



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**NANOPLASTİK STRESİ ALTINDA
YETİŞTİRİLEN BUĞDAY (*TRITICUM
AESTIVUM*) KÖKLERİNDE BİOCHAR
UYGULAMASININ SU DURUMU,
ANTİOKSİDAN ENZİM/İZOZİM SİSTEMİ VE
LİPİD PEROKSİDASYON ÜZERİNE
ETKİLERİ
İshak TAŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

**Temmuz-2022
KONYA
Her Hakkı Saklıdır**

TEZ KABUL VE ONAYI

İshak TAŞ tarafından hazırlanan “Nanoplastik Stresi Altında Yetiştirilen Buğday (*Triticum aestivum*) Köklerinde Biochar Uygulamasının Su Durumu, Antioksidan Enzim/İzozim Sistemi ve Lipid Peroksidasyon Üzerine Etkileri” adlı tez çalışması 04/07/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY

.....

Danışman

Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI

.....

Üye

Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU

.....

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/.../20.. gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. İbrahim KALAYCI
FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İshak TAŞ

13/06/2022

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NANOPLASTİK STRESİ ALTINDA YETİŞTİRİLEN BUĞDAY (*Triticum aestivum*) KÖKLERİNDE BIOCHAR UYGULAMASININ SU DURUMU, ANTİOKSİDAN ENZİM/İZOZİM SİSTEMİ VE LİPİD PEROKSİDASYON ÜZERİNE ETKİLERİ

İshak TAŞ

**Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı**

Danışman: Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI

2022, 93 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI

Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY

Doç. Dr. Ali Tefvik UNCU

Çalışmamızda buğday köklerine 7 gün süresince eş zamanlı olarak bir mikroplastik tipi olan poli(metil metasirilat) (PMMA, 100 ve 200 mgL⁻¹) ve biochar (BC, 1, 3, 5 g L⁻¹) uygulamaları yapılmıştır. PMMA toksisitesinin BC tarafından ortadan kaldırılıp kaldırılmadığına dair değerlendirmeyi yapabilmek için, buğday (*Triticum aestivum*) köklerinde fizyolojik (bağıl su içeriği, RWC) ve biyokimyasal (antioksidan aktivitesi, ROS birikimi, prolin miktarı ve lipid peroksidasyon düzeyi) analizleri yapılmıştır. Çalışmamızda PMMA uygulanan gruplarda bağıl su içeriğinde azalma izlenirken, proline miktarında artış gözlenmiştir. PMMA buğday köklerinde stresi uyarmış ve radikal (reaktif oksijen türleri-ROS-hidrojen peroksit(H₂O₂)) birikimi artmıştır. Radikallerin ortadan kaldırılmasında etkili olan antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT ve POX -PMMA2 dışında-) herhangi bir artış gözlenmemiştir. Bu nedenle PMMA uygulanan köklerde TBARS düzeyi artmıştır. Diğer yandan, PMMA ile birlikte uygulanan BC, RWC değerlerini iyileştirmiştir. PMMA stresi ile uyarılan H₂O₂ miktarı, BC ve stres uygulamalarında artan CAT ve POX aktiviteleriyle süpürülmüştür. Bunun sonucu olarak köklerde TBARS miktarı azalmıştır. Tüm sonuçlarımız değerlendirildiğinde önemli bir çevresel sorun olan PMMA toksisitesinin BC eklenmesiyle ortadan kaldırılabilceği sonucuna varılabilir.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan sistem; biochar; lipid peroksidasyonu; poli(metil metasirilat); *Triticum aestivum*

ABSTRACT

MS THESIS

EFFECTS OF BIOCHAR APPLICATION ON WATER STATUS, ANTIOXIDANT ENZYME/ISOZYME SYSTEM AND LIPID PEROXIDATION IN WHEAT (*Triticum aestivum*) ROOTS GROWN UNDER NANOPLASTIC STRESS

Ishak TAS

THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
NECMETTIN ERBAKAN UNIVERSITY

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ceyda OZFIDAN KONAKCI

2022, 93 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Ceyda OZFIDAN KONAKCI

Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY

Assoc. Prof. Dr. Ali Tevfik UNCU

In our study, a microplastic type of poly(methyl methacrylate) (PMMA, 100 and 200 mgL⁻¹) and biochar (BC, 1, 3, 5 g L⁻¹) were applied simultaneously to wheat roots for 7 days. In order to evaluate whether PMMA toxicity is abolished by BC, physiological (relative water content, RWC) and biochemical (antioxidant activity, ROS accumulation, proline amount and lipid peroxidation level) analyzes were performed on wheat roots. In our study, while a decrease was observed in the relative water content in the PMMA-treated groups, an increase in the amount of proline was observed. PMMA induced stress in wheat roots and radical (reactive oxygen species-ROS-hydrogen peroxide(H₂O₂)) accumulation increased. No increase was observed in antioxidant enzyme activities (except SOD, CAT and POX -except for PMMA2), which are effective in eliminating radicals. Therefore, TBARS level increased in roots treated with PMMA. On the other hand, BC applied with PMMA improved RWC values. The amount of H₂O₂ induced by PMMA stress was swept away by increased CAT and POX activities in BC and stress applications. As a result, the amount of TBARS in the roots decreased. When all our results are evaluated, it can be concluded that PMMA toxicity, which is an important environmental problem, can be eliminated by adding BC.

Keywords: Antioxidant system; biochar; lipid peroxidation; poly(methyl methacrylate); *Triticum aestivum*

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, pandeminin başından sonuna kadar desteğini ve ilgisini eksik etmeyen, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Doç. Dr. Ceyda ÖZFİDAN KONAKÇI'ya teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum.

Tezin denemelerinin kurulmasında ve analizlerin yürütülmesinde engin bilgilerinden yararlandığım Prof. Dr. Evren YILDIZTUGAY'a, laboratuvar çalışmalarında desteklerini gördüğüm Arş. Gör. Büşra ARIKAN'a ve Arş. Gör. Fatma Nur ALP'e, Rümeysa EKİM ve Çağrı GÜLENTÜRK'e teşekkürlerimi sunuyorum.

İshak TAŞ
KONYA-2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Plastikten Mikro ve Nanoplastik dönüşümü	3
2.1.1. Mikroplastik / Nanoplastik Oluşumu.....	6
2.1.2. Mikroplastiklerin ve Nanoplastiklerin Tespit Yöntemleri.....	8
2.1.3. Nanoplastik / Mikroplastiklerin Topraktaki Etkisi	11
2.1.4. Bitkide MP/NP'lerin Kökten Yapraklara Taşınımı	16
2.1.5. Mikroplastik / Nanoplastiklerin Bitkilerde Topraktan Alınması ve Dağılımı	18
2.1.6. Bitkiler Tarafından Plastik Alımını Etkileyen Faktörler	19
2.2. Nanoplastik/Mikroplastiklerin Bitki Üzerindeki Etkileri	20
2.3. Enzimatik olan Antioksidan Savunma Sistemi.....	23
2.4. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Sistemi.....	26
2.5. Biochar.....	27
2.5.1. Biochar Üretimi ve özellikleri	28
2.5.2. Biocharın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri	30
2.5.3. Biocharın bitki üzerine etkisi	31
2.6. Bitki materyali: Buğday	33
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	35
3.1. Buğday tohumların temin edilmesi ve tohum sterilizasyonu.....	35
3.2. Deneme Grupları ve deneme dizaynının belirlenmesi.....	35
3.4. Enzim ve izozim aktivitelerinin saptanması için kloroplast izolasyonu.....	37
3.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD) izozim/enzim aktivitesinin saptanması.....	37
3.4.2. Katalaz (CAT) izozim/enzim aktivitesinin saptanması	37
3.4.3. Peroksidaz (POX) izozim/enzim aktivitesinin saptanması	38
3.5. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarının saptanması	38

3.5.1. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarının saptanması.....	38
3.6. Lipit peroksidasyonun saptanması.....	38
3.7. Prolin miktarının saptanması	39
3.8. Total protein miktarının saptanması	39
3.9. İstatistiksel Analizler	39
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	40
4.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının bağıl su içeriği üzerine etkisi.....	40
4.2. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının antioksidan enzim/izozim profillemesinde oluşan değişimler.....	42
4.2.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının total SOD enzim/izozim aktivitesi üzerine etkisi.....	42
4.2.2. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının total CAT enzim/izozim aktivitesi üzerine etkisi.....	44
4.2.3. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının total POX enzim/izozim aktivitesi üzerine etkisi.....	46
4.3. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarının belirlenmesi	48
4.3.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarı üzerine etkisi	48
4.4. Lipit Peroksidasyonun Belirlenmesi.....	50
4.4.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının TBARS miktarı üzerine etkisi	50
4.5. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının prolin miktarı üzerine etkisi	52
4.6. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının protein miktarı üzerine etkisi	53
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	55
5.1 Sonuçlar	55
5.2 Öneriler	57
6. KAYNAKLAR	58
ÖZGEÇMİŞ	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

APX	Askorbat peroksidaz
AsA	Askorbik asit
ASH-GSH	Askorbat-Glutatyon
ATR	Zayıflatılmış toplam yansıma
C	Organik karbon
CA	Kromozomal anormallik
CAT	Katalaz
CEC	Katyon değişim kapasitesi
Ci	Hücreler arası CO ₂ konsantrasyonu
CO ₂	Karbon dioksit
Cu	Bakır
DHA	Dehidroaskorbik asit
DHAR	Dehidroaskorbat redüktaz
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
EC	Elektrik iletkenliği
EDS	Enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi
ETR	Elektron taşıma hızı
Fe	Demir
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi
Fv/Fm	Fotosistem II'nin elektron taşıma aktivitesi
GPx	Glutatyon peroksidaz
GR	Glutatyon redüktaz
Gs	Stoma iletkenliği
GSH	Glutatyon
GSSH	Oksitlenmiş glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
H ₂ O	Su
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
HC	Hidrolik iletkenlik
HDPE	Yüksek yoğunluklu polietilen
IAA	İndol asetik asit
IR	Kızılötesi
LDPE	Düşük yoğunluklu polietilen
MDA	Malondialdehit
MDHA	Monodehidroaskorbik asit
MDHAR	Monodehidroaskorbat redüktaz
MF	Mikrofiber
Mn	Manganez
MNP	Mikronano plastik
MP	Mikroplastik
NA	Nükleer anormallikler
NaCl	Sodyum klorür
NaI	Sodyum iyodür
NP	Nanoplastik

NR	Nil kırmızısı
P	Fosfor
PA	Poliamid
PE	Polietilen
PES	Poliester
PLA	Polilaktik Asit
PMMA	Polimetilmetakrilat
Pn	Fotosentez hızı
POX/POD	Peroksidaz
PS	Polistiren
PVC	Polivinil klorür
Py-GC-MS	Piroliz-gaz kromatografisi
ROOH	Hidroperoksit
ROS/ROT	Reaktif oksijen türü
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SOC	Toprak organik karbonu
SOD	Süperoksit dismutaz
TGA	Termogravimetri
TN	Toplam Azot
Tr	Geçici terleme hızı
Zn	Çinko
ZnCl ₂	Çinko klorür

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Mikroplastiklerin/nanoplastiklerin kaynağı ve taşınması. Kırmızı ok kaynağı, mor ok ise taşıma yolunu temsil eder.....	4
Şekil 2.2. Plastiklerin çevre ile etkileşimi.....	5
Şekil 2.3. MP'lerin bitkilerin büyümesini etkileyen toprağın fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkileri.....	14
Şekil 2.4. Bitkiler tarafından MP/NP alımının olası mekanizmaları.....	17
Şekil 2.5. MP/NP'lerin bitkiye alımı ve sonrasındaki hareketleri.....	19
Şekil 2.6. NP/MP'lerin Bitki Büyümesi ve Tohumu Üzerine Etkisi.....	21
Şekil 2.7. MP'lerin/NP'lerin fotosentez üzerindeki ve diğer etkileri.....	25
Şekil 2.8. ROS'ların üretim yerleri.....	27
Şekil 4.1. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının bağıl su içeriği (RWC) üzerine etkisi.....	41
Şekil 4.2. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının total SOD aktivitesi ve SOD izozimlerinin band yoğunluğu üzerine etkisi	44
Şekil 4.3. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının total CAT aktivitesi ve CAT izozimlerinin bant yoğunluğu üzerine etkisi.....	46
Şekil 4.4. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının total POX aktivitesi ve POX izozimlerinin band yoğunluğu üzerine etkisi.....	48
Şekil 4.5. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının H ₂ O ₂ miktarı üzerine etkisi.....	50
Şekil 4.6. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının TBARS (tiobarbiturik asit maddeleri) miktarı üzerine etkisi.....	52
Şekil 4.7. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının prolin miktarı üzerine etkisi.....	53
Şekil 4.8. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L ⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L ⁻¹) uygulamasının total protein miktarı üzerine etkisi.....	55

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Çevredeki plastik döküntülerin sınıflandırılması (GESAMP (2015)).....	6
Çizelge 2.2. Mikroplastiklerin tespit teknikleri.....	11
Çizelge 3.1. Tezde kullanılan uygulama grupları ve tanımları.....	36

1. GİRİŞ

Plastikler, esas olarak petrolden elde edilen sentetik polimerlerdir. Plastik üretim oranları, atık üretimi ve kirlilik oranlarında olduğu gibi son on yılda istikrarlı bir şekilde artmıştır (Geyer ve ark., 2017; Jambeck ve ark., 2015). Hafif, düşük maliyetli bir ürün olan plastik aynı zamanda esnek, dayanıklı ve kolayca taşınabilir ve bu nedenle modern yaşamın her yerinde bulunur. Plastiğin uzun ömürlü olması aynı zamanda çevrede birikme sebebidir. Genel olarak, dünya çapında plastik üretimi yaklaşık 6300 milyon ton olup, bunun %79'u çöplüklerde ve diğer ekolojik segmentlerde depolanmaktadır (Geyer ve ark., 2017). Plastik günlük hayatımızın bir parçasıdır; yılda yaklaşık 4 trilyon plastik torba kullanılmakta ve her dakika 1 milyon plastik şişe tüketilmektedir (Barcelo, 2020). Bu plastik torbalar veya şişeler ~12 dakika kullanılır ve parçalanması yıllar alır (Chamas ve ark., 2020). Yetkisiz boşaltma ve yetersiz atık yönetimi, çevresel plastiklerin salınımına yol açar ve plastikler farklı çevresel matrislerde kolayca birikebilen uzun bir çevresel ömre sahiptir (Li ve ark., 2016). Plastik çöp, yavaş yavaş mikro (<5 mm) ve nano boyutlu parçacıklara (<1000 nm) parçalanmış şişeler veya ambalajlar gibi makroplastikler olarak başlar . Bu tür küçük parçacıklar birçok ekosistemde hızla dağılabilir (De Souza Machado ve ark., 2019).

Geçtiğimiz altmış yılda plastikler, çok çeşitli özelliklere, kimyasal bileşimlere ve uygulamalara sahip temel ve çok yönlü bir ürün haline geldi. Bununla birlikte, plastiklerin seri üretimi ve üretilen plastik parçacıkların salınması çevre için büyük bir tehdittir (Rochman ve ark., 2013; GESAMP, 2016). Özellikle toprak ortamındaki plastik kirliliği, toprak organizmalarını ve bitkileri olumsuz etkiler (Sepúlveda ve ark., 2010). Plastik, plastik paketleme, atık su arıtma tesisleri, atmosferik çökme ve günlük kullanım ürünleri dahil olmak üzere toprakta farklı şekillerde birikir. Tek kullanımlık plastik ürünlerin sayısız kullanımı, topraktaki MP'lerin (Mikroplastiklerin) ve NP'lerin (Nanoplastiklerin) ciddi birikimine sebep olur (Lambert ve Wagner, 2016).

Bitkide metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi etkileyen veya engelleyen, uygun olmayan herhangi bir durum veya madde stres olarak kabul edilir ve bitki toleransı ile yakından ilişkilidir (Özcan ve ark., 2001). Kuraklık, yüksek sıcaklık, tuzluluk, metal, pestisit ve toprak pH'sı gibi stres faktörleri bitkilerdeki tüm metabolizmayı olumsuz etkileyerek, ürün verimini, büyüme ve gelişmeyi sınırlandırmakta, hatta bitkiye öldürücü zararlar da verebilmektedir. Bitkiler bu durumda hayatta kalmayı sağlamak için çeşitli stratejilerle tepkiler oluşturmaktadır. Tüm bitki seviyelerinde stresin etkisinin

genellikle reaktif oksijen üretimi, büyüme ve fotosentezdeki azalma arasında bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (Özcan ve ark., 2001; Sankar ve ark., 2007).

Biochar, karbon açısından zengin bir organik malzeme, organik bir değişiklik ve yüksek sıcaklık ve düşük oksijen koşulları altında piroliz yoluyla biyokütleden elde edilen bir yan üründür. Biochar, temel olarak biyokütlenin (ahşap, gübre veya yapraklar gibi) tamamen veya neredeyse tamamen oksijen yokluğunda, yan ürünler olarak petrol ve gaz ile ısıtılmasını içeren piroliz adı verilen bir işlemle üretilir. Ancak üretilen bu malzemelerin miktarı işleme koşullarına bağlıdır. Son zamanlarda, organik atıkların karbonizasyonundan elde edilen biocharün, yalnızca toprak karbonunun tutulmasını etkilemekle kalmayıp, aynı zamanda fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini de değiştiren bir ikame olabileceği bildirilmiştir (García ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017).

Biocharlı veya biocharsız ortamda yetiştirilen buğday köklerine sentezlenen nanoplastik uygulanarak köklerin gelişimi, büyümesi ve antioksidan savunma sistemi üzerine biocharın koruyucu rolü olup olmadığı fizyolojik ve biyokimyasal analizlerle belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla, köklere nanoplastik uygulamasının belli dönemlerinde örnekleme yapılarak köklerde hücre düzeyinde ROS miktarı (H_2O_2) ile SOD, CAT ve POX gibi antioksidan enzim ve izozim (Mn-SOD, Cu/Zn-SOD ve FeSOD) aktivite tayinleri ve total protein miktarı belirlenmiştir. Ayrıca bağlı su içeriği, lipid peroksidasyonu, prolin gibi fizyolojik ve biyokimyasal parametreler ölçülmüştür.

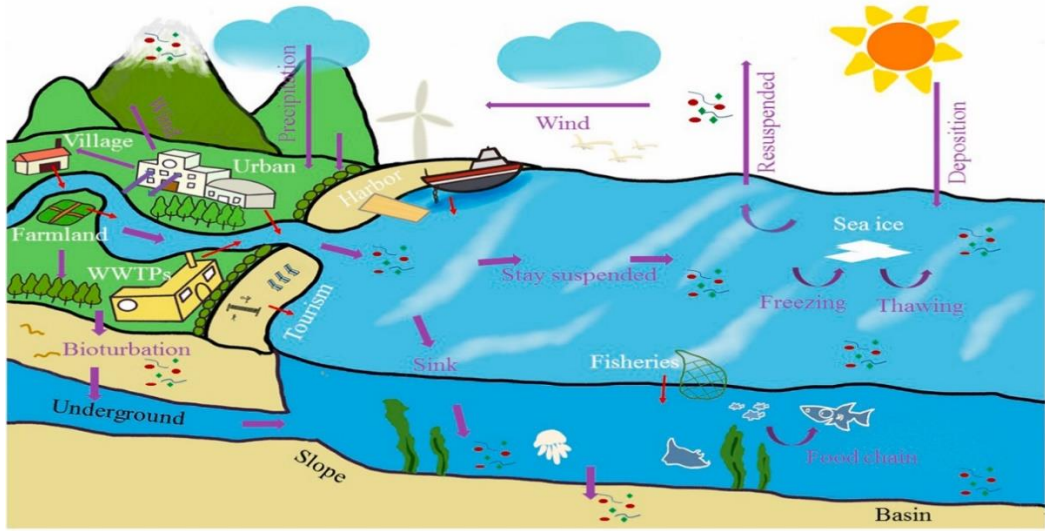
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Plastiklerin kimyasal stabilitesi, kalıcılığı, biyobirikimi nedeniyle, çevredeki plastik kirliliği sorunu giderek daha fazla öne çıkmaktadır (Barnes ve ark., 2009; Fossi ve ark., 2016; Hu ve ark., 2019; Shen ve ark., 2019). Şimdiye kadar, topraklarda (Zhang ve Liu, 2018), göllerde (Xiong ve ark., 2018), tortullarda (Abidli ve ark., 2018; Rodrigues ve ark., 2018; Wen ve ark., 2018), okyanuslarda (Keswani ve ark., 2016; Mendoza ve ark., 2018) ve hatta Antarktika (Munari ve ark., 2017) ve Arktik (Cózar ve ark., 2017; Peeken ve ark., 2018) gibi nadir insan faaliyetlerinin olduğu yerlerde tespit edilmişlerdir.

2.1. Plastikten Mikro ve Nanoplatik dönüşümü

Genel olarak plastikler iki kategoriye ayrılabilir: Kişisel bakım ürünlerindeki veya yüz temizleyicilerdeki MP'ler/NP'ler gibi doğrudan bu boyut aralığında üretilen birincil plastikler (Rochman ve ark., 2015; Hernandez ve ark., 2017). Daha büyük plastiklerin veya tarımsal plastik malç veya araba lastikleri gibi diğer ürünlerin ezilmesiyle üretilen ikincil plastikler (Huang ve ark., 2020a; Capolupo ve ark., 2020).

Su ortamındaki plastikler genellikle kara kaynaklarından, belediye drenaj ağlarından, balıkçılıktan, gemi inşasından ve turizmden gelir (Mattsson ve ark., 2015) Karasal ortamda, plastikler esas olarak tarımsal plastik film kaplamadan, kompost ve fazla çamur uygulamasından, atık suların sulanmasından ve araba lastiği döküntülerinden gelir (Kolomijeca ve ark., 2020). Atmosferdeyken, esas olarak sentetik liflerden (giysiler, yumuşak halılar ve perdeler gibi) veya kaplama malzemesinden türetilirler (Şekil 2.1) (Huang ve ark., 2020).



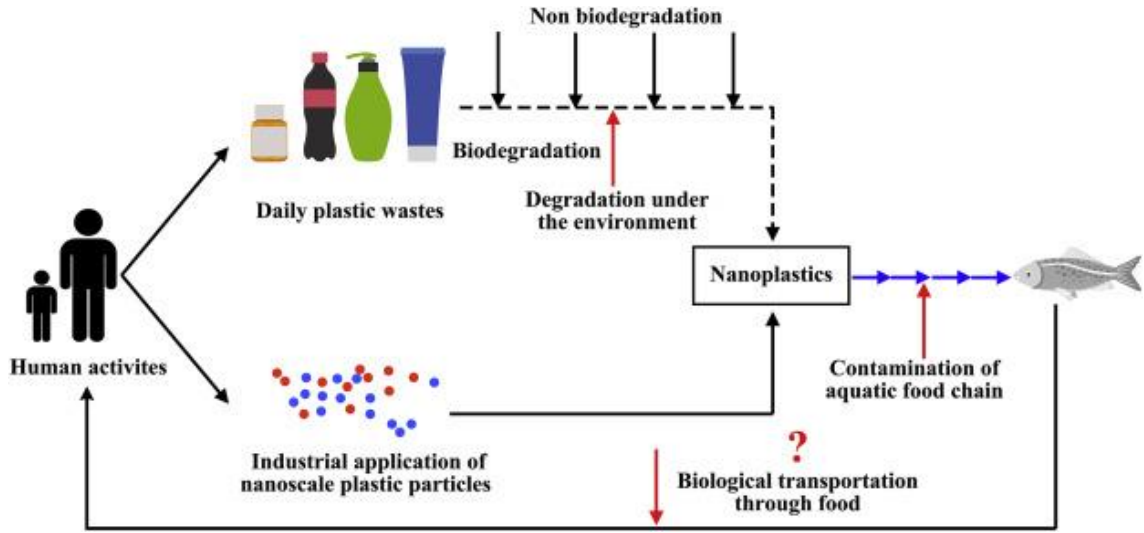
Şekil 2.1. Mikroplastiklerin/nanoplastiklerin kaynağı ve taşınması. Kırmızı ok kaynağı, mor ok ise taşıma yolunu temsil eder.

Çevreye girdikten sonra plastikler, dış basınç altında mikroplastiklere ve hatta nanoplastiklere dönüşebilir, bu da plastiğin orijinal özelliklerini, yapısını ve reaktivitesini değiştirecek ve araştırmayı daha karmaşık ve çeşitli hale getirecektir (Alimi ve ark., 2018). Plastikler hidroliz, oksidasyon, ışıkla bozunma, mekanik korozyon ve biyolojik bozunma gibi çeşitli işlemlerle bozunabilir (Alimi ve ark., 2018; Guo ve ark., 2020). Ultraviyole ışığa maruz kalmanın neden olduğu fotodegradasyon, plastik yüzey üzerinde daha fazla hidroksil fonksiyonel gruplar oluşturacak ve bu da plastiği kırılgan hale getirecek ve mekanik bozunma olasılığını artıracaktır (Mattsson ve ark., 2015, Ding ve ark., 2020). Zhu ve ark. (2020), mikroplastiklerin fotodegradasyon mekanizmasını araştırdı ve ışık ışımasından sonra birçok reaktif oksijen türünün (ROS/ROT) üretildiğini buldu.

Karasal ekosistem ile karşılaştırıldığında, deniz ortamındaki yüksek tuzluluk ve mikroorganizmaların etkileri nedeniyle plastik atıklar daha küçük plastik parçalara daha kolay ayrışır (Sudhakar ve ark., 2007; Watters ve ark., 2010). Bozunma mekanizması iki şekilde olabilir: biyolojik bozunma ve biyolojik olmayan bozunma. Plastiklerin termal bozunması ticari bir bozunma sürecidir ve çevrede oluşmaz. Fiziksel bozulma, büyük plastik atıkların parçalara ayrılmasının önemli bir sürecidir ve bu süreç esas olarak hava koşulları ve deniz dalgaları tarafından kontrol edilir. Bir bağ koparma reaksiyonu olan hidroliz plastiklerin su ortamında bozunmasına katkıda bulunan ve yüksek polimeri düşük polimere dönüştüren verimli bir işlemdir. Fotodegradasyon, çevrede plastik bozunmanın çok verimli, biyolojik olarak bozunmayan bir yöntemidir. Bu tür plastik bozunma, yapıyı bozar, yüksek polimerlerin mekanik özelliklerini değiştirir ve plastiklerin fiziksel-

kimyasal reaksiyonları ve mikroorganizmalarla etkileşimleri sırasında etkin yüzey alanını artırır (Nathalie ve ark., 2008).

Biyobozunma, plastik parçaları çevrede nanoplastiklere daha da bozan bir diğer önemli yoldur (Trishul ve Mukesh, 2010) (Şekil 2.2). Biyolojik bozunma sırasında plastikler genellikle bakterilerin dışında bozunur. Canlı mikroorganizmalar tarafından salgılanan hücre dışı enzimler, polimer zincirlerini parçalayabilir. Bu işlem, farklı yapıda daha küçük plastik parçacıklar üretir ve sonunda nanoplastikleri oluşturur. Nano-ölçekli seviyeye ulaşıldığında, spesifik yüzey alanı büyük ölçüde artacaktır. Örneğin, sıradan bir plastik torbanın (0.2 m^2) spesifik yüzey alanı, ortalama çapları 40 nm olan nanoplastik parçacıklara tamamen ayrıştıktan sonra 2600 m^2 olacaktır (Mattsson ve ark., 2015).



Şekil 2.2. Plastiklerin çevre ile etkileşimi

Nanoplastikler, kimyasal ve biyolojik kirleticilerin taşıyıcıları olarak işlev görebilir (Hodson ve ark., 2017; Koelmans ve ark., 2016; Lagana ve ark., 2019). Nanoplastikler, düşük polariteleri ve yüksek pürüzlü yüzey karakterleri nedeniyle kimyasal kirleticileri adsorbe edebilirler. Nanoplastiklerin yüzeyinde kimyasal kirleticilerin birikmesi, nanoplastiklerin her yerde bulunması nedeniyle organizmalar tarafından taşınma ve alım potansiyellerini artırır (Pittura ve ark., 2018).

2.1.1. Mikroplastik / Nanoplastik Oluşumu

Plastikler, işlenebilirliklerine göre termoplastikler ve termosetler olarak sınıflandırılabilir (PlasticsEurope, 2020). (Şeki 4) Potansiyel olarak polietilenin yerini alan bozunabilir plastikler, doğal polimerler ve sentetik polimerler olarak sıralanabilir (Sander, 2019). Mikroplastikler, kaynaklarına göre birincil ve ikincil MP'ler olarak sınıflandırılabilir (Cole ve ark., 2011). Birincil MP'ler, temel olarak endüstriyel üretim ve imalatla kullanılan hammaddelerin yanı sıra kişisel bakım ürünlerinde kullanılan mikro/nano boncukları ifade eder (Browne ve ark., 2011; Cole ve ark., 2011). İkincil MP'ler sentetik elyafları içerir (Browne ve ark., 2011), biyotik etkiler (toprak hayvanlarının yutma-atılım süreci) veya abiyotik çevre koşulları (örn., yüksek sıcaklık, Ultraviyole radyasyonu, toprak aşınması) nedeniyle büyük plastiklerden parçalanmış plastik parçalarıdır (Rillig, 2012).

Çevrede, çapları nanometre ile santimetre arasında değişen makroplastikler, mezoplastikler, mikroplastikler ve nanoplastikler dahil olmak üzere çevrede çeşitli plastik döküntü sınıfları vardır. (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Çevredeki plastik döküntülerin sınıflandırılması (GESAMP, 2015)

Sınıf	Boyut Aralıkları	Görülebilirlikleri	Yöntem	Boyut aralıkları
Makroplastikler	100–2,5 cm	çıplak göz	görsel sayma	>2,5 cm
Mezoplastikler	2,5–0,1 cm	çıplak göz veya optik mikroskop	Neuston ağları veya eleme	0,5–2,5 cm
Mikroplastikler	0,1 cm (1,000 µm)–1 µm	optik mikroskop	mikrofiltreler <1 µm ayırma	0,5 cm (5,000 µm)–1 µm
Manoplastikler	<1 µm	elektron mikroskobu	nanofiltreler	<1 µm

Mikroplastikler (MP'ler) kavramı ilk olarak Thompson (2004) tarafından parçacık boyutları <5 mm olan plastiklere atıfta bulunularak önerilmiştir (Arthur ve ark., 2008). Mikroplastikler, çapı 100 µm ile 5 mm arasında değişen plastik bileşenleridir (Allen ve ark., 2019; Frias ve Nash, 2019; Galloway ve ark., 2017); Nanoplastiklerin çapı <0,1 ile 1 µm arasındadır (Göpferich, 1996). Mikroplastikler arasında poliamid (PA), polistiren (PS), polivinil klorür (PVC), polietilen (PE) ve diğer değiştirilmiş formlar bulunur (He ve ark., 2018; Li ve ark., 2018). Bu MP'ler, çöplükler, endüstriyel emisyonlar, kentsel

ulaşım, mamul ürünler, amaşırhane/tekstil ve biyomedikal uygulamalar gibi çeşitli kaynaklardan gelmektedir. Birincil MP'ler endüstriyel ölçekte üretilir. İkincil MP'ler, mikrobiyal aktiviteler, fotodegradasyon ve mekanik kuvvetler nedeniyle ticari ürünlerin parçalanması süreciyle (Rezania ve ark., 2018) daha büyük plastiklerden ortaya çıkar (Gigault ve ark., 2018; Peng ve ark., 2020). Küçük partikül boyutları, büyük miktarları ve geniş dağılımları nedeniyle (Rillig, 2012), MP'ler toprak faunası tarafından yutulabilir (Huerta Lwanga ve ark., 2017; Maaß ve ark., 2017) veya toprak bitkileri tarafından adsorbe edilebilir (Jiang ve ark., 2019; Li ve ark., 2019; Rillig, 2012; Rillig ve Bonkowski, 2018), besin zincirinde birikime yol açabilir (Rillig, 2012). Ek olarak, MP'ler ayrıca adsorpsiyon özelliklerine sahiptir (Law ve Thompson, 2014) ve yüzeylerinde organik veya inorganik kirleticileri adsorbe edebilirler (Besseling ve ark., 2013; Hodson ve ark., 2017; Pascall ve ark., 2005; Velzeboer ve ark., 2014) ve spesifik mikroorganizmalarda gittikçe artarak zenginleşmekte (Foulon ve ark., 2016) ve ekosistem için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Scheurer ve Bigalke, 2018; Wright ve ark., 2013).

2.1.2. Mikroplastiklerin ve Nanoplastiklerin Tespit Yöntemleri

Toprakta MP'leri analiz etme prosedürleri benzerdir ve bu prosedürler ön arıtma, ayırma, tanımlama ve miktar tayinlerini içerir (He ve ark., 2021). Yoğunluk ayırma yöntemi, yüksek verimliliğe (>%90) sahip basit ve yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Flotasyon için kullanılan solüsyonlar H_2O (Su) , $ZnCl_2$ (Çinko klorür), NaI (Soydum iyodür) ve NaCl (Sodyum Klorür) içerir ve bunların her biri farklı tip ve boyutlarda MP'leri hedef alır. MP'leri ve toprak organik maddesini ayırma yöntemleri şunları içerir: asit işlemi, alkali işlemi, enzim sindirimi, oksidasyon ve elektrostatik ayırmadır (Blasing ve Amelung, 2018).

Stereomikroskop, boyutları yüzlerce mikron aralığında olan MP'lerin tanımlanması için kullanışlıdır ve yaygın olarak kullanılır. Stereomikroskop, MP'leri fiziksel görünümüne göre tanımlamak için kullanılır. Bu, diğer yöntemlerle daha da karakterize edilecek olan parçacıkların şeklinin, boyutunun ve renginin hızlı bir şekilde tanımlanmasına izin veren ilk hızlı tarama yöntemidir. Bu nedenle, stereomikroskopiye spektroskopi gibi diğer tekniklerle birleştirme ihtiyacı doğurur (Mariano ve ark., 2021). Stereomikroskop, stereoskopik görüş için gerekli olan iki görüntüyü elde etmek için numuneyi iki hafif farklı açıdan gözlemleyerek üç boyutlu analize izin verir. Bu nedenle, nesneleri esas olarak düşük büyütmede, tipik olarak 8 ila 50 kat arasında yansıyan ışık aracılığıyla gözlemlemek mümkündür (Mariano ve ark., 2021).

Bir diğer yöntem ise Floresan Mikroskobudur. Floresan Mikroskobu hem biyolojik numunelerin (hücreler, bakteriler, vb.) çalışmaları için hem de MP'ler için kullanılmıştır (Ettinger ve Wittmann, 2014; Prudent ve Raoult, 2019). Floresan mikroskobu, özellikle beyaz ve şeffaf plastikler için, doğuştan gelen floresan yayma yeteneklerine dayalı olarak MP'leri tanımlamak için yararlı bir stratejidir (Noren, 2008). Bu strateji, MP algılama hatasını azaltır ve görüntüleme ile birleştirildiğinde algılanan MP'lerin boyut sınırını düşürebilir. Farklı matrislerdeki MP'lerin tespiti, mikroskopi teknikleriyle floresan kürelerin nicelleştirilmesine de dayanabilir (Batel ve ark., 2018).

Taramalı elektron mikroskobu (SEM), MP'lerin morfolojik yüzey yapısı hakkında bilgi sağlayabilen ve yüzey durumunun yüksek çözünürlüklü görüntülerini üreten mikroskobik bir tekniktir. Ayrıca, EDS (Enerji Dağılımlı X-Işını Spektroskopisi) için dedektörlerle donatılabildiğinden numunelerin kimyasal bileşimi hakkında veri sağlayabilir. EDS, SEM'den ayrı bir teknik değil, gözlemcinin numunenin element analizi hakkında niteliksel ve niceliksel bilgi almasını sağlayan ek bir dedektördür. Bir elektron

mikroskobu katodu tarafından üretilen bir elektron ışınından oluşur. Birincil elektron ışını numunenin yüzeyine çarptığında, özellikle X-ışını olmak üzere birçok etkileşim üretilir. Bunlar, numuneyi karakterize eden elemanlar ve onların mekansal dağılımları hakkında veri verir. SEM, bir ızgara üzerinde numuneyi analiz etmek için bir STEM tutucu ile donatılabildiğinden, NP'lerin de karakterize edilmesini sağlayan çok yönlü bir araçtır (Mariano ve ark., 2021).

Kızılötesi spektroskopisi (IR spektroskopisi), kimyasal bağların incelenmesi için normalde malzeme karakterizasyonu alanında kullanılan bir absorpsiyon spektroskopik tekniktir. Raman spektroskopisi ile birlikte FTIR, MP'leri karakterize etmek için çok kullanılır (Lefebvre ve ark., 2019). Daha büyük partiküller (>500 nm), ATR-FTIR kullanılarak analiz edilebilir, ancak küçük partiküller, eşzamanlı bir görselleştirme, haritalama ve spektrum toplamaya izin veren mikro-FTIR gerektirir.

Raman spektroskopisi, radyasyon ve malzeme arasındaki etkileşime dayanan bir tekniktir. Bu teknik, moleküllerin titreşim hareketleriyle etkileşime giren ve bu spesifik atomik grupların karakteristiği olan dalga boylarında ışığın yeniden yayılmasına neden olan bir lazer radyasyonunu kullanır. Bu nedenle bir Raman spektrumu, gelen radyasyonun fotonları ile numuneyi oluşturan moleküller arasındaki esnek olmayan saçılma tarafından üretilir (Ribeiro-Claro ve ark., 2017). Raman spektroskopisi, FT-IR spektroskopisine göre birçok avantaj sunar. Malzemeyi etkileyebilecek farklı güçteki lazerler kullanılarak genel olarak azaltılmış numune hazırlama ile, herhangi bir kümelenme durumunda malzemelerin tahribatsız analizine izin verir ve analiz edilen malzemenin bir Raman spektrum karakteristiği oluşturur. Ayrıca, numunelerin kalınlığı ölçümde önemli değildir. Çözelti, gaz, film, yüzey, katılar ve tek kristallerdeki numunelerin analizi mümkündür (Araujo ve ark., 2018).

Farklı IR absorpsiyon veya Raman saçılma özelliklerinin yanı sıra, plastik polimerler termal kararlılıklarında da farklılık gösterir. MP'lerin termo-analitik tekniklerle tanımlanması, polimerlerin fiziksel ve kimyasal özelliklerindeki değişikliklerden yararlanır (Majewsky ve ark., 2016). Termal yöntemlerin geliştirilmesi, düşük çözünürlüklü MP'lerin ve kolayca çözilemeyen, ekstrakte edilemeyen veya hidrolize edilemeyen katkı maddelerinin karakterizasyonu için çok önemlidir.

DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre), bir numunede meydana gelen geçişlerle ilişkili sıcaklık ve ısı akışını, erime entalpilerini, polimerik malzemelerin cam geçişlerini ve kristalleşme kinetiğini ölçmek için kullanılabilen bir termal analiz tekniğidir. Bu tekniğin temel prensibi, kontrollü bir şekilde ısıtılarak veya soğutularak

malzeme hakkında bilgi elde etmektir. DSC, polimerik malzemelerin incelenmesi için yararlı bir tekniktir, ancak referans malzemeleri gerektirir. Aslında, çoğunlukla bilinen özelliklere sahip PE mikro boncuklar gibi birincil MP'lerin tanımlanması için kullanılır (Castaneda ve ark., 2014).

Termogravimetri (TGA), belirli bir sıcaklıkta numuneden kaybolan ağırlığı ölçerek, ancak bileşenlerin yapısını tanımlamadan numunenin kantitatif termal analizine izin veren başka bir klasik tekniktir. Bu analizden, grafikler (sıcaklığın fonksiyonu olarak kütle) termogravimetrik detayları elde etmek mümkündür. Polimerik malzemeler durumunda yaygın olarak kullanılan bir termal analiz tekniğidir. Plastik malzemelerin analizinde başarıyla uygulanan analitik tekniklerden biri de Py-GC-MS'dir (Piroliz – gaz kromatografisi'dir) . Karmaşık örneklerde en bol bulunan MP'leri aynı anda tanımlamak ve ölçmek için idealdir (Peñalver ve ark., 2020). NR (Nil Kırmızısı) boyama, MP'leri hızlı bir şekilde tanımlamak için yararlı bir tekniktir ve aynı zamanda, spektroskopik analizi gerçekleştirmeden önce numune hazırlama için bir adımdır. FT-IR mikroskobuna bir floresan filtre uygulanırsa, iki yöntemin kombinasyonu, numunelerdeki tanımlanmamış MP'leri ve ayrıca her plastik benzeri parçacığı kontrol etme süresini azaltabilir (Çizelge 2.2) (Shim ve ark., 2016).

Çizelge 2.2. Mikroplastiklerin tespit teknikleri

Yöntem	Avantajlar	Dezavantajları
Mikroskopi	Kolay kullanım Doğrudan morfolojik tanımlama için kullanılır	Zaman alıcı ve hatalı miktar tahmini Kimyasal bileşim tanımlanamıyor
SEM	Yüksek çözünürlük	şarj etkisi
Raman spektroskopisi	FT-IR'den daha yüksek uzamsal çözünürlük, daha az numune hazırlama ve su girişiminden arındırılmış çok sayıda çalışma için uygundur.	Toprak organik maddesinin kendiliğinden floresansından etkilenir Zaman alıcı
FT-IR	Su girişimi olmayan çok sayıda çalışma için uygundur ATR-FTIR: daha az numune hazırlama	Toprak organik maddesi tarafından kolayca müdahale edilir Zaman alıcı
Termal analiz teknolojisi	Pyr-GC-MS Arka plan kirliliğine duyarlı değildir, MP'lerin türlerini ve katkı maddelerini aynı anda analiz edebilir ve tek parçacık tanımlaması için kullanılabilir.	Zaman alıcı ön işlem Miktar ve form bilgisi sağlanamıyor
Yeni algılama teknolojisi	Hiperspektral görüntüleme teknolojisi Rahat ve hızlı tanımlama	Sadece toprak yüzeyindeki MP'ler tespit edilebildi Şu anda sadece PE tespit edilebiliyor

2.1.3. Nanoplastik / Mikroplastiklerin Topraktaki Etkisi

Toprak matrisine dahil edildiğinde, mikroplastikler toprak gözenekliliğini değiştirebilir, böylece toprak su dinamiklerini ve toprak agregasyonunu etkileyebilir. Mikroplastiklerin varlığı ayrıca toprağın yapısal bütünlüğünü bozarak toprak yüzeyinde kuruma çatlamasına neden olabilir (Wan ve ark., 2018). Liu ve ark. (2017) mikroplastiklerin toprakta çözünmüş organik madde üzerindeki etkilerini araştırdı ve toprakta çözünmüş organik karbon, azot ve fosfor düzeylerini önemli ölçüde artırdı. Bu, mikroplastik birikiminin toprak ekosistemlerindeki besin döngüsü süreçlerini etkileyebileceğini düşündürmektedir.

De Souza Machado ve ark. (2019), farklı mikroplastiklerin taze soğanın (*Allium fistulosum*) performansı üzerindeki etkilerini araştırdı ve mikroplastiklere maruz kalmanın bitkinin toplam biyokütlesinde, dokunun elementel bileşiminde ve kök özelliklerinde değişikliklere neden olabileceğini, gerçek etkilerin partikül tiplerine göre önemli ölçüde değiştiğini buldu. Mikroplastiklerin varlığı, toprak yapısı, kütle

yoğunluğu, su tutma kapasitesi ve besin içerikleri gibi toprak fizikokimyasal parametrelerinde değişikliklere yol açabilir (de Souza Machado ve ark., 2019). Bu tür değişiklikler, bitki kök özelliklerini, büyüme durumunu ve besin alım sürecini değiştirerek bitki performansını doğrudan etkileyebilir (de Souza Machado ve ark., 2019). Toprak özelliklerini değiştirme, toprak mikrobiyal aktivitesini etkileme, toprak faunasını yok etme ve bitki büyümesini etkileme potansiyel çevresel tehditleri nedeniyle topraktaki yüksek MP konsantrasyonu göz ardı edilemez (Li ve ark., 2020a; Li ve ark., 2020b). Potansiyel toksik etkilerinin yanı sıra uzun ömürleri ve kalıcılıkları nedeniyle, MP'lerin varlığı toprak ekolojisi ve ekosistemler için bir tehdittir (Hidalgo-Ruz, 2012).

Toprakta bulunan MP'ler, toprak yapısının tahribatından, yağmur ve sulama suyu için toprağın sızma kabiliyetinin azalmasından sorumludur ve toprağın su tutma kapasitesini olumsuz etkiler (Liu ve ark., 2014). Toprak ortamında bulunan mikroplastikler, toprağın gözenekliliği de dahil olmak üzere toprağın yapısını büyük ölçüde değiştirir. Biyotürbasyon mikroplastiklerin toprakta aşağı doğru taşınması nedeniyle oluşur (Hurley ve Nizzetto, 2018). Bu kalıntılar büyük kütleler halinde bulunursa, bunlar toprak gözeneklerini dolduracak ve tıkayacak ve sonunda toprağın sızma kabiliyeti düşecektir. Bu, toprak besin döngüsünü bozacak, mikrobiyal yapıyı değiştirecek ve nihayetinde mahsul büyümesini etkileyecektir (Dong ve ark., 2021a).

Toprak parçacıkları yoluyla su göçü, toprak yapısı, su tutma, bitki sağlığı ve yağmur suyu drenajı için önemlidir. Hidrolik iletkenlik (HC), toprak tipine bağlı olarak toprağın suyu iletme kabiliyetini etkiler (Klute ve Dirksen, 1986). Zhang ve ark. (2019), mikrofiberlerle birlikte organik maddenin varlığının toprak HC'sini arttırdığını öne sürmektedir. Mikroplastikler, organik madde varlığında enzim aktiviteleri üzerinde olumsuz etkileri vardır, bu da mikroplara besin alımının ve mineralizasyon oranlarının azalmasına yol açabilir. Organik maddeden mikroplara sınırlı besin aktarımı, mikrobiyal topluluğu uzun vadede değiştirebilir ve potansiyel olarak değişmiş toprak fonksiyonları ve süreçlerine neden olabilir (Waldrop ve ark., 2000).

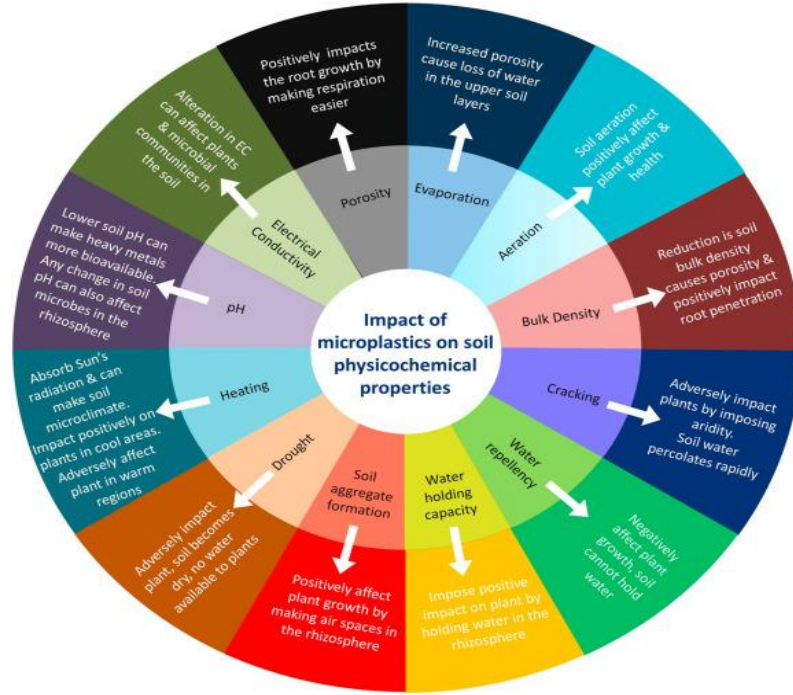
MP'lerin topraklarda artan birikimiyle, MP'lerin toprağın fiziksel özellikleri üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması, toprak kalitesinin korunması ve yönetilmesi için çok önemlidir. MP'lerin toprak özelliklerinde değişikliklere neden olabileceğini düşündüren bazı kanıtlar vardır. 5 haftalık bir bahçe deneyi sırasında, MP'lerin yığın yoğunluğunu, su tutma kapasitesini ve mikrobiyal aktivite ile suya dayanıklı agregalar arasındaki fonksiyonel ilişkiyi etkilediği bulunmuştur (de Souza Machado ve ark., 2018a). MP'ler toprak içinde taşınabilir (Rillig ve ark., 2017). Toprağın dokusu ve

MP'lerin boyutu, MP'lerin topraktaki hareketliliğini yönetir (O'Connor ve ark., 2019). MP'ler belirli yoğunluklara sahip farklı türlerde olduklarından toprakta farklı davranırlar. Genel olarak MP'ler, boyutlarındaki toprak parçacıklarından daha düşük yoğunluklara sahiptir. Bu nedenle, toprak yığın yoğunluğunu düşürme eğilimindedirler. De Souza Machado ve ark. (2018a), mikroplastik mikrofiberlerin kontaminasyonu nedeniyle toprak yığın yoğunluğunda bir azalma olduğunu bildirdi. Bu, köklerin toprağa nüfuz etmesine yardımcı olabilecek toprak havalandırmasını önemli ölçüde artırabilir. Öte yandan, mikro lifler genç kökleri de birbirine dolaştırabilir ve fidelerin büyümesine engel olabilir. Artan toprak havalandırması, toprak yüzeyindeki kuraklığı da artırabilir ve bu da fidelerin büyümesini ve gelişimini olumsuz yönde etkileyebilir (Wan ve ark., 2019). Mikroplastikler, toprak organik maddesi ve mineralleri ve çeşitli organik ve inorganik kirleticilerle etkileşime girebilir (Xu ve ark., 2020) ve dolayısıyla dolaylı olarak toprak pH'nı etkiler. MP'ler, örneğin agrega oluşturan toprak parçacıkları arasındaki kohezyonu azaltarak veya artırarak toprağın fiziksel özelliklerini değiştirebilir. Agrega oluşum sürecinde mikrofiberlerin katkısı bu konuda en önemli olanıdır. Zhang ve Liu'ya (2018) göre topraktaki MP'lerin %72'si agrega oluşumunda yer almaktadır. Lozano ve Rillig (2020), mikrofiber bakımından zengin topraklarda *Calamagrostis* (Avrupa istilacı türler) ve *Hieracium* (allelomatik türler) baskın hale geldiğini, MP'lerin bitki türlerinin baskınlığını etkileyebileceğini ortaya koydular. MP'ler, bozunma süreçleri sırasında üzerlerine adsorbe edilen toksik ve zararlı maddeleri veya kirleticileri serbest bırakabilir (Meng ve ark., 2021), bu da toprağın kimyasal ve biyolojik özelliklerini doğrudan etkiler, özellikle de toprak için doğrudan tehdit oluşturur. İlk olarak, toprak yapısının tipi ve stabilitesi, toprak geçirgenliğini, toprak havalandırmasını ve su mevcudiyetini daha da etkileyen toprak gözenekliliğini belirler. İkincisi, toprak yapısı, bitki köklerinin büyümesini ve gelişimini etkileyecek olan toprak sıkılığının derecesini etkiler. Son olarak, toprak yapısı, organik maddenin ayrışması ve besinlerin, tuzların veya kirleticilerin hareketi gibi toprak malzemelerinin ve enerjisinin dönüşümünü ve göçünü etkileyen kilit bir faktördür. Toprak agregaları, toprak yapısını ve toprak gözeneklerinin boyutunu ve stabilitesini kontrol etmede önemli bir faktördür ve daha sonra toprak havası, su akışı, toprak erozyonu ve mikrobiyal faaliyetler üzerinde derin etkileri olabilir. Poliester (PES) mikrofiber (MF) ile kirlenmiş topraklarda, suya dayanıklı agregalar, artan MF konsantrasyonu ile önemli ölçüde azaldı (de Souza Machado ve ark., 2018b), bu da PES MF'lerinin toprak agregatlarının oluşumunu olumsuz etkilediğini gösterir. Lozano ve ark. (2021), toprak agregatlarının oluşumu üzerindeki dört MP'nin (lifler, filmler,

köpükler ve parçalar) etkisini karşılaştırmış ve şunu bulmuştur: Tüm MP şekilleri, MP'lerin agregalara verdiği kırılma noktalarından ve toprak biotası üzerindeki potansiyel olarak olumsuz etkilerden kaynaklanabilecek toprak agregasyonunu azaltmıştır. Ayrıca mikrofilmler artan MP konsantrasyonu ile toprak agregasyonunu azaltır. Benzer şekilde, başka bir çalışmada, PS parçaları, PA boncukları ve PES MF'ler toprak agregasyonunu önemli ölçüde azalttı (de Souza Machado ve ark., 2019).

MP'lerin toprak agregalarının oluşumu ve stabilitesi üzerindeki etkileri ve mekanizmaları hala belirsiz olsa da birkaç nokta sonucuna varılabilir (Şekil 2.3):

- MP'ler, toprak agregatlarının oluşumu ve stabilitesi üzerinde doğrudan fiziksel etkilere neden olabilir.
- MP şekli, toprak agregasyonu üzerindeki MP etkilerini belirleyen kilit bir faktör olabilir.
- MP'nin toprak fiziksel yapısı üzerindeki etkilerine kısmen toprak biyotası ve organik madde aracılık eder.



Şekil 2.3. MP'lerin bitkilerin büyümesini etkileyen toprağın fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkileri

Toprak gözenekleri, belirli toprak faunası ve bitki rizosfer mikroorganizmaları için yaşam alanı sağlar. Örneğin, mikroeklem bacaklıların topluluk yapısı, toprak

gözenek boyutu dağılımı ile yakından ilişkilidir (Vreeken-Buijs ve ark., 1998) ve toprak agregalarındaki gözenek boşluğu, toprak bakterilerini protozoa tarafından predasyondan koruyabilir (Lynch ve de Leij, 2002). PS MP'ler, toprak gözenekliliği, toprak havalandırmasını ve su akışını büyük ölçüde belirler ve dolayısıyla dolaylı olarak anaerobik ve aerobik mikroorganizmaların göreceli bolluğunu ve ayrıca su ve besinlerin kök alımını değiştirir. PES MF'ler toprak gözenekliliğini, toprak havalandırmasını ve kök penetrasyonunu iyileştirebilir ve sonuçta bitki büyümesini teşvik edebilir (Lozano ve Rillig, 2020). Özellikle köpükler ve parçalar şeklindeki MP'ler toprak havalandırmasını ve mikro gözenekliliği artırabilir (Lozano ve ark., 2021a). MF'lerin neden olduğu toprak gözenekliliğindeki değişiklikler, toprak solunumunu, mikrobiyal aktivite gibi ekosistem işleyişini daha da değiştirebilir (Lozano ve ark., 2021b).

MP'ler toprağın su tutma kapasitesini, mevcudiyetini ve hareketini değiştirebilir, ancak etkileri MP tipine, şekline, boyutuna ve içeriğine bağlı olarak değişkendir. Örneğin, PES MF'ler su tutma kapasitesini ve toprak kullanılabilirliğini artırabilir ve böylece bitki büyümesini teşvik edebilir ve kuraklık stresini azaltabilir ve böylece mahsul verimliliğine fayda sağlar (de Souza Machado ve ark., 2019; Lozano ve ark., 2021b).

Toprak pH'ı, minerallerin ve SOC'nin bağlanma kapasitesi, besinlerin ve kirleticilerin "biyoyararlanımı" ve adsorpsiyonu ve mikrobiyal topluluk bileşimi ve aktivitesi gibi toprak özelliklerini belirleyen başlıca abiyotik faktörlerden biridir (Rousk ve ark., 2010). Bazı çalışmalar, MP'lerin toprak pH'ını artırabildiğini gösterdi. Polilaktik asit (PLA) MP'lerin ve yüksek yoğunluklu polietilenin (HDPE) varlığı toprak pH'ını artırdı (Yang ve ark., 2021). Hem plastik film parçaları (LDPE) hem de biyoplastik malç filmleri toprak pH'ını arttırdı (Qi ve ark., 2020). Lozano ve ark. (2021b) PES MF'lerinin toprak pH'ını arttırdığını bulmuştur. Ancak, tüm MP'ler toprak pH'ını artırmaz. Diğer çalışmalar, MP'lerin toprak pH'ını azalttığını veya önemli bir değişikliğe neden olmadığını bulmuştur. Örneğin, Boots ve ark. (2019), sırasıyla giysi elyafına, PLA ve HDPE MP'lerine 30 gün maruz kaldıktan sonra toprak pH'ındaki değişiklikleri karşılaştırdı ve HDPE MP'lerinin pH'ı önemli ölçüde azalttığını, ancak PLA ve giysi elyafı MP'lerinin önemli bir etkiye neden olmadığını buldu. Beklendiği gibi, farklı polimer bileşimlerine sahip MP'ler toprak pH'ı üzerinde farklı ve hatta zıt etkilere neden olabilir. Kuşkusuz, toprak pH'ındaki bu belirsiz değişiklikler, ekin üretkenliğinin yanı sıra toprak besin mevcudiyeti ve bitki büyümesi için farklı sonuçlara neden olabilir (Wang ve ark., 2022).

2.1.4. Bitkide MP/NP'lerin Kökten Yapraklara Taşınımı

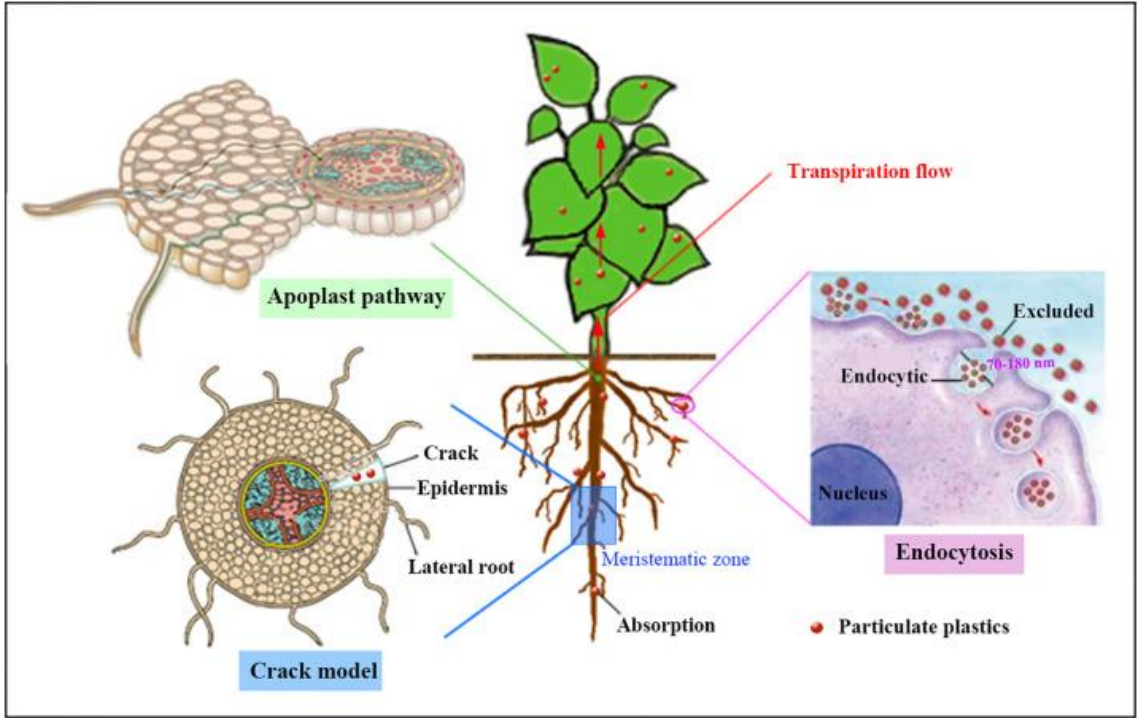
Parçacıklı plastiklerin güçlü yapışkanlığı göz önüne alındığında, bitki köklerinin yüzeyine güçlü bir şekilde yapışmaları ve daha sonra bitki köklerine alınmaları muhtemeldir (Li ve ark., 2019; Li ve ark., 2020). Partikül plastikler bitki köklerine emilebilir ve daha sonra terleme akışı yoluyla köklerden gövdelere ve yapraklara aktarılabilir, bu da partikül plastiklerin bitki dokularında birikmesine ve yeniden dağıtılmasına neden olabilir (Li ve ark., 2019).

MP'lerin bitkiler üzerindeki etkisi, onların adsorpsiyonu ve birikimi ile başlar. Hidroponik sistemlerde olduğu kadar su ve toprak ortamlarında da MP'ler/NP'ler bitkilerin köklerinde emilebilir ve atmosferdeki plastik parçacıklar da bitki yaprakları, çiçekler ve meyvelerin yüzeyinde birikebilir. MP'ler ve NP'ler, özellikle hücre bölünmesinin çok aktif olduğu yan kök kapağı ve apikal meristemde bitki kökleri tarafından alınabilir. Li ve ark. (2020), polistiren (PS) ve polimetilmetakrilat (PMMA) parçacıklarının (0,2 μm ve 200 μm), yanal kök çıkış bölgelerinde çatlak giriş modunu kullanarak buğday (*T. aestivum*) ve marul (*Lactuca sativa*) stelinine girdiğini buldu. Aktif hücre bölünmesi, apikal meristem dokusunu oldukça gözenekli hale getirir, bu da kök kapağı müsilağı tarafından yakalanan MP'lerin/NP'lerin stele nüfuz etmesini ve köklere girmesini sağlar. MP'ler/NP'ler köklere girdikten sonra ksilem damarları yoluyla diğer organlara göç edebilir. Marulun yaprak damarlarında PMMA ve buğdayın ksilem özünde PS'nin varlığı, plastik parçacıkların damar sistemi yoluyla köklerden sürgünlere yer değiştirmesini gösterir (Li ve ark., 2020). Z.Li ve ark. (2021), salatalıkta (*Cucumis sativus*) PS-NP'lerin (100-700 nm) dağılımını araştırdı ve PS-NP'lerin köklerin boşluk dokularında biriktiğini ve daha sonra yapraklara, gövdelere, çiçeklere ve meyvelere aktarıldığını gösterdi.

MP'ler/NP'ler, bitki dokusunda plastik partikül göçü için gerekli olan hücre basıncı ile hücreler arası boşlukta deforme olur (Li ve ark., 2020). Bu arada, MP'ler/NP'ler ayrıca hücre duvarlarını bükerek ve deforme eder, MP'lerin/NP'lerin bitki hücrelerine girişini kolaylaştırır (Dong ve ark., 2021a). NP'ler hücrelere sıvı faz endositozu yoluyla girerler (Zhou ve ark., 2021). MP'lerin boyutu, alımlarını ve yer değiştirmelerini etkileyen önemli bir faktördür. Örneğin, 1 μm büyüklüğündeki PS-MP'ler sadece havuç köklerine girebilir ve hücreler arasında birikebilirken, 0,2 μm büyüklüğünde olanlar yapraklara göç edebilir (Dong ve ark., 2021b). Bitkilerde MP'lerin/NP'lerin birikimi de yüzey yüklerine bağlıdır. Sun ve ark. (2020) *A. thaliana*'da hem pozitif hem de negatif yüklü NP'lerin (200

nm) birikebildiğini ve pozitif yüklü NP'lerin kök uçlarında nispeten düşük seviyelerde biriktiğini, apoplast ve ksilemde ise negatif yüklü NP'lerin sıklıkla gözlemlendiğini buldu.

Partikül plastikler bitki köklerine girdiğinde, partiküllerin bir kısmı köklerin mukus (yüksek oranda hidratlı polisakkarit) tabakası tarafından yakalanır, partiküller kök yüzeyinde konsantre edilir ve ardından apoplastik taşıma yoluyla bitki dokularına taşınır (Sun ve ark., 2020). Apoplastik taşıma için baskın itici güç, bitki dokularında partiküler plastiklerin tahsisini önemli ölçüde destekleyen terleme çekimidir (Şekil 2.4) (Li ve ark., 2019).



Şekil 2.4. Bitkiler tarafından MP/NP alımının olası mekanizmaları

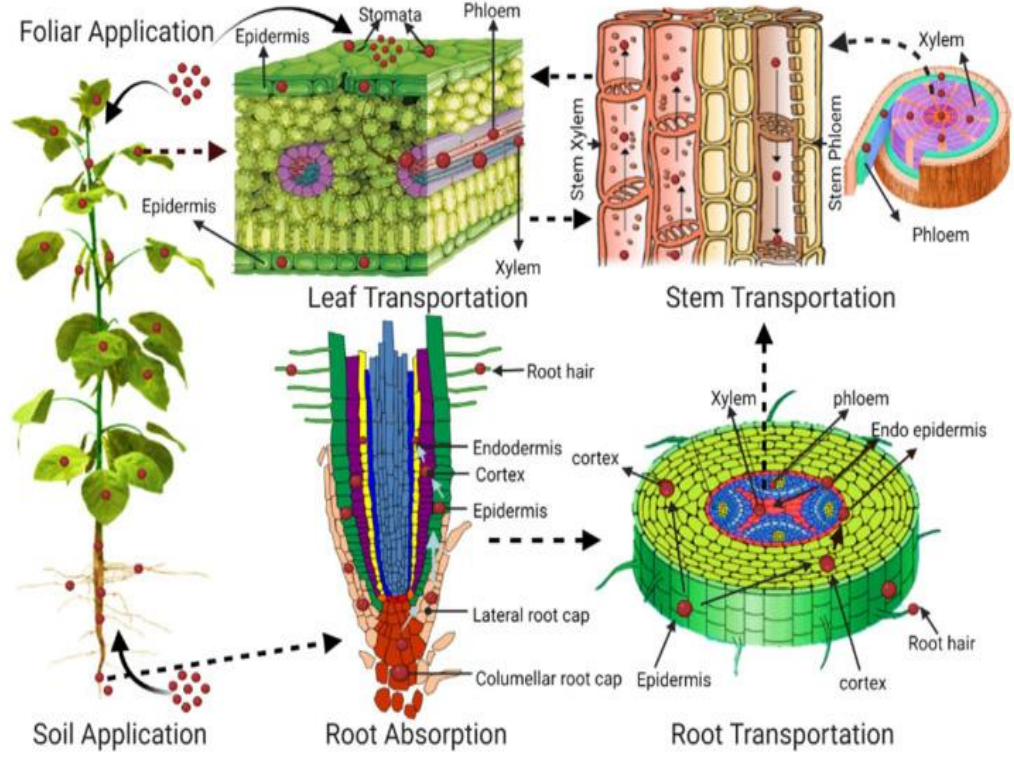
Partikül boyutu bitki alımının gerekliliklerini karşılasa bile, plastiklerin moleküler yapısının alım gerekliliklerini karşılamayabilir. Bu nedenle, apoplastik taşıma yoluyla bitkiler tarafından plastik partikül alımı, plastik partiküllerin fiziksel ve kimyasal özellikleri ile yakından ilişkilidir ve daha fazla anlamak için gelecekteki araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çoğu durumda, hücre duvarı gözeneklerinin ve hücreler arası plazmodesmataların çapları sırasıyla 3.5-5.0 nm ve 50-60 nm olduğundan, 5 nm'den büyük nanoplastikler bitki hücre duvarına nüfuz edemez ve 60 nm'den büyük nanoplastikler bitki hücre duvarını geçemez. Ancak, büyük boyutlu (örn., 200 nm) partiküllü plastikler, partiküllü plastikleri

kök hücre duvarında hapseden kök kapağı müsilajı tarafından hücre duvarından içeri girer. Aktif hücre bölünmesi sırasında, apikal meristem dokuları oldukça gözeneklidir ve bu tür fiziksel özellikler, partiküler plastiklerin apikal meristem dokuları boyunca difüzyonunu sağlar. Ek olarak, hücre ayrılması sırasında epidermal hücreler ve yan kök bölgeleri arasında bazı çatlaklar ortaya çıkabilir ve bu da mikroplastiklerin (örn. 2.0 µm) stele girmesi için bir taşıma çatlağı sağlar. Stel içine girdikten sonra, partiküllü plastikler, terleme akımı ile birlikte ksilem yoluyla yer üstü bitki parçalarına doğru taşınabilir (Li ve ark., 2020).

2.1.5. Mikroplastik / Nanoplastiklerin Bitkilerde Topraktan Alınması ve Dağılımı

Bitkiler, MP'leri ve NP'leri agrega şeklinde alabilir veya adsorbe edebilir (Mateos-Cárdenas ve ark., 2019). Terleme çekimi, plastik parçacıkların bitki alımında ve yer değiştirmesinde önemli bir rol oynar. Li ve arkadaşlarının (2020) bulgularına göre, plastik partiküller buğdayın birincil ve ikincil köklerinin epidermal dokusuna girer ve pericycle boyunca uyarılır ve ksilemin içine taşınır. Merkezi silindirin içinde, bu parçacıklar, ksilem yoluyla, bitkinin hava kısmına hareket edebilir. Plastik parçacıklar, terleme akımı yoluyla vasküler sistem tarafından kökten sürgüne aktarılır. Konfokal görüntüler, plastik lüminesans sinyallerinin esas olarak gövdenin vasküler sisteminde izlendiğini gösterdi. MP'ler ve NP'ler, mikroskobik hücre dışı kanallarda seyahat edebilir ve su taşınmasından sorumlu damar sistemine ulaşabilir (Schwab ve ark., 2020). NP'leri destekleyen su taşıma sistemi gövdeye, yapraklara ve muhtemelen meyvelere hızla aktarılabilir. Bitki yaprağına plastik giriş için bir başka olası yol, yaprak yoluyla stomalardan geçer (Adeel ve ark., 2018). Sun ve ark. (2021) stoma alımının NP'lerin yapraklara girmesi için olası bir yol olduğunu ve daha sonra damar sistemine geçtiğini gösterdi. Bu deneyler, NP hareketini yapraklardan gövdelere ve daha sonra gövdelerden damar demeti yoluyla köklere olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, başka bir çalışma, PS NP'lerin bitkinin stomalarına yapıştığını, floemden geçerek marul bitkisinin köklerine ulaştığını doğrulamıştır (Şekil 2.5) (Lian ve ark., 2021).



Şekil 2.5. MP/NP'lerin bitkiye alımı ve sonrasındaki hareketleri

2.1.6. Bitkiler Tarafından Plastik Alımını Etkileyen Faktörler

Partikül plastiklerin bitkilerde birikmesi ve yer değiştirmesi esas olarak partiküllü plastiklerin partikül boyutuna bağlıdır. Büyük partikül boyutlu plastiklerin hücre duvarının geçirgenliği nedeniyle bitki hücrelerine girmesi zordur ve çoğu bitki köklerinin yüzeyine yapışmıştır. Küçük boyutlu plastik partiküller, özellikle nanoplastikler kök hücrelere kolayca girer ve hücreler arası boşluktan geçerek yer değiştirir ve başka yerlerde toplanır (Jiang ve ark., 2019). Parçacıklı plastik türleri de bunların bitki gövdelerinde birikmesini ve yer değiştirmesini etkileyen önemli bir faktördür. Bitki hücre zarlarının yüklü özellikleri nedeniyle, elektrik yüklü mikro veya nanoplastikler bitki hücrelerini geçtiğinde, adsorpsiyon bölgeleri için diğer yüklü iyonlarla rekabet ederler ve bu nedenle hücre zarlarından dışlanabilirler (Miller ve ark., 2016). Bu nedenle, mikro ve nanoplastiklerin yük özellikleri, parçacıkların bitki alımı ile yakından ilişkilidir. Ek olarak, kök eksüdatları gibi bitkilerin fizyolojik özellikleri, bitkilerde mikro ve nanoplastiklerin emilimini etkileyen önemli bir faktördür (Li ve ark., 2020). Plastik parçacıkların güçlü yapışması nedeniyle, parçacıklı plastikler bitki kökleri tarafından salgılanan polisakkarit mukus tarafından kolayca "yakalanır" (Li ve ark., 2020). Ayrıca,

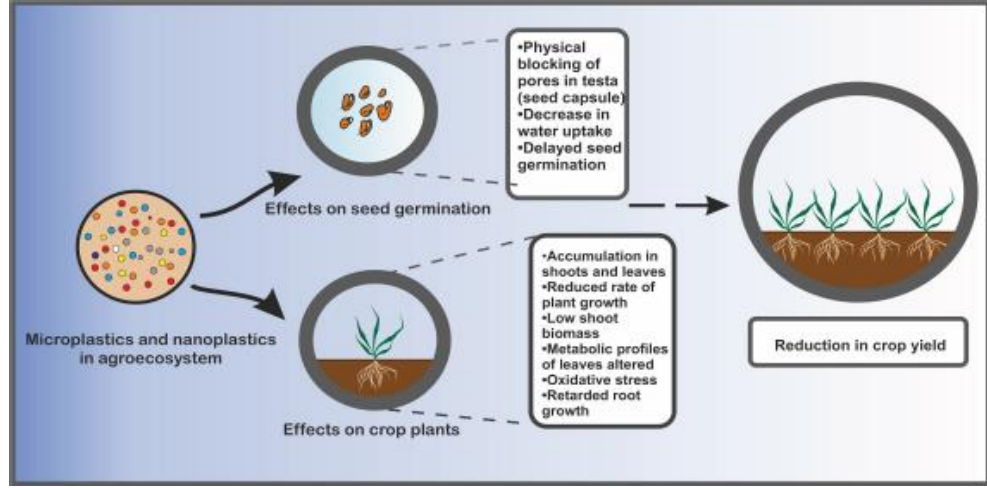
partiküllü plastiklerin toplanması, kök eksüdalari tarafından önemli ölçüde artar, bu da partiküllü plastiklerin topraktaki hareketliliğinin azalmasına neden olur (Wang ve ark., 2021) ve nihayetinde bitkiler tarafından partiküler plastik alımını önler.

2.2. Nanoplastik/Mikroplastiklerin Bitki Üzerindeki Etkileri

MP'lerin bitkiler üzerindeki en büyük etkisi köklerindedir, bunu yapraklar, sürgünler ve ardından gövdeler izler. Bunun nedeni, MP'lerin kirlenmiş topraklardan gelen kökler tarafından ve yer üstü bitki kısımlarına atmosferik birikim yoluyla kolayca emilmesidir (Zhang ve ark., 2020). MP'ler çimlenmede gecikmeye neden olabilir (Bosker ve ark., 2019), hem vejetatif hem de üreme aşamalarında buğdayın hem yer üstünde hem de altında büyümesini engelleyebilir (Qi ve ark., 2018) ve *Vicia faba* için toksisite ortaya çıkarabilir (Bolan ve ark., 2020). Genel olarak, MP'lerin adsorpsiyon kapasitesinin artmasıyla toksisitenin arttığına inanılmaktadır. Örneğin Nanoplastikler, tohumların yüzeyine yapışarak gözenekleri fiziksel olarak tıkayarak su ve besin alımını yavaşlatabilir veya tamamen engelleyebilir (Bosker ve ark., 2019). Genel olarak, MP'ler çevrelerinde toksik kirleticilerin vektörleri ve lavaboları olarak hareket ederek fitotoksisiteye neden olabilir ve bitki büyümesini doğrudan engelleyebilir.

Bazı bitki kökleri, toprakta MNP'lerin varlığı nedeniyle büyümede bir azalma yaşar. Kökler keskin kenarlı MNP'lere maruz kaldıklarında fiziksel olarak hasar gördükleri tespit edilmiştir (Iqbal ve ark., 2020). Bazı mikro lifler genç kökleri dolaştırdı ve büyümelerini etkiledi. Kök büyümesindeki azalmanın toprak yapısındaki bir değişiklikten mi yoksa MNP'lerdeki toksik elementlerden mi kaynaklandığı hala belirsizdir (Khalid ve ark., 2020).

Daha büyük kök sistemi nedeniyle yaşlı ağaçların ve bitkilerin daha büyük miktarlarda MNP'ye sahip olduğu bulunmuştur (Khalid ve ark., 2020). MNP'ler tarafından tıkanma nedeniyle tohum çimlenmesi azalır ve tohum gözenekleri tarafından su alımını yavaşlatır veya inhibe eder. NP'ler, besinler ve su taşınması için önemli olan hücre duvarı gözeneklerini tıkar ve sonuç olarak kök ve bitki büyümesinde bir azalmaya sebep olur (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. NP/MP'lerin Bitki Büyümesi ve Tohumu Üzerine Etkisi

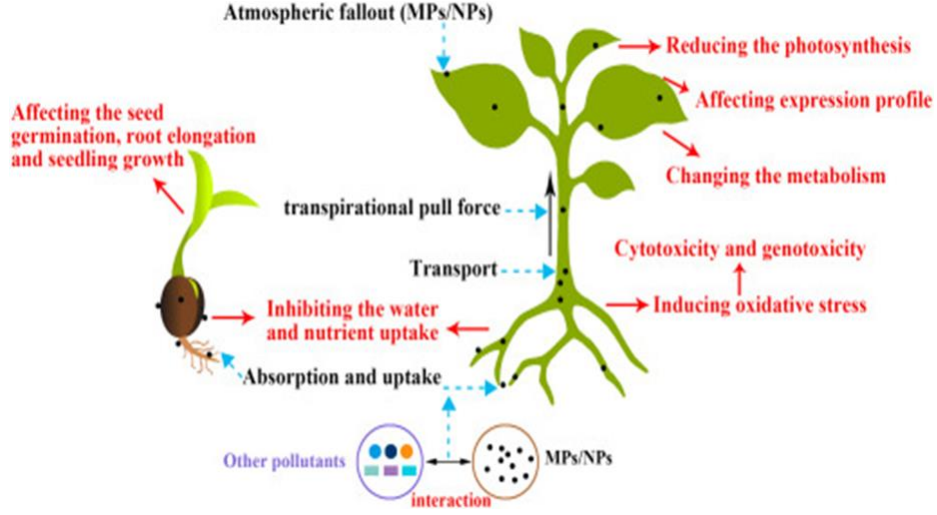
MP'ler/NP'ler, yaşam döngüleri boyunca bitki gelişimi üzerinde çeşitli biyolojik etkilere (negatif, önemsiz veya pozitif) sahiptir. Bitki yaşam döngüsünün ilk ve kritik aşaması olan tohum çimlenmesi sırasında, tohumların yüzeyinde plastik parçacıklar birikir ve su ve besin alımını azaltır. (Bosker ve ark., 2019; Yuan ve ark., 2019). MP'ler/NP'lerin, su ve besinlerin alımını bozmak ve terleme oranını düşürmek de dahil olmak üzere kökler üzerinde çeşitli etkileri vardır, bu da diğer dokular veya köklerden taşınan parçacıklardan da etkilenen tüm bitki üzerinde olumsuz etkilere neden olur. MP'ler/NP'ler ayrıca fidelerin, sürgünlerin, gövdelerin, yaprakların ve meyvelerin gelişimini de etkiler. Marulda (*L. sativa*), MP'lere maruz kalma yaprak ve köklerin taze ve kuru ağırlıklarını, bitki boyunu, yaprak sayısını ve kök uzunluğunu önemli ölçüde azaltmıştır (Gao ve ark., 2019).

MP'ler/NP'ler, farklı bitki türleri üzerinde pozitif veya önemsiz etkiler de indükleyebilir. Van Weert ve ark. (2019) göre, NP'ler (50-190 nm), *Elodea sp.*'nin sürgün ve kök biyokütlesini, nispi büyüme oranını ve yan sürgün uzunluğunu arttırdı. Lian ve ark. (2020), PS-NP'lerin (100 nm) buğday için tohum çimlenme oranları üzerinde fark edilebilir bir etkisinin olmadığını ve kök uzamasını önemli ölçüde artırdığını ortaya koydu. Yang ve ark. (2021), yüksek yoğunluklu polietilen (HDPE, 100–154 µm), mısırın sürgün ve kök biyokütlesini artırdı (*Z. mays*), bitki büyümesini teşvik ettiğini gösterdi. Kısaca görüldüğü üzere MP'lerin/NP'lerin bitkiler üzerindeki etkileri bitkiden bitkiye değişiklik göstermekte olup, çeşitli ve karmaşıktır.

Fotosentez önemli bir bitki yaşam aktivitesidir ve çevredeki kirleticilerden kolayca etkilenir. Bu nedenle, MP'lerin/NP'lerin toksisitesini değerlendirmek için bazı

çalışmalarda fotosentetik aktivite ölçölmüştür. PVC ve PE ile takviye edilmiş toprakta yetişen *C. pepo* bitkilerinin yaprakları, fotosentetik verim ve klorofil içeriğinde önemli ve doza bağlı bir azalma göstermiştir. PVC'nin deniz ve tatlı su alglerinde klorofil ve fotosentezi indüklediği iyi bilinmektedir (Wang ve ark., 2020). PE'nin marul bitkilerinde fotosentez hızı, stoma iletkenliği, geçici terleme hızı, floresan parametreleri, yaprakların klorofil içeriği ve Rubisco aktivitesi gibi çok çeşitli parametreleri azalttığı bulunmuştur (Gao ve ark., 2019). *A. thaliana* ve *Z. mays*'da klorofil içeriği, sırasıyla PLA-MP'ler ve PS-NP'ler tarafından önemli ölçüde azaltıldı ve fotosentezlerini engelledi (Sun ve ark., 2020; Wang ve ark., 2020). Bununla birlikte, PS-NP'ler (100 nm), buğday tohumlama yapraklarındaki klorofil içeriğini önemli ölçüde artırarak, buğdayın fotosentezini ve büyümesini teşvik etti (Lian ve ark., 2020a). Fotosentez hızı (Pn), stoma iletkenliği (gs), geçici terleme hızı (Tr), hücreler arası CO₂ konsantrasyonu (Ci), elektron taşıma hızı (ETR) ve fotosistem II'nin elektron taşıma aktivitesi (Fv/Fm) gibi diğer fotosentez parametreleri), bazı çalışmalarda fotosentetik aktiviteyi belirlemek için de ölçöldü (Gao ve ark., 2019; Pehlivan ve Gedik, 2021; Ren ve ark., 2021). MP'lerin, Pn, Gs, Tr, ETR ve Fv/Fm'yi önemli ölçüde azalttığı ve marul yapraklarında Ci'yi artırdığı bulundu, bu da MP'lerin fotosentetik aktiviteyi azalttığını gösterir (Gao ve ark., 2019). MP'lerin/NP'lerin neden olduğu azaltılmış fotosentez, bitkilerin gelişimini ve büyümesini daha da etkileyecektir.

MNP'lerin karasal bitkilerin büyümesi üzerindeki etkisine ilişkin çalışmalar, çoğunlukla mısır ve buğday gibi tahıl ürünlerine ve ayrıca marul ve salatalık gibi nakit ürünlere odaklanmaktadır. Mevcut araştırmalar, MP birikiminden kaynaklanan maksimum etkinin bir parçası olarak toprak ve MNP'lerle doğrudan temas halinde olan köklere odaklanmaktadır. Birçok çalışma, MNP'lerin karasal fotoototroflardaki pigment içeriği üzerinde engelleyici etkileri olduğunu göstermiştir. Wang ve ark. (2020), toprağın sırasıyla %0,1, 1 ve %10'unu oluşturan polilaktik asit (PLA) tarafından oluşturulan MP'lerin mısır yapraklarındaki klorofil içeriğini azaltabildiğini göstermiştir. Fasulye (*Phaseolus vulgaris* L.) yapraklarının nispi klorofil içeriği, düşük yoğunluklu polietilene maruz bırakıldıktan sonra önemli ölçüde azaldı (şekil 2.7) (Meng ve ark., 2021).



Şekil 2.7. MP'lerin/NP'lerin fotosentez üzerindeki ve diğer etkileri

2.3. Enzimatik olan Antioksidan Savunma Sistemi

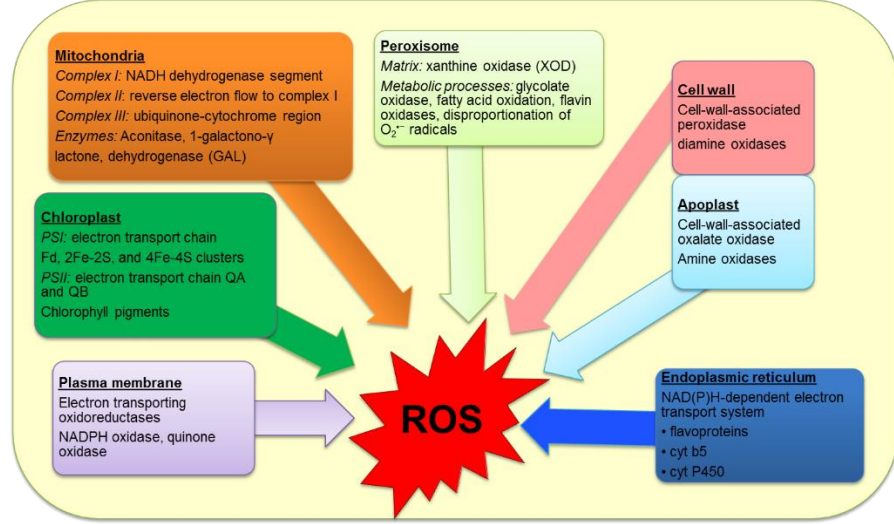
Oksidatif hasar artık baskın sitolojik etki olarak kabul edilmektedir ve çevredeki çeşitli kirleticilerin toksisitesini değerlendirmek ve karşılaştırmak için benimsenmiştir (Liang ve ark., 2013). Bitkiler MP'lere veya NP'lere maruz kaldığında, süperoksit anyonları, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikalleri ve tekli oksijen gibi fazla farklı ROS'lar üretilir ve bunun sonucunda bitki hücrelerinde geri dönüşü olmayan hasarlara sebep olur (Maity ve ark., 2020, Sun ve ark., 2020). Bu ROS türleri esas olarak çeşitli bitki organellerinde bulunur. Kloroplastlar, mitokondri, peroksizomlar ve endoplazmik retikulum gibi (Chen ve ark., 2021). MP'lerin neden olduğu ROS aşırı üretimi koşullarının esas olarak MP'lerin polimer tipi, boyutu ve yüzey yükü ile ilgili olduğu doğrulanmıştır. Örneğin, farklı tipte MP'ler bahçe teresinde oksidatif patlamaya neden olabilir (*L. sativum*), ancak PP ve PE ile karşılaştırıldığında PVC en toksiktir ve en büyük oksidatif hasara neden olur (Pignattelli ve ark., 2020).

Genel olarak, ROS, aerobik metabolizmanın doğal toksik yan ürünleridir ve sitotoksositeye neden olan kilit bir faktördür (Gao ve ark., 2021a). Bitkiler, MP'lere ve NP'lere maruz kalma dahil olmak üzere çeşitli olumsuz durumlardan muzdarip olduğunda, aşırı ROS üretimi bitki hücrelerinde geri dönüşü olmayan hasara neden olur ve büyüme, programlanmış hücre apoptozu, hücre döngüsü ve hormon sinyali gibi biyolojik süreçleri önemli ölçüde etkiler (Gao ve ark., 2019b). Genel olarak, bitki köklerinde ROS'un artan eğilimi yapraklar ve sürgünlerdekenden daha yüksektir, bu da

MP'lerin/NP'lerin neden olduğu hasarın köklerde yapraklardan daha fazla olduğunu gösterir (Gao ve ark., 2019b).

MP'lerin/NP'lerin hayvanlarda ve alglerde toksik etkileri iyi bilinmektedir. Bu nedenle, MP'lerin/NP'lerin yüksek bitkilerde de sitotoksisite ve genotoksisiteyi indükleyebileceği kesindir. MP'ler/NP'ler kümelenmiş kromozomlar, gecikmeli kromozomlar, halka kromozomlar, bozulmuş metafaz/anafaz dahil olmak üzere kromozomal anormalliklere (CA'lar) ve nükleer anormalliklere (NA'lar) neden olabilir. MP'lerin mevcudiyeti, *A. cepa* hücrelerinde daha yüksek bir kromozomal anormallik indeksi ve nükleer anormallikleri indükleyerek, plastik partiküllerin sitotoksisitesini ve genotoksisitesini gösterir (Maity ve ark., 2020).

Stres faktörleri nedeniyle hücrede meydana gelen oksidatif stres; reaktif oksijen türlerinin (ROS) (superoksid radikalleri, hidrojenperoksit ve singlet oksijen ve hidroksil radikalleri gibi) oluşmasına neden olur. Biyotik ve abiyotik stres faktörlerinin sebep olduğu ROS'lar, lipid peroksidasyonu ve membran zararlarında önemli bir role sahiptir. Bitkilerde ROS'ların temizlenmesinde antioksidan maddeler ve enzimler (süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POD), askorbat peroksidaz (APX), glutatyon redüktaz (GR) ve glutatyon s-transferaz (GST)) vb. görev yapmaktadır (Raza ve ark., 2006; Mustafa ve ark., 2005; Gong ve ark., 2005). ROS'lar hücrede; kloroplastlar, mitokondri, peroksizomlar, plazma membranları, endoplazmik retikulum ve hücre duvarının çeşitli yerlerinde hem normal hem de stresli koşullarda üretilmektedir. Işık varlığında, kloroplastlar ve peroksizomlar, ROS üretiminin ana kaynaklarıdır. Mitokondri ise karanlık koşullar altında ROS'un lider üreticisidir (şekil 2.8) (Choudhury ve ark., 2013).



Şekil 2.8. ROS'ların üretim yerleri

MP'lerin stresine yanıt olarak bitkiler, antioksidan enzimler: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), peroksidaz (POX) ve enzimatik olmayan antioksidanlar: glutatyon (GSH), askorbik asit (AsA) vb. dahil olmak üzere uygun tolerans sistemini geliştirmiştir (Gao ve ark., 2019a; Zhou ve ark., 2021). Mikroplastiklere maruz kalma bitkilerde aşırı ROS birikimine ve aktif antioksidan savunma sistemlerine neden olur. 3 mg/L eşit veya daha fazla mikroplastiklerle tedavi, SOD, APX ve CAT seviyelerini önemli ölçüde artırır ve bu enzimler ve izoenzimler, hücre stabilitesini ve bitki büyümesini sürdürmek için sinerjistik koruyucu etkiler uygulayarak biyotik ve abiyotik stresle başa çıkmak için farklı şekilde işlev görebilir (Jiang ve ark., 2019). *S.cucullata*'daki SOD, MDA (Malondialdehit) ve çözünür protein seviyeleri, özellikle 25 mg/L glifosat ile tedavi üzerine önemli ölçüde arttı. Ayrıca, aktivite, artan glifosat konsantrasyonuyla, muhtemelen bir ROS süpürücü olarak dikkate değer CAT tüketiminden veya yüksek toksik madde konsantrasyonlarına maruz kaldıktan sonra enzim inaktivasyonu ve δ -aminolevulinik asit sentezinin (enzim sentezi ile ilgili) inhibisyonundan dolayı önemli ölçüde azaldı (Liu ve ark., 2019; Zhong ve ark., 2018).

Antioksidanlar dört yolla oksidanları etkisiz hale getirir.

1. **Süpürme Etkisi (Scavenging):** Oksidanları daha zayıf yeni bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirir. Antioksidan enzimler ve mikro moleküller bu yolla etki eder.

2. **Söndürme Etkisi (Quenching):** Oksidanlara bir hidrojen aktararak inaktive etmesine denir. Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol bu şekilde etki eder.
3. **Zincir Reaksiyonlarını Kırma Etkisi (Chain Breaking):** Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır mineraller oksidanları kendilerine bağlar ve inaktive eder.
4. **Onarma Etkisi (Repair):** Oksidatif hasar görmüş biyomolekülleri onarırlar.

2.4. Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Sistemi

Askorbik Asit (AsA), bitkilerin çoğu hücrelerinde, organellerde ve apoplastlarda tespit edilmiştir. Sulu fazlarda birçok enzimatik olan ve olmayan reaksiyonlarda elektron verebilme kabiliyeti nedeniyle ana AOS temizleyicisidir. Bitkilerin yapraklarında ve kloroplastların özellikler stromasında yoğunlaşmış olarak askorbat halinde redükte formda bulunur. Kloroplastlarda fazla uyarılmış enerjiyi etkisizleştiren violaksantin-de-epoksidaz enziminin kofaktörü olarak davranır. Direkt olarak AOS'lardan süperoksit, hidroksil radikali, singlet oksijeni temizler; hidrojen peroksidi ise suya askorbat peroksidaz reaksiyonu ile indirger (Lamb ve Dixon, 1997). Tokoferoksil radikalinden tokoferolün tekrar rejenerasyonunu sağlayarak membranların korunmasına katkıda bulunur (Garewal, 1997; Garewal ve ark., 1996).

Tokoferoller, bitkilerin ve alglerin tüm kısımlarında bulunan bir antioksidan ailesidir (Srivalli ve ark., 2003). Dört izomerden (α , β , γ ve δ) oluşan tokoferoller içerisinde α -tokoferoller, kloroplast membranlardaki en biyolojik olarak aktif ve baskın antioksidandır. (Sharma ve ark., 2012).

Karotenoidler, bitkilerde yaygın olarak bulunur ve 600'dan fazla çeşidi olan renk pigmentleridir. En bilineni vitamin A'nın öncül maddesi olan P-karotendir (Foyer ve ark., 1994). Karotenoidler özellikle singlet oksijenin ve peroksil radikallerini detoksifikasyonunda etkili olan antioksidanlardır (Collins, 2001).

Flavonoidler, tanenler, hidroksisinnamat esterler ve lignin gibi fenolikler, bitki dokularında bol miktarda bulunan çeşitli ikincil metabolitlerdir. Polifenoller serbest radikal temizleme aktivitesi için ideal bir yapısal kimyaya sahiptirler. Tokoferol ve askorbattan daha etkili antioksidanlar olduğu gösterilmiştir. Polifenolik bileşikler en yaygın olarak ortaya çıkan ve her yerde bulunan bitki metabolitleri gruplarından birini

oluşturur ve insan diyetinin ayrılmaz bir parçasını temsil eder. Fenoliklerin antioksidatif özelliklerinin altında yatan bir başka mekanizma da lipid metabolizması modifikasyonu ve zarların akışkanlığının azaltılması ile flavonoidlerin peroksidasyon kinetiğini değiştirebilmeleridir. Bu değişiklikler, serbest radikallerin difüzyonunu olarak engelleyebilir ve peroksidatif reaksiyonları kısıtlayabilir. Antioksidanlar olarak işlev gören fenolik bileşikler, serbest radikal zincirlerinin sonlandırıcıları ve lipid peroksidasyonunu katalize edebilen redoks-aktif metal iyonlarının bağlayıcıları olarak işlev görebilir. (Schroeter ve ark., 2002).

2.5. Biochar

Biochar, çevre dostu bir şekilde çiftlik bazlı yenilenebilir enerji üretme potansiyeline sahiptir. Spesifik olarak biocharın kalitesi, toprağın türü, metal ve karbonizasyon için kullanılan hammadde, piroliz koşulları ve toprağa uygulanan biochar miktarı gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Debela ve ark., 2012).

Bitki biyokütlesinin pirolizi normal olarak yüksek alkali biochar ile sonuçlanır (Lehmann ve Joseph, 2009). Ancak alkalinite, biochar üretimi için kullanılan hammadde özelliklerine göre değişir. Biocharın alkalinitesi ne kadar büyükse, asitlikteki azalma da o kadar büyüktür (Yuan ve ark., 2011). Besin yönünden fakir toprağa biochar ilavesinin besin mevcudiyetini arttırdığı ve bitki biyokütlesini arttırdığı rapor edilmiştir (Albuquerque ve ark., 2014). Fıstık kabuğu biocharının yüksek asitli kırmızı toprağa uygulanmasının, artan toprak pH'ı ve besin mevcudiyeti nedeniyle Al toksisitesini azaltarak lahanada büyümeyi arttırdığı bildirildi (Lin ve ark., 2018).

Biochar organik madde ve besin içerdiğinden, eklenmesi toprak pH'ını, elektrik iletkenliğini (EC), organik karbonu (C), toplam azotu (TN), mevcut fosforu (P) ve katyon değişim kapasitesini (CEC) artırır. Daha önce, Verheijen ve ark. (2009), biochar uygulamasının, geliştirilmiş toprak emme kapasitesi nedeniyle topraktaki çeşitli ağır metallerin toksisitesini, taşınmasını ve kaderini etkilediğini bildirdi. Biocharde bitki besin maddeleri ve külün varlığı ve geniş yüzey alanı, gözenekli doğası ve mikroorganizmalar için ortam görevi görme yeteneği, toprak özelliklerinin iyileştirilmesinin ve besinlerin emilimin artmasının ana nedenleri olarak tespit edilmiştir.

Toprağa biochar ilavesi, toprak kalitesini iyileştirmek ve ayrıca bitki büyümesini teşvik etmek için son derece yararlı olabilir ve böylece biochar, sürdürülebilir bir tarım sistemi geliştirmede önemli bir rol oynayabilir. Biochar ıslahının çeşitli kullanımları ve

olumlu etkileri, şu anda kontamine toprağı ıslah etmek ve doğal çevreye zarar vermeden yüksek mahsul verimi elde etmek için etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Placek ve ark., 2016). Biocharın bitki büyümesi ve toprak kalitesi üzerindeki olumlu etkisi, biocharın besin eksikliğinin üstesinden gelmek için iyi bir yol olduğunu ve bu da onu çiftlik ölçeğinde besin döngülerini iyileştirmek için uygun bir teknik haline getirdiğini göstermektedir. Bu nedenle, biochar ıslahının toprak stabilitesi ve bitki büyümesinin teşviki üzerindeki olumlu etkilerini araştırmak için tam bir odak yapılmıştır.

2.5.1. Biochar Üretimi ve özellikleri

Biochar, düşük maliyetli modifiye sobalar veya fırınlar kullanılarak küçük ölçekte veya daha büyük piroliz tesisleri ve daha yüksek miktarlarda hammadde kullanan büyük ölçekli, maliyetli yoğun üretim yoluyla üretilir. Biochar, lignoselülozik (yani biyoenerji mahsulü, tarımsal atık, orman kalıntıları) ve lignoselülozik olmayan grupları (yani gübre, kanalizasyon çamuru, mikroalg) içeren çeşitli biyokütle türlerinden üretilir. Biochar üretimi için kullanılan birincil hammadde tarımsal atıktır. Farklı hammadde türlerinden bağımsız olarak, biocharün iskeleti temel olarak karbon ve külden oluşur, burada her biocharün genel bileşimleri ve özellikleri, hammadde türlerine ve işlem koşullarına bağlı olarak değişir.

Üretilen biocharün türü 3 değişkene bağlıdır: kullanılan biyokütle, sıcaklık ve ısıtma hızı. Yüksek ve düşük sıcaklıkların kömür verimi üzerinde kesin bir etkisi vardır. Düşük sıcaklıkta (<550°C), biocharün yüksek sıcaklıkta üretilen biochar'den daha düşük aromatikliğe sahip amorf bir karbon yapısına sahip olduğu fark edilmiştir (Joseph ve ark., 2010). Yüksek sıcaklık, tüm piroliz reaksiyonlarında daha düşük kömür verimine yol açar. (Antal ve Grønli, 2003).

Biochar termokimyasal proseslere göre piroliz, kavurma, hidrotermal karbonizasyon ve gazlaştırmayı içeren dört termokimyasal yoldan üretilir;

Proliz, termokimyasal proseslerden bir tanesi olan piroliz, aslında bitkilerin dünyada varoluşu kadar eskidir. Bitkiler havasız sıcak ortamlara maruz kaldığında piroliz meydana gelir. Petrol, kömür, doğalgaz, odunkömürü gibi enerji kaynaklarının oluşumu aslında bir tür pirolizdir. Piroliz işlemi sırasında pirolize maruz kalan biyokütlenin kimyasal bağları oksijensiz ortamda ve yüksek sıcaklıkta termal olarak bozunur. Büyük hidrokarbon molekülleri daha basit moleküllere parçalanır veya düzenlenir. Genel olarak sıcaklık 500°C, basınç ise atmosfer basıncıdır. Piroliz ile katı, sıvı ve gaz ürünler elde

edilir. Ürünlerin cinsi ve miktarı, biyokütlenin çeşidi, ısıtma hızı ve son sıcaklık gibi faktörlere bağlıdır. Piroliz; proses sırasında uygulanan zaman ve sıcaklık parametrelerine göre yavaş, ılımlı, orta, hızlı ve flash olmak üzere beş temel gruba ayrılır. En tanınmış piroliz prosesi yavaş piroliz ile odun kömürü üretimidir, degazifikasyon olarak da bilinir ve katı ürün, hedef üründür. Genel olarak, istiflenmiş odun yığınlarının üzeri toprakla kapatılır ve sınırlı hava ortamında yakma ile odun parçalarının karbonlaşması sağlanır.

Torrefaksiyon veya hafif piroliz olarak bilinen, atmosfer basıncında ve atıl atmosferde 200-300°C sıcaklıkta, $\leq 50^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızında, 30 dakika ila 2 saat arasında kalma süresi ile termokimyasal süreci ifade eder (Daful AG ve Chandraratne, 2018; Chen ve ark., 2018). Bununla birlikte, yüksek ürün verimine (ağırlıkça %70-80) bakılmaksızın, kavurma işleminin biochar üretimi için umut verici bir teknik olmadığı bildirilmiştir, çünkü kavrulmuş biyokütle hala ham biyokütleden uçucu bileşenlerin önemli bir kısmını içerir (Daful AG ve Chandraratne, 2018).

Hidrotermal karbonizasyon ise normalde kuru atmosfer altında gerçekleştirilen yavaş piroliz ve torrefaksiyon (kavurma) işleminin aksine, hidrotermal karbonizasyon ayrıca ıslak piroliz veya ıslak torrefaksiyon olarak da adlandırılabilir; çünkü bu işlem bir biyokütle-su çözeltisi içinde 180–250°C sıcaklıkta ve yüksek basınçta (kritik altı koşul) birkaç saat boyunca gerçekleştirilir (Bamdad ve ark., 2018; Gan ve ark., 2018). Biochar üretimi için bu hidrotermal teknolojiye olan büyük ilgi, geleneksel piroliz için genellikle gerekli olan ön enerji yoğun kurutma işleminden kaçınabilmesi ve böylece işletme maliyetlerini en aza indirebilmesidir. Ayrıca, bu hidrotermal teknoloji, diğer termokimyasal dönüşüm tekniklerine kıyasla en düşük reaksiyon sıcaklığını sunar. İşlem sırasında su bir çözücü, reaktan, katalizör ve hidroliz, dehidrasyon, dekarboksilasyon ve depolimerizasyon sürecini kolaylaştıracağı hem kütle hem de enerji transferi için bir ortam görevi görür (Guiotoku ve ark., 2011).

Gazifikasyon (Gazlaştırma) veya Gazlaştırma işlemi, 600-1200°C sıcaklık aralığında, 50–100°C/dk ısıtma hızında ve 10–20 s buharda kalma süresinde gerçekleşir. Pirolizden farklı olarak, gazlaştırma işlemi O_2 varlığında (O_2 , hava, buhar, CO_2 veya gazların karışımı dahil) gerçekleştirilir ve öncelikle biochar üretimi yerine sentez gazı üretimi için kullanılır. Bundan dolayı biochar verimi minimumdur (Daful ve Chandraratne, 2018).

2.5.2. Biocharın fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri

Biocharın fiziksel özellikleri, toprak sistemlerini nasıl etkiledikleri ile doğrudan ve dolaylı olarak ilişkilidir. Topraklar, mineral ve organik maddenin doğasına, nispi miktarlarına ve mineraller ile organik maddenin nasıl ilişkili olduğuna bağlı olarak kendi fiziksel özelliklerine sahiptir. Toprak karışımında biochar bulunduğunda, sistemin fiziksel doğasına katkısı önemlidir ve yüzey alanını, gözenek ve parçacık boyutu dağılımını, yoğunluğu ve paketlemeyi değiştirerek derinliği, dokuyu, yapıyı, gözenekliliği ve kıvamı etkiler (Blanco-Canqui, 2017). Biocharın toprağın fiziksel özellikleri üzerindeki etkisi, kök bölgesindeki hava ve suyun nüfuz etme derinliği ve erişilebilirliği esas olarak toprak ufuklarının fiziksel bileşimi tarafından belirlendiğinden, bitkilerin büyümesini doğrudan etkiler. Bu, toprağın suya tepkisini, toplanmasını ve toprak hazırlığındaki iş kabiliyetini, dinamikleri ve şişme sırasında geçirgenliği, ayrıca katyonları tutma kabiliyetini ve ortam sıcaklığındaki değişikliklere tepkisini etkiler. Biochar üzerindeki gözenekler ne kadar küçükse, kılcal toprak suyunu o kadar uzun süre tutabilirler. Biocharın eklenmesi, nem tutma kapasitesi nedeniyle kuraklıktan etkilenen bölgelerde kuraklığın mahsul verimliliği üzerindeki etkilerini azaltabilir. Bitkilerin büyümesini sınırlayan toprak kısıtlamalarını ortadan kaldırdığı ve asidik toprağı temel doğası gereği nötralize ettiği gösterilmiştir (Hammes ve Schmidt, 2009). Karbondioksit ve oksijen, biocharın gözeneklerinde hava dolu boşlukları işgal eder veya yüzeyde kemisorbe edilebilir. Biochar besin maddeleri, mikroorganizmalar ve sentez gazları içerebildiğinden, gübreleri diğer topraklardan daha uzun süre toprakta tutabilir ve nehir, göl gibi su kaynaklarına sızmasını önleyebilir.

Kimyasal özellikleri söz konusu olduğunda, biochar pH'ı artırarak (kireç etkisi de denir) toprak asitliğini azaltır ve toprağın besinleri ve gübreleri tutmasına yardımcı olur (Lehmann ve ark., 2006). Biocharın uygulanması iki mekanizma yoluyla toprak verimliliğini artırır: toprağı besin maddelerinin eklenmesi veya toprağın kendisinden besinler de dahil olmak üzere diğer kaynaklardan besin maddelerinin tutulması. Bununla birlikte, ana avantaj, besinleri diğer kaynaklardan korumaktır. Çoğu durumda, biocharın eklenmesi, yalnızca inorganik veya organik gübreler gibi diğer kaynaklardan gelen besinlerin kullanılması durumunda mahsullerin büyümesi üzerinde net bir pozitif etkiye sahiptir. Biochar, minarellerin bitkiler için kullanılabilirliğini artırır, çünkü biochar gübreleri emer ve yavaş yavaş salıverir (DeLuca ve ark., 2015). Ayrıca daha az gübre kullanımına izin vererek ve çevredeki tarımsal kirliliği azaltarak gübre drenajını ve

sızmasını önlemeye yardımcı olur (Cao ve ark., 2018). Biochar, tehlikeli pestisitlerin ve karmaşık azotlu gübrelerin toprak üzerindeki etkisini hafifleterek yerel çevre üzerindeki etkiyi azaltır.

Topraktaki karbonun eklenmesi nedeniyle topraktaki mikrobiyal biyokütle karbonu bazal solunumda artar. Biochar, topraktaki mikrobiyal popülasyona doğrudan katkıda bulunmaz. Bu nedenle biocharın daha yüksek gözenekliliği, mikropların toprakta bir yaşam alanı oluşturması için uygun bir ortam yaratır (Thies ve Rillig, 2012). Mikroskobik çalışmalar, topraktaki biocharın mikroorganizmalar için habitat görevi gördüğünü göstermektedir (Gorovtsov ve ark., 2019). Biochar ayrıca, saprofitlerden daha düşük rekabet nedeniyle mikro gözeneklerde sporlanan ve bu nedenle arbusküler mikorizal mantarlar için bir aşı görevi gören ekstra radikal mantar hifleri için bir yaşam alanı işlevi görür (Saito ve Marumoto, 2002).

2.5.3. Biocharın bitki üzerine etkisi

Biochar uygulamasının toprağın verimliliğine, bitki gelişimine ve ürün verimine etkileri; ürün çeşidi, biochar uygulama oranları ve biocharın özellikleri ile bitki yetiştirme koşulları, edafik faktörler, kullanılan kimyasal gübreler ve incelenen yıla bağlı olarak değişmektedir (Jeffery ve ark., 2011; Zhang ve ark., 2012).

Biochar toprakta kendi ağırlığının 6 katı kadar su tutar, topraktan fosfor ve azot gibi elementlerin bitkiler tarafından daha kolay alınabilmesini sağlayarak toprak için iyi birer besin maddesi olur (Glaser ve ark., 2014). Bu yetenekler özellikle çöl topraklarında tarım konusunda bir avantaj sağlamaktadır. Biochar yüzeyindeki fonksiyonel gruplar, topraktaki katyonik faaliyetleri artırır ve böylece toprak; kalsiyum, magnezyum ve potasyum gibi besinleri tutar. Tarımsal üretim verimini artırır. Ayrıca biocharlar genel olarak bazik karakter gösterdikleri için toprağa eklendiğinde özellikle asitli toprakların pH değerlerini artırarak toprak pH'ını düzenlerler (Ippolito ve ark., 2016).

Bitki büyüme düzenleyicileri yüksek bitkilerde, genellikle düşük dozlarda, gelişimsel veya metabolik süreçleri etkileyen ve besleyici bir değere sahip olmayan ve genellikle fitotoksik olmayan bileşiklerdir (Rademacher, 2015). Bu güçlü düzenleyiciler dışında, biocharlar ayrıca etilen yayabilir ve diğer düzenleyicileri içerebilir. Örneğin, Backer ve ark. (2018), biocharın gaz halindeki uçucu fraksiyonundan mısır büyümesi uyarımı gözlemledi, ancak sorumlu kimyasalı tespit edemedi, bu da bilinmeyen bir düzenleyici olduğunu düşündürdü.

Bir kısım araştırmalarda, biocharın sadece besin elementinin sınırlı olduğu koşullarda gübre olarak görev yapabileceği ve kök bölgesindeki mikroorganizma topluluğunu değiştirerek bitki gelişimini teşvik edebileceği ifade edilmiştir (De Tender ve ark., 2016). Biochar ilavesinin ürün verimliliğine olumlu etkisi uygun fiziksel, kimyasal ve biyolojik toprak ortamı ve besin elementi yarıyışlılığı ile toprak su yarıyışlılığının iyileşmesine bağlamışlardır (Lehmann ve ark., 2011; Novak ve ark., 2016). Toprağa biochar uygulandığında, düşük fosfor mevcudiyetine sahip kuzey Laos bölgelerinde daha yüksek tahıl verimi (*Oryza sativa*) elde edildi (Asai ve ark., 2009; Silber ve ark., 2010). Avustralya'daki yarı kurak topraklardan elde edilen sonuçlar, saksı denemelerinde gübre ile kombinasyon halinde biocharın olumlu tepki verdiğini göstermiştir (Chan ve ark., 2007) ve Endonezya'da tarlada azot gübre ile birlikte ağaç kabuğu kömürü uygulandığında mısır ve yer fıstığı verimleri arttı (Yamato ve ark., 2006). Bashir ve ark. (2018) ve Ye ve ark. (2019), belirli biocharlerin kontamine topraklarda ağır metaller gibi toksik bileşikler bağlayabildiğini ve böylece mikrobiyal aktivite ve bitki büyümesi için daha uygun bir habitat sağladığını belirledi.

Bir kısım araştırmalarda, biocharın sadece besin elementinin sınırlı olduğu koşullarda gübre olarak görev yapabileceği ve kök bölgesindeki mikroorganizma topluluğunu değiştirerek bitki gelişimini teşvik edebileceği ifade edilmiştir (De Tender ve ark., 2016). Tuzlu topraklarda biochar uygulaması, toprak organik maddesinin ve besin maddelerinin artışı destekler, ayrıca katyon değişim kapasitesini artırır ve toprak çözeltisinde kalsiyum sağlayarak sodyumu değişim alanlarından değiştirir, toprak yapısının stabilizasyonunu iyileştirir. Bu nedenle biochar, fiziksel özellikleri geliştirerek topraklardaki su tutma kapasitesini ve hava gözenekliliğini dengeler. Biocharın tuzdan etkilenen toprağa dahil edilmesinin, esas olarak yüksek tuz adsorpsiyon potansiyeli nedeniyle patateslerde tuzluluk stresini azaltabileceği bildirildi (Yeboah ve ark., 2009). Başka bir çalışmada, Akhtar ve ark. (2015), farklı seviyelerde tuzluluk ve biocharın buğday verimi üzerindeki etkisini inceledi. Sonuçlar, biochar uygulamasının tuzlu koşullarda buğdayın büyümesini ve verimini olumlu yönde etkilediğini göstermiştir. Çeltik kavuzundan üretilen biocharın jinseng bitkisi (*Panax ginseng*) ve toprak organizmalarının (*Cylindrocarpon destructans* ve *Fusarium solani*) neden olduğu kök çürüklüğü üzerine etkisini araştıran Eo ve ark. (2018), biochar uygulanan topraklarda biochar uygulanmayanlara kıyasla patojenik mantar oluşumunun bastırıldığını rapor etmişlerdir. Çeltik biocharünün uygulandığı topraklarda mantar nematodlarının çok

yoğun olduğunu tespit eden Eo ve ark. (2018), mantar nematodlarının patojenik mantarlarla beslenmesinin mantar popülasyonunu bastırdığını belirtmişlerdir.

2.6. Bitki materyali: Buğday

Buğday, Poaceae (Gramineae) ailesine aittir. Ekmeklik buğday olarak da bilinen *Triticum aestivum*, kültürü yapılan bir buğday türüdür. *Triticum aestivum* L. (buğday), A, B ve D genomlarında yedi kromozomdan oluşan üç homoeolog setten oluşan bir alloheksaploiddir ($2n=6x=42$; AABBDD) (Glover ve ark., 2016; IWGSC, 2014). Yaygın ekmeklik buğday, *Triticum aestivum*, her kromozomun 6 kopyası, dağılmış muazzam sayıda neredeyse aynı dizi ve 15 milyar bazdan fazla toplam haploid boyutu ile bilimde bilinen en karmaşık genomlardan birine sahiptir. Son genom analizine göre 15.344.693.583 baz içerir ve ağırlıklı ortalama (N50) bitişik boyutu 232.659 bazdır. Bu, bugüne kadar buğday genomunun açık ara en eksiksiz ve bitişik birleşimini temsil eder ve bu önemli gıda mahsulünün gelecekteki genetik çalışmaları için güçlü bir temel sağlar. Hem kışın hem yazın yetiştirilebilmektedir. Ticari anlamda en önemlileri *T. aestivum* spp. vulgare ve *T. durum*'dur (McKevith , 2004). Bir buğday tanesi kepek, rüşeym (embriyo) ve endosperm olmak üzere üç ana tabakadan meydana gelmektedir (Edwards, 2007; Sievert ve ark., 2007). Buğdayın kimyasal yapısı kalıtsal yapısına, iklime ve toprağa bağlı olarak değişir (Özkaya, 1986). Kepek, tahıl tanesinin dışını örten çok katmanlı bir örtüdür. Rüşeym ve endospermi; güneş ışığı, böcek, su ve hastalıkların verebileceği hasarlardan korur. Kepek; lif, vitamin, mineral, enzim, globülin proteinleri ve fenolik bileşikler içermektedir. (Edwards, 2007; Okarter ve Liu, 2010). Buğday kapalı tohumluların (Angiospermae) bir çenekli (Monocotyledonae) buğdaygiller (Poaceae, Gramineae) familyasından otsu yapılı bir yıllık bitkidir. Buğday çiçekleri küçük başakçıklardan meydana gelir. Başak içerisindeki taneler, nişasta deposu birer çiçektir. Her çiçekli bitki gibi buğdayda kök, gövde ve yaprak olmak üzere üç kısımdan meydana gelir. Buğday kökleri saçak köktür ve ancak toprağın yüzey kısımlarındaki besinleri alabilir. Buğday ılıman bölgelerin başlıca tarım ürünüdür. Bitkinin tarımının ve adaptasyonunun kolay olması, kutuplar hariç her yerde tarımının yapılabiliniyor oluşu buğdayı stratejik bir bitki yapar. Buğday, dünyadaki başlıca tahıllardan ve ana kalori ve protein kaynaklarından birisidir. Dünya nüfusunun yaklaşık %82-85'nin temel kalori ve protein ihtiyacı için buğday gereklidir (Chaves ve ark., 2013). Ayrıca bu tahıl, mayalı ekmek, yassı ve buğulanmış ekmekler, kekler, makarnalar, bisküviler, eriştelere, kuskus

ve bira gibi çeşitli buğday ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır (Curtis ve Halford, 2014). Buğday, insan tüketiminin ötesinde, yakıt gibi gıda dışı ürünlerin geliştirilmesi için de kullanılmaktadır. Buğday, yüksek düzeyde adaptasyon özelliğinden dolayı tropikal ve subtropikal bölgelerde ve hem yağmurla hem de sulu ekimle yetiştirilmektedir. Bununla birlikte, mahsul üretimi olumsuz çevresel streslerden ciddi şekilde etkilenir (Rahaie ve ark., 2013).

Buğday tanelerinin esas olarak bir enerji kaynağı olarak kullanıldığı göz önüne alındığında, bileşimleri, bazıları biyoaktif moleküller olan karbonhidratlar, proteinler, lipitler, lifler, mineraller, vitaminler ve fitokimyasal bileşiklerin bir karışımıdır. Nişasta ve proteinler, onların ana bileşenleri ve dolayısıyla işlevselliklerinden sorumlu kilit faktörler olsa da tam buğday taneleri söz konusu olduğunda, besleyici özellikleri ve sağlıkları nedeniyle büyük önem taşıyan başka bileşenler de vardır. Bu bileşenler arasında- fibere ek olarak- karotenoidler, fenolik bileşikler, tokoferoller ve tokotrienoller (Borneo ve León, 2012), benzoksazinoidler (Dihm ve ark., 2017) gibi daha az bilinen bileşiklerle birlikte bulunur. Germ, embriyonik eksen ve scutellum'dan oluşur ve tanenin yaklaşık %3'ünü temsil eder; proteinler, yağlar, vitaminler ve minerallerin yanı sıra antioksidanlar, steroller, doymamış yağ asitleri ve esansiyel amino asitler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengindir (Shewry ve ark., 2013).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Buğday tohumların temin edilmesi ve tohum sterilizasyonu

Yüksek lisans tezimizde, birçok çalışmada bitki materyali olarak seçilen ve ekonomik değeri yüksek olan buğday (*Triticum aestivum* cv. *Taner*) tercih edilmiştir. Buğday tohumları, Bahri Dağdaş Uluslararası Araştırma Enstitüsü'nden temin edilmiştir. Tohum sterilizasyonu aşaması için makaleler araştırılmış ve öncelikle buğday tohumlarının sağlıklı ve dolgun olanları ayrılmıştır. Sonrasında buğday tohumları bir dakika boyunca etanolde tutulmuştur. Etanolü uzaklaştırmak için de-iyonize su ile beş defa yıkanmıştır. Sterilizasyonda ikinci adım olan sodyum hipoklorit uygulaması yapılmıştır. Yine makale taramalarında 10 dakika boyunca %4 oranında hazırlanan sodyum hipoklorit uygulamasının uygun olduğuna karar verilmiştir. Bu uygulama sonrasında fazla sodyum hipokloritin uzaklaştırılması için beş kere tekrarlı olarak deiyonize su ile yıkama işlemi yapılmıştır. Böylece sterilizasyon aşaması tamamlanmıştır.

3.2. Deneme Grupları ve deneme dizaynının belirlenmesi

Yapılan bu tez çalışmasında toksik etkilere sahip olduğu gösterilmiş olan mikroplastik uygulaması buğday kökleri için bir stres faktörü olarak değerlendirilmiştir. Uygulama konsantrasyonlarının belirlenmesinde daha önce yapılan makalelerden yararlanılmıştır. Çalışmalarda (Ullah ve ark., 2021) yapılan konsantrasyonlardan bir mikroplastik sınıfı içinde yer alan poli(metil metasirilat) (PMMA, 100 ve 200 mg L⁻¹) seçilmiştir. Aynı şekilde biochar (BC) uygulaması için 1, 3 ve 5 gr L⁻¹ konsantrasyonları seçilmiştir. BC konsantrasyonlarının seçiminde Wu ve ark. (2019) tarafından yapılan makale temel alınmıştır.

PMMA oluşturmak için metil metasirilatın (MMA, %99) serbest radikal polimerizasyonu seçilmiştir. MMA ve amonyum persülfat, aseton-su karışımını içeren şişeye eklenmiştir. Şişe asetonun buharlaşıp kaybolmaması için sıkıca kapatılmıştır. Karışım 3 saat süresince 70°C'de karıştırılmıştır. Oluşan süspansiyon santrifüj ile ayrılmış ve ultra su ile iki kere yıkanmıştır.

Biochar uygulaması da hazır olarak temin edilmek suretiyle yapılmıştır. Elde etmenin en makul yöntemi pirolizdir (pyrolysis). Bu da mevcut biyokütlenin (bitkiler

veya hayvansal atıkların) moleküllerinin çok yüksek ısıda (400° – 500°), çok az oksijenle veya oksijensiz olarak termokimyasal şekilde ayrıştırılması, çözülmesi yöntemi yapılmaktadır.

Buğday tohumları önce çimlendirilmiş ve sonrasında mikroplastik stresi ve biochar uygulamaları yapılmıştır. Uygulama süresi olarak 7 gün seçilmiştir. Uygulama süresi sonunda hasat yapılmış ve kökler analiz için saklanmıştır. Saklama koşullarının - 80°C olmasına dikkat edilmiştir. Tezde yer alan uygulama grupları aşağıda verilen çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Tezde kullanılan uygulama grupları ve tanımları

	Grup adı	Grup tanımlaması
1	Kontrol	Mikroplastik (PMMA) ya da biochar uygulanmayan normal koşullar
2	BC1	PMMA uygulaması yapılmadan sadece 1 g L ⁻¹ BC uygulaması
3	BC2	PMMA uygulaması yapılmadan sadece 3 g L ⁻¹ BC uygulaması
4	BC3	PMMA uygulaması yapılmadan sadece 5 g L ⁻¹ BC uygulaması
5	PMMA1	BC uygulaması yapılmayan ortama sadece mikroplastik stresi (100 mg L ⁻¹ PMMA) uygulaması
6	PMMA1+BC1	1 g L ⁻¹ BC uygulaması ve mikroplastik stresinin (100 mg L ⁻¹ PMMA) birlikte uygulanması
7	PMMA1+BC2	3 g L ⁻¹ BC uygulaması ve mikroplastik stresinin (100 mg L ⁻¹ PMMA) birlikte uygulanması
8	PMMA1+BC3	5 g L ⁻¹ BC uygulaması ve mikroplastik stresinin (100 mg L ⁻¹ PMMA) birlikte uygulanması
9	PMMA2	BC uygulaması yapılmayan ortama sadece mikroplastik stresi (200 mg L ⁻¹ PMMA) uygulaması
10	PMMA2+BC1	1 g L ⁻¹ BC uygulaması ve mikroplastik stresinin (200 mg L ⁻¹ PMMA) birlikte uygulanması
11	PMMA2+BC2	3 g L ⁻¹ BC uygulaması ve mikroplastik stresinin (200 mg L ⁻¹ PMMA) birlikte uygulanması
12	PMMA2+BC3	5 g L ⁻¹ BC uygulaması ve mikroplastik stresinin (200 mg L ⁻¹ PMMA) birlikte uygulanması

Tezimizde mikroplastik toksitesi altında bulunana buğday köklerinde biochar uygulamasının bazı fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine etkilerini belirlemeyi amaçladık. Fizyolojik parametreler içerisinde bağıl su içeriği (RWC), biyokimyasal parametreler içerisinde ise antioksidan enzim/izozim aktivite tayinleri (SOD, CAT, POX), ROS miktarı (H₂O₂ miktarı), lipid peroksidasyonu (TBARS miktarı), prolin miktarı ve protein miktarı değerlendirilmiştir.

3.3. Bağlı Su içeriğinin (RWC) saptanması

7 gün uygulama yapıldıktan alınan kök örnekleri önce yaş ağırlıklarını (YA) belirleyebilmek için tartılmıştır. Örnekleme sayısı her bir gruptan 5 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Kısmi su içeriği formülünde yer alan turgorlu ağırlıkları (TA) ölçmek için 50 ml de-iyonize su içeren petri kaplarında bekletilmiş ve kök örnekleri tartılmıştır. Kuru ağırlıkları (KA) gözlemek için ise aynı örnekleri sonrasında 72 saat süresince 70°C’de tutulmuştur. Kısmi su içeriğinin (RWC) hesaplamasında Smart ve Bingham (1974) tarafından verilen formül kullanılmış ve birimi % olarak hesaplanmıştır. Formül aşağıda gösterilmiştir:

$$RWC (\%) = [(YA - KA) / (TA - KA)] \times 100$$

3.4. Enzim ve izozim aktivitelerinin saptanması için kloroplast izolasyonu

3.4.1. Süperoksit dismutaz (SOD) izozim/enzim aktivitesinin saptanması

SOD aktivitesinin hem elektroforetik hem de spektrofotometrik olarak aktivite tayinleri yapılmıştır. SOD izozim analizleri densiyometrik olarak yapılmış ve Laemmli (1970) tarafından verilen metotla tamamlanmıştır. SOD izozim tayininde kök örnekleri, 9 mM Tris HCl (pH 6.8) ve %13.6 gliserol ile homojenizasyon yapılmış ve 14.000 g’de 5 dakika süresince santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatantların protein miktarı belirlenmiştir. Protein miktarının belirlenmesi, bovin serum albüminin standart olarak kullanılmasıyla Bradford (1976) tarafından verilen metot temel alınarak yapılmıştır. Protein miktarına bağlı olarak her bir gruptan eşit miktarda protein (45 µg) yüklemesi yapılarak SOD izozim tayini belirlenmiştir. İzozimlerin bant yoğunlukları Bio-1D yazılım programı kullanılarak densiyometrik olarak yapılmıştır. Ayrıca total SOD aktivite tayini, daha önce verilen ekstrakt üzerinden tamamlanmıştır. Bu tayin için Beauchamp ve Fridovich (1971) ile gösterilen yöntem izlenmiştir.

3.4.2. Katalaz (CAT) izozim/enzim aktivitesinin saptanması

Katalaz (CAT) izozim tayinleri Woodbury ve ark. (1971) ile tanımlanan metotla yapılmıştır. Her bir gruptan 45 µg protein olacak şekilde yükleme yapılmıştır. Total CAT enzim aktivitesi için Bergmeyer (1970) tarafından tanımlanan yöntem kullanılmış ve 50

mM Na-fosfat tamponu (pH 7.0), %0.3 H₂O₂, EDTA ve enzim örneği kuvartz küvetlere eklenmiştir. Örneklerin aktivite analizleri, 240 nm dalga boyundaki H₂O₂'nin üç dakika süresince tüketilmesi temel alınarak tamamlanmıştır.

3.4.3. Peroksidaz (POX) izozim/enzim aktivitesinin saptanması

Peroksidaz (POX) izozim bant yoğunlarının belirlenmesi amacıyla elektroforetik olarak Seevers ve ark. (1971) tarafından verilen metot kullanılmıştır. Total POX aktivitesinde Herzog ve Fahimi (1973) tarafından tanımlanan metottan yararlanılmıştır. 3'-3'-diaminobenzidin tetrahidroklorit (DAB), H₂O₂ varlığında okside olmaktadır ve bunun 465 nm'de absorbans artışı temel alınarak total POX aktivite hesaplanmıştır.

3.5. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarının saptanması

3.5.1. Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının saptanması

Hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarının belirlenmesi amacıyla Liu ve ark. (2010) tarafından verilen yöntem kullanılmıştır. Bu yöntem 0.5 gr kök örnekleri sıvı azotta parçalanmış ve aseton ile homojenize edilmiştir. Süzüntü, 3.000 g'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında süpernatant ayrılmış ve titantum tetraklorid içeren solüsyon ilave edilmiştir. Amonyum hidroksit eklenerek 16.000 g'de santrifüj edilmiştir. Pellet kısmı aseton ile yıkanarak elde edilen pellet H₂SO₄ solüsyonuyla çözülmüştür. Oluşan solüsyonun 410 nm'de absorbansı izlenmiştir. Bilinen H₂O₂ miktarına bağlı standart eğri temel alınarak H₂O₂ miktarı hesaplanmıştır.

3.6. Lipit peroksidasyonun saptanması

Malondialdehit (TBARS -tiobarbiturik asit reaktif maddeler- miktarı) birikimi lipid peroksidasyonun bir göstergesidir. Stres koşulunda köklerin hasar düzeyini veya biocharın bu hasar üzerine olumlu rollerini belirleyebilmek için TBARS miktarı tayin edilmiştir. Bu nedenle Rao ve Sresty (2000) tarafından gösterilen yöntemle göre 0.1 gr kök örnekleri tiokloroasetik asit (TCA) ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında karışım 10.000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında, süpernatant

ayrılmış ve 2-Tiobarbitürik asit (TBA) ve trikloroasetik asit (TCA) karışımı eklenmiştir. Karışım tüplere alınmış ve sıcak su banyosunda yarım saat tutulmuştur. Miktar tayini için 532 nm ve 600 nm iki farklı aralıktaki absorbans değişimleri değerlendirilmiştir.

3.7. Prolin miktarının saptanması

Örnekleme yapılan köklerdeki prolin miktarının izlenmesi Bates ve ark. (1973) tarafından yöntem temel alınmıştır. Her bir bir gruptan 0.1 gr kök örnekleri alınmış ve sülfosalisilik asit eklenerek homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım filtre kağıdından süzülüp asit ninhidrin ve glasiyal asetik asit eklenmiştir. Oluşan solüsyon sıcak su banyosunda bir saat bekletilmiş ve sonrasında buz banyosuna alınmıştır. Soğutmadan sonra karışıma toluen eklenmiş ve üst kısım alınarak 520 nm’de absorbansı kaydedilmiştir.

3.8. Total protein miktarının saptanması

Elektroforetik olarak yapılan izozim belirlenmesi ve enzim aktivitelerinin saptanması amacıyla protein miktarı izlenmiştir. Bu nedenle Bradford (1976) ile gösterilen protein tayin yöntemi kullanılmıştır. Bovin serum albumin (BSA) içeren ve belirlenen miktar aralığında standartlara göre örneklerin protein miktarı hesaplanmıştır. Hazırlanan örnekler ve kör, spektrofotometrik olarak 595 nm’de absorbansı ölçülmüştür.

3.9. İstatistiksel Analizler

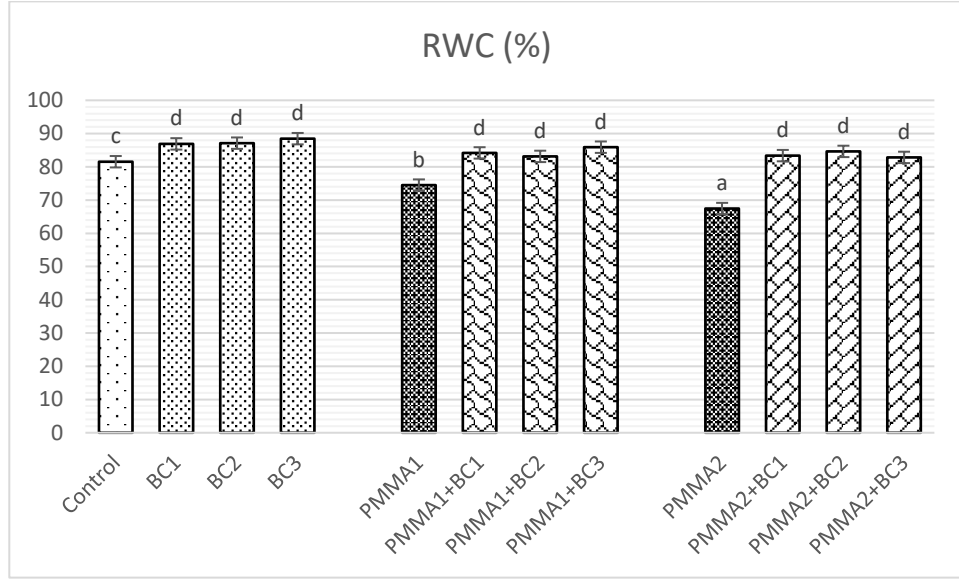
Fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerdeki elde edilen veriler her bir gruptan beş tekrar yapılarak değerlendirilmiştir. Bulgular one-way ANOVA analiziyle (tek yönlü varyans analizi) yorumlanmıştır. Uygulama grupları arasındaki karşılaştırma TUKEY post-test (SPSS yazılımı, versiyon 23.0) uygulanmıştır. Karşılaştırma sonunda değer $P < 0.05$ bulunuyorsa gruplar arasındaki değişimde istatistiksel olarak farklı olarak yorumlanmıştır. Çalışmamızdaki grafik olarak verilen tüm sonuçlarımızdaki hata çubukları standart hata temel alınarak yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Tez çalışmasında PMMA toksitesi uygulanan buğday köklerinde biochar uygulamasının, su içeriği, antioksidan savunma sistemi, lipid peroksidasyonu ve prolin miktarı üzerine etkileri fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerle desteklenerek gösterilmeye çalışılmıştır. Tezde elde edilen verilerin sonuçları ve yorumlanması aşağıda verilmiştir.

4.1. PMMA toksitesindeki buğday köklerinde biochar uygulamasının bağıl su içeriği üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının su miktarı üzerine etkisini belirleyebilmek için uygulama gruplarında bağıl su içeriği (RWC) (Şekil 4.1) analiz edilmiştir.



Şekil 4.1. Mikroplastik toksitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının bağıl su içeriği (RWC) üzerine etkisi

PMMA ile uyarılan mikroplastik stresi buğday köklerinde su içeriğinde azalmaya neden olmuştur. RWC'deki azalma en yüksek konsantrasyonda uygulanan PMMA ile köklerde izlenmiştir. Bu oran yaklaşık 1.2 katlık bir azalmadır. Ancak PMMA toksitesinde yetişen buğday köklerine eş zamanlı olarak BC uygulaması su içeriğinde artış izlenmiştir. RWC'deki bu iyileşmede BC konsantrasyonları arasında herhangi bir

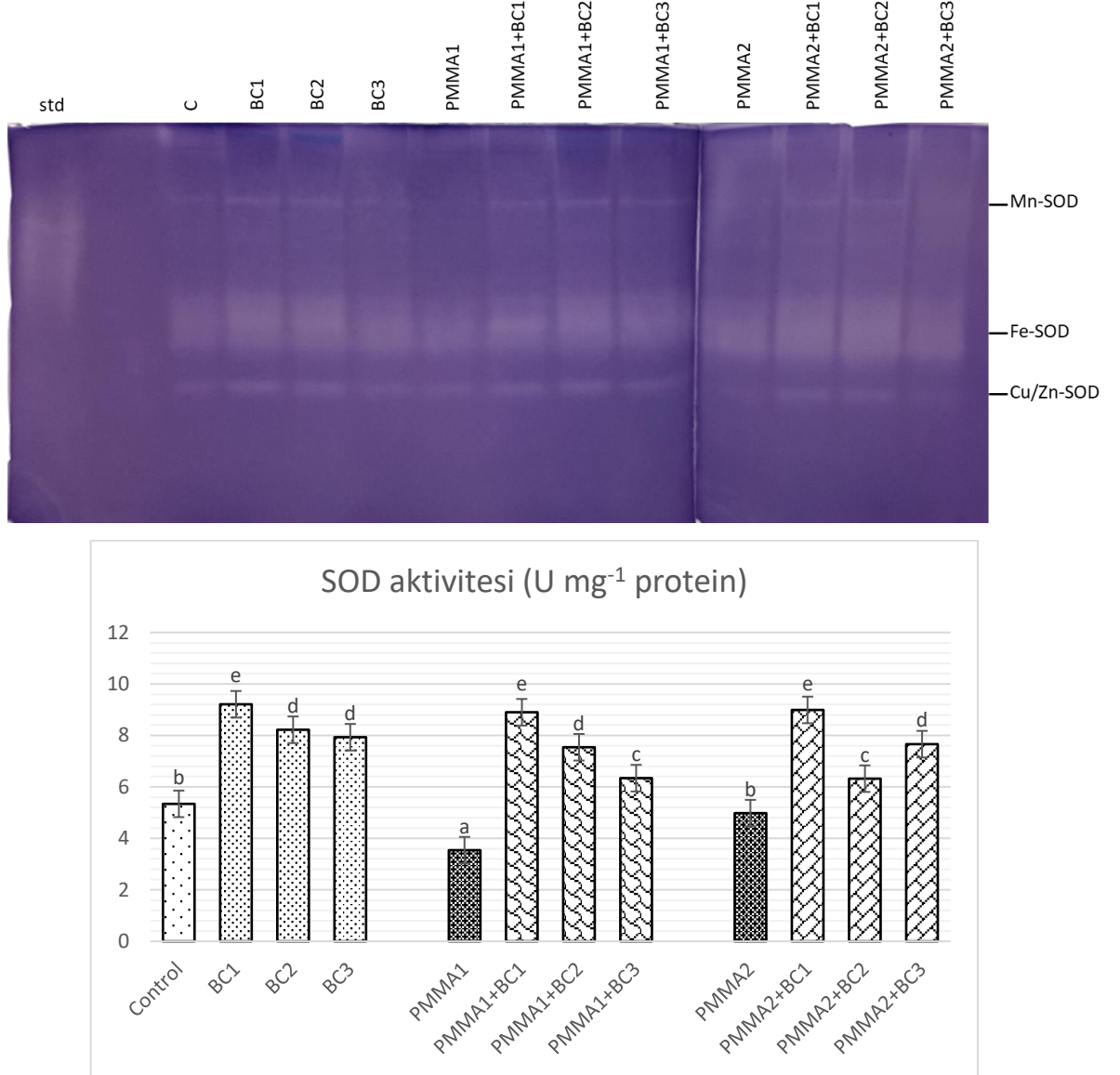
farklılık gözlenmemiştir. Tüm uygulanan BC miktarlarında (BC1-BC2-BC3), RWC artışı sağlanmıştır. Stres uygulanmadan sadece kontrol koşulları altında BC uygulaması aynı şekilde RWC’de artışa neden olmuştur.

RWC bitki hücrelerinde metabolik aktivite ile ilişkili bitki su durumu düzeylerini göstermektedir (Sinclair ve Ludlow, 1986). İlginç olarak bazı çalışmalarda mikropplastiklerin uygun miktarlarda köklerde solunumu artırarak ya da hava boşlukları oluşturarak kök büyümesini artırmaktadır (Khalid ve ark., 2020; Wang ve ark., 2022). Aynı çalışmada bitkilerin büyüme ve verimliliğinin toprağın fiziksel yapısıyla yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak bu fenomen ile çelişen başka çalışmalarda mevcuttur. Nanoplastik ya da mikropplastik uygulamasının mitoz hücre bölünmesini ve membran bütünlüğünü bozarak veya büyüme ve karbonhidrat metabolizması ile bağlantılı gen ifadesinin azalması yoluyla büyümede azalma gerçekleşmektedir (Zhou ve ark., 2021). Bu sonuca benzer olarak çalışmamızda PMMA uygulamasının su içeriğini azalttığı gözlenmiş ve bu durumun devamında kök büyümesi azalmış olabilir. PMMA ile uyarılan RWC’deki azalmanın nedeni, PMMA’nın içsel fosfor miktarını azaltması da olabilir. Sadece fosfor değil, PMMA potasyum, çinko, bakır, bor, demir, kalsiyum ve mangan gibi önemli besleyici elementlerin alınımını azaltmaktadır. Bu taşıyıcıların bozulması su kanallarının da bozulmasını ve su alınımının azalmasını oluşturabilir. Çalışmamıza paralel olarak Chen ve ark. (2022) nanoplastik toksisitesi altında bitkilerin su alınımını bozulmuştur. BC uygulaması su tresine karşı *Solanum lycopersicum* yapraklarında RWC değerlerini artırmıştır (Akhtar ve ark., 2015). Bu etkinin BC tarafından oluşturulmasında bitkinin su kullanım etkinliğini mikropplastik stresine karşı iyileştirerek gerçekleştirmiş olabilir. Grafikte de gözleendiği gibi BC uygulaması, PMMA stresine karşı hücrelerin su durumunu (RWC) koruyabilmiştir. Bu durum, artan prolin miktarları sonuçlarımızla da örtüşmektedir.

4.2. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının antioksidan enzim/izozim profillemesinde oluşan değişimler

4.2.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının total SOD enzim/izozim aktivitesi üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının antioksidan sistem üzerine etkisini belirleyebilmek için uygulama gruplarında total süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi analiz edilmiştir (Şekil 4.2).



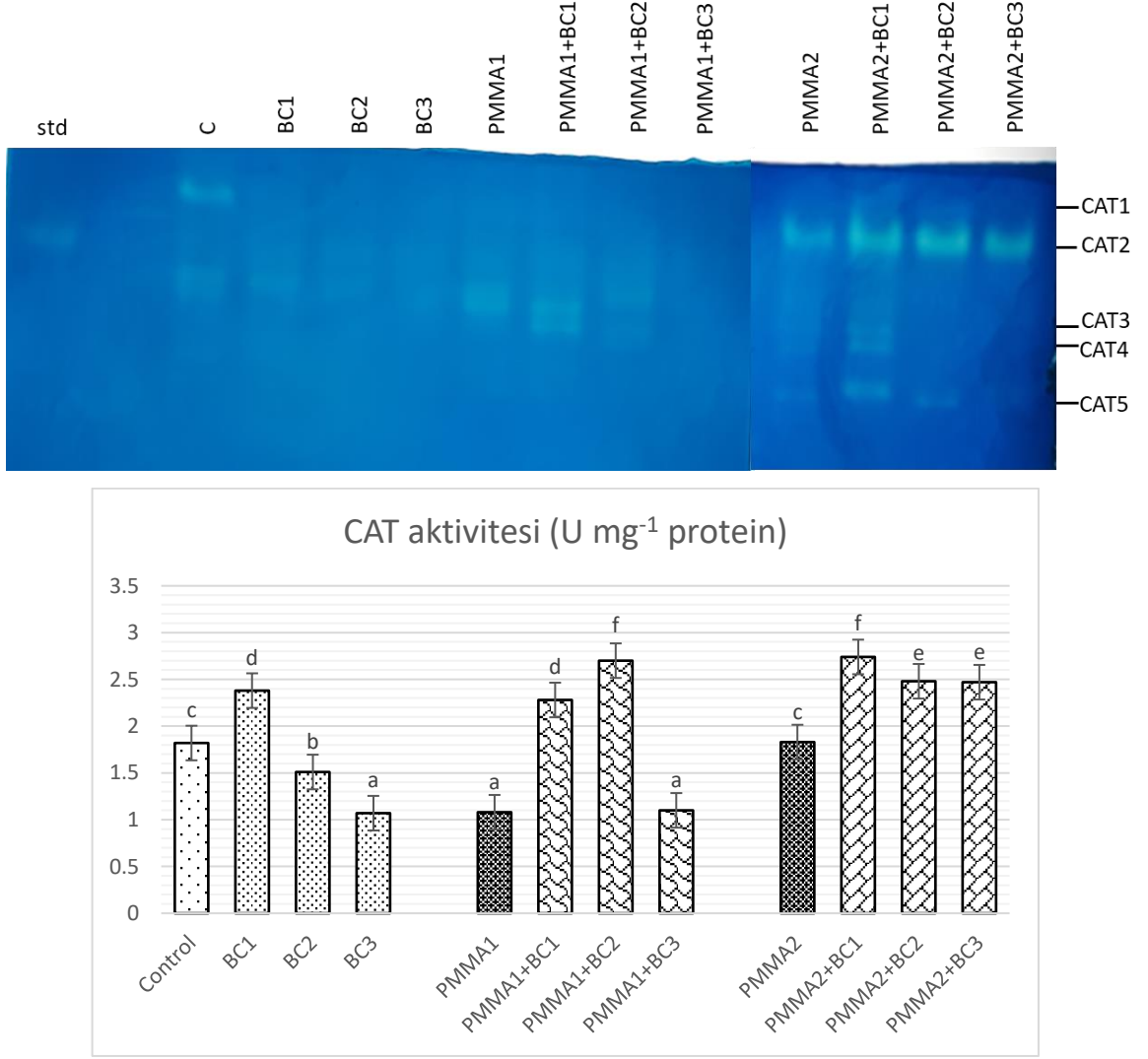
Şekil 4.2. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının total SOD aktivitesi ve SOD izozimlerinin band yoğunluğu üzerine etkisi

Deneme süresince uygulama grupları arasında SOD izozim profillemesi ile birlikte üç SOD isoform tanımlanmıştır (Mn-SOD, Fe-SOD ve Cu/Zn-SOD). PMMA uygulaması buğday köklerinde SOD aktivitesini azaltmıştır. Bu SOD aktivitesindeki azalma özellikle Mn-SOD ve Fe-SOD isoformlarıyla yakından ilişkilidir. Ancak, BC ile birlikte uygulanan PMMA toksisitesi, sadece PMMA uygulanan gruba göre total SOD aktivitesini artırmıştır. Bu etki kontrol koşulları altında uygulanan BC uygulamalarıyla da sağlanmıştır. Bu gruplarda SOD aktivitesinde gözlenen değişim, tüm SOD izozim yoğunluklarıyla paralellik göstermektedir.

Mikroplastik stresi diğer abiyotik streslerde olduğu gibi artan ROS birikimine bağlı olarak oksidatif strese neden olmaktadır (Giorgetti ve ark., 2020). Çalışmamızda PMMA stresi altında buğday köklerinde SOD aktivitesinde izlediğimiz azalma, bu enzimin aktif bölgelerine demir, bakır, çinko ve mangan gibi elementlerin bağlanma kapasitesiyle ilişkili olabilmektedir. Bu durumda PMMA stresi SOD enzimin etkinliğini azaltmaktadır. Zıt olarak, Jiang ve ark. (2019) yaptıkları çalışmada polistren mikroplastik uygulanan *Vicia faba* bitkisinde artan SOD aktivitesini göstermişlerdir. SOD aktivitesi, süperoksit anyon radikalini ortadan kaldırıp katalizlediği reaksiyon ile H_2O_2 oluşturmaktadır (Zhu ve ark., 2006). Tezimizde PMMA ile artan SOD aktivitesi sonucunda H_2O_2 miktarı artmıştır. Diğer yandan, BC uygulaması radikallere karşı savunma hattını uyarmada SOD aktivitesini artırabilmiştir. Bu etkiyi sadece stres durumunda değil ayrıca kontrol koşullarında da sağlamıştır. Buna benzer olarak Lyu ve ark. (2016) tarafından kuraklık stresine maruz kalan *Pyrus ussuriensis* bitkisinde BC uygulamasında artan SOD aktivitesi rapor edilmiştir.

4.2.2. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının total CAT enzim/izozim aktivitesi üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının antioksidan sistem üzerine etkisini belirleyebilmek için uygulama gruplarında total katalaz (CAT) aktivitesi analiz edilmiştir (Şekil 4.3).



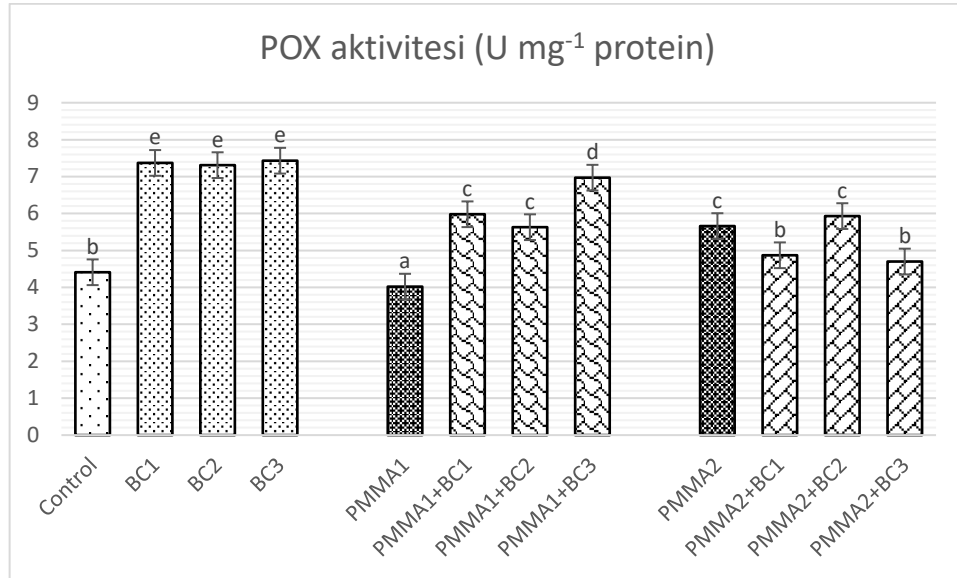
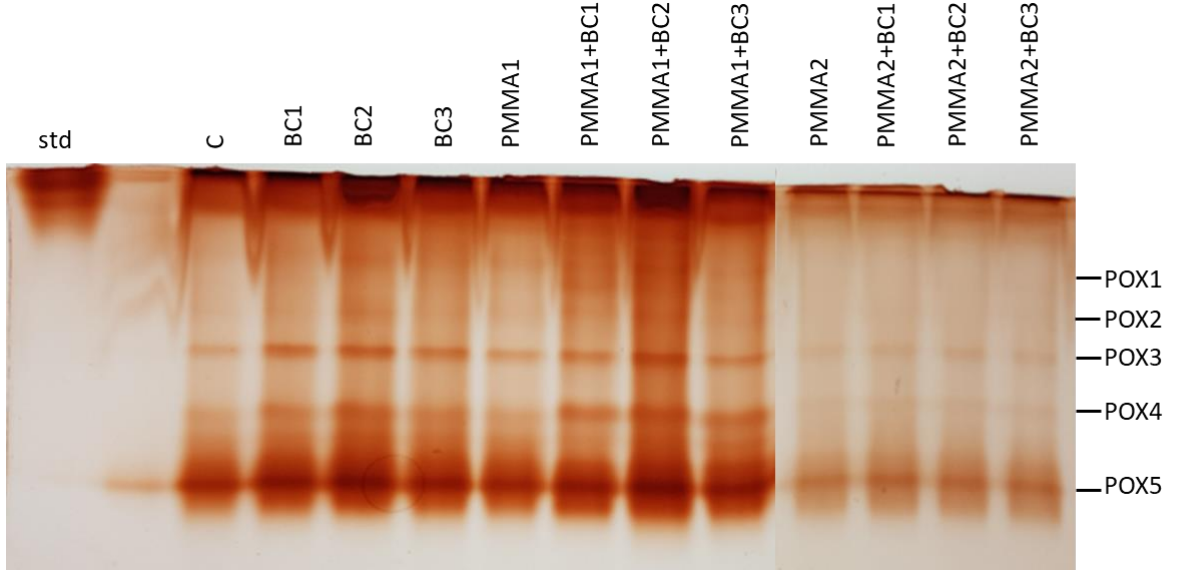
Şekil 4.3. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının total CAT aktivitesi ve CAT izozimlerinin bant yoğunluğu üzerine etkisi

Uygulama süresince densiyometrik analizlerle beş farklı CAT izozimi (CAT1-2-3-4-5) tanımlanmıştır. Hem total CAT aktivitesi hem de CAT isoformları paralellik göstermektedir. PMMA uygulanan buğday köklerinde total CAT aktivitesi ya azalmış ya da aktivitede herhangi bir değişim izlenmemiştir. Özellikle CAT2-3-4-5 isoformlarının azalan yoğunlukları bu total aktivitedeki değişimi göstermektedir. BC ve PMMA'nın birlikte uygulanması, sadece PMMA grubuna göre CAT aktivitesini artırmıştır (PMMA1+BC3 dışında). Sadece en düşük BC uygulamasını (BC1) takiben CAT aktivitesi artmıştır, ancak diğer BC konsantrasyonlarında (BC2 ve BC3) bu enzim aktivitesini azaltmıştır. Bu azalma tüm CAT isoformlarıyla da uyumludur.

Çalışmamızda PMMA uygulaması SOD aktivitesini artırmış devamında H_2O_2 oluşumu tetiklenmiştir. Biriken bu H_2O_2 miktarı yüksek düzeylere ulaştığında toksik etkiler oluşturmaktadır. Bu toksiteyi ortadan kaldırmak için CAT, POX ya da askorbat-glutasyon döngüsüne ait enzimler çalışarak oksidatif hasarın etkilerini azaltmaya çalışırlar. Bu enzim grubu içinde yer alan çalışmamızda azalan CAT aktivitesinin H_2O_2 'yi ortadan kaldırmada etkili olmadığını söyleyebiliriz. Ancak farklı sonuçlar diğer çalışmalarda izlenmiş olup, Zhou ve ark. (2021) çeltik bitkilerinde nanoplastik stres altında artan CAT aktivitesini raporlamışlardır. Diğer yandan, tezde elde edilen veriler BC ve PMMA uygulamalarının birlikte yapılması halinde CAT aktivitesini artırdığını göstermektedir (PMMA1+BC3 dışında). BC'nin stres ya da kontrol koşulları altında uygulanması CAT aktivitesi üzerinde BC konsantrasyonuna bağlı olarak farklı aktivite düzeylerini etkilediği görülmektedir. Kontrol koşulları altında sadece düşük BC miktarları CAT uyarılmasını sağlayabilmektedir. Bu stres altında artan CAT aktivitesi Ramzani ve ark. (2017) tarafından da gösterilmiştir. H_2O_2 toksisitenin yanında bitkiler için bir sinyal molekülü olarak da tanımlanmaktadır (Saxena ve ark., 2016). BC ve PMMA uygulanan gruplarda antioksidatif süpürmeye bağlı olarak azalan H_2O_2 miktarları bu sinyal rolünü gerçekleştiriyor olabilir. Düşük H_2O_2 miktarları, BC uygulamasıyla birlikte PMMA stresi altında kalsiyum ya da hormon ile uyarılan sinyal yollarını etkilemiş olabilir.

4.2.3. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının total POX enzim/izozim aktivitesi üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının antioksidan sistem üzerine etkisini belirleyebilmek uygulama gruplarında total peroksidaz (POX) aktivitesi analiz edilmiştir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L^{-1} PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, $1\text{-}3\text{-}5 \text{ g L}^{-1}$) uygulamasının total POX aktivitesi ve POX izozimlerinin band yoğunluğu üzerine etkisi

Poliakrilamid jel elektroforezinde uygulama gruplarında deneme süresince beş POX izozimi (POX1-2-3-4-5) izlenmiştir. PMMA uygulama konsantrasyonuna bağlı olarak farklı POX aktivitesi izlenmiştir. Düşük dozda uygulanan PMMA total POX aktivitesini azaltırken, yüksek PMMA miktarı (PMMA2) POX aktivitesini uyarmıştır. İlginç olarak stres altında BC'nin POX aktivitesi üzerine etkisi uygulanan PMMA stresi miktarına göre değişmektedir. PMMA1 ile birlikte uygulanan tüm BC konsantrasyonları sadece PMMA1 grubuna göre POX aktivitesini artırmaktadır. Bu gruplarda (PMMA1+BC1/2/3), POX3-4-5 isoformlarının değişimleri, artan POX aktivitesiyle

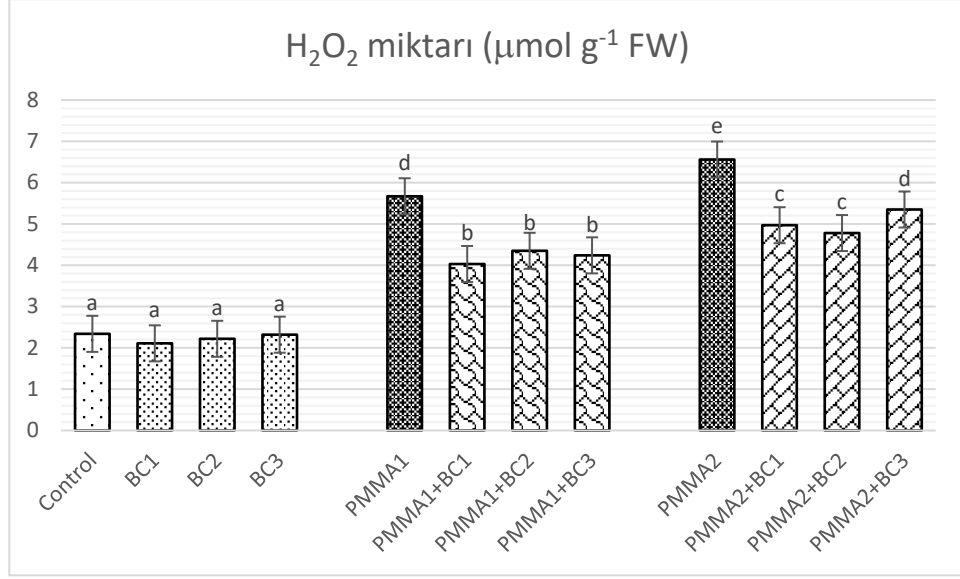
paraleldir. Ancak tüm POX isoformlarının gösterdiği gibi, yüksek PMMA konsantrasyonu altında (PMMA2), BC uygulaması artan bir POX aktivitesine neden olmamıştır. Kontrol koşulları altında buğday köklerine uygulanan BC konsantrasyonları POX aktivitesini ciddi oranda artırmıştır. Tüm POX isoformları bu değişimden sorumlu olmasına rağmen, POX5 isoformu bu artıştan başlıca sorumlu izozimdir.

H₂O₂'in yüksek birikimi olduğu takdirde bu molekülün radikal etkilerini ortadan kaldıran başka bir enzim de POX enzimidir (Ahammed ve ark., 2020). Stres uygulamaları enzim sistemin aktif bölgesini bozabilmektedir. Çalışmamızda enzim yapısını özellikle PMMA1 uygulaması bozmuş olabilir. Çeltik bitkilerine uygulanan bakır stresinin POX aktivitesini azalttığı rapor edilmiştir (Tahjib-Ul-Arif ve ark., 2020). Ancak çalışmamızda sadece PMMA1'de bu azalma izlenmiştir. PMMA2 grubunda artan POX aktivitesi, stresle oluşan H₂O₂'yi ortadan kaldırmaya çalışmıştır. Diğer yandan, BC uygulaması düşük PMMA1 konsantrasyonuna karşı POX aktivitesini artırarak H₂O₂ ortadan kaldırmaya katkı sağlamıştır.

4.3. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarının belirlenmesi

4.3.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının ROS birikimi üzerine etkisini belirleyebilmek için uygulama gruplarında hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarı analiz edilmiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının H₂O₂ miktarı üzerine etkisi

PMMA uygulamasının her iki konsantrasyonu da H₂O₂ birikimine neden olmuştur. H₂O₂'deki bu değişimin oranı en yüksek PMMA uygulamasında (PMMA2) 2.8 katlık artışla maksimumdur. Ancak stres uygulanan buğday köklerine BC'nin de eklenmesi sadece stres grubuna göre H₂O₂ miktarını azaltmıştır. Bu azalan H₂O₂ düzeyleri, tüm BC konsantrasyonları ile sağlanmıştır. Kontrol koşulları altında uygulanan BC ise H₂O₂ miktarında herhangi bir değişim oluşturmamıştır.

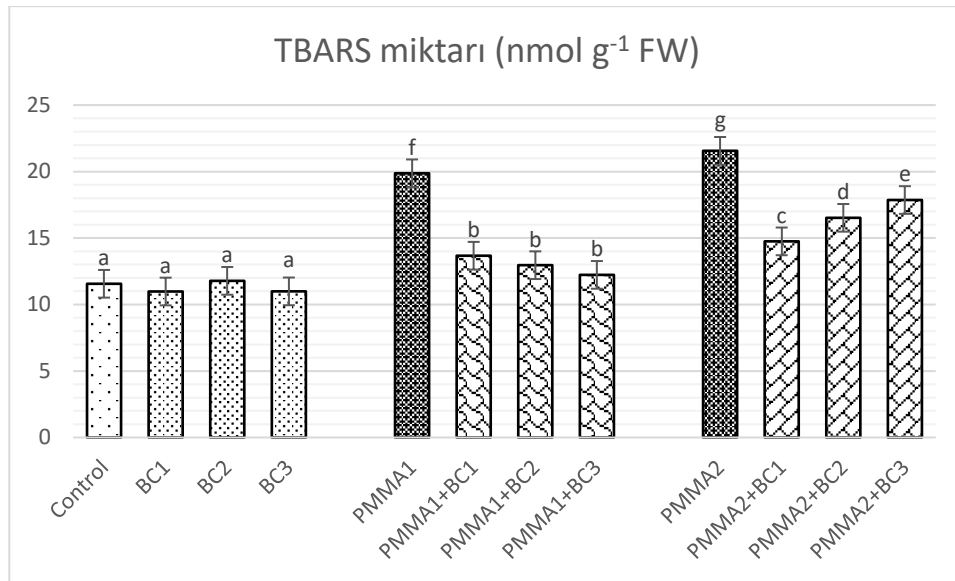
Mikroplastik birikimleri ile birlikte bitkinin ortamdan aldığı mikroplastik miktar arttığı takdirde, bitkide radikal birikimi artmaktadır. Bu radikal artışından hem kloroplast hem de mitokondri içinde elektron akışındaki bozulmalar sorumludur (Pignattelli ve ark., 2021). Mikroplastikler, fotosentetik aparatları özellikle de fotosistem II'yi bozarak yüksek enerjili elektronların oksijeni indirgemesine neden olur. Bu indirgeme olayı radikallerin oluşumu ile sonuçlanır (Janeeshma ve ark., 2021). Çalışmamızda PMMA uygulamasıyla SOD artışı olmamasına rağmen H₂O₂ artışı izlenmiştir. Bu durum buğday köklerindeki diğer H₂O₂ kaynaklarının uyarılabilmesine bağlanabilir. NADPH oksidaz ve amin oksidaz gibi enzimler de H₂O₂ oluşturabilmektedir. Stresle oluşan H₂O₂, CAT, POX ya da AsA-GSH döngüsüyle ortadan kaldırılmaya çalışılır. Ancak, çalışmamızda PMMA uygulaması H₂O₂ süpüren enzimlerden CAT'ı aktive edememiş, sadece PMMA2 ile POX artışı sağlanabilmiştir. Bu durum yeterli olmadığından PMMA uygulanan grupta H₂O₂ artışı izlenmiştir. Bu devamında membranların peroksidasyonunda artışa neden olmuştur. Bu sonuç Maity ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada da gösterilmiştir. Normal

biyolojik süreç içinde zaten H_2O_2 oluşturulmaktadır. Ancak düşük miktarlarda kalan H_2O_2 miktarı, sinyal rolü görerek bazı mekanizmaları sinyalleme yoluyla uyarabilmektedir. Tezimiz sonuçlarında da görüldüğü gibi PMMA stres altında BC uygulaması H_2O_2 miktarını düşük düzeylerde tutarak onun sinyalleme rolünü ön plana çıkarmıştır. H_2O_2 'nin bu gruplarda (BC+PMMA) düşük düzeylerde kalmasının nedeni, CAT ve POX (sadece düşük PMMA konsantrasyonuna karşı) aktivitelerinin artışı sağlayabilmesidir. Bu iki enzim dışında yine H_2O_2 süpürülmesinde görev alan AsA-GSH döngüsü bileşenlerinden APX, GR, MDHAR ve DHAR enzim aktivitelerini de artırmıştır (yayınlanmamış data). Tüm bu sonuçlar BC'nin PMMA stresine karşı antioksidan savunma sistemini uyarak korumayı teşvik ettiğini göstermektedir.

4.4. Lipit Peroksidasyonun Belirlenmesi

4.4.1. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının TBARS miktarı üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının lipid peroksidasyon üzerine etkisini belirleyebilmek için uygulama gruplarında TBARS miktarı analiz edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının TBARS (tiobarbiturik asit maddeleri) miktarı üzerine etkisi

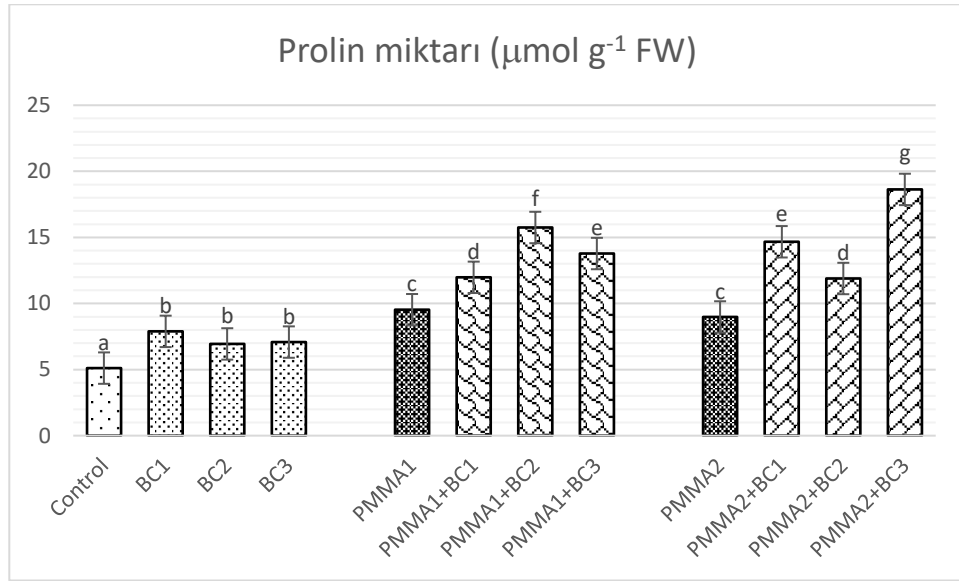
PMMA ile uyarılan mikroplastik birikimi, lipid peroksidasyonun göstergesi olan TBARS miktarını artırmıştır. Bu artış en yüksek düzeyde PMMA2 grubunda ve 1.9 katlık artışla izlenmiştir. PMMA uygulanan gruplarda buğday köklerine eş zamanlı olarak BC eklenmesi, TBARS düzeylerini azaltmıştır. Bu azalma tüm BC konsantrasyonları ile izlenmiştir. Stres uygulanmadan yapılan BC eklenmesi buğday köklerinin TBARS miktarında herhangi bir değişim oluşturmamıştır.

PMMA toksitesi altındaki buğday köklerinde izlediğimiz TBARS birikimlerini, mikroplastik artışına bağlı olarak oluşan ancak süpürülemeyen radikallerin kök hücrelerinin membranlarındaki ya da organel membranlarındaki lipid gibi önemli bileşenlere olumsuz etkilere bağlayabiliriz. Strese dayalı olarak artan TBARS miktarı daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir (Zeid ve ark., 2013). Maity ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada polistren mikroplastikleri uygulanan *Allium cepa*'da artan TBARS düzeyleri rapor edilmiştir. Çalışmamızda TBARS miktarındaki BC+PMMA gruplarında izlenen düşüşü BC'nin farklı konsantrasyonlarından bağımsız olarak tüm BC uygulamalarında gözlenmiştir. Bu azalma H₂O₂ miktarının bu gruplarda ortadan kaldırılmasıyla da bağlantılıdır. Benzer sonuçlar, farklı çalışmalarla da gösterilmiştir. Ramzani ve ark. (2017) tarafından yayınlanan raporda, stresin lipid peroksidasyonu üzerindeki artışları BC uygulaması ile elime edildiği sunulmuştur. Ayrıca kontrol koşullarında BC uygulamasının TBARS miktarından herhangi bir değişime neden

olmaması, çalışmamızda buğday köklerine uyguladığımız üç farklı BC konsantrasyonlarının herhangi bir toksik etkiye neden olmadığını göstermektedir.

4.5. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının prolin miktarı üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının osmoregülasyon üzerine etkisini belirleyebilmek için uygulama gruplarında prolin miktarı analiz edilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının prolin miktarı üzerine etkisi

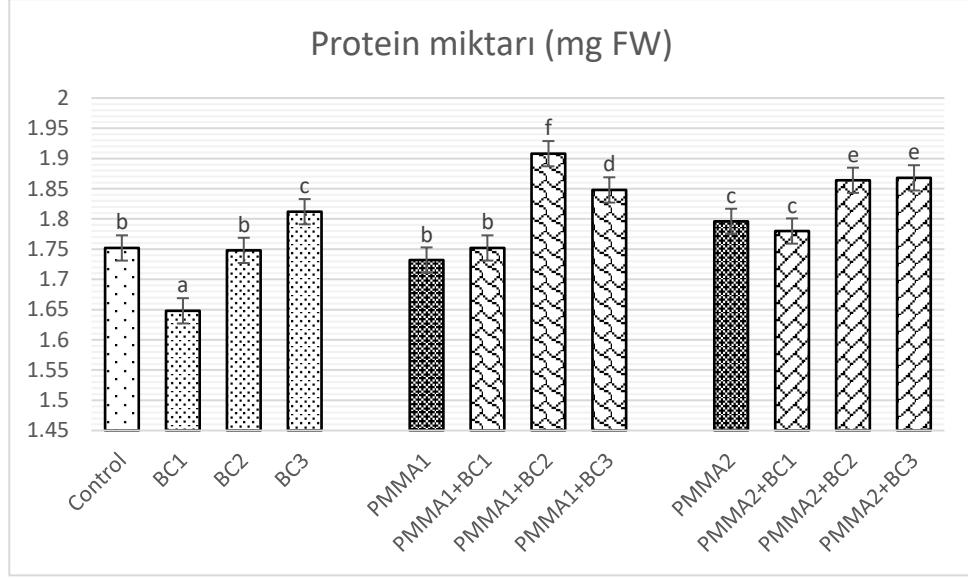
PMMA toksisitesi buğday köklerinde prolin miktarında önemli düzeyde artışa neden olmuştur. Bu değişimin maksimum oranı PMMA1 grubunda 1.7 katlık bir artıştır. Stres altında yetiştirilen buğday köklerine BC eklenmesi, sadece stres grubuna göre prolin içeriğini önemli düzeyde artırmıştır. Maksimum artış oranları, PMMA1 uygulamasında PMMA1+BC2 grubunda (%65 artışla), PMMA2 uygulamasında ise PMMA2+BC3 grubundadır (%107 artışla). Aynı şekilde, stressiz koşullarda uygulandığında prolin miktarında BC'nin tüm uygulama gruplarında artışa neden olmuştur. En yüksek artış BC1 grubunda 1.5'lik artışla izlenmiştir.

Ortamda sınırlı bir su durumu var ise bitkilerde osmoregülasyon denilen bir fenomen yardımıyla su alınımlarını artırmaktadır. Bu olguda bitki kök hücrelerinde

osmotik basıncı artıran bazı özel bileşikler biriktirerek su alımını uyarır. Osmoregülasyon olayında görev alan bileşiklerden bazıları çözünebilir şekerler, glisin betain, poliaminler ve prolindir (Suprasanna ve ark., 2016). Prolin sadece su alımında etkili değil aynı zamanda membran kararlılığını sağlamak ve radikal süpürmede rol oynamaktadır (Abd-Allah ve ark., 2019). Daha önce de belirtildiği gibi mikroplastik birikimleriyle toprakta elementlerin alımında azalma ya da su moleküllerin mikroplastik tarafından tutulması gerçekleşmektedir. Bu şartlar altında bitkilerce suyun alım oranları ciddi şekilde sınırlanır. Bu ifade bulgularımızdaki PMMA ile azalan RWC değerlerimiz ile de uyumludur. Sonuçlarımıza paralel olarak bazı çalışmalarda stresle birlikte artan prolin miktarı tespit edilmiştir (Abd-Allah ve ark., 2019). Diğer yandan BC uygulaması PMMA toksisitesi altında prolin miktarını artırmıştır. Bu sonuç sadece stres altında aynı zamanda kontrol koşullarında da izlenmiştir. Prolindeki bu artışın BC+PMMA gruplarında RWC artışlarıyla da ilişkisi vardır. Daha önceki çalışmalarda BC uygulamasının bitkilerde su tutma kapasitesini artırdığı rapor edilmiştir (Singh Mavi ve ark., 2018). BC'nin bu özelliği onun fonksiyonel gruplarından (aromatik bileşikler, ketonlar veya pironlar) kaynaklanabilmektedir.

4.6. PMMA toksisitesi altındaki buğday köklerinde biochar uygulamasının protein miktarı üzerine etkisi

Mikroplastik stresi altındaki buğdayda biochar uygulamasının elektrofrezde yüklenecek miktarın belirlenmesi için protein miktarı üzerine etkisi incelenmiş ve deneme sonucunda elde edilen verilen Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. Mikroplastik toksisitesine (100 ve 200 mg L⁻¹ PMMA) maruz kalan buğday köklerinde biochar (BC, 1-3-5 g L⁻¹) uygulamasının total protein miktarı üzerine etkisi

PMMA uygulaması protein miktarında ya değişime neden olmamış ya da artırmıştır. İlginç olarak BC1 ile birlikte PMMA uygulamasında protein miktarında değişime neden olmazken, diğer BC konsantrasyonlarında (BC2/BC3+PMMA) protein miktarını artırmıştır. Protein miktarındaki artışın oranı, stres grubuyla karşılaştırıldığında PMMA1+BC2 grubunda en fazla düzeydedir. BC stres olmadan uygulandığında ise buğday köklerinde protein miktarını sadece BC3 grubunda artırmıştır.

PMMA1 uygulaması buğday köklerinde yeni protein sentezi süreçlerini bozmuş olabilir. Ancak PMMA2 grubunda toksisiteye karşı buğday köklerinin, proteinlerin yıkım mekanizmasını kontrol edebildiğini düşünebiliriz. Al-Aghabary ve ark. (2005) tarafından tuz stresi altında yetiştirilen domates bitkilerinde azalan protein miktarı rapor edilmiştir. Ancak BC2 ve BC3 uygulamaları PMMA stresinin neden olduğu protein miktarındaki değişimleri tersine çevirmiş ve hatta değerleri kontrol düzeylerinin de üstüne yükseltebilmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Antropojenik faaliyetlerle mikroplastiklerin ekosistem içinde birikimleri artmaktadır. Toprak, su ya da havada biriken mikroplastikler, bitkiler tarafından bünyelerine alınmaktadır. Bitki içinde kökten yapraklara kadar iletim demetleri yoluyla taşınabilmektedir. Bu bitkiler üzerindeki plastik birikimleri besin zinciri yoluyla diğer canlılara da geçebilmektedir. Plastiklerin başta bitkiler olmak üzere tüm canlılarda uzaklaştırılması ya da toksisitesinin azaltılması/ortadan kaldırılması önemlidir.

Mikroplastiklerin bitkiler üzerindeki önemli etkilerinden birisi de büyümenin azalmasıdır. Büyüme, hücre uzaması, bölünmesi, yeterli besleyici elementlerin alınması veya fotosentetik verimliliğin artması ile ilgili olabilmektedir. Mikroplastiklerin bu parametreler üzerine olumlu etkilerinin de olabileceği hakkında çalışmalar olsa da çoğunlukla toksisitesinden bahsedilmektedir. Organeller üzerine özellikle kloroplast ya da mitokondri üzerinde olumsuz etkileri mevcuttur. Bu durumda hem enerji metabolizmasında hem de organik madde verimliliğinde bozulmalar meydana gelmektedir. Çalışmamızda mikroplastik uygulaması PMMA ile uyarılmış olup bu uygulama gruplarında köklerde su içeriğinde (RWC) azalmalara neden olmuştur. Bu stresin kök hücrelerinde besleyici olan elementlerin alınımını, bölünme indekslerini ya da su kanallarını olumsuz etkilemiş olabileceğini söyleyebiliriz. Mikroplastiklerin membran üzerindeki olumsuz etkileri raporlanmıştır. Mikroplastiklerin, kloroplastların tillakoyidlerinde gerçekleşen ışık reaksiyonlarını olumsuz olarak etkilediğini düşünecek olursak, zara bağlı fotosistemlerin bozulması ve elektron taşıma sisteminin aksaması gerçekleşecektir. Bundan dolayı, radikal oluşumu mikroplastik varlığında tetiklenmektedir. Bu radikallerin başında süperoksit anyon radikali gelmektedir. Bu radikal ile savaştan ilk enzim SOD enzimi olup, çalışmamızda SOD artışı sağlanamamaktadır. Yine de H_2O_2 artışı sağlanmış, bu artışın nedenini farklı enzimlerin aktivitesine de bağlayabiliriz. PMMA ile artan H_2O_2 artışı, antioksidan enzimlerden POX sadece PMMA2 grubunda etkili olmuştur. Bu yetersiz enzim aktivitesi nedeniyle H_2O_2 miktarı ortadan kaldırılamamış ve toksik etkilere neden olmuştur. Bu devamında lipid peroksidasyonunun belirteci olan TBARS miktarını indüklemiştir.

Mikroplastiklerin fizyolojik ve biyokimyasal parametreler üzerine olumsuz etkilerini BC uygulamalarıyla ortadan kaldırmayı amaçladığımız tezimizde olumlu yanıtlar aldık. Çalışmamızda PMMA'nın azalttığı RWC değerlerinde BC

uygulamalarıyla iyileşme gözlenmiştir. BC, strese karşı su kanallarını geliştirmiş ya da elementlerle birlikte su tutma ve alım kapasitesini artırmış olabilir. Diğer yandan, BC biyokimyasal süreçlerde de etkiler oluşturmuştur. BC, PMMA stresi altındaki buğday köklerinde SOD aktivitesini artırmış, katalizlenen reaksiyon sonucunda H_2O_2 oluşumunu uyarmıştır. Artan H_2O_2 miktarı, yine BC'nin uyardığı CAT enzim aktivitesiyle ortadan kaldırılmıştır (PMMA1+BC3 dışında). İlginç olarak POX aktivitesi bu süpürmeden sorumlu olup sadece PMMA1 stresine karşı tüm BC uygulama konsantrasyonlarında etkili olmuştur. Bu aktiviteler sayesinde H_2O_2 miktarı azalmış ve membranlar peroksidasyondan (azalan TBARS miktarıyla) korunmuştur.

5.2 Öneriler

Günümüz koşullarında ekosistemde mikroplastik birikimi dikkat çeken bir konudur. Katlanarak devam eden bu sorunla başa çıkma yolları tüm canlılar için önem arz etmektedir. Mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki tehlikeli sonuçları nedeniyle riskleri daha da artmaktadır. Türkiye'nin çevre politikaları içerisinde bu mikroplastik birikimlerinin azaltılması da bulunmaktadır. Toksik etkilerinin ortadan kaldırılmasında biyolojik faktörlerin kullanılması ya da toksiteye maruz kalan canlıda herhangi olumsuz etki oluşturmayan bileşenlerin kullanımı önemlidir. Elde ettiğimiz veriler, mikroplastiklere karşı biochar (biochar) olarak adlandırılan biyolojik materyalin kullanılması olumlu sonuçlar oluşturduğunu göstermiştir. Bitkilerin ürün verimliliğinde ve kalitesinde olumlu sonuçlar oluşturacaktır. Biocharın tedarik edilmesinin kolaylığı uygulamadaki diğer avantajlarından birisidir. Buğday gibi tarımsal açıdan önemli ve değerli bir üründe olumlu yanıtlar vermesi, bu biyolojik materyalin diğer tahıl ürünlerinde de kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Biochar ve mikroplastik etkileşimini araştıran ilk rapor olması tezimizin sonuçlarını daha da değerli hale getirmektedir. Bu konunun daha ileri düzeylere taşınarak özellikle bu etkileşim altında bitkilerin moleküler cevaplarının da detaylandırılması gerekmektedir. Bitkilerin sahip olduğu fotosentetik birimlerin mikroplastik toksisitesi altında biochar uygulamasıyla nasıl etkilendiği ve korunabildiği detaylandırılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Abd-Allah, E.F., Hashem, A., Alam, P., Ahmad, P., 2019, Silicon alleviates nickel-induced oxidative stress by regulating antioxidant defense and glyoxalase systems in mustard plants, *Journal of Plant Growth Regulation*, 38, 1260-1273.
- Abidli, S., Antunes, J.C., Ferreira, J.L., Lahbib, Y., Sobral, P., Menif, N.T.E., 2018, Microplastics in sediments from the littoral zone of the north, Tunisian coast (Mediterranean Sea) *Estuarine Coastal & Shelf Sci*, 205
- Adeel, M., Yang, Y., Wang, Y., Song, X., Ahmad, M.A., Rogers, H.J., 2018, Uptake and transformation of steroid estrogens as emerging contaminants influence plant development, *Environ. Pollut.*, 243, 1487–1497
- Ahammed, G.J., Li, X., Wan, H., Zhou, G., Cheng, Y., 2020, SIWRKY81 reduces drought tolerance by attenuating proline biosynthesis in tomato., *Scientia Horticulturae*, 270, 109444.
- Akhtar SS, Andersen MN, Naveed M, Zahir ZA, Liu F, 2015, Interactive effect of biochar and plant growth-promoting bacterial endophytes on ameliorating salinity stress in maize, *Funct Plant Biol* 42(8), 770–781
- Akhtar, S.S., Andersen, M.N., Liu, F., 2015, Residual effects of biochar on improving growth, physiology and yield of wheat under salt stress, *Agricultural Water Management*, 158, 61-68
- Akkuş, İ., 1995, Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, MIMOZA yayınları, Kuzucular ofset, Konya
- Al-aghabary, K., Zhu, Z., Shi, Q., 2005, Influence of Silicon Supply on Chlorophyll Content, Chlorophyll Fluorescence, and Antioxidative Enzyme Activities in Tomato Plants Under Salt Stress, *Journal of Plant Nutrition*, 27(12), 2101-2115.
- Albuquerque, J.A. et al. , 2014, Effects of biochars produced from different feedstocks on soil properties and sunflower growth, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 177, 16–25
- Alimi, O.S., Farner Budarz, J., Hernandez, L.M., Tufenkji, N., 2018, Microplastics and nanoplastics in aquatic environments: aggregation, deposition, and enhanced contaminant transport, *Environ. Sci. Technol.*, 52 (4), 1704-1724
- Allen, S., Allen, D., Phoenix, V. R., Le Roux, G., Durántez Jiménez, P., Simonneau, A., Binet, S., & Galop, D., 2019. Atmospheric transport and deposition of microplastics in a remote mountain catchment., *Nature Geoscience*, 12, 339–344.
- Alscher, R.G., Hess, J.L., 1993, Antioxidants in higher plants, Boca Raton: CRC Pres, 1-20

- Anjum, N.A., Gill, S.S., Gill, R., Hasanuzzaman, M., Duarte, A.C., Pereira, E., Ahmad, I., Tuteja, R., Tuteja, N., 2014, Metal/metalloid stress tolerance in plants: role of ascorbate, its redox couple, and associated enzymes, *Protoplasma*, 251 (5), 1265-1283
- Antal, M.J., Grønli, M., 2003, The art, science, and technology of charcoal production, *Industrial and Engineering Chemistry Research.*, 42(8), 1619-1640
- Araujo, C.F., Nolasco, M. M., Ribeiro, A., and Ribeiro-Claro, P., 2018, Identification of microplastics using Raman spectroscopy: latest developments and future prospects, *Water Res.* 142, 426–440
- Arthur, C., Baker, J., Bamford, H., 2008, Proceedings of the International Research Workshop on the Occurrence, Effects, and Fate of Microplastic, Marine Debris NOAA Technical Memorandum
- Asada, K., 1987, Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis, *Plant Physiology.*, 141(2), 391-396
- Asai, H., Samson, B.K., Stephan, H.M., Songyikhangsuthor, K., Homma, K., Kiyono, Y., et al., 2009, Biochar amendment techniques for upland rice production in Northern Laos: 1. Soil physical properties, leaf SPAD and grain yield., *Field Crops Research*, 111(1-2), 81-84
- Backer, R., Ghidotti, M., Schwinghamer, T., Saeed, W., Grenier, C., Dion-Laplante, C., Fabbri, D., Dutilleul, P., Seguin, P., Smith, D.L., 2018, Getting to the root of the matter: water-soluble and volatile components in thermally-treated biosolids and biochar differentially regulate maize (*Zea mays*) seedling growth, *Plos One* 13ARTN, e0206924
- Bamdad, H., Hawboldt, K., MacQuarrie, S., 2018, A review on common adsorbents for acid gases removal: Focus on biochar, *Renewable and Sustainable Energy Reviews.*, 81, 1705-1720
- Barcelo, D.J.M., 2020, Microplastics analysis. *MethodsX*, 7, 100884
- Barnes, D.K.A., Galgani, F., Thompson, R.C., Barlaz, M., 2009, Accumulation and fragmentation of plastic debris in global environments, *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B , Biol. Sci.*, 364, 1985-1998
- Bashir, S., Hussain, Q., Akmal, M., Riaz, M., Hu, H., Ijaz, S.S., Iqbal, M., Abro, S., Mehmood, S., Ahmad, M., 2018, Sugarcane bagasse-derived biochar reduces the cadmium and chromium bioavailability to mash bean and enhances the microbial activity in contaminated soil , *J. Soil Sediments*, 18, 874-886
- Batel, A., Borchert, F., Reinwald, H., Erdinger, L., and Braunbeck, T., 2018, Microplastic accumulation patterns and transfer of benzo[a]pyrene to adult zebrafish (*Danio rerio*) gills and zebrafish embryos, *Environ. Pollut.*, 235, 918–930

- Bates, L., Waldren, R., Teare, I., 1973, Rapid determination of free proline for water-stress studies, *Plant Soil*, 39, 205-207.
- Beauchamp, C., Fridovich, I., 1971, Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels, *Analitica Biochemistry*, 44, 276-287.
- Bela, K., Bangash, S.A.K., Riyazuddin, Csiszár, J., 2017, Plant glutathione peroxidases: Antioxidant enzymes in plant stress responses and tolerance, *Journal of Plant Physiology*, 176, 113-126
- Ben-Amor, N., Hamed, K.B., Debez, A., Grignon, C., Abdelly, C., 2005, Physiological and antioxidant response of the perennial halophytes *Crithmum maritimum* to salinity, *Plant Science*, 168, 889-899
- Bergmeyer, H.U., 1970, *Methoden der enzymatischen Analyse*, Verlag Chemie, 2
- Besseling, E., Wegner, A., Foekema, E.M., van den Heuvel-Greve, M.J., Koelmans, A.A., 2013, Effects of microplastic on fitness and PCB bioaccumulation by the lugworm, *Arenicola marina* (L.) *Environmental Science & Technology*, 47, 593-600
- Blanco-Canqui, H., 2017, Biochar and soil physical properties, *Soil Science Society of America Journal.*, 81, 687-711
- Blasing, M., Amelung, W., 2018, Plastics in soil: analytical methods and possible sources, *Sci. Total Environ.*, 612, 422-435
- Bolan, N., Kirkham, M.B., Halsband, C., Nuggeoda, D., Ok, Y.S., 2020, *Particulate Plastics in Terrestrial and Aquatic Environments* CRC Press ISBN 9780367511401
- Boots, B., Russell, C.W., Green, D.S., 2019, Effects of microplastics in soil ecosystems: above and below ground, *Environ. Sci. Technol.*, 53, 11496-11506
- Borneo, R., & León, A. E., 2012, Whole grain cereals: Functional components and health benefits, *Food & Function*, 3(2), 110– 119
- Bosker, T., Bouwman, L.J., Brun, N.R., Behrens, P., Vijver, M.G., 2019, Microplastics accumulate on pores in seed capsule and delay germination and root growth of the terrestrial vascular plant, *Lepidium sativum* *Chemosphere*, 226, 774-781
- Bradford, M.M., 1976, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analitica Biochemistry*, 72, 248-254.
- Browne, M.A., Crump, P., Niven, S.J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., Thompson, R., 2011, Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks, *Environ. Sci. Technol.*, 45, 9175-9179

- Cao, Y., Gao, Y., Qi, Y., Li, J., 2018, Biochar-enhanced composts reduce the potential leaching of nutrients and heavy metals and suppress plant-parasitic nematodes in excessively fertilized cucumber soils, *Environmental Science and Pollution Research International.*, 25(8), 7589-7599
- Capolupo, M., Sørensen, L., Jayasena, K.D.R., Booth, A.M., Fabbri E., 2020, Chemical composition and ecotoxicity of plastic and car tire rubber leachates to aquatic organisms, *Water Res.*, 169
- Castañeda, R.A., Avlijas, S., Simard, M.A., and Ricciardi, A., 2014, Microplastic pollution in St. Lawrence river sediments., *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 71, 1767–1771
- Chalapathi Rao, A.S.V. and Reddy, A.R., 2008, Glutathione reductase: a putative redox regulatory system in plant cells. *Sulfur Assimilation and Abiotic Stresses in Plants*, Springer, The Netherlands, 111-147
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J.H., Abu-Omar, M.M., Scott, S.L., Suh, S., 2020, Degradation Rates of Plastics in the Environment., *ACS Sustain. Chem. Eng.*, 8, 3494–3511
- Chan, K.Y., Van Zwieten, L., Meszaros, I., Downie, A., Joseph, S., 2007, Agronomic values of greenwaste biochar as a soil amendment, *Aus. J. Soil Res.*, 45 , 629-634
- Chaves, M.S., Martinelli, J.A., Wesp-Guterres, C., Graichen, F.A.S., Brammer, S., Scagliusi, S.M., Da Silva, P.R., Wiethölter, P., Torres, G.A.M., Lau, E.Y., et al, 2013, The importance for food security of maintaining rust resistance in wheat, *Food Security* 5, 157-176. *Chem Rev.* 351, 32-44, 2017
- Chen, A., Wang, T., Chen, Y., Wang, S., Chen, Y., 2022. Development of polystyrene/polyaniline/ceria (PS/PANI/CeO₂) multi-component abrasives for photochemical mechanical polishing/planarization applications, *Applied Surface Science* 575, 151784.
- Chen, L., Liu, J.R., Hu, W.F., Gao, J., Yang, J.F., 2021, Vanadium in soil-plant system: source, fate, toxicity, and bioremediation, *J. Hazard. Mater.*, 405
- Chen, Z., Gallie, D.R., 2006, Dehydroascorbate reductase affects leaf growth, development, and function, *Plant Physiology*, 142, 775-787
- Chen, Z., Wang, M., Ren, Y., Jiang, E., Jiang, Y., Li, W., 2018, Biomass torrefaction: A promising pretreatment technology for biomass utilization, *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.*, 113, 012201
- Choudhury, S., Panda, P., Sahoo, L., Panda, S.K., 2013, Reactiveoxygen species signaling in plants under abiotic stress, *Plant Signaling and Behavior*, 8, e23681

- Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C., Galloway, T.S., 2011, Microplastics as contaminants in the marine environment: a review, *Mar. Pollut. Bull.*, 62 , 2588-2597
- Collins, A.R., 2001, Carotenoids and genomic stability, *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 475(1), 21-28
- Cózar, A., Martí, E., Duarte, C., Garcíadelomas, J., Seville, E.V., Ballatore, J., Eguíluz, V., Gonzálezgordillo, J.I., Pedrotti, M., Echevarría, F., 2017, The arctic ocean as a dead end for floating plastics in the north atlantic branch of the thermohaline circulation, *Sci. Adv.*, 3
- Creighton, T.E., 1999, *Encyclopedia of molecular biology*, Vols 1-4, 632-634
- Creissen, G.P., Broadbent, P., Kular, B., Reynolds, H., Wellburn, A.R. and Mullineaux, P.M., 1994, Manipulation of glutathione reductase in transgenic plants: implications for plant responses to environmental stress, *Proc. R. Soc. Edinb.* 102B, 167-175
- Curtis, T. and Halford, N.G., 2014, Food security: the challenge of increasing wheat yield and the importance of not compromising food safety., *Ann Appl Biol* 164, 354-372
- Daful, A.G., Chandraratne, M.R., 2018, Biochar production from biomass waste-derived material. In: Choudhury I, Hashmi S, editors., *Encyclopedia of Renewable and Sustainable Materials*. 1st ed. New York: Elsevier, 370-378
- de Souza Machado, A.A., Kloas, W., Zarfl, C., Hempel, S., Rillig, M.C., 2018a, Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems, *Global Change Biol.*, 24 , 1405-1416
- de Souza Machado, A.A., Lau, C.W., Kloas, W., Bergmann, J., Bachelier, J.B., Faltin, E., Becker, R., Görlich, A., Rillig, M.C., 2019, Microplastics can change soil properties and affect plant performance, *Environmental Science Technology*, 53, 6044-6052.
- de Souza Machado, A.A., Lau, C.W., Till, J., Kloas, W., Lehmann, A., Becker, R., Rillig, M.C., 2018b, Impacts of microplastics on the soil biophysical environment, *Environ Sci Technol* 52 (17), 9656–9665
- De Tender, C.A., Debode, J., Vandecasteele, B., D'Hose, T., Cremelie, P., Haegeman, A, ... & Maes, M., 2016, Biological, physicochemical and plant health responses in lettuce and strawberry in soil or peat amended with biochar, *Applied Soil Ecology*, 107, 1-12
- Debela, F., Thring, R.W., Arocena, J.M., 2012, Immobilization of heavy metals by co-pyrolysis of contaminated soil with woody biomass, *Water, Air, and Soil Pollution.*, 223, 1161-1170
- Del Rio, L.A., Corpas, F.J., López-Huertas, E., Palma, J.M., 2018, Plant Superoxide Dismutases: Function Under Abiotic Stress Conditions. In: Gupta D., Palma J., Corpas F. (eds) ,*Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants*. Springer, Cham

- DeLuca, T.H., Gundale, M.J., MacKenzie, M.D., Jones, D.L., 2015, Biochar effects on soil nutrient transformation. In: Lehmann J, Joseph S, editors., *Biochar for Environmental Management: Science and Technology*. 2nd ed. Routledge, 421-454
- Deng, R., 2018, Microplastic pollution in surface sediments of urban water areas in Changsha, China: abundance, composition, surface textures *Mar. Pollut. Bull.*, 136 , 414-423
- Dihm, K., Vendelbo, Lind, M., Sundén, H., Ross, A., & Savolainen, O., 2017, Quantification of benzoxazinoids and their metabolites in Nordic breads., *Food Chemistry*, 235, 7– 13
- Ding, L., Mao, R., Ma, S., Guo, X., Zhu, L., 2020, High temperature depended on the ageing mechanism of microplastics under different environmental conditions and its effect on the distribution of organic pollutants, *Water Res.*, 174
- Dixon, D.P., Cummins, L., Cole, D.J., Edwards, R., 1998, Glutathione-mediated detoxification systems in plants, *Current Opinion in Plant Biology*, 1, 258-266
- Dong, Y., Gao, M., Qiu, W., Song, Z., 2021a, Effect of microplastics and arsenic on nutrients and microorganisms in rice rhizosphere soil, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 211
- Dong, Y., Gao, M., Qiu, W., Song, Z., 2021b, Uptake of microplastics by carrots in presence of as (III): combined toxic effects, *J. Hazard. Mater.*, 411
- Edwards, E.A., Rawsthorne, S. and Mullineaux, P.M., 1990, Subcellular distribution of multiple forms of glutathione reductase in leaves of pea (*Pisum sativum* L.), *Planta* 180, 278-284
- Edwards, W., 2007, *The Science of Bakery Products*. Royal Society of Chemistry, Cambridge; Sievert D, Hoseney RC, Delcour JA. Bread and other baked products, *Ullmann's*, 28-31
- Eltayeb, A.E., Kawano, N., Badawi, G.H., Kaminaka, H., Sanekata, T., Shibahara, T., Inanaga, S., Tanaka, K., 2007, Overexpression of monodehydroascorbate reductase in transgenic tobacco confers enhanced tolerance to ozone, salt and polyethylene glycol stresses, *Planta*, 225, 1255-1264
- Eo, J., Park, K.C., Kim, M.H., Kwon, S.I., Song, Y.J., 2018, Effects of rice husk and rice husk biochar on root rot disease of ginseng (*Panax ginseng*) and on soil organisms, *Biological Agriculture & Horticulture* 34(1), 27-39
- Ettinger, A., and Wittmann, T., 2014, Fluorescence live cell imaging, *Methods Cell. Biol.* 123, 77–94
- Fattman, L.M., Schaefer, T.D., 2003, Oury Extracellular superoxide dismutase in biology and medicine, *Free Radical Biology and Medicine*, 35 (3), 236-256
- Fayuan, W., Quanlong, W., Catharine, A.A., Yuhuan, S., Shuwu, Z., 2022, Effects of microplastics on soil properties, *Current knowledge and future perspectives*, 15, 424, 127531

- Fossi, M.C., Marsili, L., Bains, M., Giannetti, M., D. Coppola, C. Guerranti, I. Caliani, R. Minutoli, G. Lauriano, M.G., 2016, Finioa Fin whales and microplastics: the mediterranean sea and the sea of cortez scenarios, *Environ. Pollut.*, 209 , 68-78
- Foulon, V., Le Roux, F., Lambert, C., Huvet, A., Soudant, P., Paul-Pont, I., 2016, Colonization of polystyrene microparticles by vibrio crassostreae: light and electron microscopic investigation, *Environmental Science & Technology*, 50 , 10988-10996
- Foyer, C.H., Lelandais, M., and Kunert, K.J., 1994, Photooxidative stress in plants, *Physiologia plantarum*, 92(4), 696-717
- Frias, J. P. G. L., & Nash, R., 2019, Microplastics: Finding a consensus on the definition, *Marine Pollution Bulletin*, 138, 145–147.
- Galloway, T. S., Cole, M., & Lewis, C. ,2017, Interactions of microplastic debris throughout the marine ecosystem, *Nature Ecology & Evolution*, 1, 1–8.
- Gan, Y.Y., Ong, H.C., Show, P.L., Ling, T.C., Chen, W-H., Yu, K.L., 2018, Torrefaction of microalgal biochar as potential coal fuel and application as bio-adsorbent, *Energy Conversion and Management.*, 165, 152-162
- Gao, M., Liu,Y., Song, Z., 2019, Effects of polyethylene microplastic on the phytotoxicity of di-n-butyl phthalate in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort), *Chemosphere*, 237
- Gao, M.L., Liu, Y., Dong, Y.M., Song, Z.G., 2019a, Physiological responses of wheat planted in fluvo-aquic soils to di (2-ethylhexyl) and di-n-butyl phthalates, *Environ. Pollut.*, 244, 774-782
- Gao, M.L., Liu, Y., Dong, Y.M., Song, Z.G., 2021, Effect of polyethylene particles on dibutyl phthalate toxicity in lettuce (*Lactuca sativa* L.), *J. Hazard. Mater.*, 401
- Gao, M.L., Liu, Y., Song, Z.G., 2019b, Effects of polyethylene microplastic on the phytotoxicity of di-n-butyl phthalate in lettuce (*Lactuca sativa* L. var. *ramosa* Hort), *Chemosphere*, 237
- García, A.C., de Souza, L.G.A, Pereira, M.G., Castro, R.N., García-Mina, J.M., Zonta, E. et al., 2016, Structure-property-function relationship in humic substances to explain the biological activity in plants, *Scientific Reports*, 6, 20798
- Garewal HS., 1997, *Antioxidants and disease prevention.*, Florida: CRC Press LLC, 3-19
- Genestra, M., 2007, Oxyl radicals, redox-sensitive signaling cascades and antioxidants, *Cell. Signalling*, 19, 1807-1819
- GESAMP, 2016, Sources, Fate and Effects of Microplastics in the Marine Environment: Part Two of a Global Assessment., GESAMP; Madrid, Spain, 220
- Geyer,R., Jambeck, J.R., Law, K.L. , 2017, Production, use, and fate of all plastics ever made, *Science Advances* 3 (7), 615

- Gigault, J., Halle, A. T., Baudrimont, M., Pascal, P.-Y., Gauffre, F., Phi, T.-L., El Hadri, H., Grassl, B., & Reynaud, S., 2018, Current opinion: What is a nanoplastic? *Environmental Pollution*, 235, 1030–1034.
- Giorgetti, L., Spanò, C., Muccifora, S., Bottega, S., Barbieri, F., Bellani, L., Castiglione, M.R., 2020. Exploring the interaction between polystyrene nanoplastics and *Allium cepa* during germination: Internalization in root cells, induction of toxicity and oxidative stress, *Plant Physiology and Biochemistry* 149, 170-177.
- Glaser, B., Wiedner, K., Seelig, S., 2014, "Biochar Organic Fertilizers from Natural Resources as Substitute for Mineral Fertilizers", *Agron. Sustain. Dev.* Vol. 35, 667–678
- Glover, N. M., Redestig, H. & Dessimoz, C., Homoeologs: What are they and how do we infer them? *Trends Plant Sci* 21, 609–621 (2016)
- Gong, H., Zhu, X., Chen, K., Wang, S., Zhang, C., 2005, Silicon Alleviates Oxidative Damage of Wheat Plants in pots under drought, *Plant Science*, 169, 313-321
- Gorovtsov, A.V., Minkina, T.M., Mandzhieva, S.S., Perelomov, L.V., Soja, G., Zamulina, I.V., et al., 2019, The mechanisms of biochar interactions with microorganisms in soil., *Environmental Geochemistry and Health* , 14, 1-24
- Göpferich, A., 1996, Mechanisms of polymer degradation and erosion, *Biomaterials*, 17, 103–114.
- Guiotoku, M., Maia, C.M., Rambo, C.R., Hotza, D., 2011, Synthesis of carbon-based materials by microwave hydrothermal processing, In: Chandra U, editor. *Microwave Heating*. New York: IntechOpen, 291-308
- Guo, J.J., Huang, X.P., Xiang, L., Wang, Y.Z., Li, Y.W., Li, H., Cai, Q.Y., Mo, C.H., Wong, M.H., 2020, Source, migration and toxicology of microplastics in soil, *Environ. Int.*, 137
- Gutteridge, J.M., 1995, Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clinical Chemistry*, 41
- Hammes, K., Schmidt, M.W.I., 2009, Changes in biochar in soils. In: Lehmann M, Joseph S, editors, *Biochar for Environmental Management Science and Technology*. London: Earthscan, 169-182
- He, D., Luo, Y., Lu, S., Liu, M., Song, Y., & Lei, L., 2018, Microplastics in soils: Analytical methods, pollution characteristics and ecological risks, *Trends in Analytical Chemistry*, 109, 163–172.
- He, D., Zhang, X., Hu, J., 2021, Methods for separating microplastics from complex solid matrices: comparative analysis, *J. Hazard. Mater.*, 409

- Hernandez, L.M., Yousefi, N., Tufenkji, N., 2017, Are there nanoplastics in your personal care products? , *Environ. Sci. Technol. Lett.*, 4 (7) , 280-285
- Herzog, V., Fahimi, H., 1973, Determination of the activity of peroxidase, *Analitica Biochemistry*, 55
- Hidalgo-Ruz, V., 2012, Microplastics in the marine environment: a review of the methods used for identification and quantification, *Environ. Sci. Technol.*, 46 , 3060-3075
- Hodson, M.E., Duffus-Hodson, C.A., Clark, A., Prendergast-Miller, M.T., Thorpe, K.L., 2017, Plastic bag derived-microplastics as a vector for metal exposure in terrestrial invertebrates , *Environ. Sci. Technol.*, 51 , 4714-4721
- Horemans, N., Foyer, C.H., Asard H., 2000, Transport and action of ascorbate at the plant plasma membrane, *Trends in Plant Science*, 5, 263-267
- Hu, D., Shen, M., Zhang, Y., Zeng, G., 2019, Micro(nano)plastics: an un-ignorable carbon source? , *Sci. Total Environ.*, 657 , 108-110
- Huang, Y., Liu, Q., Jia, W., Yan, C., Wang, J., 2020, Agricultural plastic mulching as a source of microplastics in the terrestrial environment, *Environ. Pollut.*, 260
- Huang, Y., Qing, X., Wang, W., Han, G., Wang, J., 2020, Mini-review on current studies of airborne microplastics: analytical methods, occurrence, sources, fate and potential risk to human beings, *Trends Anal. Chem.*, 125
- Huerta Lwanga, E., Gertsen, H., Gooren, H., Peters, P., Salánki, T., van der Ploeg, M., Besseling, E., Koelmans, A.A., Geissen, V., 2017, Incorporation of microplastics from litter into burrows of *lumbricus terrestris*, *Environ. Pollut.*, 220 , 523-531
- Hunt, R., Causton, D.R., Shipley, B., Askew, A.P., 2002, A modern tool for classical plant growth analysis, *Annals of botany*, 90, 485-488.
- Hurley, R.R., Nizzetto, L., 2018, Fate and occurrence of micro (nano) plastics in soils: knowledge gaps and possible risks, *Curr. Opin. Environ. Sci. Health*, 6-11
- Ippolito, J. A., Ducey, T. F., Cantrell, K. B., Novak, J. M., Lentz, R. D., 2016, "Designer, Acidic Biochar Influences Calcareous Soil Characteristics", *Chemosphere*, Vol. 142, 184–191
- Iqbal, S., Xu, J., Allen, S.D., Khan, S., Nadir, S., Arif, M.S. et al., 2020, Unraveling consequences of soil micro- and nano-plastic pollution on soil-plant system: implications for nitrogen (N) cycling and soil microbial activity, *Chemosphere*, 260
- IWGSC. A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science* 345
- Jambeck, J.R., Geyer, R., Wilcox, C., Siegler, T.R., Perryman, M., Andrady, A., Narayan, R., Law, K.L., 2015, Plastic waste inputs from land into the ocean, *Science*, 347, 768-771

- Janeeshma, E., Kalaji, H.M., Puthur, J.T., 2021. Differential responses in the photosynthetic efficiency of *Oryza sativa* and *Zea mays* on exposure to Cd and Zn toxicity, *Acta Physiologiae Plantarum*, 43, 1-16.
- Jeffery, S., Verheijen, F.G., Van Der Velde, M., Bastos, A.C., 2011, A quantitative review of the effects of biochar application to soils on crop productivity using metaanalysis, *Agriculture, Ecosystems & Environment* 144(1), 175-187
- Jeong, J.B., Park, J.H., Lee, H.K., Ju, S.Y., Hong, S.C., Lee, J.R., Chung, G.Y., Lim, J.H., Jeong, H.J., 2009, Protective effect of the extracts from *Cnidium officinale* against oxidative damage induced by hydrogen peroxide via antioxidant effect., *Food and Chemical Toxicology*, 47, 525-529
- Jiang, X., Chen, H., Liao, Y., Ye, Z., Li, M., Klobucar, G., 2019, Ecotoxicity and genotoxicity of polystyrene microplastics on higher plant, *Vicia faba* *Environ. Pollut.*, 250, 831-838
- Jimenez, A., Hernandez, J.A., del Rio, L.A., Sevilla, F., 1997, Evidence for the presence of the ascorbate- glutathione cycle in mitochondria and peroxisomes of pea leaves., *Plant Physiology*, 114 (1), 275-284
- Joseph, S.D., Camps-Arbestain, M., Lin, Y., Munroe, P., Chia, C.H., Hook, J., et al., 2010, An investigation into the reactions of biochar in soil, *Australian Journal of Soil Research*, 48, 501-515
- Keswani, A., Oliver, D.M., Gutierrez, T., Quilliam, R.S., 2016, Microbial hitchhikers on marine plastic debris: human exposure risks at bathing waters and beach environments, *Mar. Environ. Res.*, 118 , 10-19
- Khalid, N., Aqeel, M., Noman, A., 2020, Microplastics could be a threat to plants in terrestrial systems directly or indirectly, *Environ. Pollut.*, 267
- Kim, F.J., Kim, H.P., Hah, Y.C., Roe, J.H., 1996, Differential expression of superoxide dismutases containing Ni and Fe/Zn in *Streptomyces coelicolor*, *European Journal of Biochemistry*, 241, 178- 185
- Kirecci, O.A., 2018, The Effects of Salt Stress, SNP, ABA, IAA and GA Applications on Antioxidant Enzyme Activities in *Helianthus annuus* L. *Fresenius, Environmental Bulletin*, 27 (5A), 3783-3788
- Klute, A., Dirksen, C., 1986, Hydraulic conductivity and diffusivity: laboratory methods *Methods of Soil Analysis: Part 1-Physical and Mineralogical Methods (methodsofsoilan1)* , 687-734

- Koelmans, A.A., Bakir, A., Burton, G.A., Janssen, C.R., 2016, Microplastic as a vector for chemicals in the aquatic environment. Critical review and model-supported Re-interpretation of empirical studies, *Environ. Sci. Technol.*, 50 , 3315
- Kolomijeca, A., Parrott, J., Khan, H., Shires, K., Clarence, S., Sullivan, C., Chibwe, L., Sinton, D., Rochman, C.M., 2020, Increased temperature and turbulence alter the effects of leachates from tire particles on fathead minnow (*Pimephales promelas*), *Environ. Sci. Technol.*, 54 (3) , 1750-1759
- Laemmli, U.K., 1970, Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature*, 227, 680-685.
- Lagana, P., Caruso, G., Corsi, I., Bergami, E., Venuti, V., Majolino, D., La Ferla, R., Azzaro, M., Cappello, S., 2019, Do plastics serve as a possible vector for the spread of antibiotic resistance? First insights from bacteria associated to a polystyrene piece from King George Island (Antarctica) , *Int. J. Hyg Environ. Health*, 222 , 89-100
- Lamb, C, Dixon, R.A., 1997, The oxidative burst in plant disease resistance, *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* 1997, 48, 251-275
- Lambert, S., Wagner, M., 2016, Characterisation of nanoplastics during the degradation of polystyrene, *Chemosphere.*, 145, 265–268.
- Law, K.L., Thompson, R.C., 2014, Microplastics in the seas *Science*, 345 , 144-145
- Ledford, H.K., Chin, B.L., Niyogi, K.K., 2007, Acclimation to singlet oxygen stress in *Chlamydomonas reinhardtii*, *Eukaryotic Cell*, 6, 919-930
- Lefebvre, C., Saraux, C., Heitz, O., Nowaczyk, A., and Bonnet, D., 2019, MPs FTIR characterisation and distribution in the water column and digestive tracts of small pelagic fish in the Gulf of Lions., *Mar. Pollut. Bull.* 142, 510–519
- Lehmann, J. & Joseph, S., 2009, *Biochar for Environmental Management: Science and Technology* (Earthscan, London)
- Lehmann, J., Gaunt, J., Rondon, M., 2006, Biochar sequestration in the terrestrial ecosystem—A review. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*, 11, 403-427
- Leterrier, M., Corpas, F.J., Barroso, J.B., Sandalio, L.M., del Rio, L.A., 2005, Peroxisomal monodehydroascorbate reductase. Genomic clone characterization and functional analysis under environmental stress conditions, *Plant Physiology*, 138 (4), 2111-2123
- Li, J., Song, Y., Cai, Y.B., 2020b, Focus topics on microplastics in soil: analytical methods, occurrence, transport, and ecological risks, *Environ. Pollut.*, 257

- Li, K., Ma, D., Wu, J., Chai, C., Shi, Y., 2016, Distribution of phthalate esters in agricultural soil with plastic film mulching in Shandong Peninsula, East China, *Chemosphere*, 164, 314–321
- Li, L., Luo, Y., Li, R., Zhou, Q., Peijnenburg, W.J., Yin, N., Yang, J., Tu, C., Zhang, Y., 2020a, Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode, *Nat. Sustain.*, 3 (11) , 929-937
- Li, L., Zhou, Q., Yin, N., Tu, C., Luo, Y., 2019, Uptake and accumulation of microplastics in an edible plant, *Sci. Bull.*, 64 , 928-934
- Li, L.Z., Luo, Y.M., Li, R.J., Zhou, Q., Zhang, Y., 2020, Effective uptake of submicrometre plastics by crop plants via a crack-entry mode, *Nat. Sustain.*, 3 , 929-937
- Li, X., Chen, L., Mei, Q., Dong, B., Dai, X., Ding, G., & Zeng, E. Y., 2018, Microplastics in sewage sludge from the wastewater treatment plants in China., *Water Research*, 142, 75–85.
- Li, Y., Zhang, S.S, Jiang, W.S., Liu, D.H., 2013, Cadmium accumulation, activities of antioxidant enzymes, and malondialdehyde (MDA) content in *Pistia stratiotes* L *Environ., Sci. Pollut. Res.*, 20 , 1117-1123
- Li, Z., Li, Q., Li, R., Zhou, J., Wang, G., 2021, The distribution and impact of polystyrene nanoplastics on cucumber plants, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 28 (13), 16042-16053
- Li, Z.X., Li, R.J., Li, Q.F., Zhou, J.G., Wang, G.Y., 2020, Physiological response of cucumber (*Cucumis sativus* L.) leaves to polystyrene nanoplastics pollution, *Chemosphere*, 255
- Lian, J., Liu, W., Meng, L., Wu, J., Chao, L., Zeb, A., Sun, Y., 2021, Foliar-applied polystyrene nanoplastics (PSNPs) reduce the growth and nutritional quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) , *Environ. Pollut.*, 280, 116978
- Lian, J., Wu, J., Xiong, H., Zeb, A., Yang, T., Su, X., Su, L., Liu, W., 2020, Impact of polystyrene nanoplastics (PSNPs) on seed germination and seedling growth of wheat (*Triticum aestivum* L.) , *J. Hazard. Mater.*, 385
- Liang, X.M., Nie, X.P., Ying, G.G., An, T.C., Li, K.B., 2013, Assessment of toxic effects of triclosan on the swordtail fish (*Xiphophorus helleri*) by a multi-biomarker approach, *Chemosphere*, 90, 1281-1288
- Lin, Q. et al., 2018, Assessing the potential of biochar and aged biochar to alleviate aluminum toxicity in an acid soil for achieving cabbage productivity., *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 161, 290–295

- Liu, H., Yang, X., Liu, G., Liang, C., Xue, S., Chen, H., Ritsema, C.J., Geissen, V., 2017, Response of soil dissolved organic matter to microplastic addition in Chinese loess soil, *Chemosphere*, 185 , 907-917
- Liu, J., Bu, L., Zhu, L., Luo, S., Chen, X., Li, S., 2014, Optimizing plant density and plastic film mulch to increase maize productivity and water-use efficiency in semiarid areas *Agron. J.*, 106 , 1138-1146
- Liu, N., Zhong, G., Zhou, J., Liu, Y., Pang, Y., Cai, H., Wu, Z., 2019, Separate and combined effects of glyphosate and copper on growth and antioxidative enzymes in *Salvinia natans* (L.) , *All Sci. Total Environ.*, 655, 1448-1456
- Lozano, Y.M., Aguilar-Trigueros, C.A., Onandia, G., Maass, S., Zhao, T., Rillig, M.C., 2021b, Effects of microplastics and drought on ecosystem functions and multifunctionality, *J. Appl. Ecol.*, 58, 988-996
- Lozano, Y.M., Lehnert, T., Linck, L.T., Lehmann, A., Rillig, M.C., 2021a, Microplastic shape, polymer type, and concentration affect soil properties and plant biomass, *Front. Plant Sci.*, 12 , 6166
- Lozano, Y.M., Rillig, M.C., 2020, Effects of microplastic fibers and drought on plant communities, *Environ. Sci. Technol.*, 54 (10) , 6166-6173
- Lynch, J.M., F. de Leij, F., 2002. Rhizosphere. *eLS*
- Lyu S, Du G, Liu Z, Zhao L, Lyu D (2016) Effects of biochar on photosystem function and activities of protective enzymes in *Pyrus ussuriensis* Maxim. under drought stress, *Acta Physiol Plant*, 38(9), 220
- Maaß, S., Daphi, D., Lehmann, A., Rillig, M.C., 2017, Transport of microplastics by two collembolan species, *Environ. Pollut.*, 225 , 456-459
- Maity, S., Chatterjee, A., Guchhait, R., De, S., Pramanick, K., 2020, Cytogenotoxic potential of a hazardous material, polystyrene microparticles on *Allium cepa* , *L. J. Hazard. Mater.*, 385
- Majewsky, M., Bitter, H., Eiche, E., and Horn, H., 2016, Determination of microplastic polyethylene (PE) and polypropylene (PP) in environmental samples using thermal analysis (TGA-DSC), *Sci. Total Environ.* 568, 507–511.
- Mariano, S., Tacconi, S., Fidaleo, M., Rossi, M. and Dini, L., 2021, Micro and Nanoplastics Identification: Classic Methods and Innovative Detection Techniques, *Front. Toxicol.* 3:636640
- Mateos-Cárdenas, A., Scott, D.T., Seitmaganbetova, G., van Pelt, F.N.A., O'Halloran, J., Jansen, M.A.K., 2019, Polyethylene microplastics adhere to *Lemna minor* (L.), yet have no

- effects on plant growth or feeding by *Gammarus duebeni* (Lillj.), *Sci. Total Environ.*, 689, 413–421
- Mattsson, K., Hansson, L.A., Cedervall T., 2015, Nano-plastics in the aquatic environment, *Environ. Sci. Process Impacts*, 17 (10) , 1712-1721
- McKevith, B., 2004, Nutritional aspects of cereals, *Nutr Bull.*, 29(2), 111-42
- Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H.G., Foyer, C.H., 1996, Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases, *FEBS Lett*, 378, 203-206
- Mendoza, L.M.R., Karapanagioti, H., Álvarez, N.R., 2018, Micro(nanoplastics) in the marine environment: current knowledge and gaps *Current Opini.*, *Environ. Sci. Health*, 1 , 47-51
- Meng, F., Yang, X., Riksen, M., Xu, M. and Geissen, V., 2021, Response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) growth to soil contaminated with microplastics., *Sci. Total Environ.*, 755, 142516.
- Meng, J., Xu, B., Liu, F., Li, W., Sy, N., Zhou, X., Yan, B., 2021, Effects of chemical and natural ageing on the release of potentially toxic metal additives in commercial PVC microplastics, *Chemosphere*, 283
- Miller, E.L., Nason, S.L., Karthikeyan, K.G., Pedersen, J.A., 2016, Root uptake of pharmaceuticals and personal care product ingredients, *Environ. Sci. Technol.*, 50 (2), 525-541
- Mittler, R. Zilinskas, B.A., 1993, Detection of ascorbate peroxidase-activity in native gels by inhibition of the ascorbate-dependent reduction of nitroblue tetrazolium, *Analitica Biochemistry*, 212, 540-546.
- Mittler, R., 2002, Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance, *Trends in Plant Science*. 7, 405- 410
- Morsy, M., Jouve, L., Hausman, JF., Hoffmann, L., Stewewart, J., 2007, Alternation of oxidative and carbohydrate metabolism under abiyotik stres in two rice (*Oyza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance, *Journal of Plant Physiology*, 157-167.
- MSFD GES Technical Subgroup on Marine Litter, 2013, Monitoring guidance for marine litter in European seas. European Commission.
- Munari, C., Infantini, V., Scoponi, M., Rastelli, E., Corinaldesi, C., Mistri, M., 2017, Microplastics in the sediments of terra nova bay (ross sea, Antarctica), *Mar. Pollut. Bull.*, 122 , 161
- Nakano, Y., Asada, K., 1981, Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts, *Plant Cell Physiology*, 22, 867-880

- Nathalie, L., Christophe, B., Christian, B., Michèle, Q., FranOise, S., José-Edmundo, N.S., 2008, Polymer biodegradation: mechanisms and estimation techniques, *Chemosphere*, 73 , 429-442
- Noren, F., 2008, Small Plastic Particles in Coastal Swedish Waters., Technical Report. KIMO.
- O'Connor, D., Pan, S., Shen, Z., Song, Y., Jin, Y., et al., 2019, Microplastics undergo accelerated vertical migration in sand soil due to small size and wet-dry cycles, *Environ. Pollut.*, 249 , 527-534
- Okarter, N., Liu, R.H., 2010, Health benefits of whole grain phytochemicals, *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 50(3), 193-208
- Özcan, S., Gürel, E., Babaoğlu, M., 2001, Bitki Biyoteknolojisi –II- , 308-313
- Özkaya, H., 1986, Buğday, Un ve ekmeğin besin değeri ve ekmeğin zenginleştirilmesi, *Gıda* 11 (3), 165-73
- Pascall, M.A., Zabik, M.E., Zabik, M.J., Hernandez, R.J., 2005, Uptake of polychlorinated biphenyls (PCBs) from an aqueous medium by polyethylene, polyvinyl chloride, and polystyrene films, *J. Agric. Food Chem.*, 53 , 164-169,
- Peeken, I., Primpke, S., Beyer, B., Gütermann, J., Katlein, C., Krumpen, T., Bergmann, M., Hehemann, L., Gerdt, G., 2018, Arctic sea ice is an important temporal sink and means of transport for microplastic, *Nat. Commun.*, 9
- Pehlivan, N., Gedik, K., 2021, Particle size-dependent biomolecular footprints of interactive microplastics in maize, *Environ. Pollut.*, 277
- Peñalver, R., Arroyo-Manzanares, N., López-García, I., and Hernández-Córdoba, M., 2020, An overview of MPs characterization by thermal analysis, *Chemosphere*, 242, 125170
- Peng, L., Fu, D., Qi, H., Lan, C. Q., Yu, H., & Ge, C., 2020, Micro-and nano-plastics in marine environment: Source, distribution, and threats—A review, *Science of the Total Environment*, 698, 134254.
- Pignattelli, S., Broccoli, A., Piccardo, M., Felling, S., Terlizzi, A., Renzi, M., 2021. Short-term physiological and biometrical responses of *Lepidium sativum* seedlings exposed to PET-made microplastics and acid rain, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 208, 111718.
- Pignattelli, S., Broccoli, A., Renzi, M., 2020, Physiological responses of garden cress (*L. sativum*) to different types of microplastics *Sci. Total Environ.*, 727
- Pittura, L., Avio, C.G., Giuliani, M.E., d'Errico, D., Keiter, S.H., Cormier, B., Gorbi, S., Regoli, F., 2018, Microplastics as vehicles of environmental PAHs to marine organisms: combined chemical and physical hazards to the mediterranean mussels, *Mytilus galloprovincialis* *Front. Marine Sci.*, 5

- Placek, A., Grobelak, A., Kacprzak, M., 2016, Improving the phytoremediation of heavy metals contaminated soil by use of sewage sludge, *International Journal of Phytoremediation*, 18(6), 605-618
- Prudent, E., and Raoult, D., 2019, Fluorescence in situ hybridization, a complementary molecular tool for the clinical diagnosis of infectious diseases by intracellular and fastidious bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.*, 43, 88–107
- Qi, Y., Ossowicki, A., Yang, X., Lwanga, E.H., Dini-Andreote, F., Geissen, V., Garbeva, P., 2020, Effects of plastic mulch film residues on wheat rhizosphere and soil properties, *J. Hazard. Mater.*, 387
- Qi, Y.L., Yang, X.M., Pelaez, A.M., Lwanga, E.H., Beriot, N., Gertsen, H., Garbeva, P., Geissen, V., 2018, Macro- and micro-plastics in soil-plant system: effects of plastic mulch film residues on wheat (*Triticum aestivum*) growth, *Sci. Total Environ.*, 645, 1048-1056
- Rademacher, W., 2015, Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production, *J. Plant Growth Regul.*, 34, 845-872
- Radic, S., M. Radic-Stojkovic, and B. Pevalek-Kozlina, 2006, Influence of NaCl and mannitol on peroxidase activity and lipid peroxidation in *Centaurea ragusina* L. roots and shoots. *Journal of plant physiology.*, 163(12), 1284-1292
- Rahaie, M., Xue, G.P. and Schenk, P.M., 2013, The role of transcription factors in wheat under different abiotic stresses. In: Vahdati K and Leslie C (eds) *Abiotic Stress - Plant Responses and Applications in Agriculture*, InTech, Rijeka, Croatia, 367-385
- Ramzani PMA, Khalid M, Anjum S, Ali S, Hannan F, Iqbal M (2017) Cost-effective enhanced iron bioavailability in rice grain grown on calcareous soil by sulfur mediation and its effect on heavy metals mineralization, *Environ Sci Pollut R*, 24(2), 1219–1228
- Rao, K.M., Sresty, T., 2000, Antioxidative parameters in the seedlings of pigeonpea (*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh) in response to Zn and Ni stresses, *Plant Science*, 157, 113-128.
- Raven, E.L., 2003, Understanding functional diversity and substrate specificity haem peroxidases, *University of Leicester, Nat. Prod. Rep.*, 20, 367-381
- Raza, H.S. et al., 2006, Glycinebetaine-induced modulation of antioxidant enzymes activities and ion accumulation in two wheat cultivars differing in salt tolerance, *Environmental and Experimental Botany*, 60, 368-376
- Reddy, A.R. and Raghavendra, A.S., 2006, Photooxidative stress, *Physiology and Molecular Biology of Stress Tolerance in Plants*, 157-186

- Ren, X., Tang, J., Wang, L., Liu, Q., 2021, Microplastics in soil-plant system: effects of nano/microplastics on plant photosynthesis, rhizosphere microbes and soil properties in soil with different residues, *Plant Soil*, 462 (1), 561-576
- Rezania, S., Park, J., Md Din, M. F., Mat Taib, S., Talaiekhosani, A., Kumar Yadav, K., & Kamyab, H., 2018, Microplastics pollution in different aquatic environments and biota: A review of recent studies, *Marine Pollution Bulletin*, 133, 191–208.
- Ribeiro-Claro, P., Nolasco, M.M., and Araújo, C., 2017, Characterization of MPs by Raman spectroscopy., *Compr. Anal. Chem.* 75, 119–151
- Rillig, M.C., 2012, Microplastic in terrestrial ecosystems and the Soil? , *Environ. Sci. Technol.*, 46 , 6453-6454
- Rillig, M.C., Bonkowski, M., 2018, Microplastic and soil protists: a call for research, *Environ. Pollut.*, 241 , 1128-1131
- Rillig, M.C., Ziersch, L., Hempel, S., 2017, Microplastic transport in soil by earthworms, *Sci For. Rep.*, 7
- Rochman, C.M., Kross, S.M., Armstrong, J.B., Bogan, M.T., Darling, E.S., Green, S.J., Smyth, A.R., Veríssimo, D., 2015, Scientific evidence supports a ban on microbeads, *Environ. Sci. Technol.*, 49 (18) , 10759-10761
- Rochman, C.M., Manzano, C., Hentschel, B.T., Simonich, S.L.M., Hoh, E., 2013, Polystyrene plastic: A source and sink for polycyclic aromatic hydrocarbons in the marine environment, *Environ. Sci. Technol.*, 47, 13976–13984.
- Rodrigues, M.O., Abrantes, N., Fjm, G., Nogueira, H., Marques, J.C., Amm, G., 2018, Spatial and temporal distribution of microplastics in water and sediments of a freshwater system (Antuã River, Portugal), *Science of The Total Environment*, 1549-1559.
- Romero-Puertas, M.C., Corpas, F.J., Sandalio, L.M., Leterrier, M., Rodriguez- Serrano, M., del Rio, L.A. and Palma, J.M., 2006, Glutathione reductase from pea leaves: response to abiotic stress and characterization of the peroxisomal isozyme, *New Phytol.*, 170, 43-52
- Rousk, J., Baath, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2010, Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil, *ISME J.*, 4, 1340-1351
- Saito, M., Marumoto, T., 2002, Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi: The status quo in Japan and the future prospects, *Plant and Soil*, 244, 273-279
- Sander, M., 2019, Biodegradation of polymeric mulch films in agricultural soils: concepts, knowledge gaps, and future research directions, *Environ. Sci. Technol.*, 53 , 2304-2315

- Sankar, B. et al., 2007, Drought-induce biochemical modifications and proline metabolism in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, *Acta Bot. Croat.*, 66 (1), 43-56
- Saxena I, Srikanth S, Chen Z (2016) Cross talk between H₂O₂ and interacting signal molecules under plant stress response, *Front Plant Sci* 7, 570
- Scandalios, J.G., 1993, Oxygen stress and superoxide dismutases, *Plant Physiology*, 101, 7-12
- Scandalios, J.G., 2002, The rise of ROS. *TRENDS Biochem Sci.*, 27(9), 483-486
- Scandalios, J.G., 2005, Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses, *Brazilian J Medic Biologic Res.*, 38(7), 995-1014
- Scheurer, M., Bigalke, M., 2018, Microplastics in Swiss floodplain soils, *Environ. Sci. Technol.*, 52 , 3591-3598
- Schroeter, H., Boyd, C., Spencer, J.P., Williams, R.J., Cadenas, E., Rice-Evans, C., 2002, MAPK signaling in neurodegeneration: influences of flavonoids and of nitric oxide, *Neurobiology of Aging*, 23, 861-880
- Schwab, F., Rothen-Rutishauser, B., Petri-Fink, A., 2020, When plants and plastic interact., *Nat. Nanotechnol.*, 15, 729–730
- SeEVERS, P., DALY, J., CATEDRAL F., 1971, The role of peroxidase isozymes in resistance to wheat stem rust disease, *Plant Physiology*, 48, 353-360.
- Sepúlveda, A., Schluep, M., Renaud, F., Streicher, M., Kuehr, R., Hagelüken, C., Gerecke, A.C., 2010, A review of the environmental fate and effects of hazardous substances released from electrical and electronic equipments during recycling: Examples from China and India, *Environ. Impact Assess. Rev.*, 30, 28–41.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012, Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions, *Journal of Botany*, 1-26
- Sharp, K.H., Raven, E., 2003, Enzyme-substrat interactions in ascorbate peroxidase, University of Leicester, Cambridge, UK, NPR
- Shen, M., Zhu, Y., Zhang, Y., Zeng, G., Wen, X., Yi, H., Ye, S., Ren, X., Song, B., 2019, Micro(nano)plastics: unignorable vectors for organisms, *Mar. Pollut. Bull.*, 139 , 328-331
- Shewry, P. R., Hawkesford, M. J., Piironen, V., Lampi, A. M., Gebruers, K., Boros, D... Ward, J. L., 2013, Natural variation in grain composition of wheat and related cereals, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(35), 8295– 8303
- Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H., and Jang, M., 2016, Identification and quantification of MPs using Nile red staining, *Mar. Pollut. Bull.* 113, 469–476

- Silber, A., Levkovitch, I., Graber, E.R., 2010, pH-dependent mineral release and surface properties of cornstraw biochar: Agronomic implications, *Environmental Science and Technology*, 44, 9318-9323
- Sinclair T, Ludlow M (1986) Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes, *Funct Plant Biol.*, 13(3), 329–341
- Singh Mavi M, Singh G, Singh BP, Singh Sekhon B, Choudhary OP, Sagi S, Berry R (2018) Interactive effects of rice-residue biochar and N-fertilizer on soil functions and crop biomass in contrasting soils, *J Soil Sci Plant Nutr*, 18(1), 41–45
- Smart, R. E., Bingham, G. E., 1974, Rapid estimates of relative water content, *Plant Physiology*, 53, 258-260.
- Smirnoff N., 2011, Vitamin C: the metabolism and functions of ascorbic acid in plants. *Advances in Botanical Research*. In: Rebeille F, Douce R, editors. *Biosynthesis of Vitamins in Plants: Vitamins B6, B8, B9, C, E, K, Part 2*. 1st edn., USA: Academic Press, 107-177
- Smirnoff, N., 2000, The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation, *New Phytologist*, 125, 27-58
- Srivalli, B., Chinnusamy, V., Khanna-Chopra, R., 2003, Antioxidant defense in response to abiotic stresses in plants, *Journal of Plant Biology*, 30, 121–139
- Sudhakar C., Lakshmi A., Giridarakumar S., 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity, *Plant Science*, 16, 613-619
- Sudhakar, M., Trishul, A., Doble, M., Kumar, K.S., Jahan, S.S., Inbakandan, D., Viduthalai, R.R, Umadevi, V.R., Murthy, P.S., Venkatesan, R., 2007, Biofouling and biodegradation of polyolefins in ocean waters, *Polym. Degrad. Stabil.*, 92 , 1743-1752
- Sun, H., Lei, C., Xu, J., Li, R., 2021, Foliar uptake and leaf-to-root translocation of nanoplastics with different coating charge in maize plants, *J. Hazard. Mater.*, 416, 125854
- Sun, X.D., Yuan, X.Z., Jia, Y., Feng, L.J., Zhu, F.P., Dong, S.S., Liu, J., Kong, X., Tian, H., Duan, J.L., Ding, Z., Wang, S.G., Xing, B., 2020, Differentially charged nanoplastics demonstrate distinct accumulation in *Arabidopsis thaliana*, *Nat. Nanotechnol.*, 15 (9) , 755-760
- Suprasanna, P., Nikalje, G.C., Rai, A.N., 2016, Osmolyte accumulation and implications in plant abiotic stress tolerance N. Iqbal, R. Nazar, N.A. Khan (Eds.), *Osmolytes and Plants Acclimation to Changing Environment: Emerging Omics Technologies*, Springer, India, 1-12.

- Tahjib-Ul-Arif, M., Sohag, A. A. M., Mostofa, M. G., Polash, M. A. S., Mahamud, A. G. M. S. U., Afrin, S., Hossain, M. A., Hossain, M. A., Murata, Y., Tran, L.-S. P., 2020, Comparative effects of ascobin and glutathione on copper homeostasis and oxidative stress metabolism in mitigation of copper toxicity in rice, *Plant Biology*, 23, 162-169.
- Teuten, E.L., Saquing, J.M., Knappe, D., Barlaz, M.A., Jonsson, S., Björn, A., Rowland, S.J., Thompson, R., Galloway, T.S., Yamashita, R., et al., 2009, Transport and release of chemicals from plastics to the environment and to wildlife, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, 364, 2027–2045
- Thies, J.E., Rillig, M.C., 2012, Characteristics of biochar: Biological properties, In: *Biochar for Environmental Management*. Routledge; 117-138
- Trishul, A., Mukesh, D., 2010, Biodegradation of aliphatic and aromatic polycarbonates, *Macromol. Biosci.*, 8 , 14-24
- Van Weert, S., Redondo-Hasselerharm, P.E., Diepens, N.J., Koelmans, A.A., 2019, Effects of nanoplastics and microplastics on the growth of sediment-rooted macrophytes, *Sci. Total Environ.*, 654 , 1040-1047
- Velzeboer, I., Kwadijk, C.J.A.F., Koelmans, A.A., 2014, Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes, *Environmental Science & Technology*, 48 , 4869-4876
- Verheijen, F., Jeffery, S., Bastos, A.C., van der Velde, M., Diafas, I., 2009, *Biochar Application to Soils—A Critical Scientific Review of Effects on Soil Properties, Processes and Functions*, Luxemburg: EUR 24099 EN Office for the Official Publications of the European Communities, 149
- Vital, S.A., Fowler, R.W., Virgen, A., Gossett, D.R., Banks, S.W., Rodriguez, J., 2008, Opposing roles for superoxide and nitric oxide in the NaCl stress-induced upregulation of antioxidant enzyme activity in cotton callus tissue, *Environmental and Experimental Botany*, 62, 60-68
- Vreeken-Buijs, M.J., Hassink, J., Brussaard, L., 1998, Relationships of soil microarthropod biomass with organic matter and pore size distribution in soils under different land use, *Soil Biol. Biochem.*, 30 , 97-106
- Waldrop, M. P., Balser, T. C., and Firestone, M. K., 2000, Linking microbial community composition to function in a tropical soil, *Soil Biol. Biochem.*, 32, 1837–1846
- Wan, Y., Wu, C., Xue, Q., Hui, X., 2019, Effects of plastic contamination on water evaporation and desiccation cracking in soil, *Sci. Total Environ.*, 654 , 576-582

- Wang, F., Zhang, X., Zhang, S., Zhang, S., and Sun, Y., 2020, Interactions of microplastics and cadmium on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in an agricultural soil, *Chemosphere* 254, 126791
- Wang, L.W., Wu, L.M., Bolan, N.S., Dan, T., 2021, Environmental fate, toxicity and risk management strategies of nanoplastics in the environment: current status and future perspectives, *J. Hazard. Mater.*, 401, 123,415
- Wang, Q., Wangjin, X., Zhang, Y., Wang, N., Wang, Y., Meng, G., Chen, Y., 2020, The toxicity of virgin and UV-aged PVC microplastics on the growth of freshwater algae, *Chlamydomonas reinhardtii* *Sci. Total Environ.*, 749
- Wang, S., Wang, Y., Liang, Y., Cao, W., Sun, C., Ju, P., Zheng, L., 2020, The interactions between microplastic polyvinyl chloride and marine diatoms: physiological, morphological, and growth effects, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 203
- Wang, W., Ge, J., Yu, X., Li, H., 2020, Environmental fate and impacts of microplastics in soil ecosystems: Progress and perspective, *Sci. Total Environ.*, 708
- Wang, Z., Li, S., Jian, S., Ye, F., Wang, T., Gong, L., Li, X., 2021. Low temperature tolerance is impaired by polystyrene nanoplastics accumulated in cells of barley (*Hordeum vulgare* L.) plants, *Journal of Hazardous Materials*, 127826.
- Watters, D.L., Yoklavich, M.M., Love, M.S., Schroeder, D.M., 2010, Assessing marine debris in deep seafloor habitats off California, *Mar. Pollut. Bull.*, 60 , 131-138
- Willekens, H., Villarroel, R., Van Montagu, M., Inzé, D., Van Camp, W., 1994, Molecular identification of catalases from *Nicotiana plumbaginifolia* (L.), *FEBS Letters*, 352, 79-83
- Woodbury, W., Spencer, A., Stahmann, M., 1971, An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isozymes, *Analitica Biochemistry*, 44, 301-305.
- Wright, S.L., Thompson, R.C., Galloway, T.S., 2013, The physical impacts of microplastics on marine organisms: a review, *Environ. Pollut.*, 178 , 483-492
- Xiong, X., Zhang, K., Chen, X., Shi, H., Luo, Z., Wu, C., 2018, Sources and distribution of microplastics in China's largest inland lake - qinghai Lake, *Environ. Pollut.*, 235 , 899
- Xu, B., Liu, F., Cryder, Z., Huang, D., Lu, Z., He, Y., Wang, H., Lu, Z., Brookes, P.C., Tang, C., 2020, Microplastics in the soil environment: occurrence, risks, interactions and fate—A review *Critical Reviews in Environmental, Science and Technology*, 50 , 2175-2222
- Yamato, M., Okimori, Y., Wibowo, I.F., Anshori, S., Ogawa, M., 2006, Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in South Sumatra, Indonesia *Soil Sci., Plant Nutr.*, 52, 489-495

- Yang, W., Cheng, P., Adams, C.A., Zhang, S., Sun, Y., Yu, H., Wang F., 2021, Effects of microplastics on plant growth and arbuscular mycorrhizal fungal communities in a soil spiked with ZnO nanoparticles, *Soil Biol. Biochem.*, 155
- Ye, S.J., Zeng, G.M., Wu, H.P., Liang, J., Zhang, C., Dai, J., Xiong, W.P., Song, B., Wu, S.H., Yu, J.F., 2019, The effects of activated biochar addition on remediation efficiency of co-composting with contaminated wetland soil, *Resour. Conserv. Recycl.*, 140, 278-285
- Yeboah, E., Ofori, P., Quansah, G.W., Dugan, E., Sohi, S.P., 2009, Improving soil productivity through biochar amendments to soils, *African Journal of Environmental Science and Technology*, 3(34)
- Yu, Q., Osborne, L.D., Renge, Z., 1999, Increased tolerance to Mn deficiency in transgenic tobacco overproducing superoxide dismutase, *Annals of Botany*, 84, 543-547
- Yuan, J.-H., Xu, R.-K., Wang, N. & Li, J.-Y., 2011, Amendment of acid soils with crop residues and biochars, *Pedosphere*, 21, 302–308
- Yuan, W., Zhou, Y., Liu, X., Wang, J., 2019, New perspective on the nanoplastics disrupting the reproduction of an endangered fern in artificial freshwater, *Environ. Sci. Technol.*, 53 (21), 12715-12724
- Zeid I, Ghazi S, Nabawy D (2013) Alleviation of Co and Cr toxic effects on alfalfa, *Int J Agron Plant Prod* 4(5), 984–993
- Zhang, G., Zhang, F., Li, X., 2019, Effects of polyester microfibers on soil physical properties: perception from a field and a pot experiment, *Sci. Total Environ.*, 670, 1-7
- Zhang, G.S., Liu, Y.F., 2018, The distribution of microplastics in soil aggregate fractions in southwestern, China *Sci. Total Environ.*, 642, 12-20
- Zhang, H., Yu, X., Jin, Z., Zheng, W., Zhai, B., Li, Z., 2017, Improving grain yield and water use efficiency of winter wheat through a combination of manure and chemical nitrogen fertilizer on the Loess plateau China, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(2), 461-474
- Zhang, R., Zhang, Y., Song, L., Song, X., Hanninen, H., Wu, J., 2017, Biochar enhances nut quality of *Torreya grandis* and soil fertility under simulated nitrogen deposition, *Forest Ecology and Management*, 391, 321-329
- Zhang, S.L., Wang, J.Q., Yan, P.K., Hao, X.H., Xu, B., Wang, W., Aurangzeib, M., 2020, Non-biodegradable microplastics in soils: a brief review and challenge, *J. Hazard. Mater.*, 409
- Zhang, Y., Yang, J., Lu, S., Cai, J., Guo, Z., 2008, Overexpressing SgNCED1 in tobacco increases aba level, antioxidant enzyme activities, and stress tolerance, *Journal of Plant Growth and Regulation*, 27, 151-158

- Zhong, G., Wu, Z., Yin, J., Chai L., 2018, Responses of *Hydrilla verticillata* (L.) Royle and *Vallisneria spiralis* (L.) L. to glyphosate exposure, *Chemosphere*, 193, 385-393
- Zhou, C.Q., Lu, C.H., Mai, L., Bao, L.J., Liu, L.Y., Zeng, E.Y., 2021, Response of rice (*Oryza sativa* L.) roots to nanoplastic treatment at seedling stage, *J. Hazard. Mater.*, 401
- Zhou, C.Q., Lu, C.H., Mai, L., Bao, L.J., Liu, L.Y., Zeng, E.Y., 2021. Response of rice (*Oryza sativa* L.) roots to nanoplastic treatment at seedling stage, *Journal of Hazardous Materials* 401, 123412
- Zhu, B., Ye, C., Lü, H., Chen, X., Chai, G., Chen, J., Wang, C., 2006. Identification and characterization of a novel heat shock transcription factor gene, *GmHsfA1*, in soybeans (*Glycine max*), *Journal of Plant Research*, 119, 247-256.
- Zhu, K., Jia, H., Sun, Y., Dai, Y., Zhang, C., Guo, X., Wang, T., Zhu, L., 2020, Long-term phototransformation of microplastics under simulated sunlight irradiation in aquatic environments: roles of reactive oxygen species, *Water Res.*, 173