1.672
A0A3Q7I970_SOLLC Uncharacterized protein	100	93	39	-8,34	257E 260E	1.695	253D 257E	1.845
D0VNY3_SOLLC ISPH protein	100	75	32	-9,47	439D 443E	1.529	439D 443E	1.537
A0A494G8M4_SOLLC IPPC domain-containing protein	100	74	36	-4,63	322E 358E	1.019	212H 340D 363D 364H	1.053
A0A3Q7J9S1_SOLLC Dihydroxy-acid dehydratase	100	91	86	- 11,04	575D 579E	1.762	103E 110H	1.476
CITRX_SOLLC Thioredoxin-like protein CITRX, chloroplastic	99,9	59	39	-6,29	76E 79E	1.307	129E 131E	0.778
PSAA_SOLLC Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A1	100	98	84	-7,23	290D 294H	1.118	588D 589H	1.282
A0A3Q7IW80_SOLLC Uncharacterized protein	100	95	44	-6,31	104H 108E	1.414	156E 157N	1.530
K4C1V4_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain- containing protein	100	93	36	-8,94	223H 225D 282H	2.284	223H 225D 282H	2.602
ABAH2_SOLLC Absciscic acid 8'-hydroxylase CYP707A2	100	92	30	-9,87	256D 258E	1.398	124D 128K	1.185
A0A3Q7HA31_SOLLC Peroxidase	100	92	46	-7,42	63R 65H 67H 91E	0.890	107D 111K	1.070

A0A3Q7IN86_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	95	34	-7,82	219H 221D 276H	2.415	219H 221D 276H	2.332
A0A3Q7F1Q5_SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	100	88	46	-7,89	219H 221D 276H	2.180	219H 221D 276H	2.296
A0A3Q7ES76_SOLLC Peroxidase	100	86	41	-7,77	119D 122E	1.211	86H 99L 108H 112H 171N	1.183
A0FK57_SOLLC Gibberellin 2-oxidase 2	100	96	55	-8,98	194H 196D 251H	2.432	194H 196D 251H	2.499
A0A3Q7J5W2_SOLLC Uncharacterized protein	100	97	52	-6,24	55H 99H 101E	1.703	55H 99H 101E	2.231
A0A3Q7FYI0_SOLLC Uncharacterized protein	100	58	72	-1,17	56D 58H	0.727	7Q 8N	1.093
A0A3Q7ER05_SOLLC Peroxidase	100	90	48	-7,77	110D 114Q	1.104	173D 177Q	1.291
A0A3Q7I201_SOLLC Uncharacterized protein	100	98	64	-0,74	28E 31Q	1.186	25D 27E 28E	1.033
A0A3Q7JST6_SOLLC Acetohydroxy-acid reductoisomerase	100	86	88	- 10,85	558H 562E	1.888	309D 313E	1.376
A0A3Q7IWJ3_SOLLC Cytochrome c domain- containing protein	100	98	88	-5,1	99E 102D	0.891	70E 71N	1.455
A0A3Q7JR84_SOLLC Peroxidase	100	91	46	-7,23	35C 114C	0.742	64H 66H 77V	0.890
C85A3_SOLLC Cytochrome P450 85A3	100	92	33	-8,04	296H 442E	0.741	402D 403H	1.409
A0A3Q7JYD7_SOLLC Tryptophan--tRNA ligase	100	82	49	-8,43	338E 341E	1.402	210D 256E	1.198
K4CZT3_SOLLC 2OG- FeII_Oxy domain- containing protein	100	98	32	-4,3	55H 59E	1.215	118Q 120D 169H	1.576
A0A3Q7IFN4_SOLLC Lipoxygenase domain- containing protein	99,9	90	32	-2	51D 53I 54N 69H	1.020	51D 53I 54N 69H	1.020
D2KQI9_SOLLC Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit, mitochondrial	100	85	66	-6,83	192C 193C 253A 254C	1.122	192C 193C 253A 254C	1.118
AOS3_SOLLC Allene oxide synthase 3	100	95	49	-7,81	283D 287H	1.055	105E 132D 135H 440N	1.129
Gümüş								
A0A3Q7EAG0_SOLLC Peptidase A1 domain- containing protein	99,7	94	33	-1,51				

Yapısal olarak doğrulanan proteinlerin lokalizasyonları, katıldığı biyolojik prosesler, moleküler fonksiyonları ve yapısına katıldığı hücresel bileşenler Çizelge 3.19'da gösterilmiştir. Bu verilere göre belirlenen 82 proteinin lokalizasyonları 30 sitoplazmik, 13 mitokondriyal, 12 ekstraselüler, 11 plazma membranı, 8 kloroplast, 7 nükleer ve 1 peroksizomal olarak belirlenmiştir.

Proteinlerin katıldığı biyolojik proseslere bakıldığında ise 1 yağ asidi metabolik prosesi, 11 oksidatif strese yanıt, 8 hidrojenperoksit katabolik prosesi, 4 fotosentez, 3 fotosentez ışık reaksiyonları, 2 TCA döngüsü, 2 fosfatidilinositol fosforilasyonu, 2 inositol fosfat defosforilasyonu, 2 PS II'de elektron taşınımı, 2 yan zincir amino asit biyosentetik prosesi, 1 karbohidrat metabolik prosesi, 1 azot bileşikler metabolik prosesi, 1 üre katabolik prosesi, 1 heme biyosentetik prosesi, 1 peptidyl-histidin'den peptidyl-diphthamidin biyosentetik prosesi, 1 metiltioadenozinden l-metiyonin kurtarma, 1 oksidatif strese hücresel yanıt, 1 DNA tamiri, 1 s-laktoil-glutasyon yoluyla d-laktat metilglioksal katabolik prosesi, 1 sistein metabolik prosesi, 1 fotosentetik elektron taşıma zinciri, 1 dimetilallil difosfat biyosentetik prosesi, 1 izopentenil difosfat biyosentetik işlemi metileritritol 4-fosfat yolu, 1 hücre redoks homeostazisi, 1 protein translasyonu için tRNA aminoaçılamasyonu, 1 triptofanil-tRNA aminoaçılamasyonu ve 1 Proteoliz olmak üzere belirlenen proteinlerin 27 farklı biyolojik proste toplam 54 görev aldığı belirlenmiştir.

Yapılan bir diğr analizde ise proteinlerin görev aldığı moleküler fonksiyonlar değrlendirilmiştir. Elde edilen bulgular proteinlerin, 27 Heme bağlama, 11 demir iyon bağlama, 11 monooksijenaz aktivitesi, 11 moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi, 10 peroksidaz aktivitesi, 9 oksido redüktaz aktivitesi, 5 metal iyon bağlama, 4 elektron transfer aktivitesi, 3 katalitik aktivite, 3 demir-sülfür cluster bağlama, 2 oksidoredüktaz aktivitesi, moleküler oksijenin dahil edilmesiyle tek vericiler üzerinde hareket eder, iki oksijen atomunun dahil edilmesi, 2 2-demir, 2-sülfür cluster bağlama, 2 elektron taşıyıcı, fotosentez aktivitesinin döngüsel elektron taşıma yolu içinde elektronları transfer, 2 Inositol-polifosfat 5-fosfataz aktivitesi, 2 NAD bağlama, 2 fosfataz aktivitesi, 1 (2-(3-amino-3-karboksipropil)) histidin sentaz aktivitesi, 1 4- demir, 4-sülfür cluster bağlama, 1 4-hidroksi-3-metilbüt-2-en-1-il difosfat redüktaz aktivitesi, 1 asiredükton dioksijenaz [demir(II) gerektiren] aktivite, 1 açıl-[açıl-taşıyıcı-protein] desatüras aktivitesi, 1 aminoaçıl-tRNA ligaz aktivitesi, 1 aspartik-tip endopeptidaz aktivitesi, 1 ATP bağlama, 1 katalaz aktivitesi, 1 kromatin bağlama, 1 sistein desülfüras aktivitesi, 1

dihidroksi-asit dehidrataz aktivitesi, 1 ferroşelataz aktivitesi, 1 FMN bağlama, 1 GTP bağlama, 1 hidrolaz aktivitesi, 1 karbon-azot (peptit değil) bağları üzerinde etkili hidrolaz aktivitesi, 1 hidro-liyaz aktivitesi, 1 hidroksiaçilglutasyon hidrolaz aktivitesi, 1 ketol-asit redüktoizomeraz aktivitesi, 1 NADH dehidrogenaz (ubikinin) aktivitesi, 1 nikel katyon bağlama, 1 nükleotid bağlama, 1 NAD(P)H üzerinde oksidoredüktaz aktivitesi, 1 protein bağlama, 1 protein-disülfid redüktaz aktivitesi, 1 pridoksal fosfat bağlama, 1 kinon bağlama, 1 RNA bağlama, 1 triptofan-tRNA ligaz aktivitesi, 1 üreaz aktivitesi, 1 ksiloz izomeraz aktivitesi ve 1 glutasyon oksido redüktaz aktivitesi olmak üzere 49 farklı moleküler fonksiyonda toplam 139 göreve dahil olabildiği belirlenmiştir.

Son olarak belirlenen proteinler, 4 membranın ayrılmaz bileşeni, 3 tilakoid, 1 üreaz kompleksi, 1 PS II ve 1 PS II reaksiyon merkezi olmak üzere 5 farklı hücresel bileşen yapısına toplamda 10 kez katıldığı belirlenmiştir.

Çizelge 3.19. Yapısı doğrulanmış proteinlerin lokalizasyonu, katıldığı biyolojik prosesler, aldığı moleküler fonksiyonlar ve yapısına dahil olduğu hücresel bileşenler.

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
Demir					
A0A3Q7GTC9 SOLLC Uncharacterized protein	76,509	Kloroplast	Yağ asidi metabolik prosesi (GO:0006631)	Açıl-[açıl-taşıyıcı-protein] desatüraz aktivitesi (GO:0045300) Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7HDS5 SOLLC Peroxidase	76,342	Ekstraselüler	Oksidatif strese yanıt (GO:0006979) Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042744)	Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok
A0A3Q7F9J2 SOLLC Uncharacterized protein	76,159	Mitokondriyal	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7GBM5 SOLLC TauD domain-containing protein	75,984	Sitoplazmik	Yok	Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Fonksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7FDF9 SOLLC Peroxidase	68,348	Ekstraselüler	Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042744) Oksidatif strese yanıt (GO:0006979)	Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok
A0A3Q7HZK4 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	68,232	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7IRJ9 SOLLC THAP4 heme-bd domain-containing protein	68,149	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7GXN6 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	57,918	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7E9S4 SOLLC Glutaredoxin domain-containing protein	57,811	Ekstraselüler	Yok	Glutasyon Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0097573)	Yok
A0A3Q7FGJ0 SOLLC Uncharacterized protein	57,645	Kloroplast	PS II'de Fotosentetik elektron taşınımı (GO:0009772) Fotosentez , ışık reaksiyonları (GO:0019684)	Elektron taşıyıcı, fotosentez aktivitesinin döngüsel elektron taşıma yolu içinde elektronları transfer eder (GO:0045156)	Yok
A0A3Q7JPU6 SOLLC Uncharacterized protein OS=Solanum lycopersicum	57,325	Kloroplast	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7F3Y2 SOLLC Era-type G domain-containing protein	57,215	Sitoplazmik	Yok	RNA bağlama (GO:0003723) GTP bağlama (GO:0005525)	Yok
A0A3Q7H3B4 SOLLC Xylose isomerase	57,197	Sitoplazmik	Karbohidrat metabolik prosesi (GO:0005975)	Ksiloz izomeraz aktivitesi (GO:0009045)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7GH31 SOLLC Urease	57,111	Sitoplazmik	Azot bileşikleri metabolik prosesi (GO:0006 807) Üre katabolik prosesi (GO:0043 419)	Nikel katyon bağlama (GO:0016151) Üreaz aktivitesi (GO:0009039) Karbon-azot (peptit değil) bağları üzerinde etkili Hidrolaz aktivitesi (GO:0016810) Hidrolaz aktivitesi (GO:0016787)	Üreaz kompleksi (GO:0035 550)
A0A3Q7GJR4 SOLLC Ferrochelatase	57,047	Sitoplazmik	Heme biyosentet ik prosesi (GO:0006 783)	Ferroşelataz aktivitesi (GO:0004325)	Yok
A0A3Q7GZE2 SOLLC 2-(3- amino-3- carboxypropyl)hist idine synthase subunit 1	44,591	Plazma Membranı	Peptidyl- histidin'de n Peptidyl- diphthami din biyosentet ik prosesi (GO:0017 183)	2-(3-amino-3- karboksipropil)hi stidin sentaz aktivitesi (GO:0090560)	Yok
A0A3Q7J2A3 SOLLC 1,2- dihydroxy-3-keto- 5- methylthiopentene dioxygenase	44,566	Sitoplazmik	Metiltioad enozinden L- metiyonin kurtarma (GO:0019 509)	Asiredükton dioksijenaz [demir(II) gerektilen] aktivite (GO:0010309) Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7E838 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	44,479	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7HDS0 SOLLC Uncharacterized protein	44,375	Nükleer	Yok	Kromatin bağlama (GO:0003682)	Yok
A0A3Q7GRZ6 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	43,822	Sitoplazmik	DNA tamiri (GO:0006 281)	Yok	Yok
A0A3Q7FDH7 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	43,719	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7FJW5 SOLLC Uncharacterized protein	43,686	Sitoplazmik	Yok	Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Demir ion bağlama (GO:0005506) Heme bağlama (GO:0020037) Monooksigenaz aktivitesi (GO:0004497)	Yok
A0A3Q7F2L7 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	39,993	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7F8L3 SOLLC NADH dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein 1, mitochondrial	39,680	Mitokondriyal	Yok	4 demir, 4 sülfür cluster bağlama (GO:0051539) NAD bağlama (GO:0051287) FMN bağlama (GO:0010181) NADH dehidrogenaz (ubikinin) aktivitesi (GO:0008137)	Yok
A0A3Q7ELN5 SOLLC Cytochrome b5 heme-binding domain-containing protein	39,613	Ekstraselüler	Yok	Heme bağlama (GO:0020037)	Yok
A0A3Q7I946 SOLLC Uncharacterized protein	39,575	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7GQA6 SOLLC Cysteine desulfurase	39,501	Mitokondriyal	Sistein metabolik prosesi (GO:0006534)	Katalitik aktivite (GO:0003824) Sistein desülfüraz aktivitesi (GO:0031071) Pridoksal fosfat bağlama (GO:0030170)	Yok
A4GVL9 SOLLC Gibberellin 2-oxidase	39,329	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7F6Y6 SOLLC Uncharacterized protein	39,033	Plazma Membranı	PS II'de Fotosentetik elektron taşınımı (GO:0009772) Fotosentez , ışık reaksiyonları (GO:0019684)	Elektron taşıyıcı, fotosentez aktivitesinin döngüsel elektron taşıma yolu içinde elektronları transfer eder (GO:0045156)	Yok
Q9THX6 TL29 SOLLC Thylakoid lumenal 29 kDa protein, chloroplastic	33,939	Kloroplast	Oksidatif strese hücresel yanıt (GO:0034599) Oksidatif strese yanıt (GO:0006979)	Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok
A0A3Q7I7B1 SOLLC 2OG-FeII Oxy domain-containing protein	22,949	Ekstraselüler	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7F7I3 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	22,909	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7IJG3 SOLLC Uncharacterized protein	22,836	Mitokondriyal	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497) Demir ion bağlama (GO:0005506) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705)	Yok
A0A3Q7H035 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	22,832	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7JG91 SOLLC Uncharacterized protein	22,820	Plazma Membranı	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497) Demir ion bağlama (GO:0005506) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705)	Yok
A0A3Q7HP70 SOLLC Lactamase B domain- containing protein	22,787	Mitokondriyal	S-laktoil- glutasyon yoluyla D- laktata metilgliok sal katabolik prosesi (GO:0019 243)	Hidroksiaçilgluta tyon hidrolaz aktivitesi (GO:0004416)	Yok
A0A3Q7G512 SOLLC Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron- sulfur subunit, mitochondrial	22,725	Nükleer	TCA döngüsü (GO:0006 099)	2 demir, 2 sülfür cluster bağlama (GO:0051537) Demir-sülfür cluster bağlama (GO:0051536) Elektron transfer aktivitesi (GO:0009055) Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7FBS1 SOLLC Peroxidase	22,622	Nükleer	Oksidatif strese yanıt (GO:0006 979) Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042 744)	Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7I3D4 SOLLC Uncharacterized protein	22,551	Mitokondriyal	Yok	Protein bağlama (GO:0005515) Metal iyon bağlama (GO:0046872) Oksidoredüktaz aktivitesi, moleküler oksijenin dahil edilmesiyle tek vericiler üzerinde hareket eder, iki oksijen atomunun dahil edilmesi (GO:0016702) Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7IH89 SOLLC Uncharacterized protein	22,521	Sitoplazmik	Yok	Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491) Heme bağlama (GO:0020037) Demir-sülfür cluster bağlama (GO:0051536)	Yok
A0A3Q7GCX2 SOLLC Uncharacterized protein	22,489	Kloroplast	Yok	Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Heme bağlama (GO:0020037) Demir ion bağlama (GO:0005506)	Yok
P00060 CYC SOLLC Cytochrome c	22,455	Mitokondriyal	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Elektron transfer aktivitesi (GO:0009055)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7I3W0 SOLLC IPPc domain-containing protein	22,410	Nükleer	Fosfatidili inositol fosforilasy onu (GO:0046 856) İnositol fosfat defosforila syonu (GO:0046 855)	Fosfataz aktivitesi (GO:0016791) Inositol- polifosfat 5- fosfataz aktivitesi (GO:0004445) Katalitik aktivite (GO:0003824)	Yok
A0A3Q7IIZ6 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	22,401	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
Q2MI83 PSBE SOLLC Cytochrome b559 subunit alpha	22,227	Plazma Membranı	Fotosentez (GO:0015 979) Fotosentet ik elektron taşıma zinciri (GO:0009 767) Fotosentez , ışık reaksiyonl arı (GO:0019 684)	Heme bağlama (GO:0020037) Metal iyon bağlama (GO:0046872)	PS II (GO:0009 523) Membranın ayrılmaz bileşeni (GO:0016 021) PS II reaksiyon merkezi (GO:0009 539)
A0A494G8T9 SOLLC Uncharacterized protein	22,196	Mitokondriyal	Yok	NAD(P)H üzerinde Oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016651) Kinon bağlama (GO:0048038) NAD bağlama (GO:0051287)	Yok
A0A3Q7HD45 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	22,013	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7IPC8 SOLLC Uncharacterized protein	18,593	Plazma Membranı	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Demir ion bağlama (GO:0005506) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497)	Yok
A0A3Q7HB75 SOLLC NADH-cytochrome b5 reductase	18,542	Mitokondriyal	Yok	Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7FVA1 SOLLC Peroxidase	18,525	Nükleer	Oksidatif strese yanıt (GO:0006979)	Heme bağlama (GO:0020037) Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601)	Yok
A0A3Q7H2G2 SOLLC Uncharacterized protein	18,523	Plazma Membranı	Yok	Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497) Heme bağlama (GO:0020037) Demir ion bağlama (GO:0005506)	Yok
K4CSC1 SOLLC Peroxidase	18,402	Ekstraselüler	Oksidatif strese yanıt (GO:0006979) Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042744)	Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7HV80 SOLLC Uncharacterized protein	18,371	Sitoplazmik	Yok	Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Demir ion bağlama (GO:0005506) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok
Q2MIA0 PSAA SOLLC Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A1	18,329	Plazma Membranı	Fotosentez (GO:0015 979)	Metal iyon bağlama (GO:0046872)	Memranın ayrılmaz bileşeni (GO:0016 021) Tilakoid (GO:0009 579)
K4C1V4 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	18,311	Nükleer	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7ES76 SOLLC Peroxidase 1	18,079	Plazma Membranı	Oksidatif strese yanıt (GO:0006 979) Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042 744)	Heme bağlama (GO:0020037) Peroxidaz aktivitesi (GO:0004601)	Yok
A0A3Q7F1Q5 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	18,068	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
D0VNY3 SOLLC ISPH protein	17,979	Sitoplazmik	Dimetilalli l difosfat biyosentetik prosesi (GO:0050992) İzopenteni l difosfat biyosentetik işlemi, metileritrit ol 4-fosfat yolu (GO:0019288)	Metal iyon bağlama (GO:0046872) 4-hidroksi-3-metilbüt-2-en-1-il difosfat redüktaz aktivitesi (GO:0051745)	Yok
A0A3Q7IW80 SOLLC Uncharacterized protein	17,961	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A494G8M4 SOLLC IPPc domain-containing protein	17,960	Nükleer	Fosfatidili nositol fosforilasyonu (GO:0046856) İnositol fosfat defosforilasyonu (GO:0046855)	Fosfataz aktivitesi (GO:0016791) Inositol-polifosfat 5-fosfataz aktivitesi (GO:0004445)	Yok
A0A3Q7J9S1 SOLLC Dihydroxy-acid dehydratase	17,929	Mitokondriyal	Yan zincir amino asit biyosentetik prosesi (GO:0009082)	Hidro-liyaz aktivitesi (GO:0016836) Dihidroksi-asit dehidrataz aktivitesi (GO:0004160) Katalitik aktivite (GO:0003824)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
K4CI52 ABAH2 SOLLC Absciscic acid 8'- hydroxylase CYP707A2	17,898	Plazma Membranı	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Demir ion bağlama (GO:0005506) Monooksigenaz aktivitesi (GO:0004497)	Yok
P30264 CATA1 SOLLC Catalase isozyme 1	17,837	Peroksizomal	Oksidatif strese yanıt (GO:0006 979)	Heme bağlama (GO:0020037) Katalaz aktivitesi (GO:0004096)	Yok
A0FK57 SOLLC Gibberellin 2- oxidase 2	17,812	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7HA31 SOLLC Peroxidase OS=Solanium lycopersicum	17,737	Ekstraselüler	Oksidatif strese yanıt (GO:0006 979) Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042 744)	Heme bağlama (GO:0020037) Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601)	Yok
A0A3Q7I970 SOLLC Uncharacterized protein	17,567	Mitokondriyal	Yok	Demir ion bağlama (GO:0005506) Monooksigenaz aktivitesi (GO:0004497) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
Q9LKW0 CITRX SOLLC Thioredoxin-like protein CITRX, chloroplastic	17,553	Kloroplast	Hücre redoks homeostaz isi (GO:0045 454)	Protein-disülfid redüktaz aktivitesi (GO:0015035)	Yok
A0A3Q7IN86 SOLLC Fe2OG dioxygenase domain-containing protein	17,546	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7I201 SOLLC Uncharacterized protein	17,520	Plazma Membranı	Fotosentez (GO:0015 979)	Yok	Memranın ayrılmaz bileşeni (GO:0016 021) Tilakoid (GO:0009 579)
A0A3Q7ER05 SOLLC Peroxidase	15,919	Ekstraselüler	Oksidatif strese yanıt (GO:0006 979) Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042 744)	Heme bağlama (GO:0020037) Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601)	Yok
A0A3Q7JST6 SOLLC Acetohydroxy-acid reductoisomerase	15,913	Kloroplast	Yan zincir amino asit biyostente tik prosesi (GO:0009 082)	Ketol-asit redüktoizomeraz aktivitesi (GO:0004455) Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7J5W2 SOLLC Uncharacterized protein	15,838	Sitoplazmik	Yok	Yok	Yok
A0A3Q7JR84 SOLLC Peroxidase 1	15,755	Ekstraselüler	Hidrojen peroksit katabolik prosesi (GO:0042 744) Oksidatif strese yanıt (GO:0006 979)	Peroksidaz aktivitesi (GO:0004601) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
A0A3Q7FYI0 SOLLC Uncharacterized protein	15,512	Ekstraselüler	Fotosentez (GO:0015979)	Yok	Tilakoid (GO:0009579) Membranın ayrılmaz bileşeni (GO:0016021)
A0A3Q7IWJ3 SOLLC Cytochrome c domain-containing protein	15,463	Mitokondriyal	Yok	Elektron transfer aktivitesi (GO:0009055) Heme bağlama (GO:0020037)	Yok
Q50LE0 C85A3 SOLLC Cytochrome P450 85A3	15,342	Plazma Membranı	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Demir ion bağlama (GO:0005506) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497)	Yok
A0A3Q7JYD7 SOLLC Tryptophan--tRNA ligase	15,342	Kloroplast	Protein translasyonu için tRNA aminoasit asyonu (GO:0006418) Tryptofanil-tRNA aminoasit asyonu (GO:0006436)	ATP bağlama (GO:0005524) Aminoasit-tRNA ligaz aktivitesi (GO:0004812) Nükleotid bağlama (GO:0000166) Tryptofan-tRNA ligaz aktivitesi (GO:0004830)	Yok
K4CZT3 SOLLC 2OG-FeII Oxy domain-containing protein	15,338	Ekstraselüler	Yok	Yok	Yok

Protein	M.A (kDa)	Lokalizasyon	Biyolojik Proses	Moleküler Foksiyon	Hücresel Bileşen
Q8GZP5 AOS3 SOLLC Allene oxide synthase 3	15,240	Sitoplazmik	Yok	Heme bağlama (GO:0020037) Demir ion bağlama (GO:0005506) Monooksijenaz aktivitesi (GO:0004497) Moleküler oksijenin dahil edilmesi veya azaltılması ile eşleştirilmiş donörler üzerinde etkili olan oksidoredüktaz aktivitesi (GO:0016705)	Yok
D2KQI9 SOLLC Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron- sulfur subunit, mitochondrial	15,102	Mitokondriyal	TCA döngüsü (GO:0006 099)	2 demir, 2 sülfür cluster bağlama (GO:0051537) Demir-sülfür cluster bağlama (GO:0051536) Elektron transfer aktivitesi (GO:0009055) Oksido redüktaz aktivitesi (GO:0016491)	Yok
A0A3Q7IFN4 SOLLC Lipoxygenase domain-containing protein	15,054	Sitoplazmik	Yok	Metal iyon bağlama (GO:0046872) Oksidoredüktaz aktivitesi, moleküler oksijenin dahil edilmesiyle tek vericiler üzerinde hareket eder, iki oksijen atomunun dahil edilmesi (GO:0016702)	Yok
Gümüş					
A0A3Q7EAG0 SOLLC Peptidase A1 domain- containing protein	68,665	Ekstraselüler	Proteoliz (GO:0006 508)	Aspartik-tip endopeptidaz aktivitesi (GO:0004190)	Yok

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Metal bazlı nanopartiküller sağladığı düşük maliyet ve uygulama kolaylığı sayesinde tarımsal uygulamalarda yaygın olarak araştırılmaktadır. Son 20 yılda metal bazlı nanoteknolojik uygulamalar bitkilerin verim artışında nanogübre çalışmaları, patojen kontrolüne karşı nanopestisitler veya hastalık tespitinde nanosensör araştırmaları sayesinde tarımsal üretim konusunda önemli yer tutmaktadır. Bununla birlikte uygulanan metal bazlı nanopartiküllerin bitkiler üzerindeki morfolojik, fizyolojik, genetik ve proteomik etkilerinin belirlenmesi yeni formülasyonların geliştirilmesi için oldukça önemlidir.

Proteomik çalışmalar her ne kadar elektroforez ve tandem kütle spektrometrisi yöntemlerinin kombinasyonları sayesinde çok daha doğru sonuç verse de oldukça maliyetli araştırmalardır. Bu nedenle elektroforez araştırmalarıyla proteom üzerinde farklılaşma gösteren proteinlerin molekül ağırlıklarına bağlı olarak yeni biyoinformatik yaklaşımlardan faydalanılmasının bu tip araştırmalar için avantaj sağlaması öngörülmektedir. Farklı biyoinformatik araçlar sayesinde belirli bir skalada yer alan proteinlerin fizyolojik analiz sonuçları ile karşılaştırılması hedeflenen proteinlerin tespitinde kolaylık sağlayabilme potansiyelindedir.

Domates (*Solanum lycopersicum*) dünya üzerinde yaygın üretimi yapılan ve ekonomik değeri yüksek bir bitkidir. Bu nedenle günümüzde nanopartikül uygulamalarının domates bitkisinin fizyolojisi ve proteomu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ile domates bitkisinin gelişimsel süreçleri hakkında daha fazla bilgi elde edilmesi oldukça önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, yeşil olarak sentezlenmiş olan gümüş ve demir nanopartikül uygulamalarının domates bitki fideleri üzerindeki fizyolojik ve proteomik yanıtları araştırılmıştır. Araştırma üç basamaktan oluşmaktadır. Bunlardan ilki Ag ve Fe nanopartiküllerinin defne (*Laurus nobilis* L.) ekstresi kullanılarak sentezlenmesi ve karakterize edilmesidir. Bu basamakta sentezlenen nanopartiküllerin karakterizasyonu UV-VIS spektrofotometre, SEM, EDS, FTIR, Zeta boyut ve Zeta potansiyel analizleri ile yapılmıştır. İkinci basamakta kontrollü koşullar altında yetiştirilen domates (*Solanum lycopersicum*) bitkileri üzerine foliar spreyleme yöntemiyle Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılmıştır. Ardından bitki büyüme ve gelişiminin belirlenmesi için büyüme ve gelişme analizleri ve biyokimyasal/fizyolojik analizler yapılmıştır. Büyüme ve gelişme analizleri

kapsamında bitkilerin yaş ağırlık, kuru ağırlık, kök uzunluğu ve gövde uzunluk ölçümleri alınmıştır. Biyokimyasal/fizyolojik analizler kapsamında ise bitki yapraklarının hidrojen peroksit konsantrasyonları, lipid peroksidasyonu seviyeleri, fotosentetik verimi, fotosentetik pigment içeriği, toplam protein içeriği, antioksidant enzim aktiviteleri (SOD ve CAT), toplam antioksidant aktiviteleri ve prolin içerikleri belirlenmiştir. Son basamakta ise domates bitkisinin proteomik analizleri yapılmıştır. Proteomik analizler için sırasıyla, protein ekstraksiyonu, SDS-PAGE analizi ile proteom profili belirlenmesi, jel görüntüleri analizi ile farklılaşma olan protein bantlarının belirlenmesi, *in silico* sekans analizi ve üç boyutlu yapı analizi adımları izlenmiştir.

Gümüş nanopartikülleri antibakteriyel özellikleri sayesinde günümüzde tıptan tarıma kadar birçok uygulama alanına sahiptir. Son yıllarda yeşil sentez yöntemi ile sentezlenen Ag nanopartiküller ile daha düşük toksiste ve daha yüksek verim elde edilmesine yönelik araştırmalar her geçen gün artmaktadır (Zhang et al., 2016). Demir nanopartikülleri ise düşük toksisite, yüksek yüzey alanı ve termal stabilite gibi avantajları sayesinde birçok farklı alanda yapılan araştırmalarda sıkça kullanılan nanopartiküllerdir. Benzer olarak demir nanopartiküllerinin yeşil sentez yöntemi ile üretilmeleri, üretim maliyetlerinin azalmasına ve farklı aktif biyolojik bileşenler ile kaplanmaları sayesinde farklı özellikler kazanabilmesine olanak sağlamaktadır (Fahmy et al., 2018).

Ag nanopartikülünün karakterizasyonunda UV-VIS spektrofotometre analizi 435 nm dalga boyunda Ag nanopartikülün spesifik yüzey plazmon rezonansına (SPR) bağlı formasyonu araştırılmıştır. Yüzey plazmon rezonansının partikül boyutu, yapısı ve morfolojisinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Aromal and Philip, 2012). Literatürde Ag nanopartikülün 400-450 nm dalga boyları arasında spesifik SPR gösterdiği maksimum pike ise 435 nm dalga boyunda ulaştığı belirtilmiştir (Ayisigi et al., 2020; Kucukcobanoglu et al., 2022). Elde edilen bulgulara göre 435 nm dalga boyunda pik gözlemlenmiş ve sonuçlar literatür verilerini doğrulamıştır. Ayrıca, sonuçlara paralel olarak literatürde *Capsicum frutescence* (Shankar et al., 2017), *Chrysanthemum indicum* (Arokiyaraj et al., 2014), *Cassia auriculata* (Muthu and Priya, 2017) gibi farklı bitkilerin ekstreleri kullanılarak yapılan gümüş sentezlerinde de 435 nm dalga boyunda pik gözlemlenmiştir.

Fe nanopartikülü formasyonu için yapılan UV-VIS spektrofotometre analizinde ise 200-280 nm dalga boyları arasında SPR bantları araştırılmıştır. Elde

edilen bulgular literatür bilgilerine paralel olarak 200-280 nm dalga boyları arasında SPR bantlarına bağlı olarak Fe nanopartikül formasyonu doğrulanmıştır. Roy et al. (2022) yaptığı çalışmada *Catharanthus roseus* ekstresi kullanarak Fe nanopartikül sentezlemiştir ve çalışma sonuçlarımıza paralel olarak 200-280 nm dalga boyu aralığında Fe nanopartikül formasyonunu olduğunu belirtmiştir.

Ag ve Fe nanopartiküllerinin boyut ve şekillerinin belirlenmesi için SEM analizi yapılmıştır. Elde edilen verilere göre Ag nanopartiküllerinin küresel yapıda ve ~33 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Fe nanopartiküllerinin ise yine küresel yapıda ve ~34 nm boyutunda olduğu belirlenmiştir. Nanoboyuttaki yapılar için karakterizasyon tekniklerinden olan SEM analizi, nanoboyutta görüntüleme yapılmasını mümkün kıldığı ve metal bazlı nanopartiküller gibi kaplama yapılması gerekmeyen materyallerde kolaylıkla uygulanabildiği için en çok tercih edilen görüntüleme tekniğidir (Simonet and Valcárcel, 2009).

EDS analizi kullanılarak Ag ve Fe nanopartiküllerin elemental kompozisyonları belirlenmiştir. Bulgular Ag nanopartikülünün yapısının kütleli yüzdesinin %92.9 oranında Ag, %7.1 oranında ise O içerdiğini göstermiştir. Fe nanopartikülünün elemental kompozisyonunun ise kütleli olarak %27.9 Fe, %47.1 O ve %25 C içerdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar Ag ve Fe nanopartiküllerinin varlığını doğrulamıştır.

Yapısal kompozisyon analizi için FTIR spektrometri analizi kullanılmıştır. Elde edilen bulgulara göre Ag nanopartikülün FTIR spektrumunda 2951 cm^{-1} , 2916 cm^{-1} , 2838 cm^{-1} , 2166 cm^{-1} , 1653 cm^{-1} , 1455 cm^{-1} , 1376 cm^{-1} , 1166 cm^{-1} , 972 cm^{-1} , ve 667 cm^{-1} ve 604 cm^{-1} bantlarında pikler belirlenmiştir. $2,916\text{ cm}^{-1}$ bandı alifatik $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ gruplarının varlığını göstermektedir. Bu pik modeli, ikincil amidlerin absorpsiyon bantları ile ilişkilendirilmiştir ve $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ bağı üçüncül amidlerin varlığını göstermektedir (Padman et al., 2014). 2951 cm^{-1} ve 2838 cm^{-1} bantları C-H titreşimlerini ve asimetric metoksi gruplarının varlığını göstermektedir (Kumar et al., 2012). 1451 cm^{-1} bandındaki titreşimler proteinlerin metil gruplarındaki asimetric CH_3 bağlarını göstermektedir (Dovbeshko et al., 2000). 1376 cm^{-1} bandının ise $-\text{C}-\text{O}$ ve $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ titreşimlerini gösterdiği belirtilmiştir (Dinesh et al., 2012). Son olarak 607 cm^{-1} bandının ise alkinlerin C-H titreşimlerini göstermektedir (Vidhu and Philip, 2014).

Fe nanopartiküllerininine bakıldığında ise 2325 cm^{-1} , 1607 cm^{-1} , 1285 cm^{-1} ve 1035 cm^{-1} bantlarında pikler olduğu gözlemlenmiştir. 2325 cm^{-1} bandının yüklü

aminlerin de bulunan C-NH⁺ bağlarının titreşiminden kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Sirdeshpande et al., 2018). 1607 cm⁻¹ bandının karbonil gruplarının C=O bağ titreşiminden oluştuğu bildirilmiştir (Bhushan et al., 2020). 1285 cm⁻¹ bandı C-O bağ titreşimlerinin varlığını göstermektedir (Zhang et al., 2006). 1035 cm⁻¹ bandının ise Fe-O titreşimlerine bağlı olarak oluştuğu bildirilmiştir (Chen et al., 2011). FTIR spektrumunun yorumlanması örneklerin kimyasal bileşikler ile titreşim bantlarının korelasyonuna dayanmaktadır. Bu yöntem kullanılarak nanopartiküllerin yeşil sentezinin indirgeme ve stabilizasyon işlemlerinde görev alan bitki ekstraktlarının yapısındaki biyomoleküller hakkında bilgi sahibi olunması sağlanmaktadır (Senthilkumar and Sivakumar, 2014). Elde edilen bulgular *Laurus nobilis* bitki ekstreşi ile yeşil olarak sentezlenen Ag ve Fe nanopartiküllerinin fitoçerik ile kaplandığını doğrulamıştır.

Zeta potansiyel ölçümleri ile sentezlenen nanopartiküllerin elektriksel yükü belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, Ag nanopartiküllerin zeta potansiyelinin -27.9 mV ve Fe nanopartiküllerin zeta potansiyelinin -10.9 mV olduğunu göstermiştir. Zeta potansiyel ölçümlerinde alınan yüksek negatif değerler, parçacıklar arasındaki itmenin yüksek olduğunu gösterir ve buna bağlı olarak yapının yüksek stabilizeye sahip olduğunu doğrular (Rao et al., 2013). Zeta boyut ölçümleri ise gümüş nanopartiküllerinin 12 ila 244 nm boyutları arasında ortalama 186,5 nm boyutunda olduğunu, Fe nanopartiküllerinin ise 100 ila 836 nm arasında değişen ortalama 772,4 nm boyutunda olduğunu göstermiştir. Sentezlenen nanopartiküllerin polidispersite indeksleri (PDI) ise Ag için 0.58 ve Fe için 0.6 olarak belirlenmiştir.

Yapılan Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarına bağlı olarak bitki biyokütlesinin değişimini belirlemek için bitkilerin yaş ve kuru ağırlıkları ölçülmüştür. Bitki hücrelerinin biyosentez ürünleri ve su miktarlarındaki değişimin belirlenebilmesi için biyokütle ölçümleri önem taşımaktadır. Elde edilen bulgulara göre kontrol bitkilerine kıyasla Fe nanopartikülünün 250 mg L⁻¹ konsantrasyonunda yapılan uygulamasının bitkide biyosentez ürünlerinin üretimi ve su alımının artışı üzerinde olumlu etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, 500 mg L⁻¹ konsantrasyonunda Fe nanopartikül uygulamasında bitki biyokütlesinde değişiklik göstermemesi uygulanan doz seviyesine kadar Fe nanopartiküllerin bitki fideleri üzerinde fitotoksik etkiye neden olmadığını göstermiştir. Ag nanopartikül uygulamalarında da benzer şekilde 50 mg L⁻¹ konsantrasyonda bitki biyosentez ürünlerini ve su alımını arttırdığı belirlenirken 25 mg L⁻¹ konsantrasyonda biyokütle üzerinde bir farklılık gözlemlenmemiştir. Artan konsantrasyonlarda Ag

nanopartikül uygulamasının bitki üzerinde fitotoksik etkiye neden olmadığı belirlenmiştir. Bitki biyokütlesinin değişimi yapılan uygulamalarının toksisite etkilerinin belirlenmesi için oldukça önemli bir parametredir (Rizwan et al., 2019). Yapılan araştırmaya paralel olarak 500 mg L⁻¹ konsantrasyonundan düşük demir nanopartikül uygulamalarının bitki biyokütlesinin artmasını sağladığını bildirilmiştir (Yoon et al., 2019). Bitki üzerinde uygulama yapılan hem Ag hem de Fe nanopartiküllerin yeşil sentez yöntemi ile üretilmiş olması nanopartiküllerin toksik etkilerinin azalmasına ve uygulama dozlarında fitotoksik etki göstermemesine katkı sağladığını doğrulamıştır.

Bitki büyüme ve gelişiminin değerlendirilmesi için Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitkilerin kök ve gövde uzunlukları ölçülmüştür. Kök ve gövde uzunlukları aynı zamanda yapılan uygulamaların fitotoksik etkilerini değerlendirmek için de kullanılan temel parametrelerden biridir (Ruttkey-Nedecky et al., 2017). Sonuçlar, 25 mg L⁻¹ Ag nanopartikül ve 250 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulamalarının bitkilerin kök uzunluğunu kontrol bitkilerine kıyasla arttırdığını, bununla birlikte diğer uygulamaların ise kök uzunları üzerinde farklılığa neden olmadığını göstermiştir. Gövde uzunluklarına bakıldığında ise kontrol bitkilerine kıyasla 50 mg L⁻¹ Ag ve 250 mg L⁻¹ Fe nanopartikül uygulamalarının gövde uzunluğunda artışa neden olduğu, ayrıca diğer nanopartikül uygulamalarının gövde uzunlukları üzerinde farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir. Sharma et al. (2012) yaptığı çalışmada 25 mg L⁻¹ gümüş nanopartikül uygulamasının *Brassica juncea* bitkisinin kök uzunluğunu arttırdığını bildirmiştir. Bir diğer çalışmada Mehta et al. (2016) 50 mg L⁻¹ Ag nanopartikül uygulamalarının *Vigna sinensis* bitkisinin gövde uzunluğunu arttırdığını bildirmiştir. Kasivelu et al. (2020) yaptığı çalışmada ise Fe nanopartiküllerin 250 mg L⁻¹ konsantrasyonunda piriç ve mısır bitkilerinin hem kök hem de gövde uzunluğunu arttırdığını bildirmiştir. Literatürde bulunan bu çalışmalar elde edilen sonuçlar ile paralellik göstermiştir. Ayrıca, Ag ve Fe nanopartiküllerin domates bitkisi üzerinde uygulanan konsantrasyonlarda herhangi bir fitotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Ek olarak, bitki büyüme ve gelişiminin değerlendirilmesinde biyokütle ölçümleri ve kök-gövde uzunluğu ölçümleri paralellik göstermiştir.

Bitkilerin üzerinde yapılan çalışmalarda uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak farklı nanopartikül uygulamalarının reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini tetikleyebildiği belirtilmektedir. ROS seviyelerinin aşırı artması bitki üzerinde hücre ölümüne varan sonuçlar doğurabilir (Mhamdi and Van Breusegem, 2018). Bir ROS türü olan H₂O₂ stres faktörlerine karşı üretilen bir sinyal

molekölüdür ve H_2O_2 miktarlarının araştırılması yapılan uygulamaların stres faktörleri üzerindeki etkilerini belirlemek için önemli bir parametredir. Yapılan çalışmada bütün Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının H_2O_2 içeriği üzerinde bir farklılığa neden olmadığı belirlenmiştir. Sonuçlar nanopartikül uygulamalarının oksidatif strese bağlı ROS oluşumu olmadığını göstermiştir. Benzer olarak Nair et al. (2015) yaptığı çalışmada 50 mg L^{-1} ye kadar artan konsantrasyonlarda yapılan gümüş nanopartikül uygulamalarının *Vigna radiata* bitkisinde H_2O_2 içeriği bakımından bir değişikliğe neden olmadığını bildirmiştir. Deng et al. (2022) yaptığı çalışmada ise demir oksit nanopartiküllerinin 500 mg L^{-1} konsantrasyona kadar artan uygulamalarının *Cannabis sativa* bitki yapraklarında H_2O_2 içeriğini değiştirmediklerini bildirmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmada domates bitkileri üzerinde Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarından kaynaklanan oksidatif stres oluşumu gözlemlenmediği sonucuna varılmıştır.

Stres faktörlerine bağlı olarak ROS üretimi arttığında oluşan lipid peroksidasyonu nedeniyle hücre membranlarında bulunan fosfolipid yapıları ve dolayısıyla hücre bütünlüğü zarar görebilmektedir (Skorzynska-Polit, 2007). Lipid peroksidasyonu sonucunda MDA oluşmaktadır. Yapılan çalışmada Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının bitki yapraklarında lipid peroksidasyonu seviyelerinin belirlenmesi için MDA içeriği analiz edilmiştir. Elde edilen bulgular 500 mg L^{-1} Fe nanopartikül uygulamalarında MDA içeriğinin çok az miktarda azaldığını, diğer uygulamalarda ise bitki yapraklarının MDA içerikleri üzerinde kontrol bitkilerine kıyasla farklılığa neden olmadığı göstermiştir. Abbasi and Jamei (2019) yaptığı çalışmada 50 mg L^{-1} konsantrasyona kadar yapılan Ag nanopartikül uygulamalarının bitkilerin MDA içerikleri üzerinde bir değişime neden olmadığını belirtmiştir. Iannone et al. (2021) yonca ve soya fasülyesi bitkileri üzerinde yaptığı çalışmada ise Fe nanopartikül uygulamalarının MDA seviyelerinde değişikliğe neden olmadığını bildirmiştir. Elde edilen bulgular literatür çalışmaları ile paralellik göstermiş ve nanopartikül uygulamalarının hücrelerin membran yapısının bozulmasına neden olacak düzeyde oksidatif strese neden olmadığını doğrulamıştır. Ayrıca, MDA içeriklerinin H_2O_2 içerikleri ile paralellik göstermesi Fe ve Ag nanopartikül uygulamalarının bitki üzerinde oksidatif strese bağlı hasara neden olmadığını göstermiştir.

Fotosentetik verimin belirlenmesi amacıyla Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan bitki yapraklarının *Fv/Fm* oranları belirlenmiştir. Bitki yapraklarının fotosentetik verimi, fotosistem II'nin (PS(II)) maksimum kuantum etkinliğini ifade etmektedir (Macedo et al., 2008). Buna bağlı olarak *Fv/Fm*

oranlarındaki değişimler bitkilerin stres faktörlerine bağlı olarak CO₂ fiksasyonu üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi açısından kritik bir önem taşımaktadır (Krall and Edwards, 1990). Elde edilen sonuçlar uygulama yapılan bütün Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının fotosentetik verim üzerinde anlamlı bir farklılığa neden olmadığını göstermiştir. Elde edilen bulgulara paralel olarak, Aleksandrowicz-Trzcińska et al. (2019) yılında *Pinus sylvestris* ve *Quercus robur* bitkileri üzerinde yaptığı çalışmada 50 mg L⁻¹ konsantrasyonuna kadar yapılan Ag nanopartikül uygulamalarının fotosentetik verim üzerinde anlamlı bir farklılığa neden olmadığını belirtmiştir. Ayrıca elde edilen bulgulara yine paralel olarak, Merinero et al., (2022) yaptığı çalışmada ise polimerik Fe nanopartiküllerin buğday bitkisi üzerinde fotosentetik verim açısından anlamlı bir farklılık yaratmadığını bildirmiştir. Fotosentetik verim analizi sonucunda elde edilen bulguların MDA ve H₂O₂ içerikleri ile paralellik göstermesi bitki üzerinde yapılan nanopartikül uygulamalarının fitotoksik bir etkiye neden olmadığını doğrulamıştır.

Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılan domates bitki yapraklarının fotosentetik pigment içeriğinin değerlendirilmesi kapsamında yaprakların klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid içerikleri belirlenmiştir. Bitkiler üzerinde yapılan nanopartikül uygulamaların tillakoidlerin azalmasına ve stoma açılma mekanizmasını etkileyerek fotosentez miktarının değişmesine neden olabildiği bildirilmiştir (Da Costa and Sharma, 2016). Uygulama yapılan bütün konsantrasyonlar Ag ve Fe nanopartiküllerinin fotosentetik pigment içeriği bakımından klorofil a, klorofil b, toplam klorofil ve toplam karotenoid içeriği üzerinde anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır. Elde edilen sonuçlara paralel olarak Salachna et al., (2019) yılında zambak bitkileri üzerinde yaptığı çalışmada 50 mg L⁻¹ konsantrasyona kadar yapılan Ag nanopartikül uygulamalarının fotosentetik pigment içeriğinde değişikliğe neden olmadığını raporlamıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise tatlı biber bitkisi üzerinde demir oksit nanopartikül uygulamasının fotosentetik pigment içeriklerinin değişimine neden olmadığı bildirilmiştir (Kalisz et al., 2021). Bu bilgiler ışığında Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının fotosentetik sistem üzerinde olumsuz bir etkiye neden olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca fotosentetik pigment içerikleri *Fv/Fm* ölçümleri ile korelasyon göstermiştir ve nanopartikül uygulamalarının bitkinin stoma açılma mekanizmasına bağlı olarak bitkinin karbon fiksasyonunda bir değişikliğe neden olmayacağı doğrulamıştır.

Ag ve Fe nanopartikül uygulaması yapılmış olan domates bitki yapraklarının toplam protein içeriklerine bakıldığında yapılan bütün uygulamalarda toplam

protein içeriğinin azaldığı belirlenmiştir. Literatür raporlarına bakıldığında yapılan nanopartikül uygulamalarının bitkilerin protein içeriklerinde azalmaya neden olabildiği bildirilmiştir (Komatsu et al., 2022). Bu durum bitkilere uygulanan nanopartiküllere maruz kalma süresiyle açıklanabilir (Shaikhaldein et al., 2020). Ancak bununla birlikte nanopartiküller ile proteinlerin etkileşmesinin ROS üretimini tetiklediği ve sonucunda DNA hasarı ve lipid peroksidasyonunu tetikleyebildiği belirtilmektedir (Rastogi et al., 2017). Düşen protein miktarlarının bitki morfolojisi ve lipid peroksidasyonları üzerinde bir farklılık yaratmaması bitkinin 50 mg L⁻¹ konsantrasyona kadar Ag nanopartikül ve 500 mg L⁻¹ konsantrasyona kadar Fe nanopartikül uygulamalarını tolere edebildiğini göstermiştir. Ancak bununla birlikte Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının proteomik seviyede bitki üzerinde oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.

ROS türlerinin süpürülmesinde SOD ve CAT gibi antioksidant enzimler görev almaktadır. Bu antioksidant enzimlerin aktivitelerinde meydana gelen farklılaşmalar antioksidant mekanizmanın çalıştığının ve buna bağlı olarak ROS türlerinin süpürüldüğünü belirlemekte önemli bir indikatördür (Bhaduri and Fulekar, 2012). Ayrıca antioksidant enzimler ROS kaynaklı oksidatif zararı engellemekte ve kontrol etmekte önemli rol oynamaktadır (Alscher et al., 1997). Yapılan çalışmada bütün Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının SOD aktivitesini arttırdığı belirlenmiştir. Bu aktivite artışı bitkinin Ag ve Fe nanopartikül uygulamaları kaynaklı muhtemel stresi tolere ettiğini göstermektedir. SOD serbest oksijen türlerinin süpürülmesinde rol oynayan önemli bir antioksidant enzimdir. Elde edilen bulgulara paralel olarak 50 mg L⁻¹ konsantrasyona kadar Ag nanopartikül uygulamalarının *Melissa officinalis* bitkisinde SOD aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (Shavalibor and Esmailzadeh Bahabadi, 2021). Yine paralel olarak Rizwan et al. (2019) yaptığı çalışmada demir oksit nanopartikül uygulamalarının SOD aktivitesini artırarak oksidatif stres etkilerini azalttığını bildirmiştir. Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının ise bütün konsantrasyonlar CAT aktivitesini azalttığı belirlenmiştir. CAT aktivitesindeki bu azalma oluşan H₂O₂ radikallerinin GSH veya GPX döngülerinde yıkılması açıklanabilir (Yang et al., 2017). Ek olarak, Ag ve Fe nanopartiküllerinin H₂O₂'nin katalitik yıkım aktivitesi üzerindeki etkisi göz önüne alındığında fenton-benzeri süreci tetiklemesinin mümkün olduğu bildirilmiştir (Park et al., 2017). Çünkü, Ag ve Fe nanopartiküller H₂O₂'nin hidroksil radikallerine dönüşümünde katalaz veya peroksidaz benzeri aktivite gösterebilmektedir (Li et al., 2020). Ayrıca Venkatachalam et al. (2017) yaptığı çalışmada pamuk bitkisi üzerinde ZnO nanopartikül uygulaması yapmış ve artan ZnO nanopartikül uygulamalarına SOD

aktivitesinin artarken CAT aktivitesinin azaldığını belirtmiştir. Bu bağlamda nanopartikül uygulamasının tolere edilebilecek seviyede toksisiteye neden olduğu sonucuna varmıştır. Bu tez çalışmasında benzer olarak H_2O_2 gibi ROS türlerinin miktarının sabit kalması SOD aktivitesinin artarken CAT aktivitesinin düşüşü ile paralellik göstermektedir.

Total antioksidant aktivitenin belirlenmesi için % DPPH süpürme aktivitesi ölçülmüştür. Elde edilen bulgular Ag ve Fe nanopartiküllerinin artan konsantrasyonlarındaki uygulamalarının kontrol bitkilerine kıyasla toplam antioksidant aktivitesi üzerinde azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Javed et al., (2017) yaptığı çalışmada *Stevia rebaudiana* bitkisinde artan ZnO nanopartikül uygulamalarının toplam antioksidant aktiviteyi azalttığını belirtmiştir. Ayrıca, bunun nedeninin ise nanopartikül uygulamasına bağlı olarak toplam flavonoid ve toplam fenolik içeriğin azalmasına bağlı olduğunu raporlamıştır. Yapılan bir diğer çalışmada ise Chahardoli et al. (2020) *Nigella arvensis* bitkisinde 1000 mg L^{-1} ve üzeri Al_2O_3 nanopartikül uygulamalarının toplam antioksidant aktiviteyi azalttığını bildirmiştir. Ek olarak, nanopartikül uygulamalarının toksik etkilerine bağlı olarak antioksidant aktiviteler üzerinde dengesizlik yaratabildiğini raporlamıştır.

Prolin içeriğinin artışı bitkilerin oksidatif stres koşulları altında büyüdüğünü gösteren önemli bir indikatördür (Das et al., 2018a). Yapılan Ag ve Fe nanopartikül uygulamalarının artan konsantrasyonlarının tamamında prolin içeriklerinin arttığı belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara paralel olarak Das et al. (2018b) yaptığı çalışmada Ag nanopartikül uygulamalarının prolin içeriğinin artmasına neden olurken CAT aktivitesinin azaldığını belirtmiştir. Bu prolinin metal iyonlarını şelatlama kapasitesi ve metal iyonlarını bağlama kapasitesinden kaynaklanabilmektedir (Kocaman, 2022). Bununla birlikte prolin birikimi ROS'ların süpürülmesinde görev alarak membran bütünlüğünün korunmasına yardımcı olmakta ve ozmoregülasyonun sağlanmasında görev almaktadır (Huang et al., 2019). Bu bilgiler ışığında bitkilerin oluşabilecek muhtemel oksidatif stresi tolere edebildiği doğrulanmıştır.

SDS-PAGE analizleri sonucunda yaklaşık 75, 68, 57, 43, 39, 22, 17 ve 15 kDa ağırlıklarına karşılık gelen toplam 8 bantta Ag ve Fe uygulamalarına bağlı farklılıklar meydana geldiği belirlenmiştir. Domates kontrol bitkilerinde ise oluşan protein profili bakımından literatürdeki örneklerine benzer bir ayrılma sergilemiştir (Al Shaye et al., 2018). Ancak önceki literatür çalışmaları arasında domates bitkisi üzerinde gümüş ve demir nanopartikül uygulamalarının SDS-PAGE veya diğer

elektroforez yöntemleri kullanılarak proteom üzerindeki değişikliklerine ilişkin bir araştırmaya rastlanmamıştır.

Biyoinformatik analizler kapsamında *in silico* sekans analizi ve 3B protein yapı modellemesi çalışmaları yapılmıştır. *In silico* analizler ile SDS-PAGE analizi sonucunda belirlenen molekül ağırlıklarında demir ve gümüş bağlayan proteinler araştırılmıştır. Elde edilen bulgular bu bölgelerin toplam 113 demir bağlayan protein ve 1 gümüş bağlayan protein olmak üzere toplam 114 protein içerdiği belirlenmiştir. 3B protein yapı analizleri kapsamında Phyre2, ProSa ve MIB araçları kullanılmıştır. Bu araçlar ile 3B yapı doğrulamaları yapılmış ve belirlenen protein sayısı 82 olarak filtrelenmiştir. Phyre2 aracı proteinlerin 3B modellemesinde yaygın olarak kullanılan bir araçtır ve HMM-HMM etkileşimlerine dayanan homoloji modelleme sistemini kullanır. Elde edilen modellerin “Güvenilirlik >%90, Sorgulama >%50 ve Tanılama >%30” kriterleri dahilinde değerlendirilmesi model doğruluğunun sağlanması için önemlidir (Verma et al., 2017). ProSa analizleri ile ise model kalitesinin değerlendirilmesi için önemlidir. Program kalıntılar üzerinden NMR ve X-Ray kristallografi tahminlerini kombinleyerek oluşturulan modelin Z-Skorunu üretir ve bu Z-skorunun yüksek negativiteye sahip olması modelin doğruluğunu gösterirken pozitif Z-Skorları modelin doğru olmadığını göstermektedir (Wiederstein and Sippl, 2007). MIB analizleri ise demir iyonları için docking analizleri yapılarak proteinler üzerindeki bağlanma kalıntıları ve bu yapıların doğruluğu belirlenmektedir (Lu et al., 2012). Ek olarak, domates proteomu üzerinde demir veya gümüş bağlayan proteinler için yapılmış biyoinformatik veya proteomik bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak proteomun 1/3’ünün metal bağlayan proteinlerden oluştuğu tahmin edilmektedir. Ardından yapısı doğrulanmış modeller lokalizasyon, biyolojik proses, moleküler fonksiyon ve yapısına katıldığı hücresel bileşenler bakımından biyoinformatik analizlere tabii tutulmuştur. Bu analizler proteinlerin %37.5’inin sitoplazmik olduğunu göstermiştir. Biyolojik proseslere bakıldığında ise proteinlerin %22’sinin oksidatif strese yanıtta görev aldığı %14’ünün ise hidrojen peroksitin katabolik süreçlerinde yer aldığı belirlenmiştir. Ek olarak bu proteinlerin 76, 68, 33,22, 18 ve 22 kDa ağırlıklarında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen bilgilere paralel olarak nanopartikül uygulamalarında bitkiler oksidatif strese maruz kaldığını ancak bunun proteom düzeyinde sınırlı kaldığını ve bitkilerin oksidatif stresi tolere edebildiğini doğrulamıştır. Ek olarak belirlenen protein bantlarının konsantrasyonun azalmasının hidrojen peroksit katabolik süreçlerinde yer alan proteinlerin ifadesinin azalmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Bu protein moleküler fonksiyonlarına bakıldığında ise doğaları gereği büyük kısmının

metal bağlama ile ilişkili olduğu görülmektedir. Bunun dışında proteinlerin %7.9'unun monookijenaz aktivitesi ve %7.2'sinin peroksidaz aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. Bu oksidatif strese yanıt mekanizmalarında proteinlerin görev aldığını doğrulamıştır. Bunun dışında katalaz aktivitesinin azalmasında görev alan bir proteininin bulunması katalaz aktivitesinin düşünün doğrulanmasını sağlamıştır.

Sonuç olarak elde edilen bulgular Ag ve Fe nanopartiküllerinin domates bitkileri üzerinde bitkilerin tolere edilebileceği düzeyde oksidatif stres yarattığını göstermiştir. Oksidatif stresin seviyesinin proteomik seviyede gözlemlenirken ve bitkinin tolerans mekanizmaları bu stresin morfolojik ve fizyolojik analizlere yansımaları engellediği belirlenmiştir. Domates bitkisi üzerinde Ag ve Fe nanopartikül uygulamasının ilk kez proteomik yanıtları araştırılmış olup bu çalışmaların artması ile tarımda nanopartikül kullanımının gelecekte daha güvenilir ve daha verimli olması mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abbasi, F., and Jamei, R.**, 2019, Effects of silver nanoparticles and silver nitrate on antioxidant responses in *Echium amoenum*, *Russian Journal of Plant Physiology*, 66(3), 488-494p.
- Abel, S., Tesfaye, J.L., Shanmugam, R., Dwarampudi, L.P., Lamessa, G., Nagaprasad, N., Benti, M. and Krishnaraj, R.**, 2021, Green synthesis and characterizations of zinc oxide (ZnO) nanoparticles using aqueous leaf extracts of coffee (*Coffea arabica*) and its application in environmental toxicity reduction, *Journal of Nanomaterials*, 2021.
- Abid, N., Khan, A.M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., Haider, J., Khan, M., Khan, Q., and Maqbool, M.**, 2021, Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review, *Advances in Colloid and Interface Science*, 102597p.
- Al Shaye, N., Migdadi, H., Charbaji, A., Alsayegh, S., Daoud, S., Wala, A.A., and Alghamdi, S.**, 2018. Genetic variation among Saudi tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces studied using SDS-PAGE and SRAP markers, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(6), 1007-1015p.
- Alaghmandfard, A., Sedighi, O., Rezaei, N.T., Abedini, A.A., Khachatourian, A.M., Toprak, M.S., and Seifalian, A.**, 2021, Recent advances in the modification of carbon-based quantum dots for biomedical applications, *Materials Science and Engineering: C*, 120, 111756p.
- Alam, T., Khan, R.A.A., Ali, A., Sher, H., Ullah, Z., and Ali, M.**, 2019, Biogenic synthesis of iron oxide nanoparticles via *Skimmia laureola* and their antibacterial efficacy against bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*, *Materials Science and Engineering: C*, 98, 101-108p.
- Aleksandrowicz-Trzcińska, M., Bederska-Błaszczuk, M., Szaniawski, A., Olchowik, J., and Studnicki, M.**, 2019, The effects of copper and silver nanoparticles on container-grown Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) and Pedunculate Oak (*Quercus robur* L.) seedlings, *Forests*, 10(3), 269p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., and Karanov, E.,** 2001, The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat, *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337-1344 p.
- Ali, A., Hira Zafar, M. Z., ul Haq, I., Phull, A. R., Ali, J. S., and Hussain, A.,** 2016, Synthesis, characterization, applications, and challenges of iron oxide nanoparticles, *Nanotechnology, Science and Applications*, 9, 49p.
- Alscher, R.G., Donahue, J.L., and Cramer, C.L.,** 1997, Reactive oxygen species and antioxidants: relationships in green cells, *Physiologia Plantarum*, 100(2), 224-233p.
- Andreini, C., Cavallaro, G., Lorenzini, S., and Rosato, A.,** 2012, MetalPDB: a database of metal sites in biological macromolecular structures, *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D312-D319p.
- Ansari, A., Siddiqui, V.U., Rehman, W.U., Akram, M.K., Siddiqi, W.A., Alosaimi, A.M., Hussein, M.A., and Rafatullah, M.,** 2022, Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using *Acorus calamus* leaf extract and evaluating its photocatalytic and in vitro antimicrobial activity, *Catalysts*, 12(2), 181p.
- Arokiyaraj, S., Arasu, M.V., Vincent, S., Prakash, N.U., Choi, S.H., Oh, Y.K., Choi, K.C., and Kim, K.H.,** 2014, Rapid green synthesis of silver nanoparticles from *Chrysanthemum indicum* L and its antibacterial and cytotoxic effects: an in vitro study, *International Journal of Nanomedicine*, 9, 379p.
- Aromal, S.A., and Philip, D.,** 2012, Facile one-pot synthesis of gold nanoparticles using tannic acid and its application in catalysis, *Physica E: Low-Dimensional Systems And Nanostructures*, 44(7-8), 1692-1696p.
- Aslam, B., Basit, M., Nisar, M.A., Khurshid, M., and Rasool, M.H.,** 2017, Proteomics: technologies and their applications, *Journal of Chromatographic Science*, 55(2), 182-196p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Ayisigi, M., Cokislerel, A., Kucukcobanoglu, Y., Yalcin, T., and Aktas, L.Y.,** 2020, Green synthesized silver nanoparticles for an effective control on soft rot disease pathogen *Pectobacterium carotovorum* and growth stimulation in pepper, *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26, 574-584p.
- Ayoub, H.A., Khairy, M., Elsaid, S., Rashwan, F.A., and Abdel-Hafez, H.F.,** 2018, Pesticidal activity of nanostructured metal oxides for generation of alternative pesticide formulations, *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(22), 5491-5498p.
- Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D.,** 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant and soil*, 39(1), 205-207 p.
- Bergmeyer, H.U., and Gawehn, K.,** 1970. Methoden der enzymatischen Analyse (Vol. 432), Weinheim: Verlag Chemie.
- Bhaduri, A.M., and Fulekar, M.H.,** 2012, Antioxidant enzyme responses of plants to heavy metal stress, *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 11(1), 55-69p.
- Bhatia, S.,** 2016, Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In *Natural Polymer Drug Delivery Systems*, Springer, Cham, 33-93 p.
- Bhushan, B., Gupta, V., and Kotnala, S.,** 2020, Development of magnetic-biochar nano-composite: assessment of its physico-chemical properties, *Materials Today: Proceedings*, 26, 3271-3274p.
- Blum, M., Chang, H.Y., Chuguransky, S., Grego, T., Kandasaamy, S., Mitchell, A., Nuka, G., Paysan-Lafosse, T., Qureshi, M., Raj, S. and Richardson, L.,** 2021, The InterPro protein families and domains database: 20 years on, *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D344-D354p.
- Bradford, M.M.,** 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C.L.W.T.**, 1995, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity, *LWT-Food Science and Technology*, 28(1), 25-30p.
- Chahardoli, A., Karimi, N., Ma, X., and Qalekhani, F.**, 2020, Effects of engineered aluminum and nickel oxide nanoparticles on the growth and antioxidant defense systems of *Nigella arvensis* L., *Scientific Reports*, 10(1), 1-11p.
- Chen, H.**, 2018, Metal based nanoparticles in agricultural system: behavior, transport, and interaction with plants, *Chemical Speciation & Bioavailability*, 30(1), 123-134p.
- Chen, Z.X., Jin, X.Y., Chen, Z., Megharaj, M., and Naidu, R.**, 2011, Removal of methyl orange from aqueous solution using bentonite-supported nanoscale zero-valent iron, *Journal of Colloid And Interface Science*, 363(2), 601-607p.
- Cho, K.H., Park, J.E., Osaka, T., and Park, S.G.**, 2005, The study of antimicrobial activity and preservative effects of nanosilver ingredient, *Electrochimica Acta*, 51(5), 956-960p.
- Clark, M.F., Lister, R.M., and Bar-Joseph, M.**, 1986, ELISA techniques, *In Methods In Enzymology*, Academic Press, Vol. 118, 742-766p.
- Contreras, J.E., Rodriguez, E.A., and Taha-Tijerina, J.**, 2017, Nanotechnology applications for electrical transformers—A review, *Electric Power Systems Research*, 143, 573-584p.
- Cuatrecasas, P., and Anfinsen, C.B.**, 1971, [31] Affinity chromatography, *Methods In Enzymology*, 22, 345-378p.
- Da Costa, M.V.J., and Sharma, P.K.**, 2016, Effect of copper oxide nanoparticles on growth, morphology, photosynthesis, and antioxidant response in *Oryza sativa*, *Photosynthetica*, 54(1), 110-119p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Das, P., Barua, S., Sarkar, S., Chatterjee, S.K., Mukherjee, S., Goswami, L., Das, S., Bhattacharya, S., Karak, N. and Bhattacharya, S.S.,** 2018, Mechanism of toxicity and transformation of silver nanoparticles: Inclusive assessment in earthworm-microbe-soil-plant system, *Geoderma*, 314, 73-84p.
- Das, P., Barua, S., Sarkar, S., Karak, N., Bhattacharyya, P., Raza, N., Kim, K.H., and Bhattacharya, S.S.,** 2018a, Plant extract-mediated green silver nanoparticles: Efficacy as soil conditioner and plant growth promoter, *Journal of Hazardous Materials*, 346, 62-72p.
- Dasarahalli-Huligowda, L.K., Gundewadi, G., and Reddy, V.S.R.,** 2021, Role of Nanotechnology: Emerging Path from Soil to Fork, *Nanotechnology Applications in Agricultural and Bioprocess Engineering*, 3-30p.
- Dash, K.K., Deka, P., Bangar, S.P., Chaudhary, V., Trif, M., and Rusu, A.,** 2022, Applications of inorganic nanoparticles in food packaging: A Comprehensive Review, *Polymers*, 14(3), 521p.
- Dayhoff, M.O., and Ledley, R.S.,** 1962, Comproteins: a computer program to aid primary protein structure determination, *In Proceedings of the December 4-6, 1962, fall joint computer conference*, 262-274p.
- Deng, C., Tang, Q., Yang, Z., Dai, Z., Cheng, C., Xu, Y., Chen, X., Zhang, X., and Su, J.,** 2022, Effects of iron oxide nanoparticles on phenotype and metabolite changes in hemp clones (*Cannabis sativa* L.), *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 16(10), 1-11p.
- Desalegn, T., Murthy, H.A., and Limeneh, Y.A.,** 2021, Medicinal plant *Syzygium guineense* (willd.) DC leaf extract mediated green synthesis of Ag nanoparticles: investigation of their antibacterial activity, *Ethiopian Journal of Sciences and Sustainable Development*, 8(1), 1-12p.
- Dinesh, S., Karthikeyan, S., and Arumugam, P.,** 2012, Biosynthesis of silver nanoparticles from Glycyrrhiza glabra root extract, *Arch Appl Sci Res*, 4(1), 178-87p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Domon, B., and Aebersold, R.**, 2006, Mass spectrometry and protein analysis, *Science*, 312(5771), 212-217p.
- Doster, J., Baraldi, G., Gonzalo, J., Solis, J., Hernandez-Rueda, J., and Siegel, J.**, 2014, Tailoring the surface plasmon resonance of embedded silver nanoparticles by combining nano-and femtosecond laser pulses, *Applied Physics Letters*, 104(15), 153106p.
- Dovbeshko, G.I., Gridina, N.Y., Kruglova, E.B., and Pashchuk, O.P.**, 2000, FTIR spectroscopy studies of nucleic acid damage. *Talanta*, 53(1), 233-246p.
- Duan, H., Wang, D., and Li, Y.**, 2015, Green chemistry for nanoparticle synthesis, *Chemical Society Reviews*, 44(16), 5778-5792p.
- Duhan, J.S., Kumar, R., Kumar, N., Kaur, P., Nehra, K., and Duhan, S.**, 2017, Nanotechnology: The new perspective in precision agriculture, *Biotechnology Reports*, 15, 11-23p
- Edge, D., Shortt, C.M., Gobbo, O.L., Teughels, S., Prina-Mello, A., Volkov, Y., MacEneaney, P., Radomski, M.W., and Markos, F.**, 2016, Pharmacokinetics and bio-distribution of novel super paramagnetic iron oxide nanoparticles (SPION s) in the anaesthetized pig, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 43(3), 319-326p.
- Edman, P., Högfeldt, E., Sillén, L.G., and Kinell, P.O.**, 1950, Method for determination of the amino acid sequence in peptides, *Acta Chemica Scandinavica*, 4(7), 283-293p.
- Eltaweil, A.S., Fawzy, M., Hosny, M., Abd El-Monaem, E.M., Tamer, T.M., and Omer, A.M.**, 2022, Green synthesis of platinum nanoparticles using *Atriplex halimus* leaves for potential antimicrobial, antioxidant, and catalytic applications, *Arabian Journal of Chemistry*, 15(1), 103517p.
- Epa, U. S.**, 2007, Environmental Protection Agency Nanotechnology White Paper, *EPA, Ed.*
- Ewing, J.F., and Janero, D.R.**, 1995, Microplate superoxide dismutase assay employing a nonenzymatic superoxide generator, *Analytical Biochemistry*, 232(2), 243-248p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Fahmy, H.M., Mohamed, F.M., Marzouq, M.H., Mustafa, A.B.E.D., Alsoudi, A.M., Ali, O.A., Mohamed, M.A., and Mahmoud, F.A.**, 2018, Review of green methods of iron nanoparticles synthesis and applications, *BioNanoScience*, 8(2), 491-503p.
- Fleischmann, R.D., Adams, M.D., White, O., Clayton, R.A., Kirkness, E.F., Kerlavage, A.R., Bult, C.J., Tomb, J.F., Dougherty, B.A., Merrick, J.M., and McKenney, K.**, 1995, Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd, *Science*, 269(5223), 496-512p.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2017, <http://www.fao.org>, (Erişim tarihi 27 Ocak 2019).
- Garcia, J.S., de Magalhães, C. S., and Arruda, M.A.Z.**, 2006, Trends in metal-binding and metalloprotein analysis, *Talanta*, 69(1), 1-15p.
- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Wilkins, M.R., Appel, R.D., and Bairoch, A.**, 2005, Protein identification and analysis tools on the ExPASy server, *The Proteomics Protocols Handbook*, 571-607p.
- Gauthier, J., Vincent, A.T., Charette, S.J., and Derome, N.**, 2019, A brief history of bioinformatics, *Briefings In Bioinformatics*, 20(6), 1981-1996p.
- Georgakilas, V., Perman, J. A., Tucek, J., and Zboril, R.**, 2015, Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures, *Chemical Reviews*, 115(11), 4744-4822p.
- Girilal, M., Fayaz, A.M., Elumalai, L.K., Sathiyaseelan, A., Gandhiappan, J., and Kalaichelvan, P.T.**, 2018, Comparative Stress Physiology Analysis of Biologically and Chemically Synthesized Silver Nanoparticles on *Solanum Lycopersicum* L., *Colloid and Interface Science Communications*, 24, 1-6p.
- Goodwin, S., McPherson, J.D., and McCombie, W.R.**, 2016, Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17(6), 333-351p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Guha, T., Gopal, G., Das, H., Mukherjee, A., and Kundu, R.,** 2021, Nanopriming with zero-valent iron synthesized using pomegranate peel waste: A “green” approach for yield enhancement in *Oryza sativa* L. cv. Gonindobhog, *Plant Physiology and Biochemistry*, 163, 261-275p.
- Gul, A., Shaheen, A., Ahmad, I., Khattak, B., Ahmad, M., Ullah, R., Bari, A., Ali, S.S., Alobaid, A., Asmari, M.M., and Mahmood, H.M.,** 2021, Green synthesis, characterization, enzyme inhibition, antimicrobial potential, and cytotoxic activity of plant mediated silver nanoparticle using *Ricinus communis* leaf and root extracts, *Biomolecules*, 11(2), 206p.
- Gulbagca, F., Aygün, A., Gülcan, M., Ozdemir, S., Gonca, S., and Şen, F.,** 2021, Green synthesis of palladium nanoparticles: Preparation, characterization, and investigation of antioxidant, antimicrobial, anticancer, and DNA cleavage activities, *Applied Organometallic Chemistry*, 35(8), e6272p.
- 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 p.
- Hagen, J.B.,** 2000, The origins of bioinformatics. *Nature Reviews Genetics*, 1(3), 231-236p.
- Hamida, R.S., Ali, M.A., Redhwan, A., and Bin-Meferij, M.M.,** 2020, Cyanobacteria—a promising platform in green nanotechnology: a review on nanoparticles fabrication and their prospective applications, *International Journal of Nanomedicine*, 15, 6033p.
- He, S., Guo, Z., Zhang, Y., Zhang, S., Wang, J., and Gu, N.,** 2007, Biosynthesis of gold nanoparticles using the bacteria *Rhodopseudomonas capsulate*, *Materials Letters*, 61(18), 3984-3987p.
- Hossain, Z., Mustafa, G., and Komatsu, S.,** 2015, Plant responses to nanoparticle stress, *International Journal of Molecular Sciences*, 16(11), 26644-26653p.
- Hossain, Z., Mustafa, G., Sakata, K., and Komatsu, S.,** 2016, Insights into the proteomic response of soybean towards Al₂O₃, ZnO, and Ag nanoparticles stress, *Journal of Hazardous Materials*, 304, 291-305p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D.X., Yi, M., and Zhao, Y.**, 2019, Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses, *Frontiers in Plant Science*, 10, 800 p.
- Iannone, M.F., Groppa, M.D., Zawoznik, M.S., Coral, D.F., van Raap, M.B.F., and Benavides, M.P.**, 2021, Magnetite nanoparticles coated with citric acid are not phytotoxic and stimulate soybean and alfalfa growth, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 211, 111942p.
- Ibrahim, N., Latif, H., M Saifeif, M., and Mogazy, A.**, 2021, Impact of Different Crystal Sizes of Nano-Iron Oxide as Fertilizer on Wheat Plants Photosynthetic Pigments Content, *Egyptian Journal of Chemistry*, 64(8), 4635-4639p.
- Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., and Bukhari, A.**, 2020, Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles, *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13(3), 223-245p.
- Indiarto, R., Indriana, L.P.A., Andoyo, R., Subroto, E., and Nurhadi, B.**, 2021, Bottom-up nanoparticle synthesis: a review of techniques, polyphenol-based core materials, and their properties, *European Food Research and Technology*, 1-24p.
- Irum, S., Jabeen, N., Ahmad, K.S., Shafique, S., Khan, T.F., Gul, H., Anwaar, S., Shah, N.I., Mehmood, A., and Hussain, S.Z.**, 2020, Biogenic iron oxide nanoparticles enhance callogenesis and regeneration pattern of recalcitrant *Cicer arietinum* L, *Plos One*, 15(12), e0242829p.
- Jamkhande, P.G., Ghule, N.W., Bamer, A.H., and Kalaskar, M.G.**, 2019, Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications, *Journal of Drug Delivery Science And Technology*, 53, 101174p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Javed, R., Usman, M., Yücesan, B., Zia, M., and Gürel, E.,** 2017, Effect of zinc oxide (ZnO) nanoparticles on physiology and steviol glycosides production in micropropagated shoots of *Stevia rebaudiana* Bertoni, *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 94-99p.
- Jeon, S.K., Kim, E.J., Lee, J., and Lee, S.,** 2016, Potential risks of TiO₂ and ZnO nanoparticles released from sunscreens into outdoor swimming pools, *Journal of Hazardous Materials*, 317, 312-318p.
- Jorrín-Novó, J.V., Pascual, J., Sánchez-Lucas, R., Romero-Rodríguez, M.C., Rodríguez-Ortega, M.J., Lenz, C., and Valledor, L.,** 2015, Fourteen years of plant proteomics reflected in Proteomics: Moving from model species and 2DE-based approaches to orphan species and gel-free platforms, *Proteomics*, 15(5-6), 1089-1112p.
- Joudeh, N., and Linke, D.,** 2022, Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: a comprehensive review for biologists, *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), 1-29p.
- Kalimuthu, K., Babu, R.S., Venkataraman, D., Bilal, M., and Gurunathan, S.,** 2008, Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 65(1), 150-153p.
- Kalisz, A., Húska, D., Jurkow, R., Dvořák, M., Klejdus, B., Caruso, G., and Sękara, A.,** 2021, Nanoparticles of cerium, iron, and silicon oxides change the metabolism of phenols and flavonoids in butterhead lettuce and sweet pepper seedlings, *Environmental Science: Nano*, 8(7), 1945-1959p.
- Kasivelu, G., Selvaraj, T., Malaichamy, K., Kathickeyan, D., Shkolnik, D., and Chaturvedi, S.,** 2020, Nano-micronutrients [γ -Fe₂O₃ (iron) and ZnO (zinc)]: green preparation, characterization, agro-morphological characteristics and crop productivity studies in two crops (rice and maize), *New Journal of Chemistry*, 44(26), 11373-11383p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Kaveh, R., Li, Y.S., Ranjbar, S., Tehrani, R., Brueck, C.L., and Van Aken, B.,** 2013, Changes in *Arabidopsis thaliana* gene expression in response to silver nanoparticles and silver ions, *Environmental Science & Technology*, 47(18), 10637-10644p.
- Kelley, L.A., Mezulis, S., Yates, C.M., Wass, M.N., and Sternberg, M.J.,** 2015, The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis, *Nature Protocols*, 10(6), 845-858p.
- Khan, Z., and Al-Thabaiti, S.A.,** 2018, Green synthesis of zero-valent Fe-nanoparticles: catalytic degradation of rhodamine B, interactions with bovine serum albumin and their enhanced antimicrobial activities, *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 180, 259-267p.
- Knecht, D.A., and Dimond, R.L.,** 1984, Visualization of antigenic proteins on Western blots, *Analytical Biochemistry*, 136(1), 180-184p.
- Kocaman, A.,** 2022. Combined interactions of amino acids and organic acids in heavy metal binding in plants, *Plant Signaling & Behavior*, 2064072 p.
- Kolahalam, L.A., Viswanath, I.K., Diwakar, B.S., Govindh, B., Reddy, V., and Murthy, Y.L.N.,** 2019, Review on nanomaterials: Synthesis and applications, *Materials Today: Proceedings*, 18, 2182-2190p.
- Komatsu, S., Yamaguchi, H., Hitachi, K., and Tsuchida, K.,** 2022, Proteomic, biochemical, and morphological analyses of the effect of silver nanoparticles mixed with organic and inorganic chemicals on wheat growth, *Cells*, 11(9), 1579 p.
- Konappa, N., Udayashankar, A.C., Dhamodaran, N., Krishnamurthy, S., Jagannath, S., Uzma, F., Pradeep, C.K., De Britto, S., Chowdappa, S., and Jogaiah, S.,** 2021, Ameliorated antibacterial and antioxidant properties by *Trichoderma harzianum* mediated green synthesis of silver nanoparticles, *Biomolecules*, 11(4), 535p.
- Kopp, M., Kollenda, S., and Epple, M.,** 2017, Nanoparticle–protein interactions: therapeutic approaches and supramolecular chemistry. *Accounts of Chemical Research*, 50(6), 1383-1390p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Krall, J.P., and Edwards, G.E.**, 1990, Quantum yields of photosystem II electron transport and carbon dioxide fixation in C4 plants, *Functional Plant Biology*, 17(5), 579-588 p.
- Kucukcobanoglu, Y., Ayisigi, M., Haseki, S., and Aktas, L.Y.**, 2022, In situ Green Synthesis of Cellulose based Silver Nanocomposite and its Catalytic Dye Removal Potential Against Methylene Blue, *Journal of Cluster Science*, 33(4), 1623-1633p.
- Kumar, P., Senthamil Selvi, S., Lakshmi Prabha, A., Prem Kumar, K., Ganeshkumar, R.S., and Govindaraju, M.**, 2012, Synthesis of silver nanoparticles from *Sargassum tenerrimum* and screening phytochemicals for its antibacterial activity, *Nano Biomedicine and Engineering*, 4(1), 12-16p.
- Kumar, R., and Lal, S.**, 2014, Synthesis of organic nanoparticles and their applications in drug delivery and food nanotechnology: a review, *Journal of Nanomaterials & Molecular Nanotechnology*, 3: 4. of, 11, 2p.
- Laemmli, U.K.**, 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227(5259), 680-685p.
- LeCroy, G.E., Yang, S.T., Yang, F., Liu, Y., Fernando, K.S., Bunker, C.E., Hu, Y., Luo, P.G., and Sun, Y.P.**, 2016, Functionalized carbon nanoparticles: Syntheses and applications in optical bioimaging and energy conversion, *Coordination Chemistry Reviews*, 320, 66-81p.
- Li, L., Liu, H., Bian, J., Zhang, X., Fu, Y., Li, Z., Wei, S., Xu, Z., Liu, X., Liu, Z., and Wang, D.**, 2020, Ag/Pd bimetal nanozyme with enhanced catalytic and photothermal effects for ROS/hyperthermia/chemotherapy triple-modality antitumor therapy, *Chemical Engineering Journal*, 397, 125438p.
- Lines, M.G.**, 2008, Nanomaterials for practical functional uses, *Journal of Alloys and Compounds*, 449(1-2), 242-245p.
- Lognonne, J.L.**, 1994, 2D-page analysis: a practical guide to principle critical parameters, *Cellular and Molecular Biology* (Noisy-le-Grand, France), 40(1), 41-55p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Lohse, S.E., and Murphy, C.J.**, 2012, Applications of colloidal inorganic nanoparticles: from medicine to energy, *Journal of the American Chemical Society*, 134(38), 15607-15620p.
- Lu, C.H., Lin, Y.F., Lin, J.J., and Yu, C.S.**, 2012, Prediction of metal ion-binding sites in proteins using the fragment transformation method, *PloS One*, 7(6), e39252p.
- Luscombe, N.M., Greenbaum, D., and Gerstein, M.**, 2001, What is bioinformatics? An introduction and overview, *Yearbook of Medical Informatics*, 10(01), 83-100p.
- Macedo, R.S., Lombardi, A.T., Omachi, C.Y., and Rörig, L.R.**, 2008, Effects of the herbicide bentazon on growth and photosystem II maximum quantum yield of the marine diatom *Skeletonema costatum*, *Toxicology in Vitro*, 22(3), 716-722p.
- Malik, M.A., Alshehri, A.A., and Patel, R.**, 2021, Facile one-pot green synthesis of Ag-Fe bimetallic nanoparticles and their catalytic capability for 4-nitrophenol reduction, *Journal of Materials Research and Technology*, 12, 455-470p.
- Marouga, R., David, S., and Hawkins, E.**, 2005, The development of the DIGE system: 2D fluorescence difference gel analysis technology, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(3), 669-678p.
- Mehrian, S.K., Heidari, R., and Rahmani, F.**, 2015, Effect of silver nanoparticles on free amino acids content and antioxidant defense system of tomato plants, *Indian Journal of Plant Physiology*, 20(3), 257-263p.
- Mehta, C.M., Srivastava, R., Arora, S., and Sharma, A.K.**, 2016, Impact assessment of silver nanoparticles on plant growth and soil bacterial diversity, *3 Biotech*, 6(2), 1-10p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Merinero, M., Alcudia, A., Begines, B., Martínez, G., Martín-Valero, M.J., Pérez-Romero, J.A., Mateos-Naranjo, E., Redondo-Gómez, S., Navarro-Torre, S., Torres, Y., and Merchán, F.,** 2022, Assessing the Biofortification of Wheat Plants by Combining a Plant Growth-Promoting Rhizobacterium (PGPR) and Polymeric Fe-Nanoparticles: Allies or Enemies?, *Agronomy*, 12(1), 228p.
- Mhamdi, A., and Van Breusegem, F.,** 2018, Reactive oxygen species in plant development. *Development*, 145(15), 164376p.
- Mirzajani, F., Askari, H., Hamzelou, S., Schober, Y., Römpp, A., Ghassempour, A., and Spengler, B.,** 2014, Proteomics study of silver nanoparticles toxicity on *Oryza sativa* L., *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 108, 335-339p.
- Mishra, S., Singh, B.R., Singh, A., Keswani, C., Naqvi, A.H., and Singh, H.B.,** 2014, Biofabricated silver nanoparticles act as a strong fungicide against *Bipolaris sorokiniana* causing spot blotch disease in wheat, *PLoS One*, 9(5), e97881p.
- Mitragotri, S., and Stayton, P.,** 2014, Organic nanoparticles for drug delivery and imaging, *Mrs Bulletin*, 39(3), 219-223p.
- Montelione, G.T., Zheng, D., Huang, Y.J., Gunsalus, K.C., and Szyperski, T.,** 2000, Protein NMR spectroscopy in structural genomics, *Nature Structural Biology*, 7(11), 982-985p.
- Mu, L., and Sprando, R.L.,** 2010, Application of nanotechnology in cosmetics, *Pharmaceutical Research*, 27(8), 1746-1749p.
- Mukhopadhyay, S.S.,** 2014, Nanotechnology in agriculture: prospects and constraints, *Nanotechnology, Science and Applications*, 7, 63p.
- Mustafa, G., Sakata, K., and Komatsu, S.,** 2015, Proteomic analysis of flooded soybean root exposed to aluminum oxide nanoparticles, *Journal of Proteomics*, 128, 280-297p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Muthu, K., and Priya, S.**, 2017, Green synthesis, characterization and catalytic activity of silver nanoparticles using *Cassia auriculata* flower extract separated fraction, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 179, 66-72p.
- Nair, P.M.G., and Chung, I.M.**, 2015, Physiological and molecular level studies on the toxicity of silver nanoparticles in germinating seedlings of mung bean (*Vigna radiata* L.), *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(1), 1-11p.
- National Nanotechnology Initiative (NNI).**, National Science and Technology Council. Committee on Technology, *Subcommittee on Nanoscale Science, National Technology Initiative Strategic Plan*, www.nano.gov (2011, accessed 25 August 2015).
- Ovais, M., Khalil, A.T., Islam, N.U., Ahmad, I., Ayaz, M., Saravanan, M., Shinwari, Z.K., and Mukherjee, S.**, 2018, Role of plant phytochemicals and microbial enzymes in biosynthesis of metallic nanoparticles, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(16), 6799-6814p.
- Padman, A. J., Henderson, J., Hodgson, S., and Rahman, P.K.**, 2014, Biomediated synthesis of silver nanoparticles using *Exiguobacterium mexicanum*, *Biotechnology Letters*, 36(10), 2079-2084p.
- Pan, K., and Zhong, Q.**, 2016, Organic nanoparticles in foods: fabrication, characterization, and utilization, *The Annual Review of Food Science and Technology*, 7(1), 245-266p
- Pandey, G., and Jain, P.**, 2020, Assessing the nanotechnology on the grounds of costs, benefits, and risks, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(1), 1-10p.
- Pandey, P., and Dahiya, M.**, 2016, A brief review on inorganic nanoparticles. *Journal of Critical Reviews*, 3(3), 18-26p.
- Park, C.M., Heo, J., and Yoon, Y.**, 2017, Oxidative degradation of bisphenol A and 17 α -ethinyl estradiol by Fenton-like activity of silver nanoparticles in aqueous solution, *Chemosphere*, 168, 617-622p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Pavela, R., Murugan, K., Canale, A., and Benelli, G.,** 2017, *Saponaria officinalis*-synthesized silver nanocrystals as effective biopesticides and oviposition inhibitors against *Tetranychus urticae* Koch, *Industrial Crops and Products*, 97, 338-344p.
- Peharec Štefanić, P., Jarnević, M., Cvjetko, P., Biba, R., Šikić, S., Tkalec, M., Cindrić, M., Letofsky-Papst, I., and Balen, B.,** 2019, Comparative proteomic study of phytotoxic effects of silver nanoparticles and silver ions on tobacco plants, *Environmental Science and Pollution Research*, 26(22), 22529-22550p.
- Peighambardoust, S.J., Peighambardoust, S.H., Pournasir, N., and Pakdel, P.M.,** 2019, Properties of active starch-based films incorporating a combination of Ag, ZnO and CuO nanoparticles for potential use in food packaging applications, *Food packaging and shelf Life*, 22, 100420p.
- Peniche, H., and Peniche, C.,** 2011, Chitosan nanoparticles: a contribution to nanomedicine, *Polymer International*, 60(6), 883-889p.
- Phogat, N., Ali Khan, S., Shankar, S., A Ansary, A., and Uddin, I.** 2016, Fate of inorganic nanoparticles in agriculture, *Advanced Materials Letters*, 7(1), 3-12p.
- Rai, M., and Ingle, A.,** 2012, Role of nanotechnology in agriculture with special reference to management of insect pests, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(2), 287-293p.
- Raliya, R., Tarafdar, J.C., Choudhary, K., Mal, P., Raturi, A., Gautam, R., and Singh, S.K.,** 2014, Synthesis of MgO nanoparticles using *Aspergillus tubingensis* TFR-3, *Journal of Bionanoscience*, 8(1), 34-38p.
- Rao, K.J., and Paria, S.,** 2015, Aegle marmelos leaf extract and plant surfactants mediated green synthesis of Au and Ag nanoparticles by optimizing process parameters using Taguchi method, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 3(3), 483-491p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Rao, Y.S., Kotakadi, V.S., Prasad, T.N.V.K.V., Reddy, A.V., and Gopal, D.S.,** 2013, Green synthesis and spectral characterization of silver nanoparticles from Lakshmi tulasi (*Ocimum sanctum*) leaf extract, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 103, 156-159p.
- Rastogi, A., Zivcak, M., Sytar, O., Kalaji, H.M., He, X., Mbarki, S., and Brestic, M.,** 2017, Impact of metal and metal oxide nanoparticles on plant: a critical review, *Frontiers in Chemistry*, 5, 78p.
- Rizwan, M., Ali, S., Ali, B., Adrees, M., Arshad, M., Hussain, A., ur Rehman, M.Z., and Waris, A.A.,** 2019, Zinc and iron oxide nanoparticles improved the plant growth and reduced the oxidative stress and cadmium concentration in wheat, *Chemosphere*, 214, 269-277p.
- Rizwan, M., Noureen, S., Ali, S., Anwar, S., Qayyum, M.F., and Hussain, A.,** 2019, Influence of biochar amendment and foliar application of iron oxide nanoparticles on growth, photosynthesis, and cadmium accumulation in rice biomass, *Journal of Soils and Sediments*, 19(11), 3749-3759p.
- Rostamizadeh, E., Iranbakhsh, A., Majd, A., Arbabian, S., and Mehregan, I.,** 2021, Physiological and molecular responses of wheat following the foliar application of Iron Oxide nanoparticles, *International Journal of Nano Dimension*, 12(2), 128-134p.
- Rout, G.R., and Sahoo, S.,** 2015, Role of iron in plant growth and metabolism, *Reviews in Agricultural Science*, 3, 1-24p.
- Roy, A., Kucukural, A., and Zhang, Y.,** 2010, I-TASSER: a unified platform for automated protein structure and function prediction, *Nature Protocols*, 5(4), 725-738p.
- Roy, A., Singh, V., Sharma, S., Ali, D., Azad, A.K., Kumar, G., and Emran, T.B.** 2022, Antibacterial and Dye Degradation Activity of Green Synthesized Iron Nanoparticles, *Journal of Nanomaterials*, 2022.
- Ruttkay-Nedecky, B., Krystofova, O., Nejdl, L., and Adam, V.,** 2017, Nanoparticles based on essential metals and their phytotoxicity, *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 1-19p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Sadak, M.S.**, 2019, Impact of silver nanoparticles on plant growth, some biochemical aspects, and yield of fenugreek plant (*Trigonella foenum-graecum*), *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 1-6p.
- Salachna, P., Byczyńska, A., Zawadzińska, A., Piechocki, R., and Mizielińska, M.**, 2019, Stimulatory effect of silver nanoparticles on the growth and flowering of potted oriental lilies, *Agronomy*, 9(10), 610p.
- Salari, M.**, 2022, Applications of nanotechnology in construction: A Short Review, *Advances in Applied NanoBio-Technologies*, 3(1), 82-86p.
- Sanger, F., and Thompson, E.O.P.**, 1953, The amino-acid sequence in the glycyl chain of insulin. 1. The identification of lower peptides from partial hydrolysates, *Biochemical Journal*, 53(3), 353p.
- Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A.R.**, 1977, DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proceedings of The National Academy of Sciences*, 74(12), 5463-5467p.
- Sawati, L., Ferrari, E., Stierhof, Y.D., Kemmerling, B., and Mashwani, Z.U.**, 2022, Molecular Effects of Biogenic Zinc Nanoparticles on the Growth and Development of *Brassica napus* L. Revealed by Proteomics and Transcriptomics, *Frontiers in Plant Science*, 13, 798751-798751p.
- Senthilkumar, S.R., and Sivakumar, T.**, 2014, Green tea (*Camellia sinensis*) mediated synthesis of zinc oxide (ZnO) nanoparticles and studies on their antimicrobial activities, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6), 461-465p.
- Shaikhaldein, H.O., Al-Qurainy, F., Nadeem, M., Khan, S., Tarroum, M., and Salih, A.M.**, 2020, Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using *Ochradenus arabicus* and their physiological effect on *Maerua oblongifolia* raised in vitro, *Scientific Reports*, 10(1), 1-8p.
- Shankar, T., Karthiga, P., Swarnalatha, K., and Rajkumar, K.**, 2017, Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum frutescence* and its intensified activity against *E. coli*, *Resource-Efficient Technologies*, 3(3), 303-308p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Shankramma, K., Yallappa, S., Shivanna, M.B., and Manjanna, J.**, 2016, Fe₂O₃ magnetic nanoparticles to enhance *S. lycopersicum* (tomato) plant growth and their biomineralization, *Applied Nanoscience*, 6(7), 983-990p.
- Sharma, P., Bhatt, D., Zaidi, M. G. H., Saradhi, P.P., Khanna, P.K., and Arora, S.**, 2012, Silver nanoparticle-mediated enhancement in growth and antioxidant status of *Brassica juncea*, *Applied Biochemistry And Biotechnology*, 167(8), 2225-2233p.
- Shavalibor, A., and Esmailzadeh Bahabadi, S.**, 2021, Effect of biologically synthesized silver nanoparticles on *Melissa officinalis* L.: Evaluation of growth parameters, secondary metabolites and antioxidant enzymes, *Iranian Journal of Plant Physiology*, 11(4), 3799-3809p.
- Shi, W., Zhan, C., Ignatov, A., Manjasetty, B.A., Marinkovic, N., Sullivan, M., Huang, R., and Chance, M.R.**, 2005, Metalloproteomics: high-throughput structural and functional annotation of proteins in structural genomics, *Structure*, 13(10), 1473-1486p.
- Shiio, Y., and Aebersold, R.**, 2006, Quantitative proteome analysis using isotope-coded affinity tags and mass spectrometry, *Nature Protocols*, 1(1), 139-145p.
- Siji, S., Njana, J., Amrita, P.J., Raj, A., Vishnudasan, D., and Manoj, P.K.**, 2017, Green synthesized iron nanoparticles and its uptake in *Pennisetum glaucum*—A nanonutrimomics approach, In *2017 International Conference on Technological Advancements in Power and Energy (TAP Energy)*, IEEE, 1-8p.
- Simonet, B.M., and Valcárcel, M.**, 2009, Monitoring nanoparticles in the environment, *Analytical and bioanalytical chemistry*, 393(1), 17-21p.
- Sirdeshpande, K.D., Sridhar, A., Cholkar, K.M., and Selvaraj, R.**, 2018, Structural characterization of mesoporous magnetite nanoparticles synthesized using the leaf extract of *Calliandra haematocephala* and their photocatalytic degradation of malachite green dye, *Applied Nanoscience*, 8(4), 675-683p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Skorzynska-Polit, E.**, 2007, Lipid peroxidation in plant cells, its physiological role and changes under heavy metal stress, *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 76(1)p.
- Smyth, M.S., and Martin, J.H.J.**, 2000, x Ray crystallography, *Molecular Pathology*, 53(1), 8p.
- Syu, Y.Y., Hung, J.H., Chen, J.C., and Chuang, H.W.**, 2014, Impacts of size and shape of silver nanoparticles on Arabidopsis plant growth and gene expression, *Plant Physiology and Biochemistry*, 83, 57-64p.
- Tamil Elakkiya, V., Meenakshi, R.V., Senthil Kumar, P., Karthik, V., Ravi Shankar, K., Sureshkumar, P., and Hanan, A.**, 2022, Green synthesis of copper nanoparticles using *Sesbania aculeata* to enhance the plant growth and antimicrobial activities, *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(3), 1313-1322p.
- Templin, M.F., Stoll,D., Schrenk, M., Traub, P.C., Vöhringer, C.F., and Joos, T.O.**, 2002, Protein microarray technology, *Drug Discovery Today*, 7(15), 815-822p.
- Taniguchi, N.**, 1974, On the basic concept of nanotechnology, *Proceeding of the ICPE*.
- Türkiye İstatistik Kurumu**, 2017, <https://tuik.gov.tr>, (Erişim tarihi 27 Ocak 2019).
- Umami, A. S., and Siddiquee, S.**, 2019, Nanotechnology applications in food: opportunities and challenges in food industry, *Nanotechnology: Applications in Energy, Drug and Food*, 295-308p.
- UniProt Consortium.**, 2015, UniProt: a hub for protein information, *Nucleic Acids Research*, 43(D1), D204-D212p.
- Usman, M., Farooq, M., Wakeel, A., Nawaz, A., Cheema, S.A., ur Rehman, H., Ashraf, I., and Sanaullah, M.**, 2020, Nanotechnology in agriculture: Current status, challenges and future opportunities, *Science of the Total Environment*, 721, 137778p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Vannini, C., Domingo, G., Onelli, E., De Mattia, F., Bruni, I., Marsoni, M., and Bracale, M.,** 2014, Phytotoxic and genotoxic effects of silver nanoparticles exposure on germinating wheat seedlings, *Journal of plant physiology*, 171(13), 1142-1148 pp.
- Venkatachalam, P., Priyanka, N., Manikandan, K., Ganeshbabu, I., Indiraarulsevi, P., Geetha, N., Muralikrishna, K., Bhattacharya, R.C., Tiwari, M., Sharma, N.J.P.P.i and Sahi, S.V.,** 2017, Enhanced plant growth promoting role of phycomolecules coated zinc oxide nanoparticles with P supplementation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.), *Plant Physiology and Biochemistry*, 110, 118-127p.
- Verma, S.K., Sharma, A., Sandhu, P., Choudhary, N., Sharma, S., Acharya, V., and Akhter, Y.,** 2017, Proteome scale identification, classification and structural analysis of iron-binding proteins in bread wheat, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 170, 63-74p.
- Vidhu, V. K., and Philip, D.,** 2014, Spectroscopic, microscopic and catalytic properties of silver nanoparticles synthesized using *Saraca indica* flower, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 117, 102-108p.
- Vilhena, M.B., Franco, M.R., Schmidt, D., Carvalho, G., and Azevedo, R.A.,** 2015, Evaluation of protein extraction methods for enhanced proteomic analysis of tomato leaves and roots, *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 87, 1853-1863 p.
- Vuong, L.D., Luan, N.D.T., Ngoc, D.D.H., Anh, P.T., and Bao, V.V.Q.,** 2017, Green synthesis of silver nanoparticles from fresh leaf extract of *Centella asiatica* and their applications, *International Journal of Nanoscience*, 16(01), 1650018p.
- Walton, H.F.,** 1968, Ion-exchange chromatography, *Analytical Chemistry*, 40(5), 51-62p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L. and Lepore, R.,** 2018, SWISS-MODEL: homology modelling of protein structures and complexes, *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W296-W303p.
- Watson, J.D., and Crick, F.H.,** 1953, Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171(4356), 737-738p.
- Wei, Y., Fang, Z., Zheng, L., Tan, L., and Tsang, E.P.,** 2016, Green synthesis of Fe nanoparticles using *Citrus maxima* peels aqueous extracts, *Materials Letters*, 185, 384-386p.
- Wiederstein, M., and Sippl, M.J.,** 2007. ProSA-web: interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins, *Nucleic acids research*, 35(suppl_2), W407-W410p.
- Wilkins, M.R., Sanchez, J.C., Gooley, A.A., Appel, R.D., Humphery-Smith, I., Hochstrasser, D.F., and Williams, K.L.,** 1996, Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13(1), 19-50p.
- Yang, J., Cao, W., and Rui, Y.,** 2017, Interactions between nanoparticles and plants: phytotoxicity and defense mechanisms, *Journal of Plant Interactions*, 12(1), 158-169p.
- Yasmeen, F., Raja, N.I., Razzaq, A., and Komatsu, S.,** 2017, Proteomic and physiological analyses of wheat seeds exposed to copper and iron nanoparticles, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1865(1), 28-42p.
- Yoon, H., Kang, Y.G., Chang, Y.S., and Kim, J.H.,** 2019, Effects of zerovalent iron nanoparticles on photosynthesis and biochemical adaptation of soil-grown *Arabidopsis thaliana*, *Nanomaterials*, 9(11), 1543p.
- Yu, C.S., Chen, Y.C., Lu, C.H., and Hwang, J.K.,** 2006, Prediction of protein subcellular localization, *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 64(3), 643-651p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Yu, C.S., Cheng, C.W., Su, W.C., Chang, K.C., Huang, S.W., Hwang, J.K., and Lu, C.H.**, 2014, CELLO2GO: a web server for protein subCELLular LOcalization prediction with functional gene ontology annotation. *Plos One*, 9(6), e99368p.
- Yuan, J., Chen, Y., Li, H., Lu, J., Zhao, H., Liu, M., Nechitaylo, G.S., and Glushchenko, N.N.**, 2018, New insights into the cellular responses to iron nanoparticles in *Capsicum annuum*, *Scientific reports*, 8(1), 1-9p.
- Zhang, L., He, R., and Gu, H.C.**, 2006, Oleic acid coating on the monodisperse magnetite nanoparticles, *Applied Surface Science*, 253(5), 2611-2617p.
- Zhang, X.F., Liu, Z.G., Shen, W., and Gurunathan, S.**, 2016, Silver nanoparticles: synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1534p.
- Zhang, Y., Petibone, D., Xu, Y., Mahmood, M., Karmakar, A., Casciano, D., Ali, S., and Biris, A.S.**, 2014, Toxicity and efficacy of carbon nanotubes and graphene: the utility of carbon-based nanoparticles in nanomedicine, *Drug Metabolism Reviews*, 46(2), 232-246p.
- Zhao, P., El-kott, A., Ahmed, A.E., Khames, A., and Zein, M.A.**, 2021, Green synthesis of gold nanoparticles (Au NPs) using *Tribulus terrestris* extract: Investigation of its catalytic activity in the oxidation of sulfides to sulfoxides and study of its anti-acute leukemia activity, *Inorganic Chemistry Communications*, 131, 108781p.
- Zheng, H., Cooper, D.R., Porebski, P.J., Shabalin, I.G., Handing, K.B., and Minor, W.**, 2017, CheckMyMetal: a macromolecular metal-binding validation tool, *Acta Crystallographica Section D: Structural Biology*, 73(3), 223-233p.
- Zivic, F., Grujovic, N., Mitrovic, S., Ahad, I.U., and Brabazon, D.**, 2018, Characteristics and applications of silver nanoparticles, *Commercialization of nanotechnologies—a case study approach*, 227-273p.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim hayatımın her adımında yanımda olan, eşsiz önerileri, katkıları ve yol göstericiliğiyle gelişimime katkı sağlayan tez danışmanım Prof. Dr. Lale AKTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatın her alanında desteklerini hissettiğim ve ilerleme gücümün temel kaynağı olan değerli ailem Yahya KÜÇÜKÇOBANOĞLU ve Nihal KÜÇÜKÇOBANOĞLU'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Tez sürecim boyunca desteklerini esirgemeyen ve sürekli yanımda olan Tuğba BOZ'a teşekkür ederim. Tez çalışmalarında bana yardımcı olan Melisa AYIŞIĞI'na, Selin HASEKİ'ye, Tuğba ÖZTÜRK'e ve Beste TOTKANLI'ya teşekkür ederim.

Tez çalışması süresi boyunca desteklerini her zaman yanımda hissettiğim ve tez izleme komitemde çalışmaya ilişkin katkılarını esirgemeyen değerli Prof. Dr. Cemal ÜN'e ve değerli Prof. Dr. Bengi ERDAĞ'a teşekkür ederim.

Ayrıca, kısa dönem de olsa çalışma fırsatı bulduğum değerli hocam Prof. Dr. Figen ZİHNİOĞLU'na ve çalışma arkadaşım Araş. Gör. Kerem TOK'a teşekkürü borç bilirim.

Doktora tez çalışmama FDK-2019-21028 no'lu proje ile maddi destek sağlayan Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma yönetimine teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad-Soyad : Yiğit KÜÇÜKÇOBANOĞLU

EĞİTİM DURUMU

Doktora : Ege Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji
Bölümü (2016-devam ediyor)
Yüksek Lisans: Ege Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü / Biyoloji
Bölümü (2013-2016)
Lisans : Ege Üniversitesi / Fen Fakültesi/ Biyoloji Bölümü (2008
2013)
Lise : Hadımköy Örfi Çetinkaya Y.D.A Lisesi (2005-2007)

ÇALIŞMA GEÇMİŞİ

Staj : İstanbul Üniversitesi ÇAPA Tıp Fakültesi Biyokimya
(07.2012)
Bursiyer : YÖK 100/2000, Biyoinformatik bursiyeri (2017 2021)
Bursiyer : TÜBİTAK 2211-c Öncelikli alanlar bursiyeri (2019-
Devam ediyor)

YABANCI DİL

Türkçe : Anadil
İngilizce : İyi (Sınav YÖKDİL: 78,75/100)

ÖĞRETİM DENEYİMLERİ

2013-2021 : Bitki Fizyolojisi Laboratuvarı – Laboratuvar Sorumlusu
2013-2019 : Bitki Büyüme Fizyolojisi Laboratuvarı – Laboratuvar Sorumlusu
2014-2019 : Genel Biyoloji Laboratuvarı – Laboratuvar Asistanı
2013-2015 : Bitki Anatomisi Laboratuvarı – Laboratuvar Asistanı
2013-2014 : Sitoloji Laboratuvarı – Laboratuvar Asistanı

KURSLAR

05.2013 : ISO OHSAS 18001:2007 – İşçi sağlığı ve güvenliği
05.2013 : ISO 14001:2004 – Çevre yönetim sistemi
05.2013 : ISO 9001:2008 – Kalite yönetim sistemi
05.2013 : ISO 19001-İç denetçi-
05.2013 : ISO 22000:2005 HACCP – Gıda güvenliği yönetim sistemi
05.2016 : TS EN ISO: IEC 17025-2012 – Deney/Kalibrasyon Laboratuvarları için Genel Şartlar Eğitimi
05.2018 : GMP – İyi üretim uygulamaları
05.2018 : GLP – İyi laboratuvar uygulamaları
05.2018 : GHP – İyi hijyen uygulamaları
05.2018 : ISO 22716: 2007 Kozmetik iyi üretim uygulamaları- GMP

YAYINLAR

I. ULUSLARARASI

A. MAKALE

1. Aktas, L.Y., **Kucukcobanoglu, Y.**, Kayhan, C.T., Gulcemal, S., Akgol, S. 2019. Phe-Graft-Poly(HEMA) Polymeric Nanoparticle: A Promising Tool To Desing New Agrochemicals. *Comptes rendus de l'Académie bulgare des Sciences*, 72(1): 70-78
2. Ayisigi M., **Kucukcobanoglu Y.**, Cokislerel A., Yildiz Aktas L., 2020. Green synthesized silver nanoparticles for an effective control on soft rot disease pathogen *Pectobacterium carotovorum* and growth stimulation in pepper. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 26 (No 3) 2020, 574–584.
3. **Kucukcobanoglu Y.**, Ayisigi M., Haseki S., Aktas L.Y., 2021. *In situ* Green Synthesis of Cellulose based Silver Nanocomposite and its Catalytic Dye Removal Potential Against Methylene Blue. *Journal of Cluster Science*, 1-11

B. KİTAP

1. Aktaş, L.Y., **Kucukcobanoglu, Y.**, 2018. Nanomaterial Applications in Plant Sciences, In: *Nanomaterials: Fundamentals and Applications*, (Ed. Akgöl, S.). Book Series- 50th Year of Hacettepe University, Palme, Ankara-Turkey, pp. 127-139.

C. TAM METİN

1. Ayisigi M., **Kucukcobanoglu Y.**, Kocer Z. I., Cokislerel A., Yalcin T., Velikova V., Haseki S., Yildiz, Aktas L. 2019. Agricultural applications of green synthesized silver nanoparticles: The effects on photosynthetic photochemical efficiency. II. International Green Biotechnology Congress (IGBC) Proceedings Booklet.

II. ULUSAL

A. MAKALE

1. **Küçükçobanoğlu, Y.**, Aktaş, L.Y., 2018. Nanokompozit Kaynağı ve Uygulama Alanı Olarak Bitkiler. Marmara Fen Bilimleri Dergisi, 30(4): 429-436.

SUNUMLAR

I. SÖZLÜ SUNUMLAR

A. ULUSLARARASI

1. **Kucukcobanoglu, Y.**, Kayhan C. T., Akgol, S., Aktas, L. Y., Assessment of HEMA and HEMA-MAPA polymeric nanoparticles phytotoxicity on wheat (*Triticum aestivum* L.), 8th International Advanced Technologies Symposium, 19-21 October 2017 Fırat University, Elazığ, Turkey.
2. Aktas, L.Y., Ayisigi, M., **Kucukcobanoglu, Y.**, Yalçın, T. The antimicrobial effect of phytosynthesized silver nanoparticle against soft rot disease factor *Pectobacterium carotovorum*. International Agricultural, Biological & Life Science Conference (AGBIOL), 2-5 September 2018, Edirne, Turkey.
3. Ayisigi M., **Kucukcobanoglu Y.**, Kocer Z.I., Cokislere A., Yalcin T., Velikova V., Haseki S., Aktas, L.Y. Eco-friendly synthesized silver nanoparticle by *Laurus nobilis* leaf extract: Assessment of its antimicrobial, physiological, toxicological effects and potential agricultural applications. II. International Green Biotechnology Congress (IGBC), 9-11 September 2019, Istanbul, Turkey.
4. Aktas, L.Y., **Kucukcobanoglu Y.**, Ayisigi M., Haseki S., Ilbi H. Assessment of Seed Vigour of Nano-Primed Tomato Seeds by Green Synthesized Metal Nanoparticles. Seed Science and Archaeobotanical Research in Anatolia Symposium (SARA), 23-26 September 2019, Izmir, Turkey.

B. ULUSAL

1. **Küçükçobanoğlu Y.**, Ayışığı M., Haseki S., Aktaş L.Y., Selüloz/Gümüş Nanokompozitin *In Situ* Yeşil Sentezi ve Organik Boya Renk Gideriminde Katalitik Aktivitesi. 13. Ulusal Afinite Teknikleri Kongresi, 2019, İzmir, Türkiye.

II. POSTER SUNUMLARI

A. ULUSLARARASI

1. **Küçükçobanoğlu, Y.**, Aktaş, L.Y., Ural, F. Z., Türkcan Kayhan, C., Akgöl, S., Response of wheat seedlings exposed to polymeric nanoparticles, 9th National Affinity Techniques Symposium with International Contributions 6-9 September, 2015 Koycegiz, Mugla, Turkey.

KATILDIĞI EĞİTİMLER

1. Affinity Based Sensors Summer School, Hacettepe University, 7-8, June, 2017
2. 12th The International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics, (HIBIT), 17-19, October, 2019
3. Fascination of Plants Day, 18 May 2021

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

Microsoft Office

SPSS v24

MEGA X

Phyre2

Evolview v3