



Use of the Molecular Hydrogen in Agriculture Field

Duried Alwazeer^{1,2,3,a,*}, Ayhan Çiğdem^{2,3,4,b}

¹Department of Nutrition and Dietetic, Faculty of Health Sciences, Iğdır University, 76000 Iğdır, Turkey

²Research Center for Redox Applications in Foods (RCRAF), Iğdır University, 76000 Iğdır, Turkey

³Innovative Food Technologies Development, Application and Research Center, Iğdır University, 76000 Iğdır, Turkey

⁴YÖK 100/2000 PhD Scholarship

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 05/08/2021 Accepted : 27/12/2021</p> <p>Keywords: Molecular hydrogen Agriculture Plant Growth Development</p>	<p>Social development is possible with agriculture. With the impact of environmental pollution, natural disasters, climate change, food security, and population growth, interdisciplinary "new agriculture" is becoming an important trend of modern agriculture. Hydrogen (H₂) is the most common element on earth, making up more than 75% of the mass of the universe. Hydrogen gas is colorless, odorless, and tasteless and is considered a physiologically inert molecule and a potential source for clean energy in the future. Hydrogenated agriculture including mainly hydrogen-rich water (HRW) focuses on the molecular mechanisms underlying improved agricultural product quality. Studies have shown that H₂ does not only affect plant growth and development but also affects the nutritional quality and shelf life of the fruit. Hydrogenated agriculture emerges as a promising technology for the sustainability of agricultural products in modern agricultural practices thanks to the different beneficial effects of H₂ such as safety, nutritional and antioxidative properties, and high product productivity. In this review, the roles of H₂ in plants, seed germination, seedling growth, root development, stomatal opening and closing, pre-harvest freshness, post-harvest freshness, and the changes caused by hydrogenated agriculture at various stages of the plant such as anthocyanin synthesis have been investigated.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 10(1): 14-20, 2022

Moleküler Hidrojenin Tarım Alanında Kullanımı

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 05/08/2021 Kabul : 27/12/2021</p> <p>Anahtar Kelimeler: Moleküler hidrojen Tarım Bitki Büyüme Gelişme</p>	<p>Toplumsal kalkınma, tarım ile mümkün olmaktadır. Çevre kirliliği, doğal afetler, iklim değişikliği, gıda güvenliği ve nüfus artışının etkisiyle disiplinler arası "yeni tarım", modern tarımın önemli bir trendi haline gelmektedir. Hidrojen, evren kütlesinin %75'inden fazlasını oluşturan, dünyada en yaygın bulunan elementtir. Hidrojen gazı inert, renksiz, kokusuz ve tatsız bir molekül olmakla birlikte, gelecekte temiz enerji için potansiyel bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Hidrojenli tarım bilimi, temel olarak, hidrojenle zenginleştirilmiş su (HZS) veya H₂ ile artan verim ve/veya H₂ ile iyileştirilmiş tarım ürünleri kalitesinin altında yatan moleküler mekanizmalara odaklanmaktadır. Yapılan çalışmalarla H₂'nin sadece bitki büyüme ve gelişimine etki etmediği aynı zamanda bitkinin besin kalitesi ve raf ömrünü de etkilediği görülmüştür. H₂ teknolojisi güvenli, sağlıklı ve yüksek ürün verimliliği gibi etkileri nedeniyle modern tarım uygulamalarında tarım ürünlerinin sürdürülebilirliği için umut verici bir uygulama olarak karşımıza çıkmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarla H₂'nin bitkilerdeki rolü, tohum çimlenmesi, fide büyümesi, kök gelişimi, stoma açılıp kapanması, hasat öncesi ve sonrası tazelik ile antosiyanin sentezi gibi bitkinin çeşitli aşamalarında hidrojenli tarımın meydana getirdiği değişiklikler incelenmiştir.</p>

^a alwazeerd@gmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0002-2291-1628>

^c ayhancigdem594@gmail.com

^d <https://orcid.org/0000-0002-5507-4731>



This work is licensed under Creative Commons Attribution 4.0 International License

Giriş

Hidrojen, evren kütlelerinin %75'inden fazlasını oluşturan, dünyada en yaygın bulunan elementtir. Hidrojen gazı inert, renksiz, kokusuz ve tatsız (Budavari ve ark., 1989) bir gaz olmasının yanı sıra gelecekte temiz enerji için potansiyel bir kaynak olarak kabul edilmiştir (Zeng ve ark., 2014). Moleküler hidrojen (H_2), seçici antioksidan özelliği nedeniyle tıbbi ve klinik tedavide potansiyel bir terapötik tıbbi gaz olarak ortaya çıkmıştır (Ohsawa ve ark., 2007).

Tarım, toplumsal kalkınmanın temelidir. Nüfus artışı, doğal afetler, çevre kirliliği, iklim değişikliği ve gıda güvenliğinin baskısı altında disiplinler arası “yeni tarım”, modern tarımın önemli bir trendi haline gelmektedir. Aslında yeni tarım sadece sağlık ve yeni enerji kaynaklarının temeli değil, aynı zamanda ulusal gıda güvenliği, enerji güvenliği ve biyogüvenliğin de temel taşıdır (Wang ve ark., 2020). Gaz halindeki bir sinyal molekülü olarak H_2 üzerine, son yıllarda kapsamlı birçok çalışma yapılmıştır. Hidrojenli tarım bilimi, temel olarak, hidrojenle zenginleştirilmiş su (HZS) veya H_2 ile artan verim ve/veya H_2 ile iyileştirilmiş tarım ürünleri kalitesinin altında yatan moleküler mekanizmalara odaklanmaktadır (Shen ve Sun, 2019).

H_2 , antioksidan enzimlerini modüle ederek oksijen hasarını azaltabilen anti-stres bir molekül olarak ön plana çıkmaktadır (Cui ve ark., 2014). Hidrojenle zenginleştirilmiş su (HZS), bitkilerde ve hayvanlarda endojen H_2 'nin fizyolojik işlevlerini taklit etmenin güvenli ve kolay erişilebilir bir yolu olarak kabul edilmektedir (Cui ve ark., 2014; Li ve ark., 2018). Geleneksel tarımda, büyük miktarda zirai kimyasal, özellikle gübre ve böcek ilaçları kullanılmaktadır (Lowry ve ark., 2019). H_2 , pirinç veya Arabidopsis'te tuzluluk ile kuraklık stresine karşı ve yoncada parakuat maruziyetinin düzenlenmesinin de dâhil olduğu bitkilerde abiyotik stres altında artan çeşitli fizyolojik süreçleri modüle eden önemli bir biyodüzenleyici olarak ortaya çıkmıştır (Jin ve ark., 2013; Zeng ve ark., 2013).

Ekonomik açıdan önemli mahsullere H_2 uygulamalarının hem verim hem de kalite açısından çeşitli avantajları olduğu bildirilmektedir (Hu ve ark., 2021). Başka bir deyişle, H_2 bir gaz olduğu için uygulamasında spesifik ekipmanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte, bir gaz olarak H_2 havadan daha hafiftir, bu nedenle saha koşullarında gaz halinde uygulanması pragmatik değildir (Zulfiqar ve ark., 2021).

Daha pratik bir yaklaşım, hidrojenle zenginleştirilmiş su (HZS) gibi doymuş H_2 formlarının kullanılmasıdır. HZS Wu ve ark., (2020) tarafından kullanıldığı gibi, H_2 'yi doğrudan bitkilere uygulamak suretiyle kullanılabilir. Kısaca, HZS, hidrojen veya oksijen hidrojen jeneratörleri tarafından H_2 gazı üretiminin ardından H_2 'nin damıtılmış suya (veya sulama ortamına) pompalanması/kabarcıklandırılması işlemiyle hazırlanmaktadır. Daha sonra, bu HZS, uygulamalar için istenen konsantrasyonu sağlamak üzere seyreltilir. HZS üretiminin diğer yöntemleri, ortamda yan ürünler bırakacak olsa da magnezyum bazlı tabletlerin suda karıştırılmasını içermektedir. HZS daha sonra sprey şeklinde veya tarımsal mahsul bitkilerine toprak ıslatma olarak uygulanabilir. Bitkiler veya bitki hücreleri, hidroponik veya kültür ortamında yetiştiriliyorsa, H_2

doğrudan ortama kabarcıklandırılabilir. Bununla birlikte, H_2 çok çözünür olmadığından (Wilhelm ve ark., 1976) bitkinin ortamından ayrılıp atmosfere kolayca yayılabileceği ve laboratuvar koşullarında havalandırma sınırlıysa potansiyel olarak yanıcı seviyelere ulaşabileceğinin akılda tutulması gerekmektedir (Zulfiqar ve ark., 2021).

Eğer tarımda H_2 'nin gaz formunda kullanımını isteniyorsa bu hususta çok daha gelişmiş çözümlere ihtiyaç duyulmaktadır. Güvenlik, katı halde hidrojen depolama, taşınabilirlik ve büyük hidrojen içerikleri için sürdürülebilir hidrojen temini düşünüldüğünde, katı hidrojen depolama malzemelerinin geliştirilmesindeki ilerlemelerin H_2 'nin üretim ve depolanmasının iyileştirilmesinde alternatif yollar sunabileceği düşünülmektedir (Hirscher ve ark., 2020). Magnezyum hidrit ($Mg H_2$) düşük maliyetli, bol miktarda bulunan bir donördür (Grochala ve Edwards, 2004) ve tarımda H_2 kaynak materyali olarak kullanılma potansiyeline sahip başka bir bileşiktir (Li ve ark., 2020). Tarıma H_2 verilmesinin bir başka potansiyel yöntemi ise, amonyak boranın (AB) içi boş mezo gözenekli silika nanoparçacıklar (hMSN) içine kapsüllemesi yoluyla nanokapsül ($AB@hMSN$) gibi hidrojen salan nanomalzemeler kullanarak sürekli H_2 iletimi için fırsat sağlayan nanoteknolojinin kullanılmasıdır (Wang ve ark., 2021).

Bitkilerin genellikle yetersiz koşullarda yetiştirilmesi ve bitki stresinin küresel tarım üzerinde önemli olumsuz etkileri sebebiyle; gelecekteki gıda güvenliği, insan nüfusu çoğaldıkça ve gıda talebi arttıkça daha iyi bitki büyümesine ve daha yüksek üretkenliğe bağlı olacaktır (Molotoks ve ark., 2021).

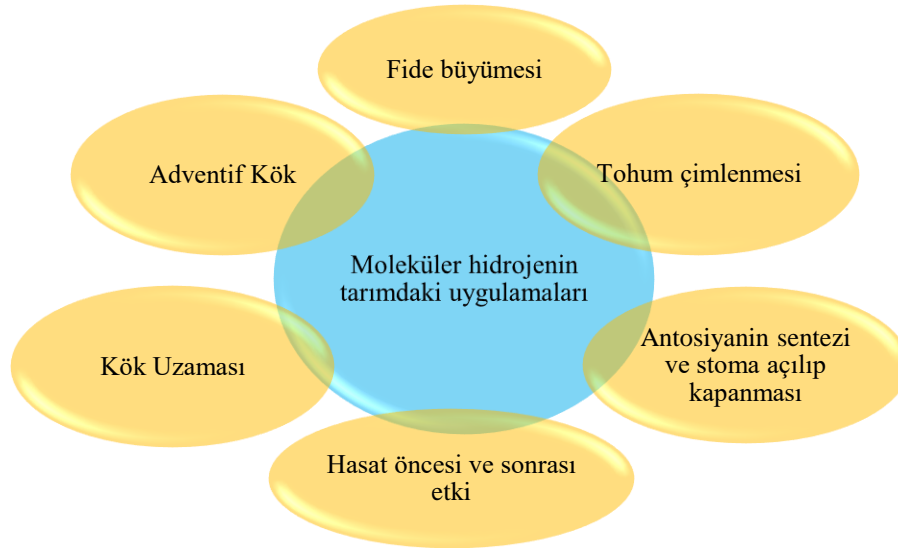
Moleküler Hidrojenin (H_2) Özellikleri

Fiziksel Özellikler

Moleküler hidrojen (H_2), ilk kez, güçlü asitlerin metallerle karşı saldırısının yanıcı bir gaz ürettiğini kaydeden Paracelsus olarak da bilinen Theophrastus von Hohenheim tarafından tesadüfen gözlemlenmiştir (Valenti, 2016). Kimyasal formülü H_2 olan ve dihidrojen olarak da adlandırılan moleküler hidrojen, bir kovalent bağ ile bir arada tutulan iki hidrojen atomundan oluşan iki atomlu bir moleküldür (Hanania ve ark., 2017).

Moleküler formdaki dihidrojen (H_2), çok düşük erime ve kaynama noktasına sahip, stabil, renksiz, kokusuz, tatsız bir gazdır. Doğada var olan en hafif gaz oluşu sebebiyle, H_2 atmosfere salındığında hızla troposfere doğru yayılmakta, bu nedenle deniz seviyesinde eser miktarda bulunmaktadır (Leite ve Hallenbeck, 2014). Dünya atmosferi 1 ppm'den az hidrojen gazı içermektedir (Huang ve ark., 2010). H_2 , yer kabuğunda doğal olarak oluşmamakta, pratik uygulamalar için H_2 'nin üretilmesi gerekmektedir (Karthic ve Joseph, 2014).

Canlı hücreye geçişler sırasında hidrofobik bileşiklerin çoğu membranda kalıp sitozole ulaşamamaktadır. Aynı şekilde hidrofobik bileşiklerin de çoğu spesifik taşıyıcıları olmadığında biyomembranlara nüfus edememektedir. H_2 'nin potansiyel bir antioksidan olarak birtakım avantajları vardır: hidrofobik ve lipofilik olarak en yaygın bilinen antioksidanların aksine, biyomembranlara nüfuz etme ve sitozol içine yayılma gibi kendi fiziksel yeteneği ile uygun dağılım özelliklerine sahiptir (Ohta, 2012).



Şekil 1. Moleküler hidrojen (H_2) tarımdaki uygulamaları
Figure 1. Applications of molecular hydrogen (H_2) in agriculture

Çizelge 1. Moleküler hidrojenin (H_2) farklı bitkilerin büyüme ve gelişimi üzerine etkisine genel bakış
Table 1. Overview of the effect of molecular hydrogen (H_2) on the growth and development of different plants

Bitkideki büyüme ve gelişim	Bitki türü	Doku	H_2 'nin indükleyici etkisi	Referans
Fide uzaması	Pirinç	Fide	HZS antioksidatif enzimleri düzenleyerek koruyucu etki göstermiştir.	6
	Çin Lahanası	Fide	HZS Cd kaynaklı büyüme inhibisyonunu azaltmıştır.	12
	Oryzasativa L.	Fide	HZS NaCl'nin inhibe edici etkisini azaltmıştır.	11
	Yonca	Fide	HZS Fide büyümesinde artış sağlamıştır.	17
Tohum Çimlenmesi	Kış Çavdarı	Tohum	HZS Tohum çimlenme oranını arttırmıştır.	13
	Pirinç	Tohum	HZS NaCl varlığında tohumun çimlenme oranını arttırmıştır.	11
Adventif Kök (AK) Oluşumu	Salatalık	Eksplant	Yukarıya doğru regüle edilmiş (up-regulated) hücre döngüsü ile ilgili genler, AK oluşumunu teşvik etmiştir.	8
	Salatalık	Eksplant	%50 ve 100 HZS muamelesi diğer konsantrasyonlara göre AK oluşumunu belirgin bir şekilde arttırmıştır.	9
Kök Uzaması	Yonca	Kök	%10HZS kök uzamasına da diğer konsantrasyonlara göre daha önemli etki göstermiştir	4
	Çin Lahanası	Kök	%50 HZS muamelesi diğer konsantrasyonlara göre en önemli etkiyi göstermiştir.	12
	Maş	Kök	%50 HZS muamelesi kök uzamasında önemli bir artış meydana getirmiştir.	21
	Fasulyesi			
Hasat Öncesi Tazelik	Turuncu Güngüzeli	Tomurcuk	HZS muamelesi verim artışının yanı sıra tomurcukların kahverengileşmesini de geciktirmiştir	20
	Kivi	Meyve	%80 HZS diğer konsantrasyonlara göre en önemli etkiyi göstermiştir	18
Hasat Sonrası Tazelik	Kesme zambak ve Gül	Çiçek	HZS antioksidan savunması ve yaşlanma sürecini düzenlemiştir	19
Antosiyanin Sentezi	Turp	Fideler	HZS, UV-A ile indüklenen H_2O_2 ve O_2^- birikimindeki artışı bloke etmiştir	24
	Turp	Hipokotiller	HZS antosiyanin ve toplam fenollerini arttırmıştır	25
	Turp	Mikro yeşillikler	HZS, mavi ışık ve UV-A altında antosiyanin içeriğini arttırmıştır.	26
Stoma Açılıp Kapanması	Arabidopsis	Yapraklar	HZS stoma kapanmasına neden olmuştur	33
	Yonca	Yapraklar	HZS bitkinin ABA'ya karşı hassasiyetini artırarak stoma açıklığını azaltmıştır	34

Kimyasal Özellikler

Moleküler hidrojen (H_2) oldukça düşük aktiviteye sahiptir ve katalizör yokluğunda veya vücut sıcaklığında inert gaz gibi davranmaktadır. H_2 , oda sıcaklığında oksijen gazı dahil çoğu bileşikle reaksiyona girmemektedir. Hidrojen gazı yalnızca $527^\circ C$ 'den yüksek sıcaklıklarda yanıcıdır ve oksijenle H_2 konsantrasyonunun (%4–75, hacim/hacim) patlayıcı aralığında hızlı zincirleme reaksiyonuyla patlamaktadır (Ohta, 2012).

1937'de Hindenburg hava gemisinin patlamasından bu yana H_2 , son derece yanıcı bir diatomik gaz olarak ün yapmış olsa da %4'ten daha düşük seviyelerde yanma riski bulunmamaktadır. H_2 , atmosfer basıncı altında 0,8 mM'ye (1.6 ppm) kadar suda çözünebilmektedir. H_2 , herhangi bir kabın cam ve plastik duvarlarına kısa sürede nüfuz ederken, alüminyum kaplar hidrojen gazını tutabilmektedir (Ohta, 2012).

Moleküler Hidrojenin (H_2) Bitki Büyümesi ve Gelişimi Üzerine Etkileri

Çizelge 1 ile Şekil 1 bitkilerde moleküler hidrojen (H_2) kaynaklı süreçlere üzerine etkisine genel bakışı göstermektedir.

Tohum Çimlenmesi

Tohum çimlenmesi, bir bitkinin yaşam döngüsünde başarılı bir çoğalmaya izin veren ve bu nedenle endojen ve çevresel sinyaller tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilen kritik bir adımdır (Kong ve ark., 2015). Yapılan bir çalışmada birçok yüksek bitkinin hidrojen salabileceğini ve eksojen hidrojenin kış çavdarı tohumlarının çimlenme oranını artırabileceğini belirtmiştir (Renwick et al., 1964). Tuzluluk tohum çimlenmesini engellemekte ve fide büyümesini geciktirerek mahsul verimi için ciddi bir tehdit oluşturmaktadır (Munns ve Tester, 2008). Yapılan çalışmalar tuzluluğun bitki fizyolojisini olumsuz yönde etkilediğini ortaya koymuştur. Tohum çimlenmesinin NaCl ile tetiklenen inhibisyonunda H_2 'nin yer alıp almadığını incelemek üzere yapılan bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda HZS ile ön muamele varlığında ve yokluğundaki tohum çimlenmesi karşılaştırılmıştır. HZS, tohum çimlenmesi sırasında pirinçteki tuz stresini azaltmış ve NaCl'nin tohum çimlenmesi üzerindeki inhibitör etkisini hafifletmiştir. Ayrıca H_2 'nin tuz stresi altında *Oryzasativa* L.'de tohum çimlenmesini teşvik edici etki gösterdiği tespit edilmiştir (Xu ve ark., 2013).

Fide Büyümesi

Eksojen HZS, tuz stresine maruz kalmış pirinç tohumu fidelerindeki büyüme inhibisyonunu hafifletebilmektedir. HZS, pirinç tohumlarında CAT (katalaz), SOD (süperoksitdismutaz), POD (peroksidad) ve APX (Askorbatperoksidad) dahil olmak üzere antioksidatif enzimleri düzenleyerek koruyucu etki göstermektedir (Xu ve ark., 2013). HZS, reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyesini düşürerek bitki antioksidan savunma sistemini düzenleyebilmekte ve bu durum fidelerin büyümesinde iyileşme sağlamaktadır (Guan ve ark., 2019). Çin lâhanası ile yapılan bir çalışmada, farklı HZS konsantrasyonları (%1, 10, 50 ve 100) ile ön-muamelenin, Kadmiyumun (Cd) fidelerin büyümesi üzerindeki önleyici etkilerini farklı şekilde azalttığını göstermiştir (Wu ve ark., 2015). HZS,

NaCl'nin *Oryzasativa* L.'deki fide büyümesi üzerine inhibitör etkisini hafifletmiş ve benzer şekilde, fide büyümesi, eksojen HZS (%50 veya %100 konsantrasyon) ön işlemi yoluyla farklı şekilde artmıştır (Xu ve ark., 2013). Yonca fidelerindeki büyümenin Cd tarafından inhibisyonu, HZS uygulamasıyla azaltılmıştır. Ayrıca HZS, kimyasal kullanılmaksızın uygulandığı yonca fidelerinde büyümeyi %9,9 ila %16,7 oranlarında artırmıştır (Dai ve ark., 2017).

Kök Uzaması

Alüminyum (Al) toksisitesinin en bilinen ve belirgin semptomlarından biri, kök uzamasının engellenmesidir (Delhaize ve Ryan, 1995). HZS ile muamele edilen bitki örneklerinin kök uzamasında sadece stres olmayan koşullar altında %10'luk doyumlukla önemli bir artış meydana gelmiştir %1, 10, 50 ve 100 doyumluğundaki HZS ile yapılan ön muamelenin, Al'nin neden olduğu yonca fidelerinde kök uzaması inhibisyonunu farklı şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. HZS ilavesi, fide büyümesindeki iyileşme ve daha az Al birikimi dahil olmak üzere Al toksite semptomlarını da azaltmıştır (Chen ve ark., 2014). Bir başka çalışmada farklı konsantrasyonlardaki HZS ile ön muameleye tabi tutulmuş Çin lahanalarında, %50 HZS ile muamelenin maksimal indüklenebilir tepkisi hem taze ağırlıkta hem de kök uzunluğunda (özellikle) önemli bir artış göstermiştir (Wu ve ark., 2015). HZS'nin sebze gelişimi üzerine etkisi ve korunan yetiştirilmiş sebzelerdeki muhtemel uygulamalarının araştırıldığı bir çalışmada, elde edilen veriler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında HZS muamelesinin, maş fasulyesi fidelerinin taze ağırlığı, hipokotil ve kök uzunluğunu önemli ölçüde artırdığı gözlemlenmiştir. En güçlü etkiye, 480 μM H_2 (doymuş HZS konsantrasyonunun %60'ı) ile muamele sonucunda ulaşılmıştır. Artan hücre uzaması, endojen fitohormonların seviyesindeki değişikliklerle ilişkilendirilmiştir. HZS, maş fasulyesi fidelerinin koyu renkli hipokotillerinde ve köklerinde İndol-3-asetik asit (IAA) ve giberellik asit (GA_3) içeriğini önemli ölçüde arttırmıştır. HZS muamelesi, sırasıyla hipokotil ve kökteki GA ve IAA içeriğinde hipokotil ve kök hücrelerinin uzamasını uyararak fidelerin büyümesini desteklemiştir (Wu ve ark., 2020).

Adventif (Ek) Kök Oluşumu

Salatalık eksplantlarına %0, 1, 10, 50 ve 100 konsantrasyonlarda HZS uygulanarak, H_2 ile uyarılmış adventif kök gelişimine nitrit oksidin (NO) etkisinin incelendiği bir çalışmada; %50 ve %100 doyumluktaki HZS'nin salatalıkta beklenmedik bir adventif kök gelişimini belirgin şekilde teşvik ettiği gözlemlenmiştir. NO, kök organojenezine ve büyümesine katılan bir sinyal molekülüdür. HZS'nin, NO içeriğini ve NOS ile NR aktivitesini hem doza hem de zamana bağlı şekilde artırdığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, moleküler düzeydeki kanıtlar, HZS'nin eksplantlarda NR genlerinin ekspresyonunu yukarıya doğru regüle (upregulation) ettiğini göstermiştir (Zhu ve ark., 2016).

HZS, salatalık eksplantlarında adventif kök (AR) oluşumunun teşvikinde, H_2 'nin fizyolojik rollerini ve olası sinyal iletim yollarını karakterize etmek için kullanılmıştır. %50'lik konsantrasyona sahip HZS'nin karbon monoksit (CO) sentetik enziminin bir indükleycisi olan tek başına oksin tükenmesi tedavisi ile sağlanan

inhibisyon etkisine kıyasla, adventif kök oluşumunu geri kazanmada hemin ve hem oksijenaz-1'in (HO⁻¹) etkisini taklit edebildiği tespit edilmiştir (Lin ve ark., 2014).

Hasat Öncesi Tazelik

HZS ile sulamanın, hasat öncesi turuncu güngüzeli (*Hemerocallisfulva* L.) tomurcuklarının verimi, doymamış:doymuş yağ asidi oranı ve endojen H₂ içeriğini arttırmanın yanı sıra azalan reaktif oksijen türleri seviyesi, sızıntı oranı ve lipitperoksidasyonu ile ilişkili olan, sepal kahverengileşmenin azalması gibi üşüme hasarı semptomlarını azalttığını göstermiştir. Ayrıca, HZS ile muamele edilmiş tomurcuklar, toplam fenol birikiminin (musluk suyu) kontrolden daha yüksek olmasına katkıda bulunan fenilalanin amonyak liyaz ve polifenolksidaz enzim aktivitesini önemli ölçüde düşürmüştür. Elde edilen veriler, hasat öncesinde HZS ile muamelenin, güngüzeli (*Hemerocallisfulva* L.) tomurcuklarının üşüme toleransını arttırmak için faydalı bir teknoloji olarak kullanılabilirliğini ve depolama ömrünü uzatabileceğini göstermektedir (Hu ve ark., 2021).

Hasat Sonrası Tazelik

HZS'nin kiviinin raf ömrünü uzatmasına yönelik etkisi ve olası ana mekanizmalarının değerlendirildiği bir çalışmada, HZS'nin (%30, 80 ve 100) kivideki çürümeyi önlemede farklı etkiler gösterdiği saptanmıştır. Yapılan bu muameleler arasında %80 HZS, kivideki çürüme oranını azaltıp sertliğini korumuştur. Elde edilen bu sonuç, %80 HZS işleminin pektin çözünürlüğünü etkili bir şekilde hafifletebileceği ve hücre duvarını parçalayan enzimlerin aktivitelerini azaltabileceği gerçeğiyle desteklenmiştir. Öte yandan, HZS muamelesi, solunum yoğunluğunu azaltabilmiş, süperoksitdismutaz aktivitesini arttırmış, lipit peroksidasyon seviyesini düşürmüş ve kiviinin radikal (DPPH, O₂⁻ ve OH⁻) süpürme aktivitesini sürdürmüştür. Ayrıca, mitokondrinin iç zarı daha yüksek düzeyde bütünlük sergilemiştir. Bu nedenle, elde edilen sonuçlar HZS muamelesinin antioksidan savunma sistemini düzenleyerek depolama sırasında meyve olgunlaşmasını ve yaşlanmayı geciktirebileceğini göstermiştir (Hu ve ark., 2014). Kesme zambak (*Lilium* spp.) ve gül (*Rosa* hybrid L.) çiçeklerinde H₂ uygulamasının vazo ömrünü ve kalitesini iyileştirip iyileştirmediğini belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada; %0,5 ve %1 konsantrasyonlarındaki HZS ile muamelenin, zambakta vazo ömrünü ve maksimum çiçek çapını arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca kesme gül çiçeklerinde %50 HZS uygulaması vazo ömrünü ve maksimum çiçek çapını önemli ölçüde arttırmıştır. Kesilmiş zambaklar ve güllerdeki taze ağırlık ve yaprak bağıl nem içeriği, uygun dozlarda HZS ile arttırılmıştır. Kontrol ile karşılaştırıldığında, HZS uygulaması kesilmiş zambak ve gül çiçeklerinde yaprak stoma boyutunu azaltmıştır. HZS uygulaması, kesilmiş zambaklarda yaprak malondialdehit içeriğini ve elektrolit sızıntısını önemli ölçüde azaltmıştır. Kesme zambak ve gül çiçeklerinde HZS uygulaması ile antioksidan enzim aktiviteleri de iyileştirilmiştir. Bu sonuçlar, eksojen olarak uygulanan H₂'nin, uygun su dengesini ve membran stabilitesini koruyarak ve stoma boyutunu ve oksidatif hasarı azaltarak kesme çiçeklerde vazo ömrünü ve hasat sonrası kalitesini iyileştirebileceğini düşündürmektedir (Ren ve ark., 2017).

Antosiyanın Sentezi

Filizlerdeki önemli flavonoidlerden biri olan antosiyaninler, karakteristik kırmızısı, mavimsi ve mor tonları üretmekte ve bu yolla meyve ve sebzelerin kalitesine katkıda bulunmaktadır (Jaakola, 2013). Ayrıca, antosiyaninler, beslenmedeki antioksidan aktiviteleri sebebiyle sağlık açısından potansiyel yararlı bileşikler olarak kabul edilmektedir (He ve Monica Giusti, 2010). Su ve ark. (2014) UV ışınları altında iki zıt turp (*Raphanussativus* L.) çeşidinde (düşük [LA] ve yüksek [HA] antosiyanin seviyesi) hidrojen gazının (H₂) antosiyanin biyosentezinin düzenlenmesinde yer alıp almadığını araştırmıştır. Elde edilen veriler, HZS'nin önemli ölçüde UV-A ile indüklenen H₂O₂ ve O₂⁻ birikimindeki artışı bloke ettiği ve LA (düşük antosiyanin seviyesi) ve HA (yüksek antosiyanin seviyesi)'da UV-A ile indüklenen süperoksitdismutaz (SOD) ve askorbatperoksidaz (APX) aktivitelerinde artışa neden olduğunu göstermiştir. Moleküler düzeydeki analizler, antosiyanin biyosentezi ile ilgili genlerin, HZS ve UV-A'nın birlikte muamelesiyle hem HA (özellikle) hem de LA filizlerinde önemli ölçüde yukarıya doğru regüle edildiğini (up-regulated) göstermiştir (Su ve ark., 2014). UV-A altında turp filizi hipokotillerinde HZS destekli antosiyanin biyosentezinde kalsiyum (Ca²⁺) rolünün araştırıldığı bir çalışmada, HZS'nin indüklenmiş CaCl₂'nin etkilerini taklit ederek, sitozolik kalsiyum ve antosiyanin birikimi içeriği üzerine olumlu yönde etki ettiği görülmüştür. Ayrıca, HZS'nin, turpta UV-A altında antosiyanin biyosentezini desteklediği görülmüştür (Zhang ve ark., 2018). HZS kullanılarak H₂'nin beyaz, mavi, ultraviyole-A (UV-A) ve karanlık gibi farklı ışık spektrumları altında kültürlenmiş olgunlaşmamış turp mikro yeşilliklerinin antosiyanin birikimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Mavi ışık HZS ile birlikte uygulandığında, olgunlaşmamış turp mikro yeşilliklerinin siyanidin ve petunidin-3,5-diglukozit içeriği, sadece mavi ışıkla muamelesinden sırasıyla 1,50 ve 1,35 kat daha fazla etki ettiği tespit edilmiştir. Ayrıca, UV-A ve HZS'nin birlikte uygulanması, siyanidin-3-rutinosid-5-glukozit ve siyanidin-3-glukozit içeriği bakımından sadece UV-A muamelesine kıyasla sırasıyla 1,09- ve 1,27-kat daha fazla etki etmiştir. Olgunlaşmamış mikro yeşilliklerin antioksidan kapasitesi, antosiyanin içeriği ile artmıştır (Zhang ve ark., 2019).

Stoma Açılıp Kapanması

Stomalar, bitkinin iç kısmı ile atmosfer arasındaki gaz alışverişini kontrol eden yaprak yüzeyindeki küçük gözeneklerdir (Hetherington ve Woodward, 2003). Stoma gözeneklerinin açılması ve kapanması çevresel sinyaller tarafından düzenlenir. Bu, bitkilerin kuraklık durumunda suyu tutmasını ve gün boyunca fotosentez için gerekli olan CO₂ alımını en üst düzeye çıkarmasını sağlayan kısa vadeli bir adaptasyondur (Gray ve Hetherington, 2004). Bitki kuraklığı stresine karşı H₂'nin stoma kapanmasının düzenlenmesi üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığının doğrulanması için stoma hareketleri, stoma kapanmasında indükleyici olan absisik asit (ABA) pozitif kontrol olarak kullanılıp incelenmiştir. Elde edilen veriler sonucunda; H₂'nin absisik asit (ABA), reaktif oksijen türleri (ROS), nitrik oksit (NO) ve koruyucu hücreyi dışı doğru doğrulayan K⁺ kanalını (GORK) içeren hücre içi sinyal olaylarını tetikleyerek Arabidopsis'te (*Arabidopsisthaliana*) stoma kapanmasına neden olduğu saptanmıştır. ABA,

Arabidopsis'te hızlı ve sürekli bir H₂ salınımı ve üretimi sağlamıştır. Eksojenhidrojenle zenginleştirilmiş su (HZS), hücre içi H₂ üretiminin artmasına, stoma açıklığında bir azalmaya ve kuraklığakarşı olan toleransın artmasına neden olmuştur (Xie ve ark., 2014). HZS ile ön işleme tabi tutulan yonca fideleri, eksojen ABA'ya aşırı duyarlıdır. ABA veya su eksikliğine yanıt olarak, HZS ile ön işleme tabi tutulmuş fideler hızla daha yüksek miktarlarda hidrojen peroksit (H₂O₂) biriktirmiştir ve kuraklık stresine daha fazla tolerans göstermiştir. Yonca bitkilerinde, hidrojenaz bağımlı H₂'nin, su eksikliği stresine karşı bitki toleransını arttırmak için apoplastik pH'ı düzenleyerek kuraklık kaynaklı sinyallerin algılanması ve iletilmesinde önemli roller oynadığı doğrulanmıştır. H₂ üretimi ve hidrojenaz aktivitesinin absisik asit (ABA) ve kuraklık stresi tarafından önemli ölçüde indüklendiğini gözlemlenmiştir (Jin ve ark., 2016).

Sonuç

Gelişen teknoloji günlük yaşamı kolaylaştırmasının yanı sıra; yaşanan çevre, tüketilen ürünler, solunan hava ve yetiştirilen tarım ürünlerini de etkilemektedir. Bu bağlamda her geçen gün daha az miktarda kimyasal ilaç ve pestisit kalıntılarına maruz kalmış ürünler talep edilmektedir. Tarım alanında uygulanan hidrojenle zenginleştirilmiş su (HZS) uygulamaları ürünün kalite ve gelişimi üzerine olumlu etkiler göstermiştir. Ürün kalitesini ve gelişimini artırmak için kullanılan diğer katkı maddelerine nazaran, HZS üründe herhangi bir ilaç kalıntısı bırakmayan yeni bir yöntem olarak karşımıza çıkmıştır. Yapılan çalışmalar ışığında bitkinin farklı kısımlarına etki mekanizması tam olarak bilinmeyen bir şekilde etki eden H₂'nin bitkinin büyüme ve gelişiminin yanı sıra ürünün tazeliği ve raf ömrü üzerine de olumlu etkiler gösterdiği bildirilmiştir.

Kaynaklar

Budavari S, MJO'Neil, Smith A, Heckelman PE. 1989. Hydrogen. in *TheMerck Index: An Encyclopedia of Chemicals*, 11th Ed. Rahway, NJ: Merck. 759 p.

Chen M, Cui W, Zhu K, Xie Y, Zhang C, Shen W. 2014. Hydrogen-rich water alleviates aluminum-induced inhibition of root elongation in alfalfa via decreasing nitric oxide production. *Journal of Hazardous Materials* 267:40–47.

Cui W, Fang P, Zhu K, Mao Y, Gao C, Xie Y, Wang J, Shen W. 2014. Hydrogen-rich water confers plant tolerance to mercury toxicity in alfalfa seedlings. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 105:103–111.

Dai C, Cui W, Pan J, Xie Y, Wang J, Shen W. 2017. Proteomic analysis provides insights into the molecular bases of hydrogen gas-induced cadmium resistance in *Medicago sativa*. *Journal of Proteomics* 152:109–120.

Delhaize E, Ryan PR. 1995. Aluminum Toxicity and Tolerance in Plants. *Plant Physiol* 1:31–36.

Gray JE, Hetherington AM. 2004. Plant development: YODA the stomatal switch. *Current Biology* 14:488–490.

Grochala W, Edwards PP. 2004. Thermal decomposition of the non-interstitial hydrides for the storage and production of hydrogen. *Chemical Reviews* 104:1283–1315.

Guan Q, Ding XW, Jiang R, Ouyang PL, Gui J, Feng L, Yang L, Song LH. 2019. Effects of hydrogen-rich water on the nutrient composition and antioxidative characteristics of sprouted black barley. *Food Chemistry* 299:125095.

Hanania J, Musgrove A, Stenhouse K, Donev J. 2017. Molecular hydrogen. *Energyeducation*.

He J, Monica Giusti M. 2010. Anthocyanins: Natural colorants with health-promoting properties. *Annual Review of Food Science and Technology* 1:163–187.

Hetherington AM, Woodward FI. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature* 424:901–908.

Hirscher M, Yartys VA, Baricco M, Bellosta von Colbe J, Blanchard D, Bowman RC, Broom DP, Buckley CE, Chang F, Chen P, Cho YW, Crivello JC, et al. 2020. Materials for hydrogen-based energy storage – past, recent progress and future outlook. *Journal of Alloys and Compounds* 827.

Hu H, Li P, Shen W. 2021. Preharvest application of hydrogen-rich water not only affects daylily bud yield but also contributes to the alleviation of bud browning. *Scientia Horticulturae* 287:110267.

Hu H, Li P, Wang Y, Gu R. 2014. Hydrogen-rich water delays postharvest ripening and senescence of kiwifruit. *Food Chemistry* 156:100–109.

Huang CS, Kawamura T, Toyoda Y, Nakao A. 2010. Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas. *Free Radical Research* 44:971–982.

Jaakola L. 2013. New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Trends in Plant Science* 18:477–483.

Jin Q, Zhu K, Cui W, Li L, Shen W. 2016. Hydrogen-Modulated Stomatal Sensitivity to Abscisic Acid and Drought Tolerance Via the Regulation of Apoplastic pH in *Medicago sativa*. *Journal of Plant Growth Regulation* 35:565–573.

Jin Q, Zhu K, Cui W, Xie Y, Han BIN, Shen W. 2013. Hydrogen gas acts as a novel bioactive molecule in enhancing plant tolerance to paraquat-induced oxidative stress via the modulation of heme oxygenase-1 signalling system. *Plant, Cell and Environment* 36:956–969.

Karthic P, Joseph S. 2014. Comparison and Limitations of Biohydrogen Production Processes.

Kong D, Ju C, Parihar A, Kim S, Cho D, Kwak JM. 2015. Arabidopsis glutamate receptor homolog3.5 modulates cytosolic Ca²⁺ level to counteract effect of abscisic acid in seed germination. *Plant Physiology* 167:1630–1642.

Leite GB, Hallenbeck PC. 2014. Chapter 22 – Engineered Cyanobacteria: Research and Application in Bioenergy. *Bioenergy Research: Advances and Applications* 389–406.

Li C, Gong T, Bian B, Liao W. 2018. Roles of hydrogen gas in plants: A review. *Functional Plant Biology* 45:783–792.

Li C, Huang D, Wang C, Wang N, Yao Y, Li W, Liao W. 2020. NO is involved in H₂-induced adventitious rooting in cucumber by regulating the expression and interaction of plasma membrane H⁺-ATPase and 14-3-3. *Planta* 252:1–16.

Lin Y, Zhang W, Qi F, Cui W, Xie Y, Shen W. 2014. Hydrogen-rich water regulates cucumber adventitious root development in a heme oxygenase-1/carbon monoxide-dependent manner. *Journal of Plant Physiology* 171:1–8.

Lowry GV, Avellan A, Gilbertson LM. 2019. Opportunities and challenges for nanotechnology in the agri-tech revolution. *Nature Nanotechnology* 14:517–522.

Molotoks A, Smith P, Dawson TP. 2021. Impacts of land use, population, and climate change on global food security. *Food and Energy Security* 10:1–20.

Munns R, Tester M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59:651–681.

Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, Katsura K, Katayama Y, Asoh S, Ohta S. 2007. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature medicine* 13:688.

Ohta S. 2012. Molecular hydrogen is a novel antioxidant to efficiently reduce oxidative stress with potential for the improvement of mitochondrial diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects* 1820:586–594.

Ren PJ, Jin X, Liao WB, Wang M, Niu LJ, Li XP, Xu XT, Zhu YC. 2017. Effect of hydrogen-rich water on vase life and quality in cut lily and rose flowers. *Horticulture Environment and Biotechnology* 58:576–584.

- Renwick GM, Giunarro C, Siegel SM. 1964. Hydrogen metabolism in higher plants. *Plant physiology* 39:303.
- Shen W, Sun X. 2019. Hydrogen biology: it is just beginning. *Chin J Biochem Mol Biol* 35:1037–1050.
- Su N, Wu Q, Liu Y, Cai J, Shen W, Xia K, Cui J. 2014. Hydrogen-rich water reestablishes ROS homeostasis but exerts differential effects on anthocyanin synthesis in two varieties of radish sprouts under UV-A irradiation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 62:6454–6462.
- Valenti G. 2016. *Hydrogen Liquefaction and Liquid Hydrogen Storage*. Elsevier Ltd. 27–51 p.
- Wang Y, Lv P, Kong L, Shen W, He Q. 2021. Nanomaterial-mediated sustainable hydrogen supply induces lateral root formation via nitrate reductase-dependent nitric oxide. *Chemical Engineering Journal* 405:126905.
- Wang Y qiao, Liu Y hao, Wang S, Du H mei, Shen W biao. 2020. Hydrogen agronomy: research progress and prospects. *Journal of Zhejiang University: Science B* 21:841–855.
- Wilhelm E, Barring R, Wilcock RJ. 1976. *Low-Pressure Solubility of Gases in Liquid Water*.
- Wu Q, Su N, Huang X, Ling X, Yu M, Cui J, Shabala S. 2020. Hydrogen-rich water promotes elongation of hypocotyls and roots in plants through mediating the level of endogenous gibberellin and auxin. *Functional Plant Biology* 47:771–778.
- Wu Q, Huang L, Su N, Shabala L, Wang H, Huang X, Wen R, Yu M, Cui J, Shabala S. 2020. Calcium-dependent hydrogen peroxide mediates hydrogen-rich water-reduced cadmium uptake in plant roots. *Plant Physiology* 183:1331–1344.
- Wu Q, Su N, Cai J, Shen Z, Cui J. 2015. Hydrogen-rich water enhances cadmium tolerance in Chinese cabbage by reducing cadmium uptake and increasing antioxidant capacities. *Journal of Plant Physiology* 175:174–182.
- Xie Y, Mao Y, Zhang W, Lai D, Wang Q, Shen W. 2014. Reactive oxygen species-dependent nitric oxide production contributes to hydrogen-promoted stomatal closure in Arabidopsis. *Plant Physiology* 165:759–773.
- Xu S, Zhu S, Jiang Y, Wang N, Wang R, Shen W, Yang J. 2013. Hydrogen-rich water alleviates salt stress in rice during seed germination. *Plant and Soil* 370:47–57.
- Zeng J, Ye Z, Sun X. 2014. Progress in the study of biological effects of hydrogen on higher plants and its promising application in agriculture. *Medical gas research* 4:15.
- Zeng J, Zhang M, Sun X. 2013. Molecular Hydrogen Is Involved in Phytohormone Signaling and Stress Responses in Plants. *PLoS ONE* 8:71038.
- Zhang X, Wei J, Huang Y, Shen W, Chen X, Lu C, Su N, Cui J. 2018. Increased cytosolic calcium contributes to hydrogen-rich water-promoted anthocyanin biosynthesis under UV-A irradiation in radish sprouts hypocotyls. *Frontiers in Plant Science* 9:1–14.
- Zhang X, Wei J, Tian J, Li N, Jia L, Shen W, Cui J. 2019. Enhanced anthocyanin accumulation of immature radish microgreens by hydrogen-rich water under short wavelength light. *Scientia Horticulturae* 247:75–85.
- Zhu Y, Liao W, Wang M, Niu L, Xu Q, Jin X. 2016. Nitric oxide is required for hydrogen gas-induced adventitious root formation in cucumber. *Journal of Plant Physiology* 195:50–58.
- Zulfiqar F, Russell G, Hancock JT. 2021. Molecular hydrogen in agriculture. *Planta* 254:1–14.